



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA/ÁREA FITOPATOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA LABORATÓRIO DE FUNGOS DO SOLO - LAFSOL

Relatório do Estágio Curricular Supervisionado Obrigatório – ESO

1. IDENTIFICAÇÃO

INSTITUIÇÃO: Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

(sede) ALUNO(A): Elder Felipe De Moura Silva

CURSO: Agronomia

ORIENTADOR(A): Delson Laranjeira

DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA: AGRONOMIA/UFRPE (SEDE)

2. TÍTULO DO TRABALHO

Leveduras presentes na microbiota de batata doce e seu potencial de aplicação no biocontrole do agente causal do mal-do-pé da batata doce.

3. RESUMO DO RELATÓRIO

A batata doce (*Ipomoea batatas* L.) é uma hortaliça que pertence à família Convolvulaceae, é uma das principais raízes consumidas no mundo. Por ser uma cultura considerada rudimentar, é cultivada com poucos recursos tecnológicos, cultivada principalmente por pequenos produtores, para subsistência e autoconsumo. Considerando dados mundiais do cultivo da batata-doce, o país com maior produção é a China onde representam nos últimos quatro anos uma média de 82,30% da produção.

mundial, em segundo lugar vem a Nigéria com 1,92%, a produção brasileira representa 0,30% do total produzido (FAOSTAT, 2016). A doença do mal-do-pé da batata-doce gera um prejuízo de quase 80% nas áreas mais afetadas (ALMEIDA, 2018). Na região Nordeste, onde esse estudo tem sido realizado, a produtividade média é de 11 ton.ha⁻¹, enquanto a produtividade média da cultura no país é de cerca de 14 ton.ha⁻¹ da produção brasileira

(IBGE, 2019). Os isolados fitopatogênicos de *Diaporthe* spp foram obtidos em diferentes estados, no Nordeste brasileiro, sendo eles Pernambuco, Alagoas e Sergipe. Para os ensaios de prospecção de controle biológico, os isolados fitopatogênicos estão sendo submetidos ao cultivo conjunto, *in vitro*, com leveduras isoladas da batata-doce. Dados sobre o controle desta doença usando organismos biocontroladores são escassos, nesse âmbito, o estudo de possíveis leveduras biocontroladoras, obtidas na coleção fungos de solo – CFS, será de grande importância científica no controle do *Diaporthe* spp. de forma sustentável e eficaz.

4. INTRODUÇÃO GERAL

A batata doce (*Ipomoea batatas* L.) é uma hortaliça que se destaca como fonte de nutrientes para a base alimentar da população, sendo amplamente cultivada em países subdesenvolvidos, por ser de fácil cultivo e áreas com pouco investimento e baixo nível tecnológico. A produção mundial em 2018, segundo a FAO, foi de, aproximadamente, 92 milhões de toneladas, cultivadas em uma área de 8,06 milhões de hectares, apresentando uma produtividade média de 11,40 t/ha⁻¹. A China é o maior produtor mundial com quase 76% da produção mundial e produtividade média de 21,3 ton.ha⁻¹.

No ano de 2019, segundo dados fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção brasileira foi de 805.412 toneladas, cultivadas em uma área de 57,486 mil hectares, apresentando uma produtividade média de 14,05 ton.ha⁻¹. A região Nordeste representa 48% da área total de plantio de batata-doce e 48,10% da produção nacional, com produção aproximada de 317.265 toneladas. Devido à falta de tecnologia e à incidência de doenças, a produtividade média na região Nordeste é de 11,50 t/ha⁻¹. O estado de Pernambuco figura entre os principais produtores da cultura na região e no Brasil, com produtividade média de 40.499 toneladas, correspondendo a 12,76% da produtividade da região.

A baixa produtividade brasileira tem como principais fatores a incidência de doenças que inviabilizam o cultivo da cultura em determinadas áreas, bem como promovem a perda da qualidade do produto, tornando-o inviável para comercialização (ALMEIDA, 2018). A principal doença que afeta a cultura é conhecida como mal-do-pé

da batata-doce. A princípio, acreditava-se que o agente causal da doença era o fungo *Plenodomus destruens*, porém, estudos publicados por Almeida (2018) mostraram que o agente causal pertence ao gênero *Diaporthe*, passando a ser denominado *Diaporthe destruens*.

Os sintomas em campo são observados, inicialmente, como uma necrose úmida na base da planta, que anela o caule e interrompe a absorção de água e nutrientes. À medida que a cultura se desenvolve, observa-se o amarelecimento e morte das folhas basais, o surgimento de material vegetal seco e ramagens com folhas murchadas ou amareladas, bem como a podridão das raízes. Nas tubéras, durante o armazenamento ou comercialização, pode-se observar uma podridão de coloração marrom, formato circular que, com a evolução da doença, atinge toda a tubérea, podendo, ou não, afetá-la internamente (GAI et al., 2016).

A variabilidade de agentes causais da doença tem se tornado um dos motivos pelos quais os métodos de manejo, principalmente a utilização de produtos químicos, têm se tornado ineficazes, necessitando de pesquisas mais amplas para a adoção de medidas fitossanitárias que visem o controle de uma ampla gama de patógenos. A existência de outros agentes causais do mal-do-pé da batata-doce tem sido evidenciada por pesquisadores, tais como Almeida et al. (2020) e Mello et al. (2019), identificando *Diaporthe kongii* e *Neoscytalidium dimidiatum* como agentes causais da doença, respectivamente.

