

## Análisis de Distintos Tipos de Azúcares en el Método de Extracción de Ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en Suelo

Rui Sales Junior<sup>1</sup>, Roberto Beltrán<sup>2</sup>, Sami J. Michereff<sup>3</sup>, Josep Armengol<sup>2</sup>,  
José García-Jiménez<sup>2</sup> & Érika Valente de Medeiros<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Cx. Postal 137, CEP 59625-900, Mossoró, RN, Brasil, e-mail: jrui@hotmail.com; <sup>2</sup>Universidad Politécnica de Valencia, E.T.S.I. Agrónomos, Instituto Agroforestal Mediterráneo, Camino de Vera s/n, 46020, Valencia, Espanha; <sup>3</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil

(Aceptado para publicación en 27/10/2005)

Autor para correspondencia: Rui Sales Júnior

---

SALES JÚNIOR, R., BELTRÁN, R., MICHEREFF, S.J., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J. & MEDEIROS, E.V. Análisis de distintos tipos de azúcares en el método de extracción de ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en suelo. Fitopatología Brasileira 31:185-187. 2006.

### RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo probar diferentes tipos de azúcares en la extracción de ascosporas de *Monosporascus cannonballus*. Las ascosporas de este ascomiceto implicado en el “colapso” del melón (*Cucumis melo*), pueden ser extraídas del suelo mediante un proceso físico, utilizando un gradiente de sacarosa al 50% de concentración. El uso de este azúcar presenta elevado costo por muestra, por lo que se busca un azúcar sustitutivo, eficaz para realizar la extracción de estas ascosporas y a la vez, de bajo costo. En este trabajo, además de sacarosa, se utilizó también dextrosa, azúcar de mesa y azúcar de repostería, siendo utilizadas seis repeticiones para cada uno de los tratamientos. La media de ascosporas/g de suelo recogidas en cada uno de los tratamientos no difirió estadísticamente entre sí, según el test de Tukey ( $P=0,05$ ). Se recomienda la utilización del azúcar de caña por su eficacia y bajo costo por muestra (R\$ 0,042).

**Palabras-clave adicionales:** *Cucumis melo*, colapso del melón, nivel de inóculo, hongo de suelo.

### ABSTRACT

#### Analysis of different types of sugar in the extraction method of ascospores of *Monosporascus cannonballus* in soil

The objective of this work was to test different kinds of sugar for the extraction of ascospores of *M. cannonballus*. The ascospores of this ascomycete involved in melon (*Cucumis melo*) collapse can be recovered from soil by a physical method using a gradient of sucrose (50% concentration). The use of commercial sucrose represents a high cost per sample. This is the reason for research into a cheaper substitute sugar. In this work, we compared dextrose, commercial cane sugar and dessert sugar. Average ascospores/g of soil recovered with all these sugars were not statistically different, using the Tukey Test ( $P=0.05$ ). The use of commercial cane sugar is recommended for its efficacy and low cost in every sample (R\$ 0.042).

**Additional keywords:** *Cucumis melo*, melon collapse, inoculum level, soilborne.

---

*Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker es un ascomiceto del suelo que afecta principalmente a los cultivos de melón (*Cucumis melo* L.) y sandía [*Citrullus lanatus* Thunb. (Thunb.) Matsum & Nakai]. Se trata de uno de los patógenos limitantes de estos cultivos en los principales países productores del mundo (Martyn & Miller, 1996). Recientemente ha sido detectado en Brasil, en los estados do Rio Grande do Norte y Ceará (Sales Júnior *et al.*, 2004).

El inóculo primario de este hongo lo constituyen las ascosporas, que se producen en peritecios que crecen sobre las raíces de los cultivos afectados (Waugh *et al.*, 2003). Al acabar el cultivo, estas ascosporas se incorporan al suelo,

aumentando de esta forma el nivel de inóculo. Las mismas pueden permanecer en el suelo por varios años sin que se cultive el melón (Beltrán, 2001). Dada la particular forma y aspecto de estas ascosporas, esféricas y de color negro, pueden ser extraídas del suelo y cuantificarse mediante un sencillo método, desarrollado por Stanghellini & Rasmussen (1992) y modificado por Mertely *et al.* (1993).

Estos dos métodos de extracción de ascosporas en el suelo son similares, existiendo como única diferencia la velocidad de centrifugación, que en el caso del método de Stanghellini & Rasmussen (1992) es de 900 g y en el de Mertely *et al.* (1993) es de 2000 g. Por otra parte, Beltrán (2001) introdujo algunas modificaciones encaminadas a

