



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA**  
**ÁREA DE FITOSSANIDADE – LABORATÓRIO FUNGOS DO SOLO**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO - ESO**

**ESTUDO POPULACIONAL E BIOCONTROLE DO AGENTE CAUSAL DO  
MAL-DO-PÉ DA BATATA-DOCE**

**LETÍCIA REBECA DE ARAÚJO BARROS**

**Recife-PE**

**2023.**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA**  
**ÁREA DE FITOSSANIDADE – LABORATÓRIO FUNGOS DO SOLO**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO - ESO**

**ESTUDO POPULACIONAL E BIOCONTROLE DO AGENTE CAUSAL DO  
MAL-DO-PÉ DA BATATA-DOCE**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Sede, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.**

**Orientador**  
**Prof. Dr. Delson Laranjeira**

**Recife-PE**

**2023.**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA**  
**ÁREA DE FITOSSANIDADE – LABORATÓRIO FUNGOS DO SOLO**

**IDENTIFICAÇÃO**

**Discente:** Letícia Rebeca de Araújo Barros

**Curso:** Agronomia

**Orientadora:** Prof. Dr. Delson Laranjeira

**Local:** Laboratório de Fungos do solo, Departamento de Agronomia - Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, Dois Irmãos, Recife- PE, 52171-900.

**Período:** 01/08/2021 a 31/07/2022

**Carga horária:** 210 horas

Dedico esse trabalho de conclusão de curso a minha família, que sempre cuidou, apoiou e me ajudou. Especialmente, ao meu pai, Josenildo Dionízio.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus que me fez cursar Agronomia e esteve comigo durante todo esse caminho. Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A ele pois, a glória eternamente, amém.

Agradeço ao meu pai, Josenildo Dionízio, que sempre me deu suporte e amou independente dos resultados obtidos ao longo do caminho. A Rita, que cuidou de mim. Minha Irmã Raquel, e minha família por todo carinho, cuidado e atenção.

A minhas amigas, Odaiza Fabiana e Dannubia Lopes, que foram as minhas parceiras, dividimos muitas vitórias, alegrias e juntas enfrentamos muitos obstáculos. Agradeço a Marcones e Adalberto, por toda ajuda e apoio.

Agradeço ao meu amor, João Araújo, que acreditou e me deu suporte no processo de finalização desse trabalho.

A equipe do laboratório Fungos do Solo, Iwanne Coelho que me acolheu desde o primeiro semestre e me ensinou, durante toda graduação. Ao professor Delson Laranjeira, por ser o meu orientador. A Thais Regina, que acompanhou e me ensinou durante todo processo de desenvolvimento desse trabalho. A Sérgio, Marcelo e aos meus colegas de estágio e da graduação, que dividiram comigo muitos aprendizados.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, pelo apoio acadêmico. A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia – FACEPE, pela concessão da bolsa de PIBIC. E ao programa de Pós-graduação em Fitopatologia, por me disponibilizar os equipamentos necessários para realização dessa pesquisa.

A todos que contribuíram no meu desenvolvimento profissional.

**OBRIGADA.**

## RESUMO

Problemas fitossanitários que acometem a batata-doce são responsáveis por perdas econômicas significativas na cultura, sendo a principal doença o mal-do-pé, causada por fungos do gênero *Diaporthe*. Diante da alta incidência dessa doença e de indícios de variabilidade patogênica, objetivamos avaliar a eficácia de leveduras na proteção de mudas de batata-doce, observando a interação fisiológica do biocontrolador em relação ao patossistema estudado, assim como o efeito de metabólitos produzidos por leveduras no controle de *Diaporthe*. Os isolados patogênicos CFS 937, CFS 294, CFS 1139, CFS 1061, CFS 946 e a levedura LCB22 foram provenientes da Coleção do Laboratório de Fungos do Solo, da UFRPE – CFS/UFRPE. Na avaliação de proteção de mudas, utilizamos três intervalos de imersão das ramas sadias de batata-doce, na suspensão de LCB22 a  $1 \times 10^6$  células ml<sup>-1</sup> (SL) e em água destilada esterilizada (ADE): 24 h em SL + 48 h em ADE; 36 h em SL + 36 h em ADE; e 48 h em SL + 24 h em ADE. No controle, as plantas foram imersas por 72 h em ADE. O patógeno foi inoculado por deposição de discos (0,5 cm) sobre o tecido injuriado (micro furos de 0,2 cm) na região do colo da planta e as plantas foram submetidas a câmara úmida por 48 h. O experimento foi conduzido em blocos ao acaso - BIC, em oito repetições/tratamento. A ocorrência de sintomas foi avaliada 24 horas após retirada da câmara úmida, a cada 48 horas, por oito dias e o diâmetro da lesão utilizado para inferir a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). A avaliação *in vitro* do efeito de compostos voláteis da levedura sobre o patógeno foi realizada com a sobreposição de dois fundos de placa de Petri, um com patógeno cultivado em meio BDA (batata, dextrose e ágar) e o outro com levedura em meio YEPD (extrato de levedura, peptona, dextrose e ágar). No controle, o patógeno foi cultivado sobre BDA, na ausência de leveduras. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, por 3 dias. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado - DIC, com três repetições/tratamento. Na proteção de mudas, o tratamento por imersão promoveu 100 % de inibição de mal-do-pé para os isolados CFS 1139, CFS 946 e CFS 937 em mudas imersas por 24, 36 e 48 horas, respectivamente. Esses resultados indicam uma ocorrência de interação significativa entre os patógenos e o intervalo de imersão, ou seja, a eficácia de proteção por imersão varia de acordo com o patógeno. A levedura LCB22 produziu compostos voláteis inibitórios do crescimento micelial dos isolados patogênicos, com potencial médio de biocontrole entre 30,13% e 65,46%. Os resultados corroboram como incentivo a pesquisas futuras sobre os mecanismos desempenhados por leveduras sobre fitopatógenos e atestam a possibilidade de utilização

de leveduras como uma alternativa viável no manejo integrado do mal-do-pé da batata-doce.

Área de Conhecimento: Agronomia

Palavras-chave: Controle Biológico, *Diaporthe spp.*, *Ipomoea batatas*.

## SUMÁRIO

1. <b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
2. <b>OBJETIVOS</b> .....	12
2.1. Geral .....	12
2.2. Específicos.....	12
3. <b>METODOLOGIA</b> .....	13
3.1. Preservação e depósito de isolados de <i>Diaporthe</i> spp, e leveduras.....	13
3.2. Determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com leveduras, para melhor enraizamento e proteção das mudas .....	13
3.3. Detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis .....	15
3.4. Determinação de produção de compostos antifúngicos livres de células da levedura .....	17
3.5. Determinação da avaliação da produção de compostos voláteis pela levedura .....	18
6. <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
6.1. Preservação e depósito de isolados de <i>Diaporthe</i> spp, e leveduras.....	18
6.2. Determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com levedura, para melhor enraizamento e proteção das mudas .....	20
6.3. Detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis .....	29
6.4. Determinação de produção de compostos antifúngicos livres de células da levedura .....	31
6.5. Determinação da avaliação da produção de compostos voláteis pela levedura .....	32
7. <b>CONCLUSÕES</b> .....	34
8. <b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	35

## 1. INTRODUÇÃO

A batata-doce *Ipomea batatas* L. (Lam.) é classificada como sendo pertencente da família botânica *Convolvulaceae*, é uma planta dicotiledônea, caracterizada morfológicamente pela presença de caule herbáceo e ramificado (PEREIRA, 2011). Além disso, a *Ipomea batatas* também é conhecida por apresentar dois tipos de raízes, a tuberosa ou reserva, e a raiz absorvente. A túbera formada no início do desenvolvimento da planta é espessa, não forma raízes secundárias e armazena o produto da fotossíntese, esse tipo de raiz está relacionado com a parte comercial da planta. As raízes absorventes retêm água, nutrientes e fixa a planta no solo (MONTES, 2017; EMBRAPA, 2021). Acredita-se que a batata-doce é originária da América central e no norte da América do Sul (EMBRAPA, 2021).