De acordo com informações obtidas no site Agrofit, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não há registro de produtos químicos utilizados no manejo da doença, no Brasil (AGROFIT, 2021). Diante da dificuldade na utilização do manejo químico, os produtores têm adotado medidas tais como o controle preventivo, com a aquisição de mudas saudáveis e provenientes de áreas sem histórico da doença, principalmente mudas produzidas em viveiros; rotação de cultura, quando for permitida a troca do seu produto comercial por outro; bem como o uso de cultivares resistentes ao patógeno (ALMEIDA, 2018).

Produtos como o Tenaz 250 SC são regulamentados pelo MAPA, para utilização em batata-doce, girassol e Kiwi, visando o controle de manchas foliares, causadas por *Diaporthe* sp. Esse produto apresenta ação sistêmica, com classificação III de risco ambiental, sendo considerado um produto perigoso. Como aumento dos impactos ambientais gerados pela agricultura, através da utilização indiscriminada de produtos

químicos, busca-se, cada vez mais, adotar métodos alternativos para o manejo das doenças de plantas (AGROFIT, 2021).

Dentre os tipos mais promissores de controles alternativos, pode-se destacar o controle biológico, que é baseado nos mecanismos de ação (antibiose, competição, indução de resistência, proteção cruzada, a imunização, entre outros) utilizados pelos biocontroladores, resultando na inibição ou no retardamento do crescimento e/ou desenvolvimento do patógeno (ZAMBOLINI et al., 2014). O controle biológico tem sido amplamente estudado e aplicado em algumas culturas, tais como a utilização de *Trichoderma* no controle da vassoura-de-bruxa do caqui (*Moniliophthora perniciosa*), na prevenção do tombamento de plântulas do tomateiro (*Rhizoctonia solani*) e em outros patossistemas (AGROFIT, 2021).

O agente de biocontrole de maior utilização no mundo é o fungo do gênero *Trichoderma*, sendo utilizado em vários países e patossistemas com eficiência. Além

do *Trichoderma*, as leveduras vêm ganhando espaço no mercado internacional de produtos para o controle biológico de fitopatógenos, as quais têm as principais características exigidas para a escolha de biocontroladores, tais como a fácil produção e cultivo *in vitro*, fácil adaptação nutricional, alta capacidade de proliferação e colonização, bem como os compostos secretados por elas, sejam eles voláteis ou não (BETTIOL et al., 2012).

No Brasil, não há registro de produtos à base de leveduras para a utilização no campo, ficando seu uso restrito às áreas experimentais (AGROFIT, 2021). Experimentos realizados em casa de vegetação e em laboratório, utilizando as espécies *Moesziomyces aphidis* e *Candida orthopsilosis* para o controle de plantas infectadas pelo fungo *D. destruens*, mostraram resultados satisfatórios, inibindo 100% o desenvolvimento do patógeno (ALMEIDA, 2018).

Há evidências que a aplicação de *Moesziomyces aphidis* induz a resistência sistêmica de plantas de tomate a *Clavibacter michiganensis*, através da produção de ácido salicílico (BARDA et al., 2015). Além disso, outros estudos evidenciam que *M. aphidis*, conhecida por secretar metabólitos antimicrobianos e induzir resistência sistêmica através da rota do ácido jasmônico e ácido salicílico, também pode ativar a resistência local sistêmica da rota do etileno independente (BUXDORF, RAHAT & LEVY, 2013).

Diante dos estudos apresentados, a utilização de leveduras como agentes de controle biológico tende a ser mais frequente nos estudos e nas áreas de plantio de diferentes patossistemas. Tendo em vista a variabilidade de agentes causais do mal-do-pé

da batata-doce, a prospecção de leveduras biocontroladoras torna-se uma aliada ao manejo da doença no campo, ampliando o espectro de ação dos métodos adotados para inibição e/ou retardamento do crescimento/desenvolvimento do patógeno.

Em virtude do que foi mencionado, tornam-se necessários estudos com leveduras potencialmente biocontroladoras, objetivando a seleção de isolados com amplo espectro de ação, controlando o maior número de espécies de agentes causais e reduzindo a utilização de produtos químicos, acarretando a redução dos impactos ambientais e na melhora da qualidade do produto para o consumidor.

5. OBJETIVOS

5.1. GERAL

Selecionar leveduras, nativas da microbiota de batata-doce, com potencial biocontrolador do mal-do-pé em batata-doce e avaliar métodos de aplicação das leveduras selecionadas.

5.2. ESPECÍFICOS

- Obtenção e manutenção de cepas de leveduras;
- Depósito de isolados de leveduras nas Micotecas URM-UFPE e Coleção Fungos do Solo- CFS/UFRPE;
- Identificação molecular de leveduras biocontroladoras;
- Seleção de isolados de cepas de leveduras com potencial biocontrolador do mal-do-pé em batata-doce;
- Determinar períodos de aplicação e concentração de inóculo no biocontrole preventivo do mal-do-pé em mudas de batata-doce.

6. METODOLOGIA

6.1. Obtenção, manutenção e preservação de isolados fúngicos

Os isolados patogênicos obtidos encontram-se disponíveis na Coleção Micológica do Laboratório de Fungos do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco – CFS LAFSOL. Foram preservados em microtubos criogênicos (2 mL), contendo disco em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), contendo crescimento micelial, e água destilada esterilizada, utilizando o método de Castellani (2 tubos/isolado),

permanecendo disponíveis para os testes subsequentes (FIGURA 1A) (CASTELLANI,1963).

Através da preservação de isolados foi possível repicá-los e purificá-los quando necessário. Com auxílio de uma alça de semente, foi retirado 1 disco (aproximadamente 5mm) de micélio e foi colocado em placas de petri contendo meio BDA. Foram utilizadas 2 placas para cada isolado, avaliando-as após 7 dias. Na presença de algum tipo de contaminação, fez-se a purificação, repicando para outra placa de petri contendo meio de cultura BDA.

