

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**IRENE BISPO DOS SANTOS**

**POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DA PODRIDÃO  
NEGRA (*Neoscytalidium sp.* e *Lasiodiplodia spp.*) E SECA  
(*Fusarium sp.*) NA CULTURA DA MANDIOCA**

**CRUZ DAS ALMAS, BAHIA**

**2023**

IRENE BISPO DOS SANTOS

**POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DA PODRIDÃO  
NEGRA (*Neoscytalidium sp.* e *Lasiodiplodia sp.*) E SECA (*Fusarium  
sp*) NA CULTURA DA MANDIOCA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido  
ao Colegiado de Agronomia do Centro de  
Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas  
da Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia como requisito parcial para obtenção  
do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Leilane Silveira D'Ávila

Coorientador 1: Saulo Alves Santos de Oliveira

Coorientadora 2: Cíntia Paula Feitosa Souza

**CRUZ DAS ALMAS, BAHIA**

**2023**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE**  
**CONCLUSÃO DE CURSO DE IRENE BISPO DOS SANTOS**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leilane Silveira D'Ávila

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (Orientadora)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rafaela Simão Abrahão Nóbrega

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Msc. Jamily Almeida de Jesus

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**OUTUBRO – 2023**


IRENE BISPO DOS SANTOS

**POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DA PODRIDÃO  
NEGRA (*Neoscytalidium sp.* e *Lasiodiplodia sp.*) E SECA (*Fusarium  
sp.*) NA CULTURA DA MANDIOCA**

Trabalho de conclusão de curso (TCC)  
apresentado ao colegiado de agronomia,  
da Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia, como parte dos requisitos  
necessários à obtenção do título de  
bacharel em engenharia Agrônômica.


Cruz das Almas- BA, 20 de outubro de 2023.

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **LEILANE SILVEIRA D'AVILA**  
Data: 01/11/2023 16:40:42-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

**Prof. Dr<sup>a</sup>. Leilane Silveira D'Ávila**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Documento assinado digitalmente  
 **RAFAELA SIMÃO ABRAHAO NOBREGA**  
Data: 01/11/2023 15:14:23-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr<sup>a</sup>. Rafaela Simão Abrahão Nóbrega**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Documento assinado digitalmente  
 **JAMILY ALMEIDA DE JESUS**  
Data: 01/11/2023 06:24:25-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Msc. Jamily Almeida de Jesus**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, sem ele nada seria possível.

A minha família, minha mãe Santildes Bispo dos Santos e meu pai José Amilton Santana Santos, aos meus irmãos Danilo, Bruno e as minhas irmãs e eternas amigas Idejane, Maria Da paz, Sabrina e Ana Maria, vocês são minha força, sinônimo de resiliência.

Mãe obrigada por tudo, por todas as orações, sim mãe, Deus é conosco, obrigada por me apoiar mesmo que doesse, obrigada por me entender, por todas as palavras de conforto, saiba que a sua força me motivou e me motiva todos os dias a continuar, tu és minha inspiração, referência de mulher guerreira que acima de tudo é apaixonada por sua família e tem uma fé inabalável em Deus.

Meus sobrinhos Clara, Isabela, Mikael e Samuel titia é completamente apaixonada por vocês, obrigada por todas as risadas e todo o carinho, vocês foram e sempre serão meu combustível diário.

A Luiz Paulo Patrício por todo Carinho, companheirismo atenção e paciência, você é luz em minha vida, sou muito grata a Deus por ter você. Aos meus amigos de turma que, entre tapas e beijos estamos finalizando mais uma etapa importante em nossas vidas, Clécia Rafaela, Diana Rocha, Jean Costa, Rafael Lima e Rebeca Almeida, vocês entraram em minha vida no início da graduação e estamos finalizando juntos, obrigada por entenderem meu desespero em determinados momentos.

A minha orientadora e confidente Leilane D'Ávila, por todas as oportunidades, paciência e confiança depositada, você inspira muitos alunos assim como eu, tua bondade transborda em suas ações, você foi para além de educadora, feliz de quem tem uma Leilane na vida.

Ao pesquisador Dr. Saulo Oliveira pela oportunidade, confiança e paciência no desenvolvimento dos experimentos, a equipe da mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura, principalmente a Cíntia Paula e Selma, aos famosos ICs, Rodrigo Andrade, Géssica Miranda Leonardo Setubal, gratidão por todos os risos e

conhecimentos compartilhado, Cíntia você entrou em minha vida em tão pouco tempo conseguiu me contagiar com sua alegria e dedicação, obrigada por todas as trocas durante esse tempo que fiquei ao seu lado.

As minhas amigas Luana Falcão e Taise Dantas, obrigada por entenderem minha ausência em momentos especiais, gratidão pelo incentivo e torcida por cada conquista minha.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb), a Embrapa Mandioca e Fruticultura, bem como a Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) pelo apoio institucional e infraestrutura de trabalho, em especial aos técnicos do laboratório de Fitopatologia.

A prefeitura municipal de Barrocas - BA pelo apoio financeiro, gratidão a Jailson Queiroz, ao secretário de agricultura José Alves por todo apoio ao longo desses anos.

Gratidão a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão dessa etapa de minha vida acadêmica, vocês são muito importantes em minha vida, essa conquista é nossa!

## RESUMO

### POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DA PODRIDÃO NEGRA (*Neoscytalidium* sp. e *Lasiodiplodia* sp.) E SECA (*Fusarium* sp) NA CULTURA DA MANDIOCA

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura de grande importância socioeconômica em diversas regiões do mundo. Apesar da sua rusticidade, a cultura é afetada pela incidência de doenças radiculares provocadas por patógenos como o *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp., que, uma vez acometida expressa impactos negativos na produtividade. As rizobactérias podem atuar como agentes de controle biológico tornando-se uma alternativa eficiente para o controle de doenças, assim como promotoras de crescimento em plantas. Portanto, o objetivo deste estudo foi selecionar isolados de rizobactérias, oriundas das raízes de mandioca com potencial para biocontrole da podridão seca e negra da mandioca, bem como avaliar a sua capacidade de promover o crescimento em plantas. Vinte e cinco bactérias foram isoladas de raízes sadias de três plantas de mandioca. A caracterização dos isolados foi realizada conforme a morfologia das colônias, posteriormente submetidas a testes quanto ao potencial de inibição do crescimento micelial *in vitro* dos patógenos causadores da podridão negra (*Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.) e seca (*Fusarium* sp.), bem como quanto ao seu potencial de promover crescimento em plantas. Dos isolados, 44% foram caracterizados como Gram-positivos e 56% Gram-negativos. No que se refere a atividade antagonista *in vitro*, 8% dos isolados inibiram o crescimento micelial do *Fusarium* sp., e do *Lasiodiplodia* sp. as rizobactérias denominadas BAC 4 e 10 apresentaram reduções de 46% a 50% no crescimento *Fusarium* sp., as BACs 4 e 7 reduziram 55,25% e 50,25% do *Lasiodiplodia* sp., 12% dos isolados inibiram o crescimento micelial do *Neoscytalidium* sp., as BACs 4, 7 e 10 expressaram inibição do patógeno de 58%, 57% e 57%, frente ao tratamento controle. As rizobactérias que apresentaram potencial *in vitro* foram testadas *in vivo*, inoculadas na variedade de mandioca BRS Novo Horizonte. Os tratamentos foram denominados na maniva e no substrato, na maniva, foram imersas na solução bacteriana por 5 minutos, e no substrato 20 ml da solução bacteriana foi adicionado na vermiculita, após 30 dias foram realizadas as avaliações. Os resultados obtidos demonstraram que as plantas BAC 3 na ausência do patógeno e incorporadanna maniva apesentou maior altura, cerca de 16,77% em

comparação com a testemunha, a BAC 1 e BAC 2, tanto na ausência, quanto na presença de patógenos não apresentaram aumento significativo. O isolado denominado BAC 3 expressou melhores resultados quando inoculado na maniva e com a ausência dos patógenos, em todos os parâmetros avaliados, caracterizando-se como promotor de crescimento vegetal. Os isolados demonstraram ser eficientes tanto no controle de fitopatógenos *in vitro*, como promotores de crescimento de plantas. Dessa forma, sugere-se que podem ser inseridos com sucesso em um programa de manejo integrado, que é ecologicamente sustentável e apresenta um grande potencial para uso na cultura da mandioca.

**Palavras-chave:** *Manihot esculenta* Crantz: controle biológico; promoção de crescimento; podridões radiculares.

## ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is a crop of significant socioeconomic importance in various regions of the world. Despite its hardiness, the crop is affected by the incidence of root diseases caused by pathogens such as *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., and *Neoscytalidium* sp., which, once afflicted, express negative impacts on productivity. Rhizobacteria can act as biological control agents, becoming an efficient alternative for disease control as well as growth promoters in plants. Therefore, the aim of this study was to select rhizobacterial isolates originating from cassava roots with the potential for biocontrol of cassava dry and black rot, as well as to evaluate their ability to promote plant growth. Twenty-five bacteria were isolated from healthy roots of three cassava plants. The isolates were characterized based on colony morphology and subsequently subjected to tests for their potential to inhibit the *in vitro* mycelial growth of the pathogens causing black rot (*Lasiodiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp.) and dry rot (*Fusarium* sp.), as well as their potential to promote plant growth. Of the isolates, 44% were characterized as Gram-positive, and 56% as Gram-negative. Regarding *in vitro* antagonistic activity, 8% of the isolates inhibited the mycelial growth of *Fusarium* sp., and for *Lasiodiplodia* sp., the rhizobacteria named BAC 4 and 10 showed reductions of 46% to 50% in *Fusarium* sp. growth, while BACs 4 and 7 reduced *Lasiodiplodia* sp. growth by 55.25% and 50.25%. Twelve percent of the isolates inhibited the mycelial growth of *Neoscytalidium* sp., with BACs 4, 7, and 10 exhibiting pathogen inhibition rates of 58%, 57%, and 57%, respectively, compared to the control treatment. The rhizobacteria that showed *in vitro* potential were tested *in vivo* using the BRS Novo Horizonte cassava variety. The treatments involved adding the bacterial solution to the substrate and immersing the cassava cuttings (manivas) in the bacterial solution for 5 minutes. Evaluations were conducted after 30 days. Concerning growth promotion, BAC 03, in the absence of pathogens and when incorporated into the cassava cuttings, showed the best results, with a 16.77% increase compared to the control. BAC 1 and BAC 2 did not exhibit a significant increase in growth, either in the absence or presence of pathogens. The isolate labeled BAC 3 demonstrated the best results when incorporated into cassava cuttings and in the absence of pathogens for all evaluated parameters, characterizing it as a plant growth promoter. The isolates proved to be effective both in controlling phytopathogens *in vitro* and promoting plant growth. Therefore, it is suggested that

they can be successfully integrated into an ecologically sustainable integrated management program with great potential for use in cassava cultivation.