No Brasil, essa hortaliça é cultivada em todas as regiões. Nos últimos anos, o Nordeste é destaque em quantidade produzida, apontando-se para a crescente demanda de batata-doce, devido ao seu conteúdo nutricional (EMBRAPA, 2021). Em 2020, o Brasil alcançou 847.896 toneladas de quantidade produzida, a área plantada equivale a 59.790 ha e a área colhida de 59.481 ha, nesse mesmo ano, o rendimento médio foi de 14.255 Kg/ha (IBGE, 2021). Esses valores expressivos, apontam o crescimento elevado na produção de batata-doce no país.

Dentre as regiões do Brasil, o Nordeste apresenta o valor mais expressivo em quantidade produzida, que representa 847.896 toneladas, atingindo 40,77% da produção de batata-doce do país (IBGE, 2021). Pernambuco está na 10<sup>o</sup> posição no ranking de quantidade produzida, alcançando 40.865 toneladas (IBGE, 2021). No entanto, mesmo diante de valores positivos da produção, muitos agricultores enfrentam prejuízos econômicos, devido à perda produtiva. Isso acontece devido a vários fatores fitossanitários, no entanto, sabe-se que a principal doença que afeta essa cultura é o mal-do-pé da batata-doce, que pode promover perdas até 80% da produtividade (ALMEIDA *et al.*, 2020).

Acreditava-se que o fungo *Plenodomus destruens* Harter, era o responsável pelo mal-do-pé da batata-doce (EMBRAPA, 2011), no entanto, atualmente, essa doença é atribuída ao patógeno *Diaporthe destruens* (ALMEIDA, 2020). Em 2020, foi descoberto que a espécie *Kongii*, também é responsável por essa doença (ALMEIDA *et al.*, 2020). E que outras diferentes espécies, do gênero *Diaporthe*, também são responsáveis por

produzir sintomas característicos do mal-do-pé da batata-doce, que no qual assemelham-se com a sintomatologia causada pela espécie *destruens* (ALMEIDA et al., 2020).

O fungo *Diaporthe destruens* pertence a classe *Sordariomycetes*, ordem *Diaporthales* e família *Diaporthaceae* (INDEX FUNGORUM, 2022). Esse fungo tem a capacidade de formar picnídios, essa estrutura possui um formato de uma pêra, são produzidos de maneira isolada ou agrupada, e tem coloração escura (PEREIRA et al., 2011; GAI et al., 2016). Contidos em seu interior podem estar os conidióforos, que detém a função de produzir conídios, esses conídios são esporos assexuais (MICHEREFF, 2001). A presença desses esporos numa área produtora de batata-doce, pode ocasionar maior disseminação da doença. Portanto, é de suma importância pesquisas relacionadas com epidemiologia da doença, a fim de realizar um manejo adequado.

O fungo *Diaporthe* spp é habitante do solo, e na presença da planta de batata-doce, que é um hospedeiro suscetível, afeta primeiramente as raízes, formando cancro de coloração marrom escuro, na região do colo da planta, bem como abaixo da linha do solo e nas raízes (EMBRAPA, 2021). Em infecções severas, progride para o anelamento da haste e interrompe a absorção de água e nutrientes através dos vasos condutores. Dessa forma, ocorre amarelecimento das folhas, murcha e morte da planta. É importante ressaltar que, se a planta desenvolver raízes suficientes através dos nós localizados acima da infecção, não ocorre a morte da planta (EMBRAPA, 2021).

O mal-do-pé da batata doce pode ocorrer em áreas de produção, formando reboleiras (ALMEIDA, 2018), bem como pode ser ocasionada durante a pós-colheita afetando as túberas (EMBRAPA, 2021), gerando perdas produtivas significativas ao produtor. O triângulo fundamental da doença é composto pelo hospedeiro suscetível, o patógeno e o ambiente, esses três fatores estão interligados, e podem promover ou impedir o desenvolvimento da doença na área. Quando o patógeno é estabelecido na área é necessário utilizar métodos de manejo objetivando minimizar essa problemática, o controle biológico é um dos métodos mais eficientes, pois, o antagonista atua impedindo ou reduzindo a ação do patógeno (AMORIM et al., 2018).

A interação dos microrganismos leveduriformes com plantas, é conhecida como simbiose. No que tange às leveduras endofíticas ocorre o mutualismo, ocasionando benefícios para ambos os lados. A planta funciona como um habitat para as leveduras e as leveduras podem propiciar uma defesa contra-ataques de patógenos, através do biocontrole. A presença dos fungos leveduriformes nas plantas, além de ser um potencial

para diminuir ou reduzir a ação do fitopatógeno, tem a possibilidade de promover mudanças fisiológicas na planta hospedeira (ZAMBOLIM *et al.*, 2014; LUNA, 2018). É importante compreender a interação do hospedeiro-patógeno-antagonista, a fim de estabelecer um manejo eficiente da doença.

O mal-do-pé da batata-doce é uma patologia que ainda necessita de pesquisas aprofundadas que visam diminuir os impactos negativos gerados na produção de batata-doce. Isso porque devido às características do fungo, como a capacidade de formar picnídios, promovendo assim o aumento do inóculo na área. Além disso, devido a diversidade de espécies do gênero *Diaporthe* nos quais apresentam os sintomas característicos do mal-do-pé, dificultam medidas de controle, como a rotação de culturas e resistência genética. Existem algumas cultivares resistentes, devido à alta diversidade genética da cultura, as variedades UFRPE 1-88, CR71, CO Branca e RC são classificadas como resistentes a *P. destruens*, as cultivares Princesa e variedade Rainha Branca como moderadamente resistentes (EMBRAPA, 2021). No entanto, diante da diversidade de *Diaporthe* spp esse método torna-se pouco eficiente.

Ainda não existe um fungicida registrado do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento -MAPA (AGROFIT, 2022) para o controle dessa doença. Portanto, a utilização de leveduras com potencial biocontrolador torna-se importante para atingir um controle eficiente. A análise de mudanças fisiológicas da planta de batata-doce na presença de leveduras, pode contribuir, também, para a formação de um controle eficaz dessa fitopatologia.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Geral

Caracterizar as interações fisiológicas existentes entre leveduras biocontroladoras, utilizadas no controle de *Diaporthe* spp, e plantas de batata-doce.

### 2.2. Específicos

- Preservação e depósito de isolados de *Diaporthe* spp, e leveduras, nas Micotecas URM
- UFPE e “Profª Maria Menezes” - UFRPE;
- Avaliação de caracteres fisiológicos das plantas de batata-doce, após o uso apenas das leveduras;
- Análise de caracteres fisiológicos das plantas de batata-doce, após o uso das leveduras e inoculação do patógeno;
- Avaliação de caracteres fisiológicos das plantas de batata-doce, após inoculação do patógeno;
- Determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com leveduras, para melhor enraizamento e proteção das mudas;
- Detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis;
- Determinação de produção de compostos antifúngicos livres de células da levedura;
- Detecção da competição por nutrientes entre a levedura e o fitopatógeno;
- Avaliação da produção de compostos voláteis pela levedura.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Preservação e depósito de isolados de *Diaporthe* spp, e leveduras

Os isolados de leveduras e *Diaporthe* spp., que foram utilizados nos ensaios, foram disponibilizados pela Coleção Micológica do Laboratório de Fungos do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco – CFS LAFSOL.

Os isolados de leveduras foram cultivados *in vitro* e preservados pelo método de Castellani (2 tubos/isolados), com auxílio de uma alça de semeio, foi colocado a colônia de leveduras em microtubos criogênicos (2ml), contendo água destilada esterilizada (CASTELLANI, 1963). Foi também preservado em óleo mineral, em microtubos de (5ml) contendo meio Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YEPD+ágar), as leveduras foram semeadas sobre o YEDP, após isso o óleo mineral foi colocado. A partir das preservações, foi possível repicar e purificar as leveduras em placas de petri, contendo meio YEPD. Foram utilizadas 2 placas para cada isolado, avaliando-as durante 7 dias. Na presença de contaminantes realizou-se a purificação.