6.2. Obtenção, manutenção e preservação de leveduras

Os isolados de leveduras utilizados na prospecção de agentes de biocontrole do mal-do-pé da batata-doce, foram disponibilizados pela Coleção Micológica do Laboratório de Fungos do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco – CFSLAFSOL.

Todos os isolados foram cultivados *in vitro*, purificados e mantidos pelo método de cultura periódica. Em microtubos criogênicos (5 mL), contendo meio BDA, os isolados foram preservados em óleo mineral (2 tubos/isolado) e pelo método de Castellani (CASTELLANI, 1963) (2 frascos/isolado), permanecendo disponíveis para os testes subsequentes (FIGURA 1B). Os isolados obtidos serão depositados na Micoteca URM, da Universidade Federal de Pernambuco e a Coleção Fungos de Solo – CFS da Universidade Federal Rural de Pernambuco, após identificação molecular, permanecendo preservados e disponíveis para outras pesquisas, quando solicitados.

6.3. Avaliação patogênica de *Diaporthe* spp.

Os isolados obtidos foram submetidos ao teste de patogenicidade em túberas de tamanho padronizado (aproximadamente 15 cm), as quais foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (1%), por 10 minutos (Fig. 2A). O patógeno foi inoculado nas túberas, após a desinfestação (Fig. 2B), através do método de discos, onde foram feitos pequenos furos, em torno de 2 mm, com auxílio de agulha hipodérmica e depositados discos de, aproximadamente, 0,5 cm de diâmetro, contendo estruturas fúngicas (Fig. 2C), e envoltos com fitacrepe (Fig. 2D).

Os tratamentos foram acondicionados em câmara úmida, por 48 horas (Fig. 2E). No tratamento controle, as túberas foram submetidas às mesmas condições, porém realizou-se a inoculação de discos contendo apenas meio de cultura BDA. O experimento consistiu de 6 repetições por tratamento.

As avaliações foram realizadas a cada 48 horas, para observação do surgimento dos sintomas, durante 13 dias. A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi determinada pela soma das médias de severidade em cada intervalo de avaliação. Diferenças de AACPD entre os isolados de *Diaporthesp.* foram determinadas

por ANOVA e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% utilizando o software Statistix 9.

Figura 2. Preparo de material e montagem do teste de patogenicidade. A e B: Desinfestação e secagem de túberas; C: Inoculação de discos contendo estruturas fúngicas; D: Túbera inoculada e envoltas por fitacrepe; E: Amostras acondicionadas em câmara úmida.

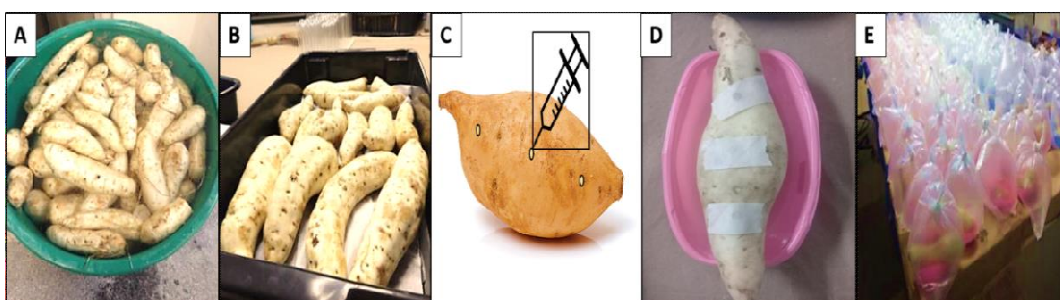
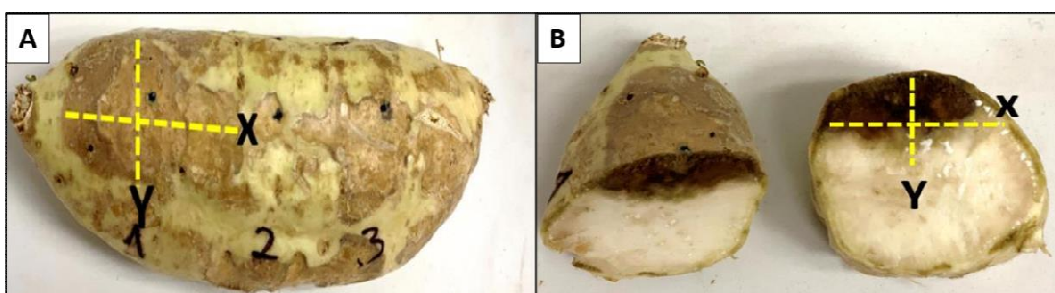


Figura 3. Esquema de medição de lesões. A: Medição do diâmetro das lesões superficial; B: Corte transversal da túbera e medição da profundidade das lesões.



6.4. Identificação de isolados

O Protocolo de extração de DNA foi adaptado de Murray & Thompson (1980), consistindo em vinte e duas etapas. A primeira etapa do procedimento foi adicionar 1000 µl de tampão em microtubos de 2ml (CTAB 2%), logo após efetuou-se a raspagem do micélio da cultura e transferidos para graus congelados e adicionados 2 ml de tampão (Fig. 4A), o micélio foi macerado com auxílio de um pistilo (Fig. 4B) e devolvidos ao tubo (Fig. 3C).

Os tubos foram incubados a 60° em banho maria, durante 1 hora, agitando em vórtex (Fig. 4D), a cada 15 min, pois essa temperatura inativa as enzimas. Os microtubos foram colocados na centrífuga refrigerada a 14000 rpm, durante 10 min, a fim de decantar. Transferiu-se o sobrenadante para novos microtubos adicionando 600 µl de CIA (Fig. 5A)

e 5B), promovendo a remoção de proteínas e ácidos graxos, sendo agitados, em seguida, em vórtex (Fig. 5C).