**Keywords:** *Manihot esculenta* Crantz; biological control, growth promotion; root rots.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** – Obtenção dos isolados através de amostras do rizoplano. (A) amostra de solo coletada do rizoplano da cultura da mandioca e transportadas para o laboratório de fitopatologia; (B) peneiramento das raízes para a retirada do excesso de fragmentos sólidos; (C) raízes acomodadas em todo Falcon de vidro com solução salina devidamente vedada; (D) agitação do tubo com as raízes por 2 minutos em agitador vórtex; (E) solução contendo as rizobactérias submetido ao banho Maria por 12 minutos em temperatura 80° C.; (F) diluição seriada do líquido extraído das amostras de solo, em tubos contendo 9 ml solução salina estéril 1 ml do líquido foi adicionado caracterizando a diluição 10<sup>-1</sup>..... 21
- Figura 2** – Colônias bacterianas após o isolamento, em meio de cultura ágar nutriente com o auxílio de uma alça de Drigalski contendo colônias bacterianas estrias foram feitas no meio de cultura..... 25
- Figura 3** – Isolamento bacteriano após 48h de incubação em BOD, surgimento de colônias bacterianas cultivadas em meio de cultura ágar nutriente após diluição seriada até 10<sup>-8</sup> 26
- Figura 4** – Antagonismo *in vitro* de rizobactérias de mandioca no *Fusarium* sp. (A) Isolado BAC 4 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium* sp. (B) Isolado BAC 10 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium* sp. e (C) tratamento controle, apenas com o patógeno 28
- Figura 5** – Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium* sp. por rizobactérias oriundas da cultura da mandioca. BAC 4, e BAC10 apresentaram-se como antagonistas do *Fusarium* sp. As medições foram realizadas aos 7 dias, as medidas foram comparadas com o tratamento controle..... 29
- Figura 6** – Antagonismo *in vitro* de rizobactérias de mandioca no *Lasiodiplodia* sp. (A) Isolado BAC 4 inibindo o crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp. (B) Isolado BAC 7 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium* sp. e (C) tratamento controle, apenas com o patógeno 30
- Figura 7** – Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Lasiodiplodia* sp. por rizobactérias oriundas da cultura da mandioca. BAC 4, e BAC 7 apresentaram-se como antagonistas do *Lasiodiplodia* sp. As medições foram realizadas aos 5 dias, as medidas foram comparadas com o tratamento controle. .... 30
- Figura 8** – Antagonismo *in vitro* de rizobactérias da mandioca no *Neoscytalidium* sp. (A) Isolado BAC 4 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium* sp. (B) Isolado BAC 7 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium* sp., (C) Isolado RB10 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium* sp. e (D) tratamento controle, apenas com o patógeno. .... 31
- Figura 9** – Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Neoscytalidium* sp. por rizobactérias oriundas da cultura da mandioca. BAC 4, BAC 7 e BAC10 apresentaram-se como antagonistas do *Neoscytalidium* sp. As medições foram realizadas aos 7 dias, as medidas foram comparadas com o tratamento controle. .... 31
- Figura 10** – Comparação entre o tratamento controle e o tratamentos que possui rizobactérias após 30 dias do plantio, (A) Tratamento controle, com ausência do patógeno e rizobactérias, (B) BAC 1, manivas imersas por 5 minutos na solução bacteriana com a ausência de patógeno; (C) BAC 3, tratamento com a solução bacteriana direto na maniva com a ausência de patógeno; (D) BAC 2, as manivas tratadas com a solução bacteriana por 5 minutos em solução bacteriana com a ausência de patógeno ..... 32
- Figura 11** – Comparação entre o tratamento controle e os tratamentos que possuem rizobactérias após 30 dias do plantio, (A) Tratamento controle, com ausência do patógeno e rizobactérias, (B) BAC 1, manivas tratadas com imersão por 5 minutos em solução bacteriana com a ausência de patógeno; (C) BAC 2, manivas imersas por 5 minutos na solução

bacteriana com a ausência de patógeno; e (D) BAC 3 na maniva com a ausência de patógeno. .... 33

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Isolados de rizobactérias coletados em diferentes áreas, sendo a (Área 1) coletada em Podium no município de Laje – BA, (Área 2) no campo experimental UFRB em Cruz das Almas – BA e (Área 3) campo experimental da Embrapa Cruz das Almas – BA. Para o teste de Gram as rizobactérias que testaram negativas estão representadas na tabela com o X, já o teste de patogenicidade, as rizobactérias que causaram sintomas de doenças foram representadas com X.....	26
<b>Tabela 2</b> – Dados relativos à altura das plantas dos tratamentos de rizobactérias na presença do patógeno, com bactérias incorporadas na maniva. ....	32
<b>Tabela 3</b> – Dados relativos à altura das plantas dos tratamentos de rizobactérias na presença do patógeno, com bactérias incorporadas no substrato. ....	33
<b>Tabela 4</b> – Dados relativos de volume da raiz (VR), em mL; massa Fresca da raiz (MFR) e massa Seca da raiz (MSR), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas na maniva. ....	34
<b>Tabela 5</b> – Dados relativos de volume da raiz (VR), em mL; massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas no substrato. ....	34
<b>Tabela 6</b> – Dados relativos à massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas na maniva.....	35
<b>Tabela 7</b> – Dados relativos de massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias inoculadas na maniva. ....	35



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
2.1. A cultura da mandioca e sua importância econômica.....	15
2.2. Variedade BRS Novo Horizonte .....	16
2.3. Podridões radiculares.....	17
2.3.1. Podridão seca ( <i>Fusarium sp.</i> ) .....	17
2.3.2. Podridão-negra ( <i>Lasiodiplodia spp.</i> e <i>Neoscytalidium sp.</i> ).....	18
2.4. Rizobactérias como agentes de controle biológico de doenças e promotoras de crescimento de plantas.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1. Obtenção dos isolados.....	21
3.2. Morfologia das colônias .....	22
3.3. Teste de patogenicidade.....	22
3.4. Reação de Gram (Método Ryu) .....	23
3.5. Seleção de rizobactérias como agentes de controle biológico <i>in vitro</i> .....	23
3.6. Potencial das rizobactérias no controle de podridões radiculares da mandioca <i>in vivo</i> (ambiente controlado) .....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Coletas, isolamento e caracterização de rizobactérias do rizoplano da cultura da mandioca .....	25
4.2. Reação de Gram.....	27
4.3. Potencial antagônico das rizobactérias <i>in vitro</i> contra fungos causadores da podridão seca e negra da mandioca.....	27
4.3.1. <i>Fusarium sp.</i> .....	27
4.4. Podridão negra da mandioca .....	29
4.4.1. <i>Lasiodiplodia sp</i> .....	29
4.4.2. <i>Neoscytalidium sp</i> .....	30
4.5. Rizobactérias e seu potencial de promoção de crescimento <i>in vivo</i> .....	31
5. CONCLUSÃO .....	37
6. REFERÊNCIAS .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) nas regiões brasileira é conhecida também como aipim, tornou-se uma das culturas de grande importância socioeconômica, gerando renda para muitas famílias, é utilizada como matéria-prima de produtos alimentares sendo considerada uma importante fonte de amido e energia. É alimento básico para cerca de 800 milhões de pessoas em mais de 100 países, principalmente na África subsaariana, América Latina e Caribe, Sudeste Asiático e Oceania (Ceballos *et al.*, 2019).

Na cultura da mandioca são aproveitadas todas as partes da planta, a parte aérea possui nutrientes como vitaminas e proteínas, que podem ser inseridas na alimentação animal, sendo utilizada como matéria prima para a fabricação de silagem e feno. As folhas são utilizadas na alimentação humana, sendo bastante consumidas na culinária brasileira principalmente na região do nordeste do país. As hastes são utilizadas como material de propagação (manivas sementes) em novos plantios (Neves *et al.*, 2018).

No Brasil, a mandioca é cultivada em todos os estados, especialmente nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, com destaque para os estados do Pará, Paraná e São Paulo (IBGE, 2022). Em 2021, de acordo com o IBGE a produção foi de 18,03 milhões de toneladas de raiz e produtividade de 15 t ha<sup>-1</sup>. Vale ressaltar que, quanto aos critérios necessários para a produção da mandioca, ela desenvolve-se em áreas com baixa fertilidade, resistente a ambientes adversos, além de possuir alta tolerância à seca (Sena *et al.*, 2014; Albuquerque *et al.*, 2019).

Apesar da sua rusticidade, a cultura é afetada pela incidência de doenças provocadas por patógenos como fungos, bactérias, nematóides e vírus, que, uma vez acometida altera significativamente o metabolismo bioquímico e fisiológico das plantas, apresentando impactos negativos na produtividade. Dentre essas doenças, as podridões radiculares ganham destaque devido a alta agressividade e difícil manejo.

A podridão radicular da mandioca tem sido relatada no Brasil desde 1945 (Campos; Pickel, 1945). Nos países produtores, a doença possui destaque por apresentar grande impacto social e econômico, pois provoca queda gradual na produtividade, sendo registrado perdas de até 100% na produtividade de raízes, além de inutilizar as áreas para plantio ao longo dos ciclos da cultura (Notaro, 2013).

Dentre os principais agentes etiológicos e classificação de podridões de raízes tem-se a podridão seca (*Fusarium* spp. - *Fusarium solani*, *F. oxysporum* e *F. verticillioides*) e a podridão negra (*Lasiodiplodia* spp. - *Lasiodiplodia euphorbicola*, *L. pseudotheobromae* e *Neoscytalidium hyalinum*) (Massola *et al.*, 2016; Miura; Monteiro, 1997; Vilas Boas *et al.*, 2017).

Posto isso, para que a cultura atinja seu potencial produtivo faz-se necessário o manejo correto de doenças, que são responsáveis pela redução significativa da produtividade e qualidade do produto final. Não há comprovação de um único método de controle eficaz para essas doenças, assim, é indicado técnicas de manejos capazes de minimizar os impactos causados pela doença como medidas preventivas, uso de variedades resistentes, rotação de culturas, monitoramento periódico da plantação, utilização de manivas-sementes sadias, erradicação de plantas severamente infectadas (Freitas *et al.*, 2019).

No que se refere ao controle químico, não existem produtos fitossanitários registrados para o tratamento de podridões radiculares na cultura da mandioca (MAPA, 2022). Visando uma produção sustentável, o controle biológico por microrganismos benéficos tornou-se uma alternativa promissora no manejo integrado de doenças na cultura da mandioca. O uso de rizobactérias benéficas na inoculação de plantas constitui uma prática cada vez mais utilizada na agricultura moderna e propicia diversos benefícios às plantas, como proteção contra várias doenças (Yun *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2023). Portanto, o objetivo deste estudo foi selecionar isolados de rizobactérias, oriundas das raízes de mandioca com potencial para biocontrole da podridão seca e negra da mandioca, bem como avaliar a sua capacidade de promover o crescimento em plantas.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. A cultura da mandioca e sua importância econômica

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) conhecida como aipim ou macaxeira, é uma planta da família Euphorbiaceae, subfamília Crotonoideae, tribo Manihotae e gênero *Manihot* o qual compreende mais de 98 espécies, entretanto, é a única espécie do gênero cultivada e de valor econômico (Ceballos *et al.*, 2012; Amelework *et al.* 2022). Planta originária da América do Sul, especificamente da região amazônica, possuínte de uma vasta diversidade genética resultante de sua alta adaptabilidade a diferentes tipos de ambientes, inclusive aos solos pobres em nutrientes e com baixa disponibilidade de água (Rocha *et al.*, 2020).

A mandioca possui hábito de crescimento arbustivo, caule semi- lenhoso, podendo crescer até 5 metros de altura. Sua raiz tuberosa é rica em amido e muito valorizada na culinária (Fathima *et al.*, 2023). As folhas são pecioladas e dispostas no caule em forma alternada, de coloração púrpura a verde-escuro e podem ser utilizadas na alimentação animal, pois possuem elevado teor de proteína (Ribeiro *et al.*, 2012). As flores são pequenas e brancas, reunidas em inflorescências (Fukuda *et al.*, 1998; Monteros *et al.*, 2021). É uma espécie alógama de propagação vegetativa por haste, ramas ou manivas, que são estacas cortadas do caule para fins de produção (Ceballos *et al.*, 2015).

A cultura pode ser classificada de acordo com os teores de ácido cianídrico (HCN) nas raízes sendo uma substância altamente tóxica. A mandioca brava (industrial) possui sabor amargo e alto teor de glicosídeos cianogênicos, o consumo é indicado após o processamento, já a mansa (mesa) apresenta baixo teor de glicosídeos cianogênicos, não possui sabor amargo podendo ser consumida sem qualquer método industrial de processamento (Zago *et al.*, 2016).

A mandioca é considerada uma das culturas alimentares de grande importância econômica que contribui de forma significativa para a segurança alimentar da população de todo o mundo. É amplamente cultivada em várias regiões tropicais e subtropicais, sendo a principal fonte de energia em muitos países em desenvolvimento (Ceballos *et al.*, 2019). A mandioca é tida como cultura estratégica devido à sua alta resistência a condições climáticas adversas, podendo ser uma opção viável para

regiões com maior incidência de eventos climáticos extremos, como secas e inundações (Alves-Pereira *et al.*, 2022).

Diante disso, o continente africano destaca-se como líder na produção mundial, com cerca de 55,2%, seguido pela Ásia (30,2%) e a América (14,5%) (FAO, 2020). A Nigéria é o maior produtor, com aproximadamente 59,4 milhões de toneladas (FAO, 2020), dispondo de 35% da produção africana de mandioca e cerca de 21% da produção mundial.