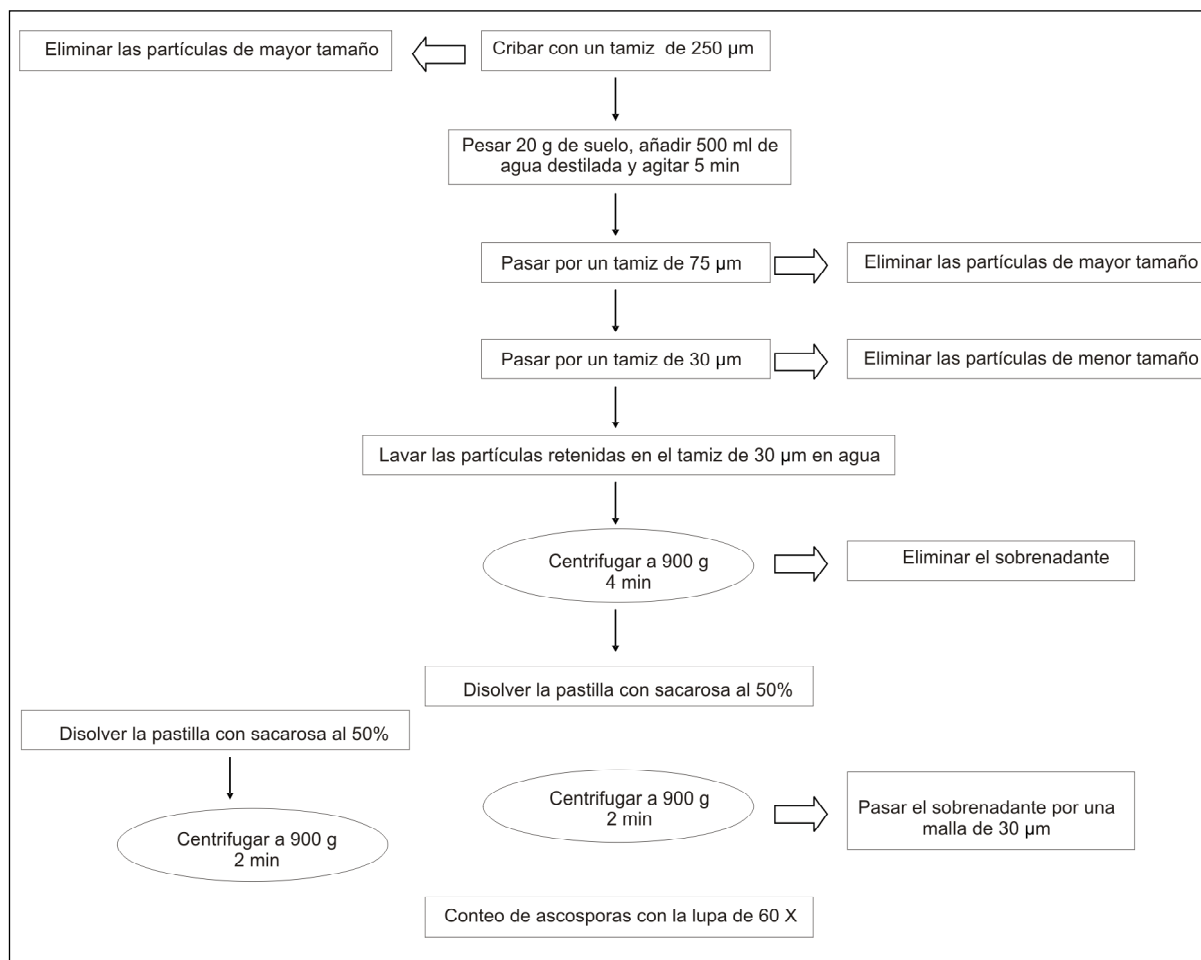
conseguir un mayor rendimiento, utilizando un cedazo de 250  $\mu\text{m}$  de luz en el primer cribado y cambiando el cedazo de 38  $\mu\text{m}$  por otro de 30  $\mu\text{m}$ . Este cambio fue efectuado para evitar que ninguna ascospora del hongo pasara a través de este cedazo, pues el tamaño de éstas se encuentra entre 30 y 50  $\mu\text{m}$ .

Se han efectuado diversos estudios en los Estados Unidos utilizando este método, siendo los más relevantes los trabajos de Mertely *et al.* (1993) en Texas, Stanghellini *et al.* (1996) en Arizona y Aegerter *et al.* (2000) en California. Así mismo, en España se ha venido utilizando esta técnica desde 1999, para cuantificar el nivel de *M. cannonballus* en zonas de marjal con encharcamiento invernal-, en las que se efectúa un único ciclo de melón por año, entre los meses de abril y septiembre (Beltrán, 2001).

Pese a que se trata de una metodología sencilla, precisa material de fácil acceso. Uno de los principales inconvenientes de este método es el elevado gasto de sacarosa, que alcanza 41,6 g por cada muestra procesada de 20 gramos de suelo. Cuando se desea realizar una prospección de suelo con un elevado número de campos, y por tanto, de muestras que deben ser procesadas, el costo

aumenta también proporcionalmente.