Os isolados de *Diaporthe spp* foram cultivados *in vitro*, purificados e mantidos pelo método de culturas periódicas. Foram preservados em microtubos criogênicos (2ml), contendo disco de crescimento micelial em meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e água destilada esterilizada, através do método de Castellani (2 tubos/isolados), mantendo-se a disposição para testes subsequentes (CASTELLANI, 1963). Foram também, preservados em óleo mineral (2 tubos/isolados). Através da preservação foi possível repicar e purificar os isolados patogênicos. Foi depositado 1 disco (aproximadamente 5mm) de micélio, com auxílio de alça de semeio, em placas de petri contendo meio BDA. Foram utilizadas 2 placas para cada isolado, avaliando-as durante 7 dias. Na presença de contaminantes realizou-se a purificação.

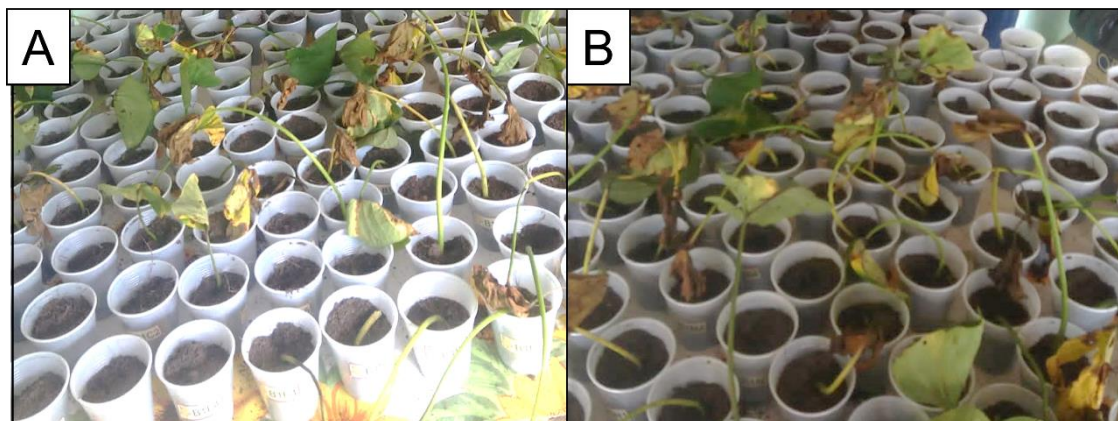
Todos os isolados obtidos foram depositados na Micoteca URM, da Universidade Federal de Pernambuco e na Coleção de Culturas de Fungos de Solo - CFS da Universidade Federal Rural de Pernambuco, permanecendo preservados e disponíveis para outras pesquisas, quando solicitados.

#### 3.2. Determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com leveduras, para melhor enraizamento e proteção das mudas

Para determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com leveduras, foram utilizadas mudas provenientes de material propagativo de plantas sadias de batata-doce. Esse material foi imerso em suspensão de leveduras, na concentração de  $1 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ . Os tratamentos utilizados foram compostos por plantas imersas na suspensão de leveduras, durante 72 horas; 48 horas imersas em ADE e 24 horas na suspensão de leveduras; 24 horas imersas em ADE e 48 horas em suspensão de leveduras; e 72 horas imersas em ADE, sendo este o controle positivo (com patógeno).

O experimento foi conduzido em blocos inteiramente casualizados, com uma levedura, cinco isolados patogênicos e 5 repetições para cada tratamento.

**Figura 1.** Ramas plantadas em copos descartáveis de plásticos de 500ml, contendo substrato (Basaplant®) previamente autoclavado. A. Presença de copos plásticos, apenas com o substrato, devido à perda de rampas por apodrecimento. B. Ramas apresentando sintomas de amarelecimento e murcha das folhas.



No entanto, o experimento não pode ser concluído devido ao apodrecimento das mudas, que foi influenciado pelo tempo de imersão das rammas na imersão em suspensão de levedura (FIG. 1.) Assim, o experimento foi refeito, mantendo-se a metodologia, porém, diferenciando o tempo de imersão nos tratamentos. Dessa forma, as plantas foram imersas na suspensão de leveduras, na concentração de  $1 \times 10^6$  células. $\text{ml}^{-1}$ . Seguindo os seguintes tratamentos: As rammas sadias de batata-doce foram imersas na suspensão de levedura durante 24 horas, e 48 horas em água destilada esterilizada (ADE); rammas imersas em suspensão de leveduras durante 36 horas, e 36 horas em ADE; e rammas imersas durante 48 horas em suspensão de levedura, e 24 horas em ADE. O experimento foi conduzido em blocos inteiramente casualizados, com uma levedura, cinco isolados patogênicos e oito repetições para cada tratamento.

Para a avaliação da influência do tempo de imersão do material de propagação na proteção da planta, as rammas foram transplantadas para copos plásticos de 300ml,

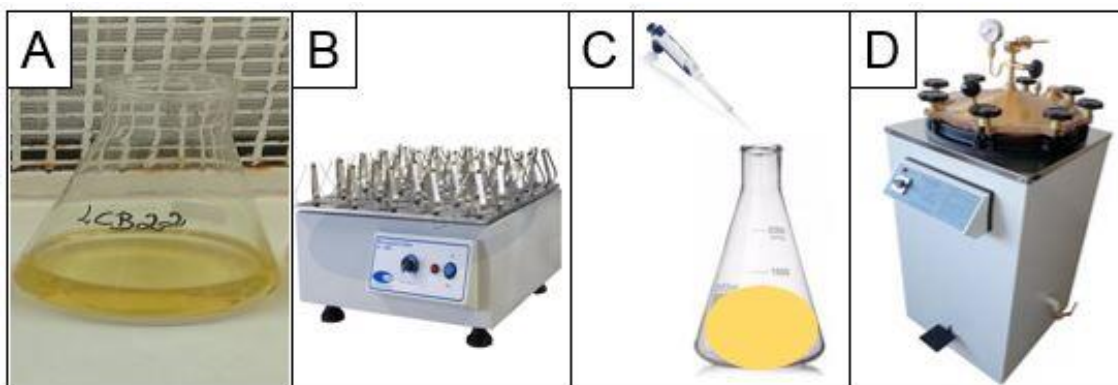
contendo substrato (Basaplant®) previamente autoclavado, a 120 rpm por 1 hora, sendo esse processo realizado 2 vezes. Os isolados de *Diaporthe* spp. foram cultivados por 10 dias, em placa de Petri com meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), a temperatura de  $25\pm 2^\circ\text{C}$  e inoculados em dois pontos, na região basal da planta e no caule, entre o terceiro e quarto entrenó, através do método de discos. Os discos de meio BDA, com crescimento micelial do patógeno e diâmetro aproximado de 5 mm, foram depositados sobre micro furos ( $\varnothing$  2 mm) realizados com auxílio de agulha hipodérmica. Após o acondicionamento do disco sobre a região perfurada, foi fixado com fita crepe. As plantas permaneceram em câmara úmida durante 48 horas. As avaliações iniciaram-se após decorridas 24 horas da retirada da câmara úmida. As avaliações foram feitas a cada 48 horas durante oito dias.

Os dados obtidos através da aferição do diâmetro da lesão, foram utilizados para calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software STATISTIX v. 9.0.