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no cenário nacional da cultura da mandioca, o Brasil destaca-se como o quarto maior produtor do mundo com uma produção de 18,2 milhões de toneladas para o ano de 2022. As regiões que se destacam como maiores produtoras do país são, respectivamente, Nordeste, Norte e Sudeste. Apesar de ser produzida em todas as regiões do país, alguns estados conseguem destaque de produção, assim, o estado do Pará é o maior produtor, seguido do Paraná, com produções de aproximadamente 3,83 e 3,38 milhões de toneladas, respectivamente, são responsáveis por mais de 1/3 da produção nacional de mandioca (IBGE, 2022).

As raízes apresentam altas concentrações de amido, tornando-a uma das fontes de calorias de suma importância para a alimentação humana. No que se refere a importância socioeconômica da cultura, a mandioca é considerada fundamental para a subsistência da população nos países da América Latina, África e Ásia, especificamente em zonas rurais. A raiz é usada também na fabricação de biocombustíveis e bebidas alcoólicas (Fathima *et al.*, 2023; Rocha *et al.*, 2020).

## **2.2. Variedade BRS Novo Horizonte**

Com o aumento da demanda por produtos derivados de amido fez-se necessário a inclusão de novas tecnologias na cultura da mandioca, foi desenvolvida variedades com adequação ao plantio mecanizado, bem como elevado potencial produtivo de raízes e de amido. Assim, a variedade BRS Novo Horizonte possui como principais atributos as altas produtividades de raízes, de matéria seca e de amido, associadas à alta qualidade do amido (Oliveira *et al.* 2020).

Essa variedade consegue uma maior cobertura do solo por apresentar alta produção de biomassa e grande número de folhas, conseqüentemente reduz o número de intervenções para o controle de plantas espontâneas. O porte das plantas

é ereto, com algumas ramificações acima de 1,50 m de altura, o que confere aptidão para o cultivo mecanizado e maior adensamento de plantas, alta taxa de multiplicação do material propagativo, que permite rápida difusão da variedade (Oliveira *et al.* 2020). Em comparação com as outras variedades do mercado, a BRS Novo Horizonte é superior, no que se refere às doenças foliares e radiculares da cultura.

### 2.3. Podridões radiculares

As podridões radiculares são causadoras de grandes impactos econômicos na cultura da mandioca, sendo altamente destrutivas e de difícil controle. Podem afetar diretamente a raiz, que é o órgão comercial, comprometendo a absorção de nutrientes e água, conseqüentemente o desenvolvimento da planta. Ocorrem em qualquer estágio de desenvolvimento da planta e ataques severos conduzem as plantas à morte (Alves *et al.*, 2020).

Sintomas de podridão radicular variam de acordo com o agente causal e podem ser divididos em podridão seca, mole e negra (Vilas Boas *et al.*, 2017). De modo geral, a podridão negra é identificada pelo surgimento de lesões escuras no caule e raiz podendo evoluir para podridão mole, entretanto não apresenta odor desagradável. Já a podridão seca é caracterizada pelo aparecimento de estrias castanho-escuras nas raízes sem aspecto aquoso, enquanto a podridão mole é caracterizada pelo escurecimento dos tecidos afetados com exsudação líquida e tem mau cheiro (Vilas BOAS *et al.*, 2017).

Para o estudo em questão, os principais patógenos associados às podridões seca e negra pertencem, respectivamente, aos gêneros *Fusarium*, *Lasiodiplodia* e *Neoscytalidium*.

#### 2.3.1. Podridão seca (*Fusarium* sp.)

O gênero *Fusarium* pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Nectriaceae (MARYANI *et al.*, 2019)

O gênero *Fusarium* (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides*), agente etiológico da podridão seca da mandioca (Alves *et al.*, 2020; Vilas-Boas *et al.*, 2017), é responsável por grandes perdas na produção, em condições favoráveis pode atingir 100%. De acordo com Cardoso *et al.* (2003), ocorre

o surgimento da doença em condições ambientais favoráveis tais com solos ácidos, cultivos adensados, alto percentual de argila no solo, matéria orgânica e áreas encharcadas.

Em qualquer etapa do desenvolvimento da planta podem surgir os sintomas da infecção de *Fusarium* sp., que podem causar danos diretos nas raízes. O ataque ocorre no colo da haste junto ao solo, obstruindo totalmente os tecidos vasculares, impedindo a livre circulação da seiva e, conseqüentemente, provocando podridão indireta das raízes.

O *Fusarium* sp é considerado patógeno de solo, possuindo a capacidade de sobrevivência no mesmo por anos, devido a suas estruturas denominadas clamidósporos. A disseminação desse patógeno ocorre pela presença de inóculos em áreas que possuem restos culturais com plantas acometidas, ferramentas ou o solo contendo a fonte de inóculo.

### 2.3.2. Podridão-negra (*Lasiodiplodia* spp. e *Neoscytalidium* sp.)

As espécies causadoras da podridão negra da mandioca no Brasil pertencem à família *Botryosphaeraceae*, entre elas, *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp (Machado *et al.*, 2014, Vilas-Boas *et al.* 2017).

O gênero *Lasiodiplodia* pertence à família *Botryosphaeriaceae* ao filo *Ascomycota*, classe *Dothideomycetes*, ordem *Botryosphaeriales* (NETTO *et al.*, 2017). A sintomatologia ocorre inicialmente, surgem lesões necróticas, secas e amarronzadas nas raízes e no colo das plantas. Com o tempo, as lesões se tornam negras, com eventual produção de estruturas reprodutivas escuras do patógeno na casca. (Machado *et al.* 2018). Em estágio avançado da doença, as plantas apresentam os sintomas reflexos sendo o amarelecimento e queda das folhas.

O gênero *Lasiodiplodia* pode formar picnídio unilocular a multilocular, globoso, separado ou agrupado, castanho-escuro, que pode estar imerso em estroma. Os conídios são unicelulares, hialinos e elipsóides quando jovens; na maturidade, se tornam pigmentados, com formação de um ou mais septos e presença de estrias longitudinais (Machado *et al.* 2018)

O gênero *Neoscytalidium* é caracterizado por formar cadeia de artroconídios, desarticulados, pulverulento ao toque, de parede grossa, marrom-escuro, 0-2 septos.

O sinanamorfo é caracterizado por formar conidioma picnidial, estomático, globoso, marrom-escuro a preto (Machado *et al.* 2018).

Antes a podridão negra da mandioca no Brasil era atribuída ao fungo *Scytalidium lignicola* (Laranjeira *et al.*, 1994; Muniz *et al.*, 1999; Serra *et al.*, 2009). Porém, por meio de análises filogenéticas, foi demonstrado que, apesar da semelhança morfológica com o *S. lignicola*, *Neoscytalidium dimidiatum* (= *N. hyalinum*) era o agente causal desta doença (Machado *et al.*, 2014).

#### **2.4. Rizobactérias como agentes de controle biológico de doenças e promotoras de crescimento de plantas.**

Pesquisas apontam o crescimento do mercado em busca de novos produtos naturais que tenha compostos com potencial biológico que proporcionem uma agricultura sustentável, a fim de manter o equilíbrio ambiental e aumentar a produtividade (Woźniak *et al.*, 2019)

O uso de microrganismo para o controle de doenças tornou-se uma estratégia promissora no manejo integrado, dessa forma, garantindo uma agricultura sustentável, podendo reduzir os danos tanto para o meio ambiente, bem como a sociedade, e com isso atender às demandas agrícolas (Gamez *et al.*, 2019). Vale salientar que, controle biológico de doenças de plantas ocorre pelo emprego de microrganismos antagonistas com grande adaptabilidade para o controle de microrganismo fitopatogênico (Pascholati, 2011).

A utilização de práticas como a inoculação de plantas com rizobactérias benéficas vem sendo bastante utilizada na agricultura moderna, pois proporciona diversos benefícios às plantas, como proteção contra várias doenças (Yun *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2023).

Assim, as rizobactérias são organismos que possuem grande afinidade pelo ambiente rizosférico, possuindo habilidades em desempenhar atividades relacionadas à promoção do desenvolvimento das plantas, podendo atuar como bioestimulantes em várias culturas de relevância econômica, por meio de mecanismos como a estimulação da produção de hormônios vegetais, fixação biológica de nitrogênio, e síntese de compostos, que são capazes de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos como o fenol, benzaldeído, 1-decanol e 1-dodecanol (Khan *et al.*, 2018; Cardoso *et al.* 2020).

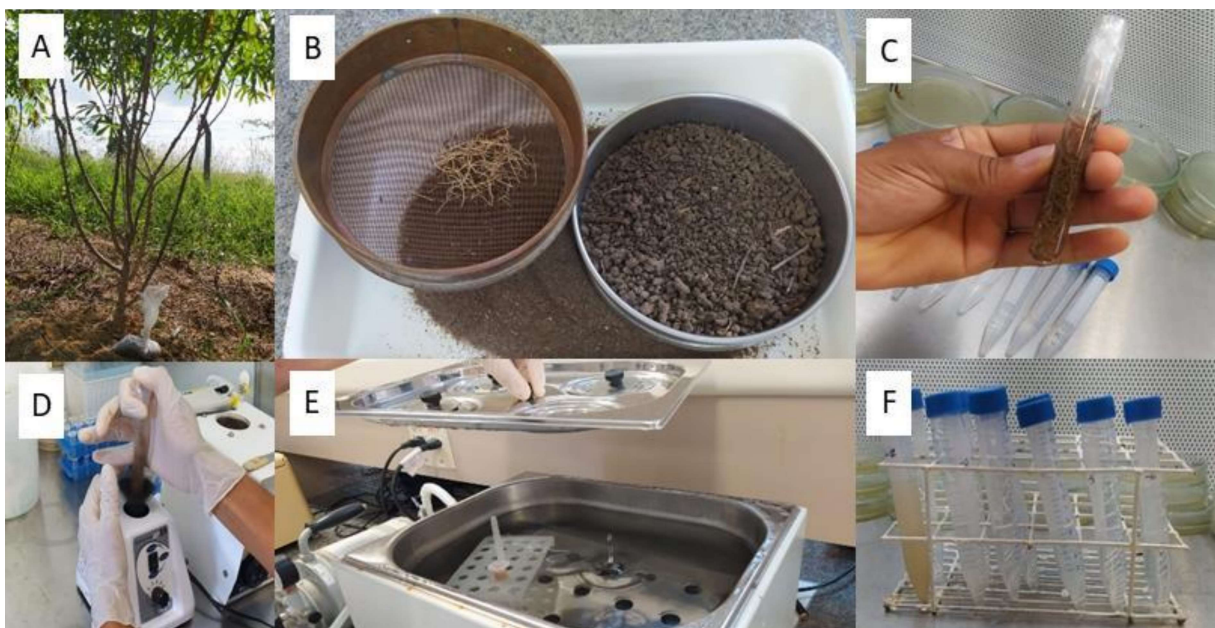


Vale salientar que, as rizobactérias produzem diversas substâncias inibidoras, dentre elas tem-se antibióticos, ácidos orgânicos, sideróforos, antifúngicos e bacteriocinas. Dessa forma, os organismos denominados antagonistas mais estudados são os gêneros *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia* e *Burkholderia* (Cesa-Luna *et al.*, 2020; Backer *et al.*, 2018).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Obtenção dos isolados

O experimento foi conduzido no município de Cruz das Almas - BA sendo realizado no laboratório de Fitopatologia e no laboratório de Práticas Culturais da Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura, no Recôncavo da Bahia. Amostras oriundas do rizoplano de três diferentes plantas de mandioca foram coletadas, em municípios distintos, sendo uma amostra retirada em Laje - BA e duas amostras em Cruz das Almas - BA, localizadas, respectivamente na Embrapa e na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- UFRB. As raízes foram transportadas em sacos de papel pardo, que posteriormente foram levadas para o laboratório para dar início ao isolamento bacteriano. Inicialmente, as amostras de solo foram tamizadas em peneira de 2 milímetros, para que as raízes ficassem retidas na parte superior da peneira.