Os microtubos foram novamente colocados na centrífuga refrigerada a 14000 rpm, por 10 min (Fig. 5D), retirou-se a fase superior cuidadosamente, e com auxílio de uma pipeta, transferindo-a para novos microtubos de 1,5 ml. Logo após, foram adicionados 600 µl de CIA (Fig. 5E), novamente retirando o sobrenadante e transferindo-o para novos microtubos de 1,5 ml. Foram adicionados 1000 µl de isopropanol gelado, com o objetivo de precipitar o DNA, e então foram homogeneizados através de inversão. Após esses processos, os microtubos foram armazenados em freezer over night.

No dia seguinte, os microtubos foram centrifugados a 12000 rpm, a 4°C, durante 5 min, retirou-se o sobrenadante e foi adicionado 1000 µl de etanol 70% gelado, com o objetivo de remover o excesso de sal proveniente do isopropanol, sendo centrifugados, novamente, durante 10 min, a 12000 rpm. Posteriormente, o álcool foi descartado através de inversão e o excesso foi removido com auxílio de uma pipeta. O pellet decantado

foi seco a temperatura ambiente, por 5 min no máximo. Após a secagem do pellet, adicionou-se 100 µl de TRIS-EDTA, incubando os microtubos por 60 min, a 60°C, completando a dissolução do pellet. Por fim, com os materiais obtidos seguiu-se o procedimento de eletroforese, como objetivo de analisar a existência ou não de DNA.

O material genético obtido será amplificado, por meio de técnicas de PCR. Para a sequenciamento do patógeno e diferenciação intraespecífica, serão sequenciadas as regiões Internal Transcribed Space (ITS), Calmodulina (CAL), Histona (HIS) e o Fator de Elongação (EF1- α), utilizando os primers listados na tabela 1. Espécies de leveduras serão definidas por comparação da região ITS.

Os produtos de PCR obtidos serão purificados com kit de purificação PureLink™ PCR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) e as sequências obtidas serão depositadas no National Center for Biotechnology Information (NCBI) e comparadas filogeneticamente por análises de máxima verossimilhança-MV e inferência Bayesiana - IB.

Figura 4. Extração de DNA fúngico. A: Adição do tampão de extração. B: Maceração do Micélio. C: Suspensão do macerado transferido para os tubos. D: Agitação em vórtex, durante o banho maria.

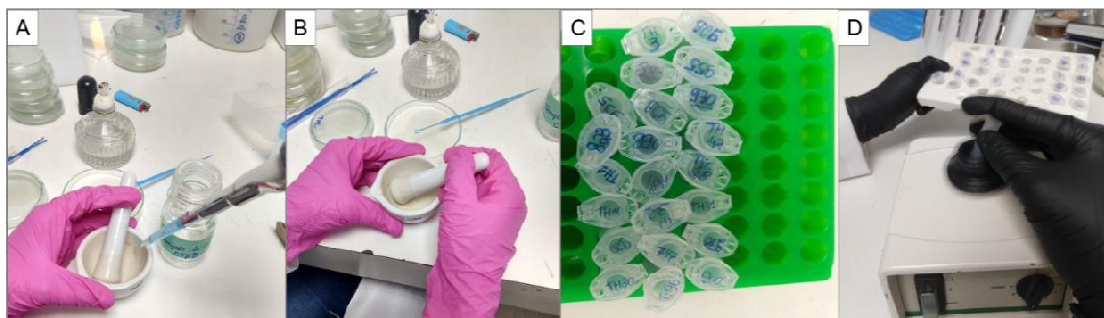


Figura 5. Extração de DNA fúngico. A: CTAB 2% e CIA (solvente para remoção de proteínas e ácidos graxos). B: Formação de três fases, após a adição de CIA e CTAB. C: Após ser homogeneizado em vórtex. D: material decantado após a centrifugação. E: Formação de duas fases, após a adição de CIA e CTAB 2%.

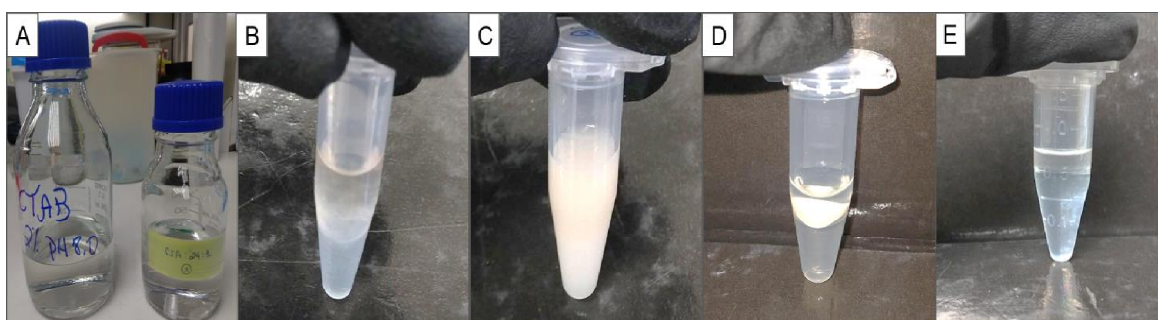


Tabela 1. Primers utilizados para o estudo genético de *Diaporthesp.*, leveduras.