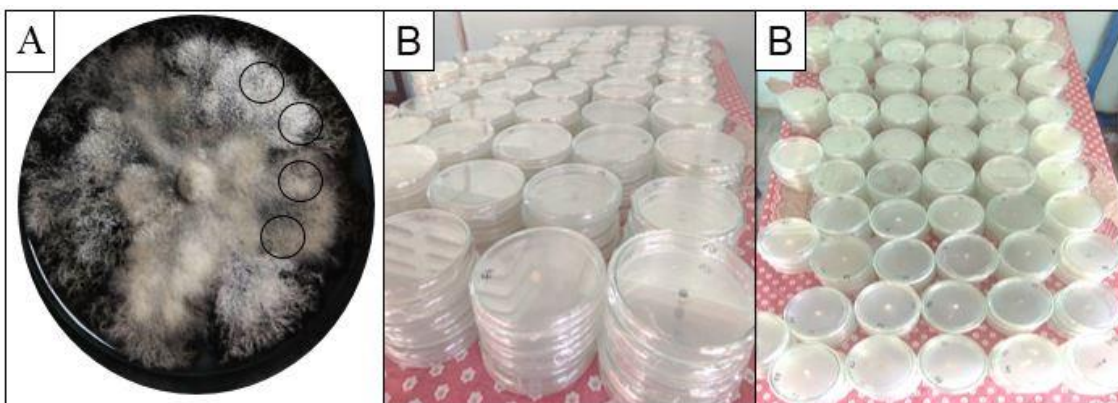
### 3.3. Detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis

Para a produção dos compostos antifúngicos termoestáveis, a levedura foi cultivada em 50 ml de meio YEPD líquido, em frasco do tipo Erlenmeyer (250ml) (FIG. 2A.), sob agitação constante em máquina agitadora (FIG. 2B.), por um período de 72 horas, no escuro. Após o período de incubação, uma alíquota de 10 ml da suspensão na concentração de  $1 \times 10^6$  células. $\text{ml}^{-1}$  de leveduras foi transferida para outro frasco do tipo Erlenmeyer, contendo 90 ml de meio BDA (FIG. 2C.). Em seguida, realizou-se a esterilização através da autoclave, a  $121^\circ\text{C}$ , por 20 minutos (FIG. 2D.). Após a autoclavagem, o meio foi vertido em placas de Petri. Após a solidificação do meio, depositou-se um disco de aproximadamente 5mm de diâmetro, contendo crescimento micelial do patógeno (FIG. 3A). O tratamento controle corresponde ao patógeno crescido sobre o meio BDA. As culturas foram incubadas a  $27\pm 2^\circ\text{C}$ , durante sete dias (FIG. 3B), e a avaliação será efetuada através da medição do diâmetro, sendo calculada, posteriormente, a Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial do patógeno.

**Figura 2.** Esquema metodológico para a detecção de produção de compostos antifúngicos de compostos termoestáveis. A. Levedura LCB22 cultivada em 50 l de meio YEPD líquido, em Erlenmeyer de 250ml. B. Máquina agitadora, em que a levedura permaneceu por 72 horas no escuro. C. Alíquota de 10 ml da suspensão de leveduras foi transferida para outro frasco do tipo Erlenmeyer, contendo 90 ml de meio BDA. D. Autoclave utilizada para esterilização.



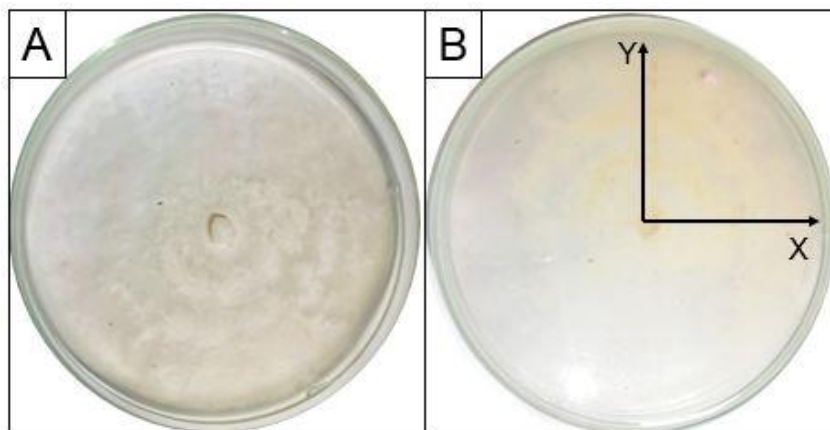
**Figura 3.** A. Esquema de fragmentos de discos, do Fungo *Diaporthe* spp, crescido em placa de petri. B. C. Os discos com crescimento micelial dos patógenos foram depositados sobre o meio BDA, tratado com suspensão de leveduras.



O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, durante 3 dias. A medição dos diâmetros das colônias foi realizada nos dois sentidos, perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento a média dos dois eixos (FIG 4B.). Dessa forma, foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial-IVCM, ( $\text{mm dia}^{-1}$ ) e a porcentagem de crescimento micelial – PIC (%), através das equações:  $\text{IVCM} = \frac{\sum c_f - c_i}{t}$   $\text{PIC} = \frac{C_c - C_f}{C_c} * 100$  Onde:  $C_i$  = crescimento inicial,  $C_f$  = crescimento final,  $C_c$  = Crescimento final tratamento controle e  $t$  = intervalo de avaliação. Os resultados obtidos de IVCM e PIC foram submetidos à análise de variância e as médias

dos tratamentos comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, sendo utilizado o software STATISTIX v. 9.0.

**Figura 4.** Avaliação do experimento de detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis. A. Visão frontal da placa de Petri. B. Medição dos eixos horizontal e vertical.



#### 3.4. Determinação de produção de compostos antifúngicos livres de células da levedura

Para realização da determinação da produção de compostos antifúngicos, foram transferidos para frascos do tipo Erlenmeyer 50 mL de suspensão de leveduras com meio YEPD, sendo incubados sob agitação constante (150 rpm), em mesa agitadora, por 72 horas no escuro. Após o período de incubação, realizou-se a filtração da suspensão em papel filtro (Whatman no 4) e em membrana Millipore®, com o intuito de eliminar as células de leveduras do meio líquido (adaptação de Frighetto e Melo, 1995). Após a filtração, alíquotas de 10 mL do meio foram transferidas para frascos contendo 90 mL de meio BDA, em ponto de fundir. Após homogeneizado, o meio foi vertido em placas de Petri e, após solubilização total, foi repicado um disco de 5 mm de diâmetro, contendo crescimento micelial do patógeno, para o centro da placa. O controle corresponde ao fitopatógeno cultivado em meio BDA, sem a adição dos filtrados das células. As culturas foram incubadas a  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante sete dias em fotoperíodo de 12h e, a avaliação foi efetuada através da medição do diâmetro médio da colônia do patógeno, calculando, em seguida, a Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo utilizado cinco isolados patogênicos, 1 isolado de levedura, e cinco repetições/tratamento, o tratamento controle foi realizado apenas com o patógeno, sob o meio BDA. Os dados

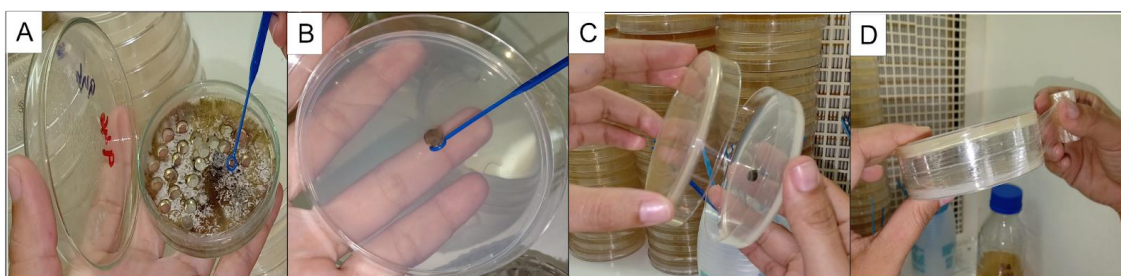
obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, sendo utilizado o software STATISTIX v.