**Figura 1** – Obtenção dos isolados através de amostras do rizoplano. (A) amostra de solo coletada do rizoplano da cultura da mandioca e transportadas para o laboratório de fitopatologia; (B) peneiramento das raízes para a retirada do excesso de fragmentos sólidos; (C) raízes acomodadas em todo Falcon de vidro com solução salina devidamente vedada; (D) agitação do tubo com as raízes por 2 minutos em agitador vórtex; (E) solução contendo as rizobactérias submetido ao banho Maria por 12 minutos em temperatura 80° C.; (F) diluição seriada do líquido extraído das amostras de solo, em tubos contendo 9 ml solução salina estéril 1 ml do líquido foi adicionado caracterizando a diluição  $10^{-1}$ .

As raízes foram acomodadas em tubos de ensaios contendo 4 mL de solução salina, em seguida os tubos foram submetidos a agitação por 2 minutos em um agitador vórtex, após a solução foi plaqueado em meio de cultura ágar nutriente. Para

a seleção de bactérias do rizoplano, o líquido oriundo da agitação das raízes foi submetido a banho Maria a 80°C por 12 minutos. Para a contagem e isolamento dos microrganismos foi utilizado o método de diluição seriada decimal e posteriormente plaqueados em meio de cultivo seletivo.

Para o procedimento da diluição seriada adicionou-se 1 mL do líquido oriundo das raízes da mandioca em um tubo falcon contendo 9 mL de solução salina (concentração) estéril caracterizando a diluição  $10^{-1}$ , posteriormente homogeneizado, com o auxílio de uma pipeta retirou-se uma alíquota de 1 mL onde foi transferida para outro tubo Falcon contendo 9 mL da solução salina, seguiu-se a metodologia até a diluição decimal  $10^{-8}$ . Após o preparo das amostras contidas nos tubos e suas respectivas diluições, transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL de cada tubo para placas de Petri contendo meio de cultivo Nutriente Agar, com alças de Drigalski previamente esterilizadas, foi feito o espalhamento. Para cada amostra foram adotadas três repetições de cada diluição seriada, totalizando 72 placas, em seguida foram incubadas em BOD a 28 °C por 48 horas com um fotoperíodo de 12 horas. Vale ressaltar que as unidades formadoras de colônias foram avaliadas após 24 e 48 horas.

### **3.2. Morfologia das colônias**

Os isolados bacterianos foram analisados conforme a sua forma (circular ou irregular), cor (creme, branca amarela e rosa), superfície (lisa ou rugosa), consistência (seca, rugosa ou gomosa) e detalhe ótico (transparente, translúcido, brilhante, opaco) (Hungria; Araújo, 1994). Vale salientar que, para todo isolado fez-se necessário a determinação de códigos contendo letras e números, dessa forma, foi definido os números conforme a ordem de isolamento.

### **3.3. Teste de patogenicidade**

Folhas de mandioca sadia da variedade Novo Horizonte foram selecionadas para a inoculação das 25 bactérias, os isolados de bactérias selecionados e denominados bac 1 a 25 foram cultivados em meio Agar nutriente líquido e incubado em BOD, por 24 horas, sob temperatura constante de 28 °C. Em seguida, as colônias bacterianas foram diluídas em solução salina a 0,8% e a concentração ajustada para 540 nm ( $A_{540}$ ) = 0,2 (Mariano *et al.*, 2016). Com o auxílio de uma seringa de 5 mL, a suspensão bacteriana foi inoculada nas nervuras, bem como na lâmina foliar para

cada tratamento, e para o controle foi injetado apenas água destilada estéril. Em seguida, as folhas foram dispostas em bandejas e coberta com sacos plásticos formando assim, uma câmara úmida, após 72 horas foi observado a presença dos sintomas das bactérias nas folhas.

### **3.4. Reação de Gram (Método Ryu)**

Para o teste de gram fez-se necessário seguir a metodologia descrita por Ryu (1940), em uma lâmina de microscopia foi adicionado uma gota de solução de KOH a 3%, subsequente adicionado com o auxílio de uma alça bacteriológica colônias bacterianas, após 10 segundos de homogeneização foi observado a presença e ausência de viscosidade. Dessa forma, as colônias presentes nas lâminas que apresentaram viscosidade caracterizam-se bactérias Gram-negativas e as com ausência, Gram-positivas.

### **3.5. Seleção de rizobactérias como agentes de controle biológico *in vitro***

Após o isolamento, os 25 isolados bacterianos foram devidamente selecionados quanto ao seu potencial antagonista, dessa forma, sendo confrontados com fungos causadores da podridão seca e negra na mandioca, *Fusarium sp.*, *Lasiodiplodia sp.* e *Neoscytalidium sp.*, respectivamente. Para o teste *in vitro*, em placas contendo meio de cultivo BDA as bactérias foram testadas quanto a sua capacidade de inibição do crescimento micelial dos fungos. Discos de micélio de cada patógeno contendo diâmetro de 8 mm foram depositados no meio da placa. Em sua extremidade, foram inseridos discos com diferentes bactérias, assim, cada tratamento seguiu com quatro isolados de bactérias. Após as avaliações, as bactérias que apresentaram melhor potencial antagônico foram submetidas a um novo teste. Discos de micélio foram colocados no meio da placa cercada por colônias bacterianas formando quadrado de 2 cm nas extremidades do disco de micélio, para a testemunha, as placas receberam apenas os discos sem as colônias bacterianas. As placas foram mantidas na BOD em temperatura de  $28 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12h. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), com cinco repetições. Após sete dias, as placas foram avaliadas, sendo o critério de avaliação o crescimento micelial dos patógenos. A avaliação consistiu na medição do crescimento micelial do patógeno, a

testemunha determinou a porcentagem de inibição do crescimento micelial para as respectivas comparações na avaliação. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e de media sendo realizados através do programa estatístico R.

### **3.6. Potencial das rizobactérias no controle de podridões radiculares da mandioca *in vivo* (ambiente controlado)**

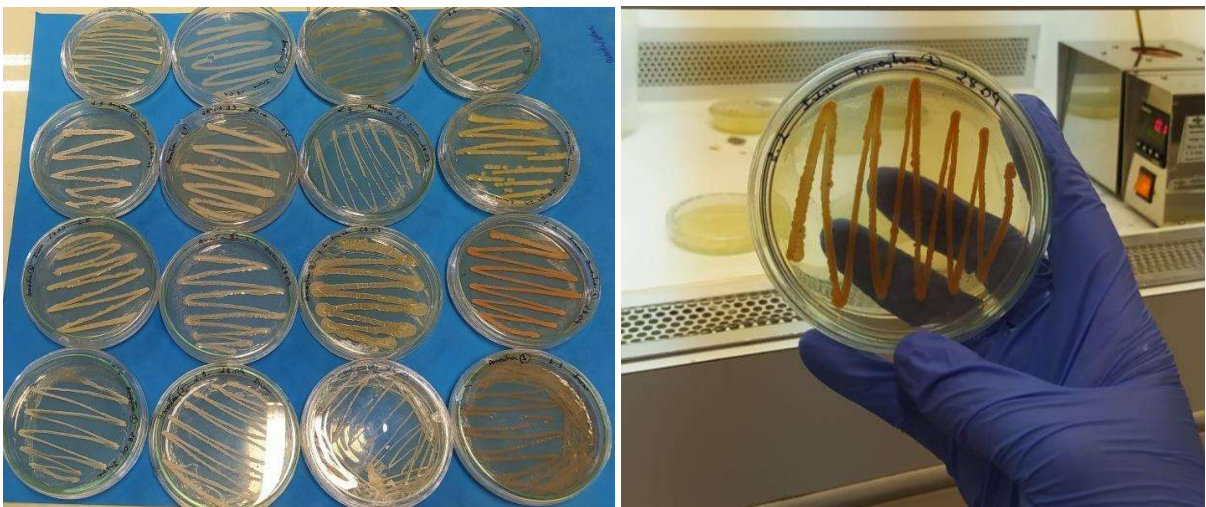
As mudas de mandioca foram obtidas a partir de estacas sadias do acesso BRS Novo Horizonte, oriundas do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. As manivas foram cortadas para 8 cm e plantadas em copos plásticos com capacidade de 400 ML contendo vermiculita. Os recipientes foram acomodados em balcões no laboratório de Práticas Culturais da Mandioca durante 30 dias. Os patógenos *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. foram cultivados em meio de cultura BDA a  $28 \pm 2$  °C por 7 dias. Após, foi incorporado em grãos de arroz para serem homogeneizados junto a vermiculita. Vale ressaltar que, para cada tratamento com a adição dos fitopatógenos foram adicionados cinco gramas dos mesmos, nos copos. Os isolados de rizobactérias selecionados, conforme seu potencial antagônico e denominados bac 1, 2 e 3, foram cultivados em meio Agar nutriente líquido, incubado em BOD por 24 horas com temperatura de a 28 °C. em seguida, as colônias bacterianas foram diluídas em solução salina de MgCl<sub>2</sub> concentração ajustada para 540 nm ( $A_{540} = 0,2$ ) (Mariano *et al.*, 2016).

Para o plantio das manivas, fez-se necessário determinar os tipos de tratamentos, assim, a testemunha não foi adicionada os patógenos e nem bactérias, os outros tratamentos foram sem e com patógeno, sem e com bactéria. Posto isso, os tratamentos que possuíam bactéria no substrato foram adicionados 20 mL da suspensão bacteriana na vermiculita, e na maniva as mesmas foram imersas por 5 minutos em solução contendo as rizobactérias. Em seguida, foram devidamente plantadas. As manivas foram irrigadas periodicamente com água destilada, 20 ml a cada 3 dias. As avaliações foram realizadas a cada sete dias, sendo avaliados inicialmente a germinação, posterior o vigor e altura das plantas, aos 30 dias de vida foi avaliado o vigor, altura das plantas, sintomas de podridão (amarelecimento e murcha e das folhas), massa fresca e seca da parte aérea e raízes, colonização interna das raízes.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Coletas, isolamento e caracterização de rizobactérias do rizoplano da cultura da mandioca

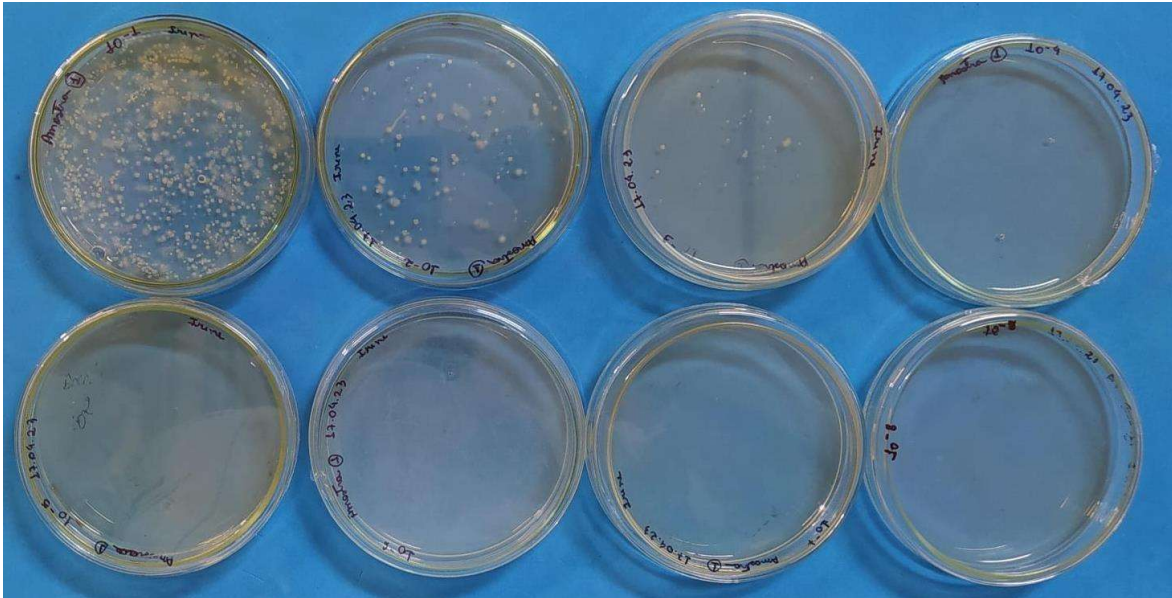
Vinte e cinco isolados de rizobactérias, a partir de raízes sadias de nove plantas de mandioca cultivadas em três diferentes áreas (Tabela 1) foram obtidos. Assim, para cada isolado foi definido um código numérico (BAC 1 até BAC 25), sendo este definido na ordem de isolamento.