Así pues, el objetivo de este trabajo es contrastar diversos tipos de azúcares y compararlos con la sacarosa. La cuestión consiste en saber si es posible obtener el mismo gradiente de concentración con otros azúcares más baratos y que éstos sean capaces de realizar con eficacia la separación de las ascosporas frente a las otras partículas de suelo. Para ello se ensayaron los siguientes azúcares: sacarosa, dextrosa, azúcar de caña y azúcar de repostería. Se utilizó la misma concentración (50%) para todos, teniendo como base la sacarosa. La elección del suelo se efectuó atendiendo a criterios cualitativos, escogiendo una parcela cultivada de melón en Quixeré (Ceará) con una alta incidencia de “colapso” asociado a *M. cannonballus* en los últimos años, lo que fue confirmado mediante aislamiento en raíces. Se tomaron un total de 24 muestras de suelo de esta parcela, que posteriormente fueron mezcladas; el suelo fue recogido a una profundidad de entre 10 y 20 cm, estrato en el que se encuentra la mayor concentración de ascosporas (Mertely *et al.*, 1993). La metodología utilizada para el proceso de las muestras se explica detalladamente en la Figura 1. Para cada tipo de azúcar se realizaron seis repeticiones,



**FIG. 1** - Proceso de extracción de ascosporas de *M. cannonballus* de suelo (Stanghellini & Rasmussen, 1992; modificado por Beltrán, 2001).

obteniéndose posteriormente la media de todas ellas, se analizaron mediante el programa estadístico SISVAR de la Universidade Federal de Lavras – MG, siendo utilizado el test de Tukey ( $P=0,05$ ).

En la Tabla 1 se registran los resultados obtenidos para cada tipo de azúcar. Los valores medios de ascosporas por gramo de suelo oscilaron entre 8,17 para el azúcar de caña y 8,93 para la dextrosa. Con la sacarosa, el azúcar utilizado en la descripción original del método, se consiguieron extraer un total de 8,68 ascosporas/g de suelo. No se hallaron diferencias significativas ( $P=0,05$ ) entre ningún tipo de azúcar, concluyendo que todos ellos son igualmente válidos para la extracción de ascosporas de *M. cannonballus* de suelo. Por otra parte, se efectuó un estudio del costo que supuso cada muestra, teniendo en cuenta que con 1 Kg de cualquiera de los productos se pueden evaluar un total de 24 muestras. Con la sacarosa utilizada, de la marca comercial Merck®, se llegó a un coste de R\$ 5,42 por muestra analizada, siendo éste el producto de costo más elevado. Con la dextrosa empleada de la marca comercial Qeel®, se obtuvo un costo de R\$ 0,64 por muestra. Por otra parte, se usaron los azúcares comerciales Ecoçucar® (azúcar de caña) y Mariza® (azúcar de repostería), con un costo por muestra de R\$ 0,042 y R\$ 0,17, respectivamente. Se observa que las diferencias de precio por muestra son muy notables, mucho más cuando el número de muestras que se debe realizar es muy elevado.

Actualmente, uno de los problemas crecientes que preocupa a los productores de melón son los patógenos radiculares. *Monosporascus cannonballus* ya se encuentra descrito en la región productora de los estados del Rio Grande do Norte y Ceará (Sales Júnior *et al.*, 2005). Así es como en

**TABLA 1** - Número medio de ascosporas/g de suelo para cada tratamiento y tipo de azúcar analizado

Tipos de Azúcares	Ascosporas/g de Suelo
Sacarosa	8,68a <sup>1</sup>
Dextrosa	8,93a
Azúcar de caña	8,17a
Azúcar de repostería	8,89a
CV = 9,96	

<sup>1</sup>Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí, según el test Tukey ( $P=0,05$ ).

el año 2005, se recibieron en el laboratorio de fitopatología de la Universidade Federal Rural do Semi-Árido más de 250 muestras de suelo para análisis. Lo anterior muestra la importancia que tener una técnica sencilla ya bajo costo de extracción de ascosporas, garantizando de esta forma al productor su el suelo presente o no el patógeno.

Los resultados demuestran que con cualquiera de los azúcares es posible conseguir un gradiente de concentración suficiente para la extracción de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo, por tanto, para un estudio con un alto número de muestras para procesar, es más económico utilizar azúcares comerciales de bajo costo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEGERTER, B.J., GORDON, T.R. & DAVIS, R.M. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. *Plant Disease* 84:224-230. 2000.
- BELTRÁN, R. Aspectos ecológicos y patológicos de *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker. (Monografía). Valencia. Universidad Politécnica de Valencia. 2001.
- MARTYN, R.D. & MILLER, M.E. *Monosporascus* root rot and vine decline, an emerging disease of melons 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.
- SALES JR., R., NASCIMENTO, I.J.B, FREITAS, L.S., BELTRÁN, R., ARMENGOL, J., VICENT, A. & GARCÍA-JIMÉNEZ, J. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. *Plant Disease* 88:84. 2004.
- 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 on cultivated and desert soils in Arizona. *Phytopathology* 86:509-514. 1996.
- WAUGH, M.M., KIM, D.H., FERRIN, D.M. & STANGHELLINI, M.E. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. *Plant Disease* 87:45-50. 2003.