### 3.5. Determinação da avaliação da produção de compostos voláteis pela levedura

Para determinação da avaliação *in vitro* do efeito de compostos voláteis da levedura sobre o patógeno, foi realizada com a sobreposição de dois fundos de placa de Petri, um com patógeno cultivado em meio BDA (batata, dextrose e ágar) e o outro com levedura em meio YEPD (extrato de levedura, peptona, dextrose e ágar).

No tratamento controle, o patógeno foi cultivado sobre BDA, na ausência de leveduras. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, durante 3 dias. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado - DIC, com três repetições/tratamento.

**Figura 5.** A. Isolado de *Diaporthe* spp. em placa de petri, fragmentado em discos ( 0,5mm). B. Deposição do disco com crescimento micelial do patógeno. C. Placas de Petri contendo YEPD, com levedura e BDA com o patógeno. D. Sobreposição das placas de Petri.



## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1. Preservação e depósito de isolados de *Diaporthe* spp, e leveduras

Para os ensaios experimentais, foi escolhido apenas uma levedura (LCB22), proveniente da coleção Micológica do Laboratório de Fungos do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco – CFS LAFSOL. A levedura LCB22, foi isolada a partir de planta sadia de batata-doce, através dos fragmentos do caule. A levedura LCB22, foi

anteriormente analisada, com auxílio de um estereomicroscópio, fazendo-se possível observar suas características morfológicas.

**Tabela 1.** Aspectos morfológicos de leveduras isoladas da batata-doce.

<b>Isolado</b>	<b>Cor</b>	<b>Textura</b>	<b>Forma</b>	<b>Borda</b>	<b>Superfície</b>	<b>Tamanho*</b>
LCB22	Branca	Brilhosa	Circular	Redonda	Convexa	Médio

\*Pequeno (<2mm); Médio (2 – 5 mm); Grande (>5 mm)

Existem expressivos resultados referente a levedura LCB22, em experimento de cultivo em conjunto *in vitro*, relacionado com a Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial- PIC, esse ensaio foi conduzido com cinco leveduras, sobre cinco isolados patogênicos, constando (25 tratamentos + controle) e 5 repetições, utilizando o delineamento inteiramente casualizado (BARROS, 2021).

As leveduras foram semeadas em meio batata-dextrose-ágar -BDA, e sobre a área de semeio foi depositado um disco, de aproximadamente 5mm contendo estrutura micelial, as análises estatísticas mostraram que dentre as leveduras utilizadas, o isolado LCB22 atingiu o maior valor de PIC em 74,3%. Além disso, a levedura LCB22 com relação aos cinco isolados patogênicos testados, em quatro deles inibiu 100% do crescimento micelial, e apenas um alcançou 54,03% de PIC (BARROS, 2021). Com base nesses resultados, a levedura LCB22 foi escolhida para proceder com testes *in vivo*, e outros testes *in vitro*.

A levedura LCB22 foi retirada da preservação em microtubos criogênicos (2mL), contendo água destilada esterilizada -ADE, com auxílio de uma alça de semeio, semeou-se a suspensão da levedura em placa de petri, contendo meio de cultura Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YEPD+ágar). Após o desenvolvimento da colônia, a levedura foi utilizada nos experimentos *in vivo* de imersão das plantas em suspensão com leveduras, o no teste *in vitro* de detecção de compostos antifúngicos termoestáveis.

Os isolados patogênicos obtidos pela Coleção de Culturas de Fungos de Solo - CFS da Universidade Federal Rural de Pernambuco, foram provenientes de plantas com sintomas do mal-do-pé da batata-doce. O isolamento foi feito a partir do caule, raiz e túbera da planta, através do método indireto de obtenção de isolados fúngicos. A coleta foi realizada em áreas de produção de batata-doce, que apresentaram sintomas da doença, realizando-se nos estados de Alagoas, Paraíba e Pernambuco. O código dos isolados

patogênicos e a descrição do local de origem dos isolados pode ser observado na tabela a seguir.

**Tabela 2.** Descrição e procedência de isolados utilizados nos experimentos *in vivo* de imersão das plantas em suspensão com leveduras, o no teste *in vitro* de detecção de compostos antifúngicos termoestáveis.

Código	Hospedeiro	Parte	Local
CFS 937	Batata-doce	Caule	UFAL – AL
CFS 946	Batata-doce	Raiz	UFAL – AL
CFS 1139	Batata-doce	Túbera	Lucena – PB
CFS 294	Batata-doce	Caule	São Joaquim do Monte - PE
CFS 1061	Batata-doce	Caule	São Joaquim do Monte - PE

\*CFS – Coleção Fungos de Solo

\*\* Banco de germoplasma de batata-doce da UFAL (Universidade Federal de Alagoas)

6.2. Determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com levedura, para melhor enraizamento e proteção das mudas

Para determinação do tempo de imersão das plantas em suspensão com levedura, para melhor enraizamento e proteção das mudas, foram utilizados cinco isolados patogênicos, sendo eles, CFS 294, CFS 937, CFS 946, CFS 1061, CFS 1139, sobre a ação da levedura LCB22, em suspensão na concentração de  $1 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ .

As avaliações foram feitas utilizando-se as médias do diâmetro da lesão, a fim de calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), após as análises de variância, as médias dos tratamentos foram comparadas entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software STATISTIX v. 9.0. A análise de variância referente a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), está expressa na tabela 3, a seguir.

**Tabela 3.** Análise de variância da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença -AACPD. Pelo teste de Tukey, interação fatorial isolado patogênico x tratamento.

Isolado	Tempo de Imersão*			
	Controle	24 horas	36 horas	48 horas
<b>CFS 937</b>	41.543 c	27,148 bB	12,866 abAB	0.0000 aA
<b>CFS 294</b>	20.953 a	15,702 aB	36,453 bB	28,636 abB
<b>CFS 1139</b>	25.234 c	0 aA	12,208 abAB	20,178 bcB
<b>CFS 1061</b>	40.133 b	19.737 aB	23.092 aB	19.194 aB
<b>CFS 946</b>	15.874 b	7.5175 abAB	0 aA	19.873 bB
C.V (%)				25,17

\*Média de três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

A análise estatística indicou que houve interação fatorial entre os isolados patogênicos com os tempos de imersão das ramas na suspensão de leveduras. Não houve surgimento de sintomas nas mudas inoculadas com os isolados CFS 1139, em 24 horas de imersão; e no isolado CFS 946, em 36 horas de imersão; e no isolado CFS 937 em 48 horas de imersão.

Portanto, para o isolado CFS 1139 (FIG. 5.), o tratamento realizado com 24 horas de imersão na suspensão de levedura e 48 horas em água destilada esterelizada -ADE, foi eficiente em promover o biocontrole da doença da muda (FIG. 6.). Entretanto, no tempo 36 horas de imersão, houve desenvolvimento de sintomas (FIG. 7.), bem como, no tratamento 48 horas de imersão. (FIG. 8.).

**Figura 6.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1139, no tratamento controle.



**Figura 7.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1139, no tratamento 24 horas em suspensão da levedura LCB22 e 48 horas em ADE.



**Figura 8.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1139, no tratamento 36 horas em suspensão da levedura LCB22 e 36 horas em ADE.



**Figura 9.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1139, no tratamento 48 horas em suspensão da levedura LCB22 e 24 horas em ADE.



Para o isolado CFS 946 (FIG. 9.), o tratamento feito com imersão na suspensão de leveduras durante 36 horas, e 36 horas em ADE, foi eficiente em impedir o

desenvolvimento da doença na muda (FIG. 11.). No entanto, o tempo de 24 horas de imersão não foi suficiente para impedir o desenvolvimento da lesão (FIG.10.), como também no tempo 48 horas de imersão (FIG. 12.). Assim, para o isolado CFS 946, o tempo adequado de imersão das plantas na suspensão de leveduras, para proteção das mudas, equivale a 36 horas, e 36 horas em ADE.

**Figura 10.** Planta inoculada com o patógeno CFS 946, no tratamento controle.



**Figura 11.** Planta inoculada com o patógeno CFS 946, no tratamento 24 horas em suspensão da levedura LCB22 e 48 horas em ADE.