**Figura 2** – Colônias bacterianas após o isolamento, em meio de cultura ágar nutriente com o auxílio de uma alça de Drigalski contendo colônias bacterianas estrias foram feitas no meio de cultura.

No que se refere a morfologia das colônias foi observada uma variação entre os 25 isolados, com predominância de colônias com coloração creme, sendo 60% dos isolados, seguido de 24% branca, cerca de 16% sendo representadas por colônias amarela e vermelho-rosada. Para as demais características, quanto à forma, as colônias apresentaram 68% irregular e 32% da circular; 12% com superfície enrugada e 88% lisa, pigmentação 12% presente, 88% ausente. Com consistência 62% cremosa, 12% seca e 25% mucosa. Com relação ao brilho 60% ( fosco e brilhante 40%. Vale ressaltar que, os isolados apresentaram crescimento rápido (Até 48h, Figura 1).





**Figura 3** – Isolamento bacteriano após 48h de incubação em BOD, surgimento de colônias bacterianas cultivadas em meio de cultura ágar nutriente após diluição seriada até  $10^{-8}$ .

Essas variações morfológicas indicam a possibilidade de que essas bactérias não estão limitadas apenas a uma única espécie, mas a diferentes gêneros ou espécies interagindo nas raízes da mandioca (Rosenblueth *et al.*, 2006). Espécies dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas* e *Escherichia*, são as mais frequentemente encontradas em raízes de mandioca (Leite *et al.*, 2018; Melo *et al.*, 2009; Ha *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020).

No presente estudo, 12% dos isolados de rizobactérias mostraram efeito antagônico aos patógenos *Fusarium sp.*, *Lasiodiplodia sp.* e *Neoscytalidium sp.* onde foram selecionados para o controle *in vivo* da podridão seca e negra da mandioca, utilizando a variedade BRS Novo Horizonte por ser uma variedade mais usual na região do presente estudo.

**Tabela 1** - Caracterização dos isolados de bactérias obtidos neste estudo.

Identificação dos Isolados	Área <sup>1</sup>	Teste de Gram <sup>2</sup>	Teste de Patogenicidade <sup>3</sup>
BAC 1	1	-	
BAC 2	1	+	
BAC 3	1	-	x
BAC 4	1	-	
BAC 5	2	+	
BAC 6	2	-	
BAC 7	1	+	
BAC 8	2	-	
BAC 9	2	+	
	2	+	
BAC 10		+	

BAC 11	2	+	
BAC 12	3	+	
BAC 13	1	+	
BAC 14	1	-	
BAC 15	3	+	X
BAC 16	3	-	X
BAC 17	3	+	
BAC 18	1	+	
BAC 19	1	+	
BAC 20	3	-	X
BAC 21	2	+	X
BAC 22	2	-	
BAC 23	2	-	
BAC 24	3	+	
BAC 25	1	+	

<sup>1</sup> **Localidade onde foi realizada a coleta de amostras de solo para os isolamentos.** (Área 1) coletada em Podium no município de Laje – BA; (Área 2) no campo experimental UFRB em Cruz das Almas – BA e (Área 3) campo experimental da Embrapa Cruz das Almas – BA.

<sup>2</sup> Para o teste de Gram as rizobactérias que testaram negativas (-) e para as que testaram positivas (+).

<sup>3</sup> Teste de patogenicidade: as rizobactérias que causaram sintomas em plantas de mandioca foram representadas com X.

## 4.2. Reação de Gram

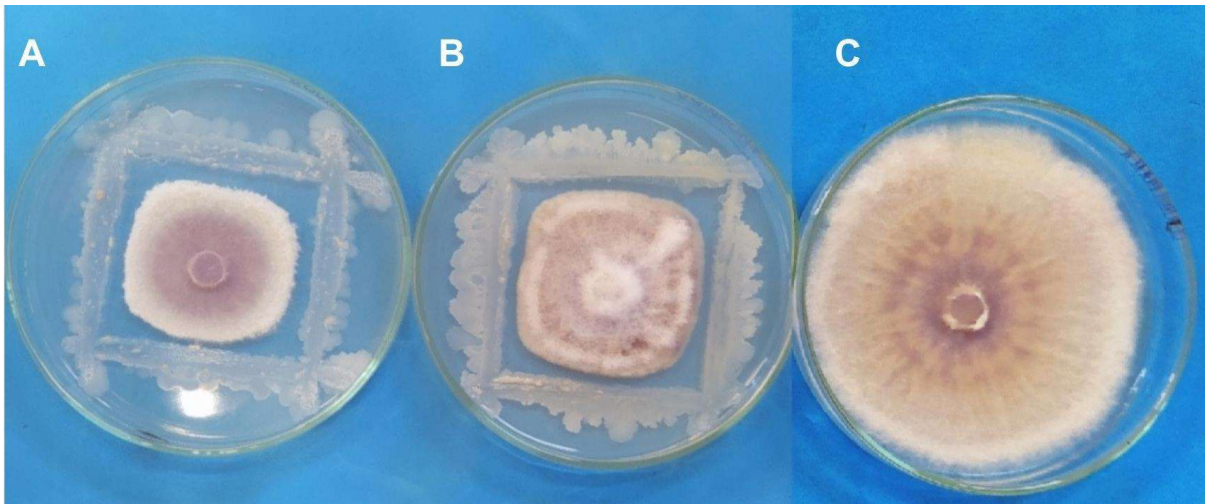
Observou-se que 44% foram caracterizados como Gram-positivos e 56% Gram-negativos (Tabela 1). Por apresentar distintas características fisiológicas, as plantas de mandioca podem ser colonizadas simultaneamente por uma vasta gama de bactérias tanto Gram-negativas quanto Gram-positivas (Leite *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020). As características das paredes celulares das bactérias podem possibilitar uma maior adaptação ao substrato e resistência as condições adversas do ambiente.

## 4.3. Potencial antagônico das rizobactérias *in vitro* contra fungos causadores da podridão seca e negra da mandioca

### 4.3.1. *Fusarium sp.*

Foi observado diferença significativa entre os isolados de rizobactérias oriundas da mandioca no antagonismo *in vitro* ao patógeno *Fusarium sp.* assim, 92% (23 isolados) isolados não diferiram estatisticamente do controle, 8% (2 isolados) dos isolados inibiram o crescimento micelial do patógeno (Figura 1).

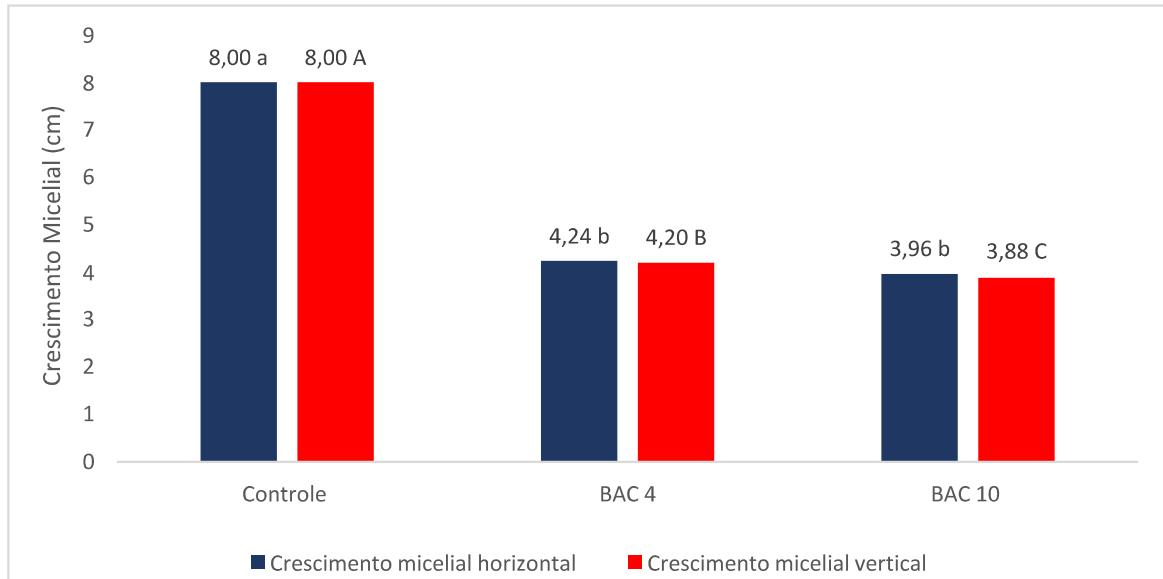




**Figura 4** – Antagonismo *in vitro* de rizobactérias de mandioca no *Fusarium sp.* (A) Isolado BAC 4 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium sp.* (B) Isolado BAC 10 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium sp.* e (C) tratamento controle, apenas com o patógeno.

As rizobactérias denominadas BAC 4 e BAC 10 apresentaram reduções de 46 % a 50 % no crescimento do patógeno (Figura 2). As rizobactérias apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ), não há diferença significativa entre as bactérias, exceto a variável crescimento vertical, no qual a BAC 10 diferiu significativamente da BAC 4 (Figura 2). Nesse sentido, a presente avaliação corrobora aos resultados de Cesa-Luna *et al.* (2020) nos quais os autores relatam que rizobactérias são capazes de produzir diversas substâncias inibidoras, por exemplo, antibiótico.

As rizobactérias vêm sendo alvo de estudos para o biocontrole em várias culturas, como a da banana (*Musa spp.*) Yadav *et al.* (2021) isolaram rizobactérias de solos supressivos para identificar agentes de biocontrole contra o FOC (*Fusarium oxysporum f.sp. cubense*) em bananeiras 'Grand Naine'. *Bacillus licheniformis* produziram metabólitos antifúngicos, assim apresentando alta eficácia na inibição *in vivo* do patógeno FOC (*Fusarium oxysporum f.sp. cubense*).



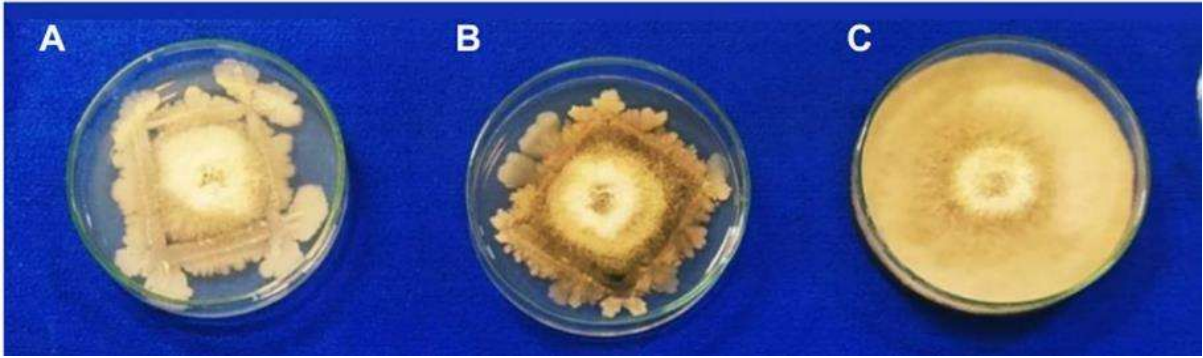
**Figura 5** – Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium sp.* por rizobactérias oriundas da cultura da mandioca. BAC 4, e BAC10 apresentaram-se como antagonistas do *Fusarium sp.* As medições foram realizadas aos 7 dias, as medidas foram comparadas com o tratamento controle.