Região	Primer	Sequência	Referência
ITS	ITS 1	5'-TCCGTWGGTGAACCWGC-3'	White et al. 1990 ^a
ITS	ITS 4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	
EF1- α	EF1 – 728F	5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'	Carbone & Kohn 1999 ^a e Udayanga et al. 2012ab
EF1- α	TEF1R	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	
HIS	CYLH3F	5'-AGG TCC ACT GGT GGC AAG-3'	Crous et al 2004
HIS	CYLH3R	5'-AGC TGG ATG TCC TTG GAC TG-3'	
CAL	CAL-228F	5'-GAGTTC AAGGAGGCCTTCTCCC-3'	Carbone & Kohn 1999 ^a e O'Donnell et al. 2000 ^a
CAL	CAL-737R	5'-CATCTTCTGGCCATCATGG-3'	
RPBII	<i>rpb2</i> -LasF	5'-GGTAGCGACGTCACCTCCT-3'	Cruywagen et al. 2016
RPBII	<i>rpb2</i> -LasR	5'-GCGCAAATACCCAGAATCAT-3'	

6.5. Avaliação de mecanismos antagônicos de leveduras *Diaporthesp.*

As leveduras foram cultivadas inicialmente em meio Yeast Extract-Potato-Dextrose-Ágar (YEPD), por 48 horas. Em seguida, plaqueou-se, com auxílio de uma pipeta, 20 μ L da suspensão com ADE + leveduras (1×10^5), em placas de Petri contendo meio BDA, espalhando-se com o auxílio da alça de Drigalski estéril. Disco de meio de cultura de 5 mm de diâmetro (retirado de cultivados de sete dias de idade em meio BDA), contendo estruturas do patógeno foi depositado no centro da placa de Petri semeada com a levedura, após secagem total do meio. Na estepe, repicou-se o patógeno em meio BDA previamente tratado com ADE (Fig. 6).

Para controle de *Diaporthe batatas*, agente causador de mancha foliar em batata-doce, a utilização do produto Tenaz 250 SC é autorizada pelo MAPA. Diante da falta de fungicidas específicos para *D. destruens* e da variabilidade de agentes causais já encontrados nesse patossistema, principalmente do gênero *Diaporthe*, utilizar-se-á o produto químico com intuito de avaliar sua eficácia, ou não, no tratamento da doença, bem como compará-la à eficácia da utilização das leveduras.

Os tratamentos foram compostos por dez isolados de leveduras, cinco isolados patogênicos e o produto químico utilizado no controle de *D. batatas*, obtidos conforme metodologias já descritas anteriormente. O delineamento experimental é inteiramente casualizado, assumindo-se como tratamento o cepa individual de cada agente antagonico, cada tratamento constará de 5 repetições e o tratamento controle consistirá no cultivo do patógeno na ausência do antagonista do produto.

As avaliações serão realizadas a cada 24 horas, até o completo desenvolvimento do patógeno no tratamento controle. A avaliação ocorrerá mediante medição dos diâmetros das colônias nos dois sentidos perpendiculares, anotando-se o valor de crescimento médio dos dois eixos, e em seguida, esses valores serão usados para estimar o Índice de velocidade de crescimento micelial - IVCm, (mm dia^{-1}) e a Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial - PIC(%), por meio das equações:

$$\text{IVCM} = \frac{\sum cf - ci}{t} \qquad \text{PIC} = \frac{cc - cf}{cc} * 100$$

Onde: Ci = crescimento inicial, Cf = crescimento final, Cc = Crescimento final tratamento controle e t = intervalo de avaliação.

Os resultados de IVCm e PIC serão submetidos ao teste de médias pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade, para determinar os tratamentos mais eficientes.

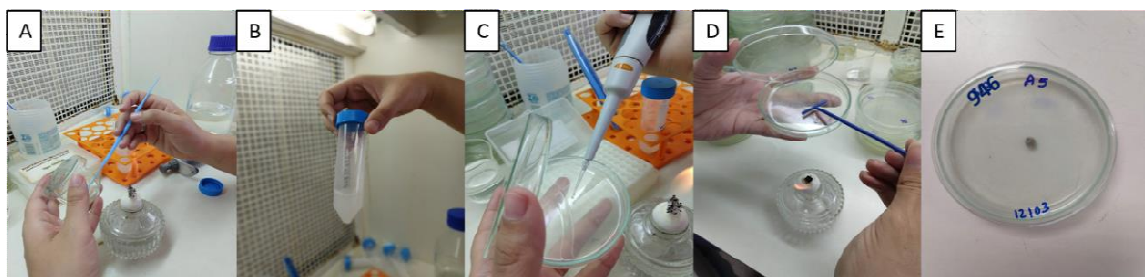


Figura 6. Teste de Cultivo Conjunto. A: Preparo da suspensão de levedura (1×10^5) B: Suspensão de levedura (1×10^5). C: Plaqueamento da suspensão. D: Distribuição da suspensão na placa de Petri, com alça de Drigalski. E: Disco com crescimento micelial do patógeno semeado no centro da placa, após a semeadura da suspensão de levedura.

6.6. Determinação da concentração de inóculo de leveduras para o biocontrole domal-do-pé em batata doce *in vitro*

Serão avaliadas diferentes concentrações de inóculo de leveduras, para o controle de *D. destruens*, utilizando-se isolados de leveduras selecionados, *in vitro*.

A avaliação de concentração de inóculo será realizada em placas de Petri ($\varnothing = 9\text{mm}$), utilizando 5 repetições/tratamento. A suspensão de leveduras será preparada em água destilada esterilizada - ADE, nas concentrações de 0 ; 1×10^5 ; 1×10^6 e 1×10^7 células mL^{-1} . Após a secagem da suspensão, discos ($\varnothing = 5\text{mm}$) com crescimento micelial do patógeno serão adicionados ao centro da placa, sob a suspensão.

Adosagem de 0 , contendo apenas ADE, funcionará como controle negativo, enquanto no controle positivo será adicionado o patógeno, seguindo o método de discos. O controle químico constará do plaqueamento do produto Tenaz 250 SC, com a dose recomendada pelo fabricante.