**Figura 12.** Planta inoculada com o patógeno CFS 946, no tratamento 36 horas em suspensão da levedura LCB22 e 36 horas em ADE.



**Figura 13.** Planta inoculada com o patógeno CFS 946, no tratamento 48 horas em suspensão da levedura LCB22 e 24 horas em ADE.



Para o isolado CFS 937 (FIG. 13.), o melhor tempo de imersão na suspensão de levedura foi após as 48 horas, e 24 horas em ADE, nesse tratamento, a AACPD foi de  $0\text{mm}^2$ , dessa forma, não houve desenvolvimento do sintoma da doença na planta (FIG. 16.). Nas mudas inoculadas com esse patógeno, foi possível observar que, a AACPD do tratamento controle atingiu  $41,54\text{mm}^2$ , sendo ele o maior valor da AACPD (FIG. 13). Nas 24 horas de imersão o valor médio de AACPD foi de  $27,17\text{mm}^2$  (FIG. 14.); e após as 36 horas a AACPD foi em média de  $12,86\text{mm}^2$  (FIG. 15.). Com base nisso, o maior tempo em que as mudas permaneceram imersas na suspensão de levedura, promoveu o melhor desempenho da levedura LCB22, sobre o patógeno CFS 937.

**Figura 14.** Planta inoculada com o patógeno CFS 937, no tratamento controle.



**Figura 15.** Planta inoculada com o patógeno CFS 937, no tratamento 24 horas em suspensão da levedura LCB22 e 48 horas em ADE.



**Figura 16.** Planta inoculada com o patógeno CFS 937, no tratamento 36 horas em suspensão da levedura LCB22 e 36 horas em ADE.



**Figura 17.** Planta inoculada com o patógeno CFS 937, no tratamento 48 horas em suspensão da levedura LCB22 e 24 horas em ADE.



As mudas inoculadas com o isolado CFS 294, não obtiveram sucesso no biocontrole, em todos os tempos de imersão testados. O tratamento controle atingiu a AACPD de  $20,95\text{mm}^2$  (FIG. 17). Em 24 horas de imersão atingiu um valor médio da AACPD de  $15,7\text{mm}^2$  (FIG. 18.), em 36 horas de imersão a AACPD foi de  $36,4\text{mm}^2$  (FIG. 19.), e em 48 horas das ramas na imersão, houve crescimento de  $28,6\text{mm}^2$  (FIG. 20.)

**Figura 18.** Planta inoculada com o patógeno CFS 294, no tratamento controle.



**Figura 19.** Planta inoculada com o patógeno CFS 294, no tratamento 24 horas em suspensão da levedura LCB22 e 48 horas em ADE.



**Figura 20.** Planta inoculada com o patógeno CFS 294, no tratamento 36 horas em suspensão da levedura LCB22 e 36 horas em ADE.



**Figura 21.** Planta inoculada com o patógeno CFS 294, no tratamento 48 horas em suspensão da levedura LCB22 e 24 horas em ADE.

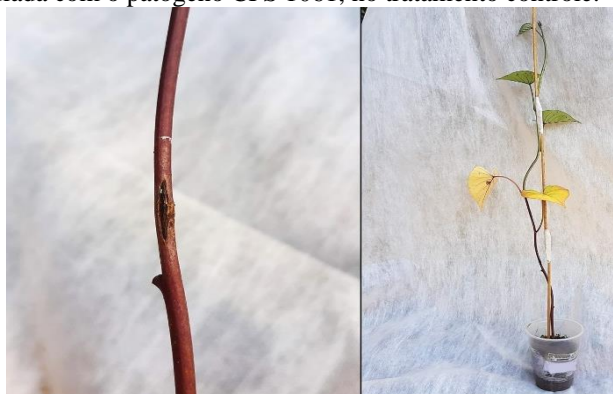


Nas mudas inoculadas com o isolado CFS 1061, houve redução do desenvolvimento do sintoma da doença. No tratamento controle, a AACPD alcançou um valor médio de  $40,13\text{mm}^2$  (FIG. 21.); no tempo 24 horas de imersão, o valor médio da AACPD reduziu para  $19,73\text{mm}^2$  (FIG. 22.); no tempo de 36 horas de imersão o valor médio da AACPD foi de  $23,09\text{mm}^2$  (FIG. 23.); e no tempo 48 horas de imersão, a AACPD

foi de 19,19mm<sup>2</sup> (FIG. 24.). Baseado nesses resultados, pode-se concluir que a levedura LCB22 reduziu o crescimento da lesão em todos os tempos avaliados. No entanto, não foi totalmente eficiente.

Esse resultado pode ser justificado pela interação microbiana no filoplano, a ação da levedura, foi correspondente ao tempo que as plantas permaneceram imersas na suspensão. A colonização e estabelecimento da levedura na planta, pode ter sido influenciado pelo tempo que as raízes se mantiveram em contato com a suspensão de levedura.

**Figura 22.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1061, no tratamento controle.



**Figura 23.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1061, no tratamento 24 horas em suspensão da levedura LCB22 e 48 horas em ADE.



**Figura 24.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1061, no tratamento 36 horas em suspensão da levedura LCB22 e 36 horas em ADE.



**Figura 25.** Planta inoculada com o patógeno CFS 1061, no tratamento 48 horas em suspensão da levedura LCB22 e 24 horas em ADE.



### 6.3. Detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis

Para a detecção de produção de compostos antifúngicos termoestáveis, foi utilizado uma levedura (LCB22) em cinco isolados patogênicos, (CFS 937, CFS 946, CFS 294, CFS 1061, e CFS 1139,). Houve diferenças significativas entre os isolados patogênicos testados (TABELA. 3).

A levedura LCB22, obteve um resultado mais eficiente no patógeno CFS 294, que no qual diferiu significativamente, dos outros patógenos, atingindo 100% na porcentagem de crescimento micelial -PIC (FIG. 25.). A levedura LCB22 inibiu o crescimento do patógeno CFS 294, durante as 72 horas avaliadas, propiciando um retardo de três dias para o desenvolvimento do fungo.

A ação da levedura LCB22 sobre o patógeno CFS 1061, foi eficaz em promover inibição do crescimento micelial em 39,95%, referente ao valor mediano entre as repetições (GRÁFICO. 1). Além disso, o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial -IVCM, também foi avaliado, e o patógeno iniciou seu crescimento, após as primeiras 24 horas. Com isso, pode-se afirmar que os compostos termoestáveis produzidos pela levedura LCB22 promoveu retardo para o início do crescimento fúngico.

Os isolados CFS 937, CFS 946, e CFS 1139, não obtiveram diferenças significativas entre si, os valores médios de PIC%, variaram entre 0 e 4,20% (TABELA. 3). Esses três isolados patogênicos cresceram desde as primeiras 24 horas após a montagem do experimento. Esse resultado está associado com o fato que a levedura LCB22 possui ações distintas, em diferentes patógenos. Portanto, para os isolados CFS 937, CFS 946, e CFS 1139, a levedura LCB22, produziu compostos não eficientes e/ou insuficiente para inibir o desenvolvimento do patógeno.

Conclui-se que, dos cinco isolados patogênicos, dois (CFS 294, e CFS 1061), responderam positivamente a ação dos compostos antifúngicos termoestáveis, produzido pela levedura LCB22. A presença desses compostos foi analisada após a esterilização, através de uma autoclave, a 121°C, durante 20 minutos. Essa etapa do experimento, objetivou eliminar as células de leveduras, a fim de manter, somente, os compostos produzidos pela levedura, que se manteve estável sob alta temperatura.

O resultado dessa pesquisa, pode contribuir para realização de uma estratégia adequada para o manejo do mal-do-pé da batata-doce. Isso porque, as produções são feitas em locais com temperaturas elevadas. Nesse sentido, a levedura LCB22 torna-se um potencial biocontrolador, pois, produz compostos antifúngicos, capazes de suportar alta temperatura e retardar o crescimento micelial do fungo patogênico.