#### 4.4. Podridão negra da mandioca

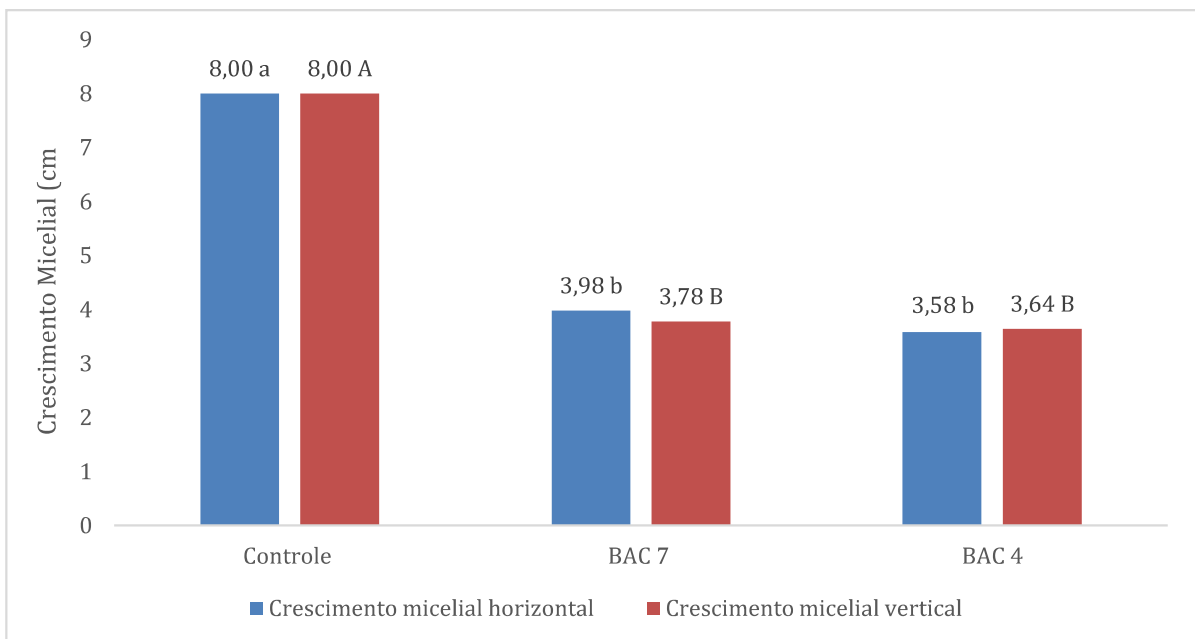
##### 4.4.1. *Lasiodiplodia sp.*

Houve diferenças significativas entre os antagonistas testados quanto à capacidade de inibir o crescimento micelial de *Lasiodiplodia sp.* onde, dos 25 isolados, 8% inibiram o crescimento micelial de *Lasiodiplodia sp.*, diferindo ( $p < 0,05$ ) do controle (Figura 3). As rizobactérias denominadas BAC 4 e 7 reduziram 55,25 % e 50,25 %, respectivamente frente ao patógeno (Figura 4).

Os resultados obtidos confirmam o estudo de Chukeatirote *et al.* (2018), que encontraram resultados significativos através do teste *in vitro* com rizobactérias no biocontrole de *L. theobromae*, apresentando resultados de inibição de até 58,89 %. O gênero *Bacillus* vem sendo bastante testado por apresentar potencial antagonista. Zhang *et al.* (2014) obtiveram resultados promissores ao avaliar a eficiência de cepa de *Bacillus subtilis* no controle *in vitro* de *Lasiodiplodia sp.* responsável por danos na madeira de álamo.



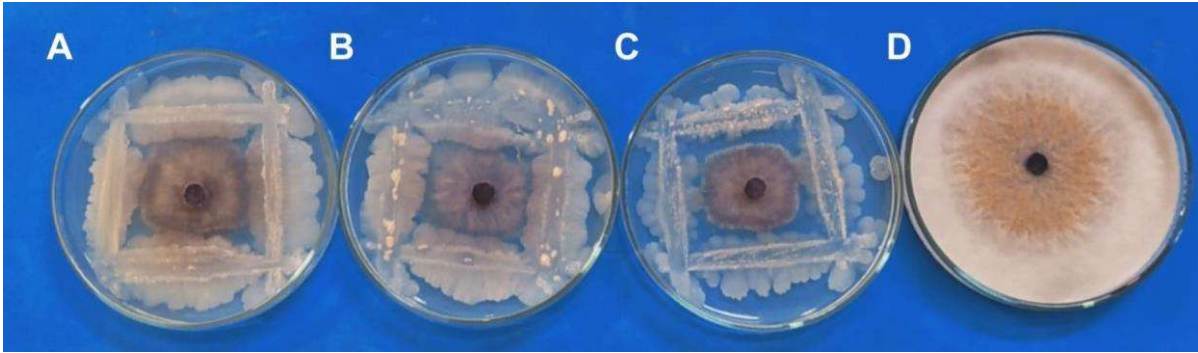
**Figura 6** – Antagonismo *in vitro* de rizobactérias de mandioca no *Lasiodiplodia sp.* (A) Isolado BAC 4 inibindo o crescimento micelial de *Lasiodiplodia sp.* (B) Isolado BAC 7 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium sp.* e (C) tratamento controle, apenas com o patógeno.



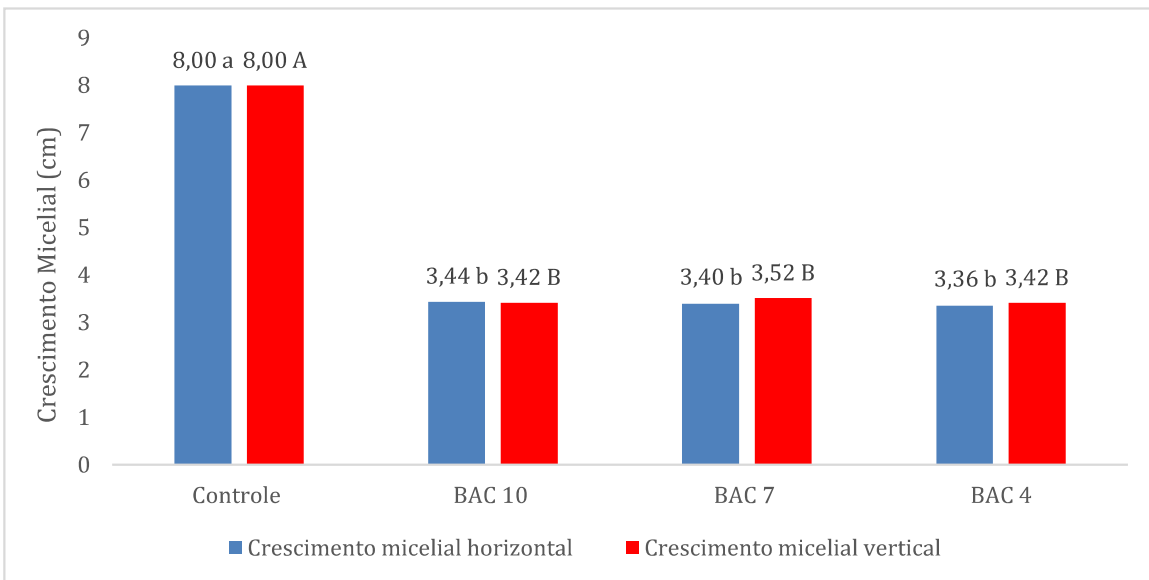
**Figura 7** – Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Lasiodiplodia sp.* por rizobactérias oriundas da cultura da mandioca. BAC 4, e BAC 7 apresentaram-se como antagonistas do *Lasiodiplodia sp.* As medições foram realizadas aos 5 dias, as medidas foram comparadas com o tratamento controle.

#### 4.4.2. *Neoscytalidium sp.*

Das vinte e cinco rizobactérias isoladas, 12% apresentaram inibição micelial do *Neoscytalidium sp.*, diferindo-se estatisticamente do controle (Figura 5). Vinte e dois isolados não apresentaram diferença significativa comparados ao controle, assim as rizobactérias denominadas BAC 4, 7 e 10 apresentaram melhores resultados na redução do crescimento do patógeno, expressando inibição do patógeno de 58%, 57% e 57%, respectivamente (Figura 6).



**Figura 8** – Antagonismo *in vitro* de rizobactérias da mandioca no *Neoscytalidium sp.* (A) Isolado BAC 4 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium sp.* (B) Isolado BAC 7 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium sp.*, (C) Isolado RB10 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium sp.* e (D) tratamento controle, apenas com o patógeno.



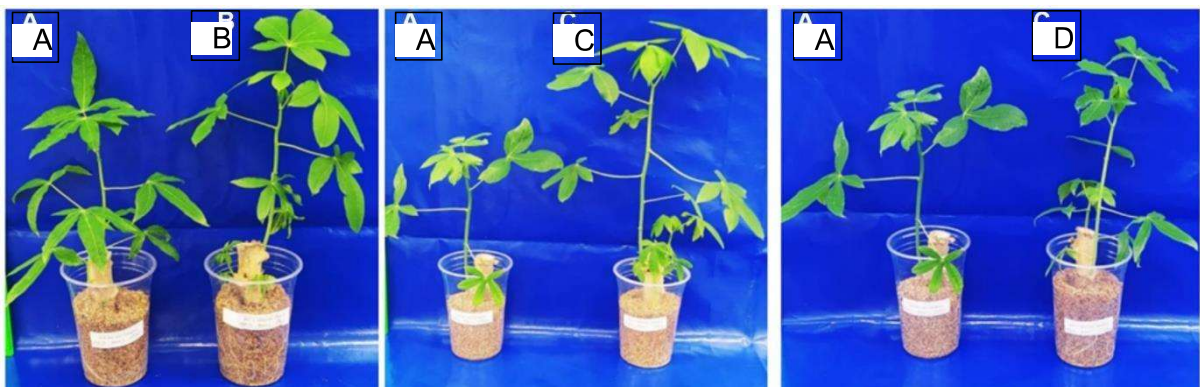
**Figura 9** – Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Neoscytalidium sp.* por rizobactérias oriundas da cultura da mandioca. BAC 4, BAC 7 e BAC10 apresentaram-se como antagonistas do *Neoscytalidium sp.* As medições foram realizadas aos 7 dias, as medidas foram comparadas com o tratamento controle.

#### 4.5. Rizobactérias e seu potencial de promoção de crescimento *in vivo*

As bactérias BAC 1, BAC 2, BAC 3 que apresentaram os melhores resultados no ensaio de biocontrole *in vitro* contra fungos causadores da podridão seca e negra da mandioca, foram selecionadas para os testes *in vivo* de biocontrole e promoção de crescimento vegetal.

Na promoção de crescimento vegetal, no que se refere à altura das plantas a BAC 03 na ausência do patógeno e incorporada a maniva apresentou melhores resultados com 16,77% superior em relação à testemunha, a BAC 1 e BAC 2 tanto na ausência quanto na presença de patógenos não apresentaram aumento significativo. (Tabela 02). Já nos tratamentos onde as rizobactérias foram adicionadas ao substrato

na ausência do patógeno, a BAC 2 destacou-se por aumentar 12%, a BAC 3 aumentou 7,1% frente ao crescimento da testemunha. O aumento na altura das plantas expressado após a incorporação das rizobactérias observadas neste trabalho, assemelha-se aos resultados obtidos por Chagas *et al.* (2021), quando testado os efeitos da inoculação da rizobactéria do gênero *Bacillus Sp.* em semente de soja, foi observado que as plantas que receberam a inoculação apresentaram maior altura, diâmetro do pseudocaule e número de folhas em comparação com as plantas do grupo controle.



**Figura 10** – Comparação entre o tratamento controle e os tratamentos que possui rizobactérias após 30 dias do plantio, (A) Tratamento controle, com ausência do patógeno e rizobactérias, (B) BAC 1, manivas imersas por 5 minutos na solução bacteriana com a ausência de patógeno; (C) BAC 3, tratamento com a solução bacteriana direto na maniva com a ausência de patógeno; (D) BAC 2, as manivas tratadas com a solução bacteriana por 5 minutos em solução bacteriana com a ausência de patógeno.

**Tabela 2** – Dados relativos à altura das plantas dos tratamentos de rizobactérias na presença do Patógeno, com bactérias incorporadas na maniva.

Bactéria	Patógeno	AP (cm)
Sem Bactéria	Ausente	18,25 A a
	Presente	13,52 A a
BAC 1	Ausente	16,15 A a
	Presente	11,98 A a
BAC 2	Ausente	18,19 A a
	Presente	13,67 A a
BAC 3	Ausente	21,31 A a
	Presente	11,38 A b

Teste de Tukey a 5% de significância. As letras maiúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis dos tipos de Bactérias dentro dos níveis de Presença do Patógeno. As letras minúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis da Presença do Patógeno, dentro dos níveis dos tipos de Bactérias.