As avaliações serão realizadas a cada 24 horas, até o completo desenvolvimento do patógeno no tratamento controle. A avaliação ocorrerá mediante a medição dos diâmetros das colônias nos dois sentidos perpendiculares, tomando-se como valor de crescimento a média dos dois eixos, e em seguida, esses valores serão usados para estimar o Índice de velocidade de crescimento micelial - IVC_M, (mm dia^{-1}) e a Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial - PIC(%), por meio das equações:

$$\text{IVCM} = \frac{\sum cf - ci}{t} \qquad \text{PIC} = \frac{cc - cf}{cc} * 100$$

Onde: **C_i**=crescimento inicial, **C_f**=crescimento final, **C_c**=Crescimento final tratamento controle e **t**=intervalo de avaliação.

Os resultados de IVC_M e PIC serão submetidos ao teste de médias pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade, para determinar os tratamentos mais eficientes.

6.7. Período de imersão de ramas de batata-doce em suspensão de leveduras para utilização do controle preventivo

A determinação do período de inoculação será indicada pelo tempo de imersão das ramas na suspensão de leveduras, antes do transplante: ramas imersas 72 horas em ADE; ramas imersas 48 em ADE e 24 horas na suspensão de leveduras; ramas imersas 24 horas em ADE e 48 na suspensão de leveduras; e ramas imersas 72 horas na suspensão de leveduras (5 repetições/tratamentos). O experimento será conduzido em copos plásticos (180 mL). O preparo da suspensão será conduzido como descrito no

item anterior e a concentração de levedura utilizada será de acordo com a concentração selecionada no experimento de determinação da concentração desses inóculos.

As avaliações ocorrerão diariamente, as 0, 24, 48 e 72 horas, após o início dos tratamentos, e serão avaliados fatores indiretamente relacionados ao vigor das ramas, tais como comprimento de raízes (cm), peso de matéria seca e verde das raízes (g), massa seca e verde das ramas (g), número de folhas e folíolos e altura das ramas. Os controles positivo, negativo e químico também serão conduzidos como descrito anteriormente.

6.8. Período de aplicação de leveduras para o biocontrole do mal-do-pé em batata-doce

A determinação do período de inoculação será indicada pela diferença de intervalos entre a aplicação dos biocontroladores e o fitopatógeno: fitopatógeno inoculado 24 horas antes dos biocontroladores; simultaneamente aos biocontroladores; 24 horas após a aplicação dos biocontroladores; e patógeno inoculado 48 horas após a aplicação dos biocontroladores (5 repetições/tratamentos). O método de aplicação dos biocontroladores será conduzido como descrito no item anterior e a concentração de inóculo utilizada será de acordo com a concentração de inóculo selecionada previamente.

Assim como descrito acima, as avaliações ocorrerão aos 10, 20, 30 e 40 dias, após o início dos tratamentos, de acordo com a escala diagramática de Cavalcanti et al. (2002). Os controles positivo, negativo e químico também serão conduzidos como descrito anteriormente.

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1. Obtenção, manutenção e preservação de isolados fúngicos

Os isolados fornecidos pela Coleção de Fungos de Solos (CFS) foram preservados pelo método de Castellani. Essa metodologia contribui na manutenção dos caracteres fisiológicos, morfológicos, fisiológicos e metabólicos dos isolados preservados, garantindo a sua reprodutibilidade sempre que necessário o uso, permitindo que mais estudos sobre o microrganismo sejam realizados anos após sua preservação. Além disso, a preservação em água permite a utilização futura dos isolados para estudos filogenéticos, contribuindo para identificação molecular correta de fitopatógenos e biocontroladores, auxiliando diretamente na otimização das técnicas escolhidas para o manejo da doença (VELEZ et al., 2010).

Os fungos foram isolados de tecidos vegetais sintomáticos da planta de batata-doce como caule, raiz e túbera, obtidos através do método indireto de obtenção de isolados fúngicos. Foram obtidos 15 isolados, dos estados de Alagoas, Paraíba, Pernambuco e Sergipe, sendo 3 coletados em Alagoas, 2 em Paraíba, 9 em Pernambuco e 2 em Sergipe. A descrição do local de origem dos isolados pode ser observada na tabela 2.

Tabela 2. Descrição e procedência dos fungos isolados em plantas sintomáticas de batata-doce

Código	Hospedeiro	Parte	Local
CFS819	Batata-doce	Caule	Moita Bonita-SE
CFS751*	Batata-doce	Caule	Moita Bonita-SE
CFS920	Batata-doce	Caule	UFAL-AL
CFS937	Batata-doce	Caule	UFAL-AL***
CFS946	Batata-doce	Raiz	UFAL-AL

Tabela 1. Continuação

Código	Hospedeiro	Parte	Local
CFS627	Batata-doce	Caule	São Joaquim do Monte-PE
CFS1075	Batata-doce	Caule	São Joaquim do Monte-PE
CFS1036	Batata-doce	Caule	Belém de Maria - PE
TH8	Batata-doce	Caule	Belém de Maria - PE
TH28	Batata-doce	Caule	Palmares-PE
TH71**	Batata-doce	Caule	Palmares-PE
TH88	Batata-doce	Caule	Cupira-PE
TH310	Batata-doce	Caule	Lucena- PB
TH325	Batata-doce	Túbera	Lucena- PB

*CFS- Coleção Fungos de Solo

** TH - Sigla para isolados não patogênicos

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

7.2. Obtenção, manutenção e preservação de leveduras utilizadas como agentes de controle biológico

Foram obtidos dez isolados de leveduras, sendo cinco oriundos das folhas (LFB) e cinco do caule (LCB) de batata-doce (Tabela 3).