É sabido que, houve três dias avaliativos no experimento, por esse motivo, pode-se afirmar que a levedura LCB22 retardou o crescimento do patógeno CFS 294, durante as 72 horas avaliadas. No patógeno CFS 1061, a levedura retardou o crescimento, nas primeiras 24 horas, e promoveu redução em seu desenvolvimento.

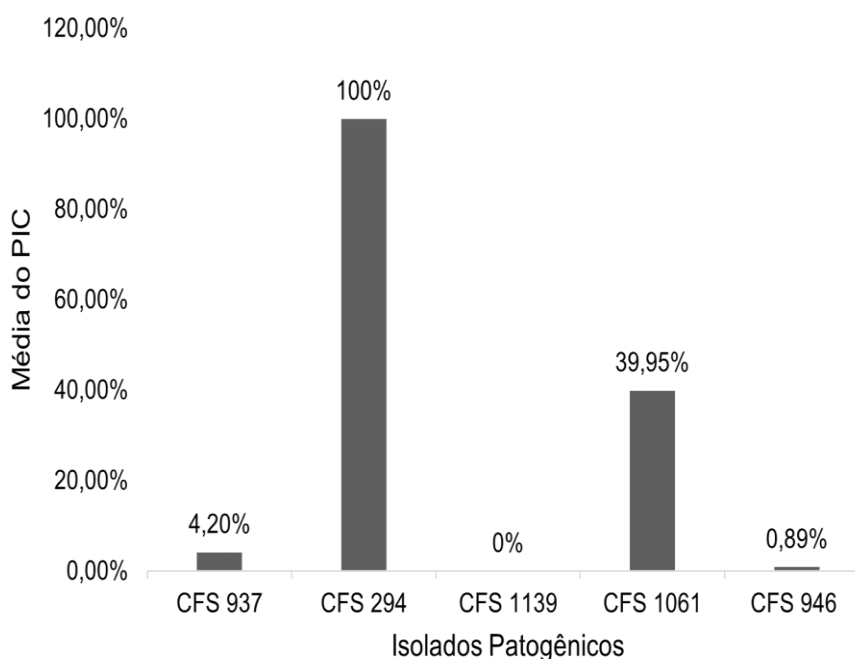
**Tabela 4.** Resultado da análise estatística através do software STATISTIX v. 9.0. Teste de Levene nos isolados patogênico testado.

Isolado	Média*
CFS 294	100 a
CFS 1061	39,95 b
CFS 937	4,20 c
CFS 946	0,89 c
CFS 1139	0 c

CV(%) = 15,27

\*Média de cinco repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Figura 26.** Gráfico da Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial -PIC, dos isolados CFS 937, CFS 294, CFS 298, CFS 1061, e CFS 946, sobre a levedura LCB22.



#### 6.4. Determinação de produção de compostos antifúngicos livres de células da levedura

Para a determinação de produção de compostos antifúngicos livres de células da levedura que atuaram na inibição do crescimento micelial dos isolados patogênicos, os resultados de análise de variância mostraram que não houve diferença significativa teste ( $F: > 0,05$ ) na porcentagem de inibição de crescimento micelial dos patógenos, indicando que a produção de compostos livres de célula de levedura não controlou de maneira distinta os diferentes patógenos do ma-do-pé da batata-doce.

Os isolados CFS 937 e CFS 294 apresentaram -1,41 % e -17,30 respectivamente de PIC. O isolado CFS 1139 apresentou 0% de porcentagem de inibição de crescimento micelial, ou seja, o patógeno cresceu 100% na placa de petri. Os isolados CFS 1061 e CFS 946 apresentaram 5,36% e 8,72% respectivamente de PIC.

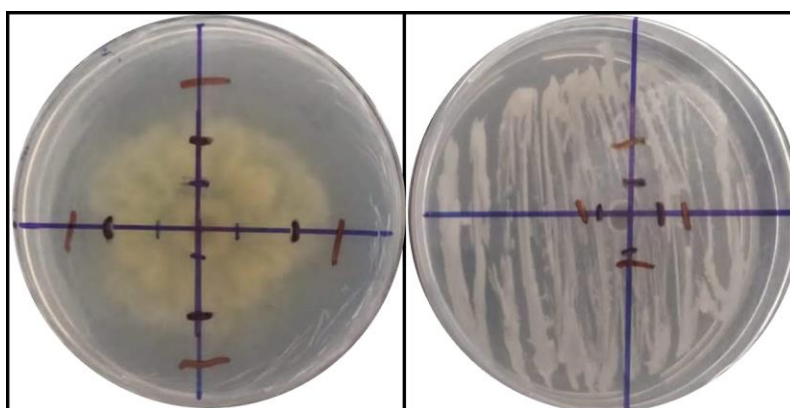
O teste realizado mostrou que o controle dos patógenos não foi através da ação de compostos livres de células da levedura, indicando que há ação de outro mecanismo que media a ação do biocontrolador no patógeno. A ação dos compostos pode ocorrer de forma sinérgica à presença do antagonista, sendo assim uma interação entre os mecanismos.

#### 6.5. Determinação da avaliação da produção de compostos voláteis pela levedura

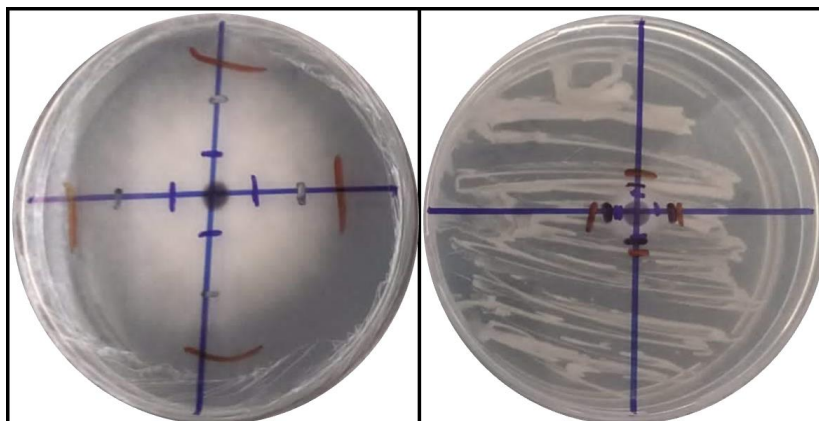
A levedura LCB22 produziu compostos voláteis que atuaram na inibição do crescimento micelial dos isolados patogênicos CFS 937, CFS 294, CFS1139, CFS1061, CFS 946. Os isolados CFS 1139, CFS 1061 e CFS 937 apresentaram valores superiores a 60% de inibição de crescimento micelial, já os isolados CFS 294 e CFS 946 foram 30,13% e 46,59% respectivamente.

O potencial médio de biocontrole variou entre 30,13% e 65,46%, atestando a possibilidade da ação de compostos voláteis no controle dos agentes causais do mal-do-pé da batata-doce, podendo estes compostos serem mais estudados e utilizados como uma alternativa viável no manejo integrado do mal- do-pé da batata-doce.

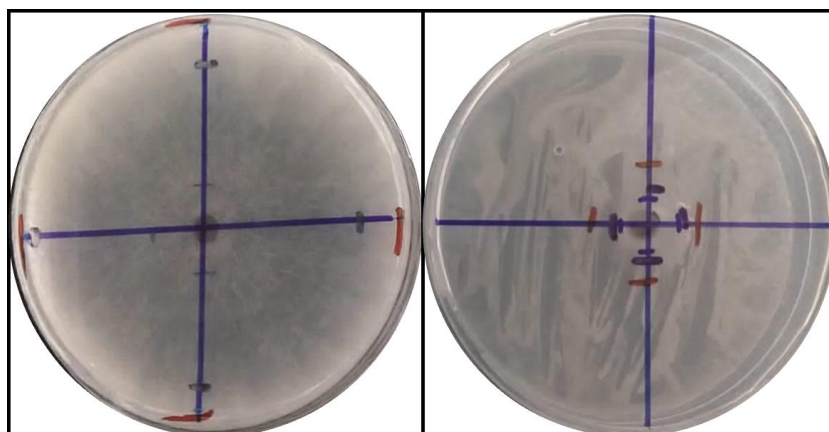
**Figura 27.** Isolado CFS 1139. A. Isolado controle. B. Cultivo sobreposto do isolado 1139 e a levedura LCB22.