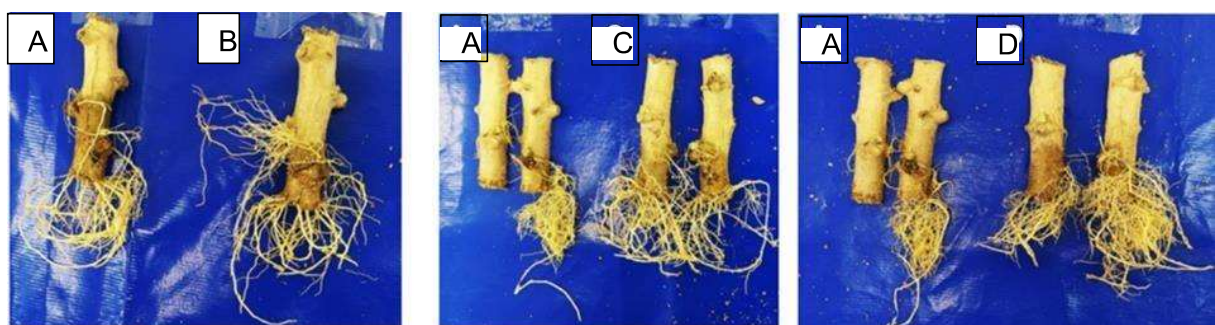


**Tabela 3** – Dados relativos à altura das plantas dos tratamentos de rizobactérias na presença do Patógeno, com bactérias incorporadas no substrato.

Bactéria	Patógeno	AP (cm)
Sem Bactéria	Ausente	18,25 A a
	Presente	13,52 A b
BAC 1	Ausente	18,16 A a
	Presente	12,62 A a
BAC 2	Ausente	20,58 A a
	Presente	13,39 A b
BAC 3	Ausente	19,56 A a
	Presente	13,64 A a

Teste de Tukey a 5% de significância. As letras maiúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis dos tipos de bactérias dentro dos níveis de presença do patógeno. As letras minúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis da Presença do Patógeno, dentro dos níveis dos tipos de Bactérias.

Após o uso das rizobactérias incorporadas nas manivas houve um acréscimo significativo no aumento do volume das raízes com e sem a presença do patógeno, a BAC 1 aumentou na ausência 14,7% e na presença 63,1%, a BAC 2 aumentou 11,7% na ausência e 31,5% na presença, BAC 3 aumentou na ausência 58% e 10% na presença (Tabela 4). Já com a adição das rizobactérias no substrato o volume das raízes tanto a BAC 1 como a BAC 3 aumentaram 20,58% na ausência do patógeno e 31,57%, a BAC 2 apresentou 35,29% e 40,42% na presença (Tabela 4).



**Figura 11** – Comparação entre o tratamento controle e os tratamentos que possuem rizobactérias após 30 dias do plantio, (A) Tratamento controle, com ausência do patógeno e rizobactérias, (B) BAC 1, manivas tratadas com imersão por 5 minutos em solução bacteriana com a ausência de patógeno; (C) BAC 2, manivas imersas por 5 minutos na solução bacteriana com a ausência de patógeno; e (D) BAC 3 na maniva com a ausência de patógeno.

**Tabela 4** – Dados relativos de volume da raiz (VR), em mL; massa Fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas na maniva.

Bactéria	Patógeno	VR(mL)	MFR (g)	MSR(g)
Sem Bactéria	Ausente	8,50 B a	3,90 B a	0,41 B a
	Presente	4,75 A a	1,76 A b	0,23 A b
BAC 1	Ausente	9,75 AB a	6,75 A a	0,60 A a
	Presente	7,75 A a	4,25 A a	0,36 A a
BAC 2	Ausente	9,50 AB a	6,76 A a	0,51 AB a
	Presente	6,25 A a	2,98 A a	0,27 A a
BAC 3	Ausente	13,50 A a	7,94 A a	0,62 A a
	Presente	5,25 A a	2,30 A b	0,22 A b

Teste de Tukey a 5% de significância. As letras maiúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis dos tipos de Bactérias dentro dos níveis de Presença do Patógeno. As letras minúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis da presença do patógeno, dentro dos níveis dos tipos de Bactérias.

**Tabela 5** – Dados relativos de Volume da raiz (VR), em mL; Massa Fresca da raiz (MFR) e Massa Seca da raiz (MSR), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas no substrato.

Bactéria	Patógeno	VR (mL)	MFR (g)	MSR(g)
Sem Bactéria	Ausente	08,50 A a	3,90 A a	0,41 A a
	Presente	04,75 A a	1,76 A b	0,23 A b
BAC 1	Ausente	10,25 A a	6,58 A a	0,49 A a
	Presente	04,25 A b	1,70 A b	0,22 A b
BAC 2	Ausente	11,50 A a	6,26 A a	0,48 A a
	Presente	06,67 A b	3,38 A a	0,34 A a
BAC 3	Ausente	10,25 A a	6,82 A a	0,52 A a
	Presente	06,25 A a	3,17 A a	0,27 A a

Teste de Tukey a 5% de significância. As letras maiúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis dos tipos de Bactérias dentro dos níveis de Presença do Patógeno. As letras minúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis da Presença do Patógeno, dentro dos níveis dos tipos de Bactérias.

A matéria fresca da parte aérea quando adicionada a BAC 3 na maniva destacou-se por aumentar 48% na ausência do patógeno, e 10,8% na presença do patógeno (Tabela 7). Quando adicionada no substrato, a BAC 02 apresentou melhores resultados para a massa seca da parte aérea tanto na presença como na ausência do patógeno, já a BAC 03 apresentou melhores resultados na matéria fresca com 8,98% frente à testemunha (Tabela 6).

**Tabela 6** – Dados relativos à massa fresca da parte aérea (MFPA) e Massa Seca da parte aérea (MSPA), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas na maniva.

Bactéria	Patógeno	MFPA(g)	MSPA(g)
Sem Bactéria	Ausente	16,58 A a	2,03 A a
	Presente	09,08 A a	1,11 A b
BAC 1	Ausente	16,96 A a	2,13 A a
	Presente	08,40 A b	1,05 A b
BAC 2	Ausente	16,47 A a	2,03 A a
	Presente	08,10 A a	0,98 A b
BAC 3	Ausente	24,56 A a	2,99 A a
	Presente	10,06 A b	1,24 A b

Teste de Tukey a 5% de significância. As letras maiúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis dos tipos de Bactérias dentro dos níveis de Presença do Patógeno. As letras minúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis da Presença do Patógeno, dentro dos níveis dos tipos de Bactérias.

**Tabela 7** – Dados relativos de massa fresca da parte aérea (MFPA) e Massa Seca da parte aérea (MSPA), em gramas, dos tratamentos de rizobactérias em diferentes meios de aplicação, com bactérias incorporadas na maniva.

Bactéria	Patógeno	MFPA(g)	MSPA(g)
Sem Bactéria	Ausente	16,58 A a	2,03 A a
	Presente	09,08 A a	1,11 A b
BAC 1	Ausente	16,41 A a	2,07 A a
	Presente	08,00 A b	1,01 A b
BAC 2	Ausente	17,90 A a	2,28 A a
	Presente	11,00 A b	1,37 A b
BAC 3	Ausente	18,07 A a	1,60 A a
	Presente	10,98 A b	1,33 A a

Teste de Tukey a 5% de significância. As letras maiúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis dos tipos de Bactérias dentro dos níveis de Presença do Patógeno. As letras minúsculas representam o teste de médias da variação dos níveis da Presença do Patógeno, dentro dos níveis dos tipos de Bactérias.

A BAC 03 expressou os melhores resultados quando incorporada na maniva e com a ausência dos patógenos em todos os parâmetros avaliados. A BAC 2 os melhores resultados foram apresentados quando a solução bacteriana foi adicionada no substrato, com a ausência do patógeno. Os resultados obtidos nesse teste corroboram com Pelzer *et al.* (2011), que ao utilizar rizobactérias como promotoras de



crescimento de plantas na cultura do tomate em condições de casa de vegetação o mesmo observou um maior incremento em todas as variáveis avaliadas.

Com o intuito de aumentar a produtividade das culturas sem impactar de forma negativa o meio ambiente as rizobactérias vem sendo amplamente estudada e incluída na agricultura por estimular mecanismos de promoção de crescimento. Assim, a aplicação de rizobactérias na forma de inoculantes pode promover crescimento das plantas, reduzir a necessidade de fertilizantes químicos e aumentar a resistência das plantas a doenças e estresses ambientais (Lana *et al.*, 2017).

Sabe-se que algumas rizobactérias produzem compostos antibióticos capazes de inibir o crescimento de alguns patógenos presentes no solo. Outras produzem enzimas que destroem a parede celular das células dos patógenos, impedindo sua invasão das raízes das plantas (Guimarães *et al.*, 2023). No entanto, nem todas as rizobactérias possuem esses mecanismos de proteção contra patógenos específicos (Fontes *et al.*, 2020).

Dessa forma, algumas rizobactérias podem apresentar capacidade de promover crescimento em plantas, entretanto não possuem a capacidade de controlar determinados patógenos específicos. Vale ressaltar que, as interações entre as rizobactérias, plantas e os patógenos são complexas, podendo ser influenciada por vários fatores, como a presença de outros organismos edáficos, espécie vegetal, e o tipo de rizobactéria. Diante das avaliações apresentadas os isolados obtidos mostraram-se com potencial para a promoção de crescimento em plantas.

## 5. CONCLUSÃO

As rizobactérias Bac 4, 7 e 10 oriundas da cultura da mandioca expressaram resultados positivos no que se refere a redução do crescimento micelial *in vitro* dos fungos causadores da podridão seca e negra da mandioca, *Fusarium sp*, *Lasiodiplodia sp* e *Neoscytalidium sp*. apresentando redução de 46% a 58% para o *Fusarium sp.*, 44% a 49% do *Lasiodiplodia sp.* e 42% a 43% do *Neoscytalidium sp.* do crescimento fúngico.

Para a promoção de crescimento, a rizobactéria 3 incorporada na maniva apresentou-se como promotora do crescimento das plantas de mandioca na ausência do patógeno.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, S. T.; FIGUEIREDO M. C.; FEITOSA, E. M. S.; OLIVEIRA, M. G. S.; NETTO, A. J.; CARDOSO, D. B.; MAGALHÃES, A. L. R.; MELO, A. A. S. Effect of association of fresh cassava root with corn silage in replacement for cactus cladodes on dairy cow performance. **Trop Anim Health**. doi: 10.1007/s11250-019-02087-7. 18 out 2019.
- ALVES, R. N. B; MODESTO JÚNIOR, M.; SILVA, A. R. B; NAKASONE, A. K, FARIAS NETO. Podridões em raízes de mandioca: problemas e soluções para seu controle. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 24p. Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 455, 2020.
- ALVES-PEREIRA, A. *et al.* Selective signatures and high genome-wide diversity in traditional Brazilian manioc (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. **Scientific Reports** 2022 12:1, v. 12, n. 1, p. 1–14, 24 jan. 2022.
- AMELEWORK, A. B.; BAIRU, M. W. Advances in Genetic Analysis and Breeding of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz): A Review. **Plants** 2022, Vol. 11, Page 1617, v. 11, n. 12, p. 1617, 20 jun. 2022.
- BACKER, R.; ROKEM, J. S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**. v. 9, p. 1473, 2018.
- CAMPOS, A. R; PICKEL, D. B. J. Observações sobre as doenças e agentes patogênicos das plantas em Pernambuco. **Revista de Agricultura**, v.20, p.19-38, 1945.
- CARDOSO, C. E. L. **Competitividade e inovação tecnológica na cadeia Agroindustrial de fécula de mandioca no Brasil**. 188 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2003.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D.; ROMAGNOLI, E. M.; **MICROBIOLOGIA DO SOLO**. vol. 2, cap. 4, Piracicaba, São Paulo, 2020.
- CEBALLOS, H.; KAWUKI, R. S.; GRACEN, V. E.; YENCHO, G. C.; HERSHEY, C. H. Global Cassava Partnership for the 21st Century (GCP21): Towards an Integrated Cassava Research and Development. In A. K. Singh *et al.* (Eds.), **Advances in Plant Breeding Strategies: Agronomic, Abiotic and Biotic Stress Traits** (pp. 409-435). Springer. doi: 10.1007/978-981-13-9075-4\_16. 2019.
- CEBALLOS, H.; KAWUKI, R. S.; GRACEN, V. E.; YENCHO, G. C.; HERSHEY, C. H. Conventional breeding, marker-assisted selection, genomic selection and inbreeding in clonally propagated crops: a case study for cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, p. 1647-1667, 2015.