Tabela 3. Leveduras isoladas de folha e caule de batata-doce sadios.

Isolados (Caule)	Isolados (Folha)
LCB11	LFB23
LCB18	LFB33
LCB19	LFB26
LCB21A	LFBVR1
LCB32A	LFB40

De acordo com o crescimento das leveduras em placa de petri, foram observadas variações em suas características morfológicas, tais como a coloração, que variou entre branca, marrom, bege e laranja; textura variando entre brilhosa e seca; formato entre circular e irregular; bordas redonda ou rizoide e a superfície convexa, umbilicada e papilada, além do tamanho, que variou entre pequeno, médio e grande. A classificação morfológica é um dos fatores que contribuem para a caracterização de espécies de leveduras, onde, muitas vezes, características morfológicas diferentes podem indicar diferentes espécies.

7.3. Avaliação patogênica de *Diaporthe* spp.

No teste de patogenicidade, foram observados sintomas típicos da doença em cinco tratamentos, sendo esses isolados patogênicos reservados para estudos posteriores (Tabela 4). A distribuição geográfica dos isolados patogênicos restringiu-se aos estados de Pernambuco (CFS 1036, CFS 627) e Alagoas (CFS 920, CFS 937, CFS 946). Uma amostragem maior seria necessária para indicar a ausência ou diminuição da doença, nas demais regiões coletadas, tendo em vista que há relatos significativos de perdas econômicas na cultura nessas regiões (ALMEIDA, 2018).

Os sintomas iniciaram-se em formato circular, com ou mancha necrótica, com coloração marrom, escurecendo com o avanço da doença. Notou-se também um odor alcoólico em alguns tratamentos. Houve variações na profundidade das lesões entre os tratamentos,

tornandonecessáriaarealizaçãodemaisestudosquepossamrelacionarotipoeprofundidade de sintomas, com os diferentes agentes causais do mal-do-pé da batata-doce.

Nas túberas queapresentarammaior árealesionada, notou-seapresençadepicnídiosdecoloraçãopreta.Destamaneira,osisoladospatogênicoscomportar am-sedemaneira diferente nas túberas. Além da diferença observadana profundidade das lesõesecoloraçãodospicnídios,osisoladosselecionadosapresentamdiferençasemuamorfologia, indicando a existência de mais de uma espécie do gênero *Diaporthe* comoagente causal do mal-do-pé da batata-doce, tal qual foi relatado por ALMEIDA et al.(2020),incluindo o*D. kongii*no grupo deagentescausaisdadoença.

Para avaliar as diferenças no progresso da doença, são necessários estudos quemostrem a taxa de progresso da doença (r), o período de incubação (PI) e o tempo deavaliação (t), sendo esses parâmetros essenciais para a escolha do manejo correto dadoença,sendoessaescolhadiretamentereacionadaaoperíododeincubaçãodopatógeno,àvelocidadedodesenvolvimentoeao progressodaslesões.Adependerdessasinformações, os pesquisadores/profissionais podem indicar os métodos de manejo, taiscomo preventivos, erradicantes, de exclusão, químicos, físicos, biológicos, imunizantes,entreoutros(ALMEIDA,2018).Asinformaçõespertinentesaosaspectosepidemiológicoestão listadasnatabela5.

Tabela4. Avaliaçãodepatogenicidadedeisolados,emtúberasdebatata-doce,utilizandoaÁreaAbaixodaCurvadeProgressoda Doença(AACPD).

Isolado	AACPD	Isolado	AACPD
CFS819	0	TH8	0
CFS751	0	TH28	0
CFS920	25,3525	TH88	0
CFS937	28,405	TH310	0
CFS946	19,44	TH325	0
CFS627	75,8200	CFS1075	0
CFS1036	26,625	TH71	0

Tabela 5. Aspectos epidemiológicos de isolados patogênicos à batata-doce.

Isolado	r*	t**	PI***	Isolado	r*	t**	PI***
CFS817	0,042033	6	7	CFS1039	0,052496	4	9
CFS823	0	0	13	CFS1064	0,050765	2	11
CFS920	0,07158	7	6	CFS1066	0,164232	4	9
CFS937	0,06786	7	6	CFS1073	0,091298	3	10
CFS946	0,06905	7	6	CFS1078	0,164483	4	9
CFS1024	0,074929	4	9	CFS1081	0,108099	3	10
CFS1025	0,082384	6	7	CFS1136	0,118654	4	9
CFS1036	0,076869	6	7	CFS1139	0,096854	3	10

7.4. Identificação dos isolados

A extração de DNA dos patógenos, baseada no protocolo adaptado de Murray & Thompson (1980), mostrou-se eficiente para todos os isolados patogênicos obtidos, sendo possível constatar devido a técnica de eletroforese, a presença de DNA em gel de agarose, através da utilização de luz ultravioleta. O fluxo migratório utilizado nesta técnica de visualização de material genético, está relacionado com o peso molecular e a carga elétrica do material, fazendo com que as moléculas de menor migrem mais rápido que as de maior peso molecular, do polo negativo para o positivo. Assim, torna-se possível a visualização das bandas que são posteriormente formadas.

O material genético obtido dos isolados será encaminhado para sequenciamento molecular, posteriormente, submetido à análise filogenética, como já mencionado anteriormente.