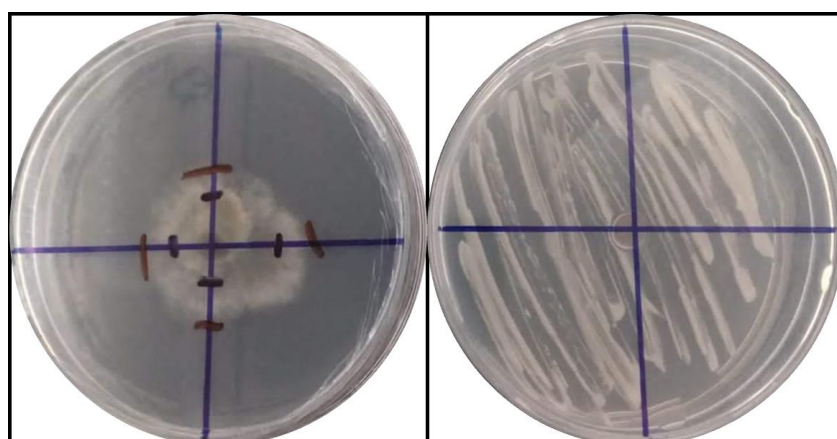
**Figura 28.** Isolado CFS 1061. A. Isolado controle. B. Cultivo sobreposto do isolado 1061 e a levedura LCB22.



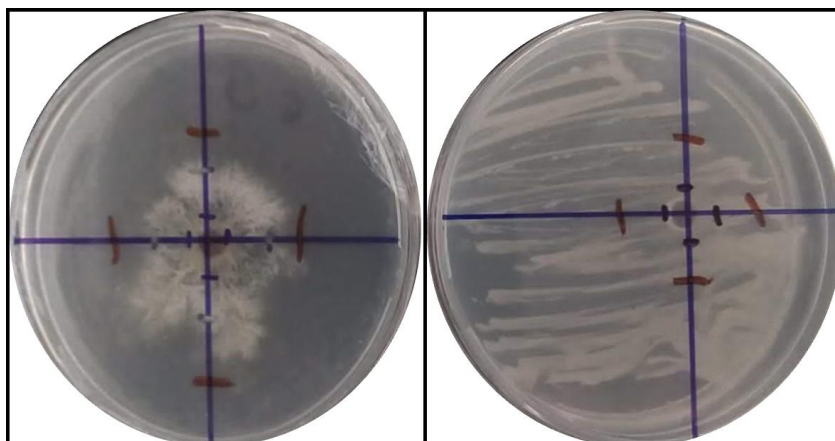
**Figura 29.** Isolado CFS 937. A. Isolado controle. B. Cultivo sobreposto do isolado 937 e a levedura LCB22.



**Figura 30.** Isolado CFS 294. A. Isolado controle. B. Cultivo sobreposto do isolado 294 e a levedura LCB22.



**Figura 31.** Isolado CFS 946. A. Isolado controle. B. Cultivo sobreposto do isolado 946 e a levedura LCB22.



## 7. CONCLUSÕES

A levedura LCB22 é um microrganismo que atua potencialmente na redução do crescimento micelial *in vitro*, do agente causal do mal-do-pé da batata-doce. Um dos fatores responsáveis pelo bom desenvolvimento desta levedura é a capacidade de produzir compostos termoestáveis.

A levedura LCB22, sob a diversidade de isolados patogênicos, comporta-se de maneira distinta, isso está diretamente relacionado com os seus mecanismos de defesa e biocontrole.

O tempo adequado de imersão das plantas em suspensão, para garantir proteção das mudas e impedir o desenvolvimento do patógeno, é variável, uma vez que há interação entre o isolado patogênico e o biocontrolador.

A levedura LCB22, atuou com eficiência no biocontrole dos isolados patogênicos testados, nos experimentos *in vitro*, e *in vivo*. No entanto, houve diferença de inibição e/ou redução micelial entre os patógenos.

Portanto, a levedura utilizou mecanismos de ação distintos, nas diferentes situações, no teste *in vitro* produziu compostos termoestáveis. No teste *in vivo*, a levedura promoveu resultados positivos de acordo com o tempo que as mudas permaneceram na suspensão de levedura.

O teste de detecção de compostos antifúngicos livres de células da levedura mostrou que o controle dos patógenos não foi através desse mecanismo, que a levedura biocontrolou o isolado patogênico.

A levedura LCB22, produziu compostos voláteis para inibição do crescimento micelial dos patógenos, destacando-se os isolados CFS 1139, CFS 1061 e CFS 937 que apresentaram valores superiores a 60% de PIC.

## 8. BIBLIOGRAFIA

AGROFIT. Disponível em: site. [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Consultado em 08 FEV. 2022.

ALMEIDA, T.R.P; COELHO, I.L; VASCONCELOS, L.S.B; PONTES, M.A; VIEIRA, W.A.S; CÂMARA, M.P.S; DOYLE, V.P; LARANJEIRA, D. First report of *Diaporthe kongii* causing foot rot on Sweet Potato in Brazil. **Plant Disease**, American Phytopathological Society (APS Press) St. Paul USA, v. 104, n.1, p.284, 2020.

ALMEIDA, THAÍS REGINA PINTINO DE. **Atividade biocontroladora de *Trichoderma spp.* e de leveduras sobre *Diaporthe destruens***. 2018. 74 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

AMORIM, L; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L.E.A; REZENDE, J.A.M. (eds) **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 5.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2. p. 772, 2016.

AMORIM, L; BERGAMIN FILHO, A; REZENDE, J.A.M. (eds) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1. p. 573, 2016;

BARROS, L. R. A.; ALMEIDA, T. R. P. ; SILVA, E. F. M. ; FERREIRA, O. F. G. ; LARANJEIRA, D. . Seleção de leveduras biocontroladoras ao mal-do-pé da batata-doce. 2021.

CASTELLANI, A. The “water cultivation” of pathogenic fungi. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Michigan, v.66, p.283-286, 1963.

EMBRAPA. Sistema de Produção de Batata-Doce. **Embrapa Hortaliças**, [s. l.], 1 fev. 2021. Disponível em: [https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistemasdeproducaolf6\\_1galceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaProducaoId=10301&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicoId=11906](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1galceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=10301&p_r_p_-996514994_topicoId=11906). Acesso em: 14 fev. 2022.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: site. <http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=557213> Consultado em 08 FEV. 2022.

LUNA, E. P. I. Endophytic Yeast and Hosts: A Mutualistic Association Friendly to the Environment. United Kingdom, **Intech Open** (2017) 169-188. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.70326>

MICHEREFF, S J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 150, 2001.

MONTES, S. M. N. Como plantar batata-doce. Globo rural, 2017. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/vida-na-fazenda/como-plantar/noticia/2017/02/como-plantar-batata-doce.html>. Acesso em: 09, Fev. 2022.

PEREIRA, R. R.; FERNANDES, F. R.; PINHEIRO, J. B. **Recomendações para manejo da podridão-do-pé em batata-doce**. Brasília, DF: Embrapa-CNPQ, dezembro, 2011. 5 p. (Comunicado técnico / Embrapa Hortaliças, ISSN 1414.9850; 79).

ZAMBOLIM, L; JESUS JÚNIOR, W.C; RODRIGUES, F.A. (eds) **O essencial da fitopatologia: controle de doenças de plantas**. Viçosa – MG: Editora UFV, p. 179-180, 2014.