CEBALLOS, H; KULAKOW, P; HERSHEY, C. Cassava Breeding: Current Status, Bottlenecks and the Potential of Biotechnology Tools. **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 73-87, 2012.

CESA-LUNA, C.; BAEZ, A.; QUINTERO-HERNÁNDEZ, V.; CRUZ-ENRÍQUEZ, J. D. La; CASTAÑEDA-ANTONIO, M. D.; MUÑOZ-ROJAS, J. The importance of antimicrobial compounds produced by beneficial bacteria on the biocontrol of phytopathogens. **Acta Biológica Colombiana**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 140–154, 2020.

CHAGAS JÚNIOR, A. F.; BORBA, E.; MARTINS, A. L. L.; SOUZA, M. C.; GOMES, F. L.; OLIVEIRA, R. S. De; CHAGAS, L. F. B. *Bacillus* sp. como promotor de crescimento em soja *Bacillus* sp. as a growth promoter in soy. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 2021, n. 3, p. 170–179, 2021.

CHUKEATIROTE, E.; PHUEAOUAN, T.; PIWKAM A. Screening of rhizospheresoilbacteria for biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae*. **Agriculture and Natural Resources**. v.52, n. 4, ago. 2018, p. 325-329.

**Cultivo da Mandioca para a Região dos Tabuleiros Costeiros**. Disponível em: [https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca\\_tabcosteiros/doencas.htm](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_tabcosteiros/doencas.htm). Acesso em: 17 ago 2023.

FAO. Food and Agriculture Organization. **Culturas STAT**. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 20 set. 2023.

FAOSTAT. Food and Agriculture Data. Produção, Área Colhida e Produtividade de Mandioca no Mundo. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/data/Q>. Acesso em: 25 set. 2020.

FATHIMA, A. A. *et al.* Cassava (*Manihot esculenta*) dual use for food and bioenergy: A review. **Food and Energy Security**, v. 12, n. 1, p. e380, 1 jan. 2023.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2020. 510 p.

FREITAS, M. A.; MEDEIROS, F. H. V.; MELO, I. S.; PEREIRA, P. F. M. F. G. V.; PEÑAFLORES, J. M. S.; BENTO, P. W. Par´e, Stem inoculation with bacterial strains *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) mitigates *Fusarium* root rot in cassava, **Phytoparasitica** 47, 135–142, 2019.

FUKUDA, GONÇALVES, M. W.; GUEVARA, LUCERO, C. Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*). 1998.

GAMEZ, R.; CARDINALE, M.; MONTES, M.; RAMIREZ, S.; SCHNELL, S.; RODRIGUEZ, F. Screening, plant growth promotion and root colonization pattern of two rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens* Ps006 and *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006) on banana cv. Williams (*Musa acuminata Colla*). **Microbiological Research**, v. 220, p. 12–20, 2019.

GUIMARÃES, C. A. C.; JESUS, D.R.S. **Potencial de rizobactérias do bacurizeiro para o biocontrole de *Lasiodiplodia pseudotheobromae* e promoção de crescimento cultura do tomate**, Belém 2023.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: **Embrapa-Serviço de Produção e Informação**. 1994.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de mandioca**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/mandioca/br>, acesso em 13 set 2023.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Agrícola**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/busca.html?searchword=mandioca>, acesso em 10 jul 2023.

KHAN, N.; MARTÍNEZ-HIDALGO, P.; ICE, T. A.; MAYMON, M.; HUMM, E. A.; NEJAT, N.; SANDERS, E. R.; KAPLAN, D.; HIRSCH, A. M. Antifungal Activity of Bacillus Species Against Fusarium and Analysis of the Potential Mechanisms Used in Biocontrol. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 0, 2018.

LANA, U. G. de P.; RIBEIRO, V. P.; GOMES, E. A.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A. Seleção em Larga escala de bactérias produtoras do hormônio ácido indolacético (AIA), auxina associada à promoção de crescimento em plantas. Sete Lagoas-MG: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2017.

LARANJEIRA, D.; SANTOS, E. O.; MARIANO, R. L. R.; BARROS, S. T. Ocorrência da podridão negra da maniva e raiz da mandioca (*Manihot esculenta*) causada por *Scytalidium lignicola* no estado de Pernambuco, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p. 466-469, 1994.

LEITE, M.; PEREIRA, A.; SOUZA, A.; ANDREOTE, F.; FREIRE, F.; SOBRAL, J. Bioprospection and genetic diversity of endophytic bacteria associated with cassava plant. **Revista Caatinga**. 31(2):315-325, 2018.

MACHADO, A. R., BRITO, A. C. Q., MELLO, J. F. Podridões fúngicas de raízes tuberosas no Nordeste brasileiro: etiologia e manejo. In U. P. Lopes e S. J. Michereff (Eds.), *Desafios do Manejo de Doenças Radiculares Causadas por Fungos* (pp. 95–109). Recife: **Editores Universitários da UFPE**, 2018.

MACHADO, A. R.; PINHO, D. B.; OLIVEIRA, S. A. S.; PEREIRA, O. L. New occurrences of Botryosphaeriaceae causing black root rot of cassava in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.39, n.6, p.464-470, dezembro 2014.

MACHADO, A. R.; PINHO, D. B.; PEREIRA, O. L. Phylogeny, identification and pathogenicity of the Botryosphaeriaceae associated with collar and root rot of the biofuel plant *Jatropha curcas* in Brazil, with a description of new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Diversity, Alemanha**, v.67, n.1, p.231–247, julho 2014.

MARIANO, R. D. L. R.; SOUZA, E. B. **Manual de Práticas em Fitobacteriologia**, Recife: UFRPE, 2016.

MARYANI, N.; LOMBARD, L.; POERBA, Y. S.; SUBANDIYAH, S.; CROUS, P. W.; KEMA, G. H. J. Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium wilt* pathogen *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* in the Indonesian centre of origin. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 92, p. 155–194, 2019.

MASSOLA JÚNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P.; OLIVEIRA, S. A. S. Doenças da mandioca. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5 a Ed. Ouro Fino: Ceres. Cap. 54, p. 515-522, v. 2, 2016.

MIURA, L.; MONTEIRO, A. J. A. Mandioca (*Manihot esculenta*): controle de doenças. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, p. 791-820. 1997.

MONTEROS-ALTAMIRANO, Á. *et al.* Morphological and ecogeographic study of the diversity of cassava (*Manihot esculenta crantz*) in Ecuador. **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1844, 1 set. 2021.

MUNIZ, M. F. S.; SANTIAGO, A. D.; FUKUDA, C.; MENEZES, M. *Scytalidium lignicola*: patógeno da mandioca no estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 156-158, 1999.

NEVES, R. J.; DINIZ, R. P.; OLIVEIRA, E. J. Productive potential of cassava plants (*Manihot esculenta Crantz*) propagated by leaf buds. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v.90, p.1733-1747, 2018.

NETTO, M. S. B.; LIMA, W. G.; CORREIA, K. C.; da SILVA, C. F. B; THON, M.; MARTINS, R. B.; MILLER, R. N. G.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Analysis of phylogeny, distribution, and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with gummosis of Anacardium in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. *Fungal Biology*, 121, 347-451, 2017.

NOTARO, K. A.; MEDEIROS, E. V.; SILVA, C. A. D.; BARROS, J. A. Prospecção de fitopatógenos associados à podridão radicular da mandioca em Pernambuco, Brasil. **Bioscience Journal**, v.5, p.1832-1839, 2013.

OLIVEIRA, E. J; FUKUDA, W. M. G; OLIVEIRA, S. A. S; RINGENBERG, R.; SILVA, M. R; SOUZA, A. S.; SILVA, TODOS; OLIVEIRA FILHO, M. S.; FARIA, M. L; SILVA, R. J. S. BRS Novo Horizonte - uma nova variedade de mandioca para uso industrial. **Melhoramento de Culturas e Biotecnologia Aplicada**, v.20, n.2. e28882028, 2020.

PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4 ed. São Paulo: Ceres, v. 1 p. 593- 636, 2011.

PELZER, G. Q.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. de L.; DE SOUZA, G. R.; ZILLI, J. É.; PERIN, L. Mecanismos de controle da murcha-de-esclerócio e promoção de crescimento em tomateiro mediados por rizobactérias. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 2, p. 95–103, 2011.

RIBEIRO, M. N. O.; CARVALHO, S. P.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância a diferentes condições ambientais. **Ciência Agrônoma**, v.43, n.2, p.354-361, 2012.

ROCHA, V. P. C. *et al.* Population Structure and Genetic Diversity in Sweet Cassava Accessions in Paraná and Santa Catarina, Brazil. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 38, n. 1, p. 25–38, 1 mar. 2020.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. **Molecular Plant-Microbe Interactions MPMI** v. 19, n. 8, p. 827– 837, 2006.

RYU, E. A simple method for differentiation between Gram-positive and Gramnegative organisms without staining. **Kitazato Archives of Experimental Medicine**, Tokyo, v. 17, p. 58-63, 1940.

Sena, L. S., Rocha Júnior, V. R., Dos Reis, S. T., Matos E Oliveira, L., Marques, K. M. S., & Tomich, T. R. (2014). Degradabilidade das silagens de diferentes frações da parte aérea de quatro cultivares de mandioca. **Ciência Animal Brasileira**, 15(3), 249–258. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i316567>.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 327-328, 2009.

VILAS BOAS, S. A.; OLIVEIRA, S. A. S.; BRAGANÇA, C. A. D.; RAMOS, J. B.; OLIVEIRA, E. J. Survey of fungi associated with cassava root rot from different producing regions in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 1, p. 60-67, 2017.

WOŹNIAK, M., GAŁĄZKA, A., TYŚKIEWICZ, R., JAROSZUK-ŚCISEŁ, J. Endophytic bacteria potentially promote plant growth by synthesizing different metabolites and their phenotypic/ physiological profiles in the biolog gen iii microplate™ test. **International Journal of Molecular Sciences**, 20(21), 5283, 2019.

YADAV, K.; DAMODARAN, T.; DUTT, K.; SINGH, A.; MUTHUKUMAR, M.; RAJAN, S.; GOPAL, R.; SHARMA, P. C. Effective biocontrol of banana fusarium wilt tropical race 4 by a *Bacillus rhizobacteria* strain with antagonistic secondary metabolites. **Rhizosphere**, [s. l.], v. 18, p. 100341, 2021.

YUN, T.; JING, T.; ZHOU, D.; ZHANG, M.; ZHAO, Y.; LI, K.; ZANG, X.; ZHANG, L.; XIE, J.; WANG, W. Potential Biological Control of Endophytic *Streptomyces* sp. 5-4 Against *Fusarium Wilt* of Banana Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. **Cubense Tropical Race 4**. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-21-0464-R>, [s. l.], v. 112, n. 9, p. 1877–1895, 2022.

ZAGO, B. W.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; SILVA, B. R. da; BARELLI, M. A. A. Avaliação de acessos de mandioca quanto ao teor de ácido cianídrico em raízes frescas. **CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS**, 4., 2016, Curitiba.

ZHANG L, ZHANG J, WEI Y, HU W, LIU G, ZENG H. Microbiome-wide association studies reveal correlations between the structure and metabolism of the rhizosphere microbiome and disease resistance in cassava. **Plant Biotechnology Journal**. 19(4):689- 701, 2020.

ZHANG X.; ZHAO, G.; LI, D.; LI, S.; HONG, Q. Identification and evaluation of strain B37 of *Bacillus subtilis* antagonistic to sap stain fungi on poplar wood. **Scientific World Journal**. 2014.

ZHU, Z.; WU, G.; DENG, R.; HU, X.; TAN, H.; CHEN, Y.; TIAN, Z.; LI, J. Spatiotemporal biocontrol and rhizosphere microbiome analysis of *Fusarium wilt* of banana. **Communications Biology** 2023 6:1, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–10, 2023.