7.5. Avaliação de mecanismos antagonistas de leveduras *Diaporthe* sp.

O experimento foi conduzido em cultivo conjunto de cinco leveduras (LCB13, LFB23, LCB22, LCB15b, LCB11) e cinco isolados patogênicos da coleção fungos desolo-CFS (CFS920, CFS937, CFS1036, CFS946 e CFS627), com cinco repetições para cada tratamento. Como resultado dos testes, todos os isolados de leveduras promoveram uma relevante inibição no crescimento micelial dos patógenos, diferindo apenas numericamente no valor da Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial. Notou-se ainda que a ação das leveduras variou de acordo com os isolados patogênicos testados.

Dentre os isolados biocontroladores testados, podemos destacar os tratamentos A, C e D, correspondentes às leveduras LCB13, LCB22 e LFB15, respectivamente. Paradoxalmente, apesar do prosseguimento aos estudos relacionados ao controle biológico do mal-do-pé da batata-doce, a levedura LCB13, correspondente ao tratamento A, foi selecionada, por controlar 100% o crescimento micelial dos isolados patogênicos (Gráfico 1).

De acordo com a análise estatística realizada, os dados não apresentaram normalidade, ou seja, $P < 0,05$, sendo aplicada a análise não paramétrica dos dados. As leveduras LCB13 (71,5%), LFB23 (41,2%), LCB22 (61,2%), LCB15b (55,7%), LCB11 (23%) diferem quanto aos níveis de inibição do crescimento micelial dos patógenos, pois as diferenças foram significativas ($P = 0,0000$, ou seja, $P < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis. Diante disso, realizou-se a comparação entre os tratamentos, gerando um ranking (tabela 6).

É de notória importância que, mesmo havendo diferenças entre os tratamentos, quatro isolados de leveduras, com exceção do isolado LCB11, foram eficientes nos testes *in vivo* de inibição do crescimento micelial dos patógenos, evidenciando o potencial das leveduras como biocontroladoras, embasando hipóteses para testes futuros em mudas de batata-doce, como objetivo de avaliar se o mesmo desempenho observado *in vitro*, repete-se nos testes *in vivo*.

Gráfico 1: Inibição do crescimento micelial de agentes causais do mal-do-pé da batata-doce por leveduras

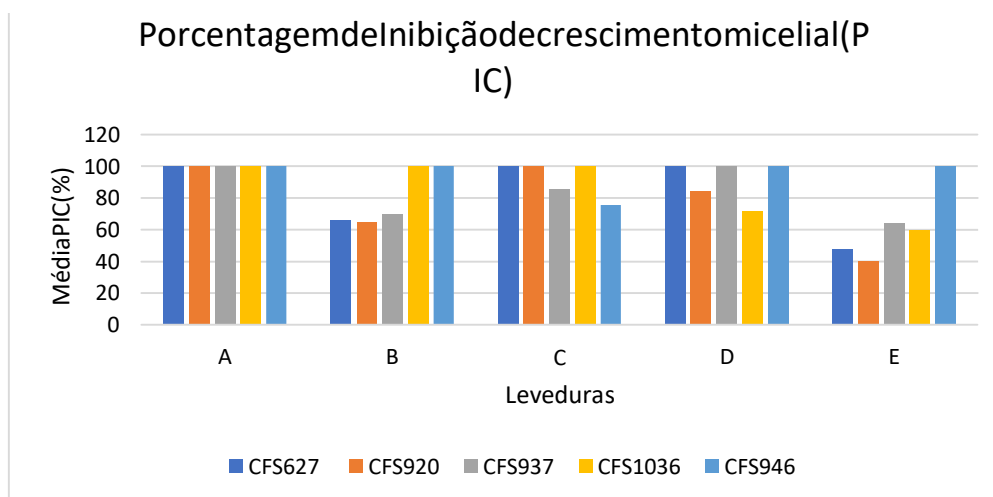


Tabela 6. Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial de Leveduras sobre isolados de *Diaporthe* sp.

Tratamento	Médias	Ranking*
LCB13	71.500	A
LFB23	61.150	AB
LCB22	55.700	AB
LFB15	41.150	BC
LCB11	23.000	C

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

As leveduras são fungos unicelulares, com reprodução assexuada, por meio de divisão binária. Podem ser encontradas na superfície das folhas e frutos, flores, tecidos necróticos, solo e arizosfera. Possuem habilidades em competir por nutrientes, colonizar ferimentos, e induzir resistência em plantas. Estudos mostram que são promissores agentes biocontroladores de doenças de plantas (ALMEIDA, 2018).

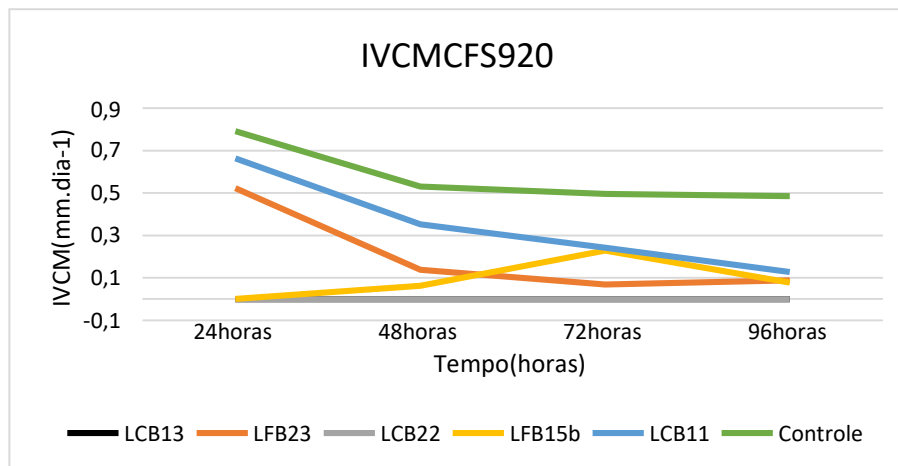
A forma de reprodução permite que as colônias cresçam em uma taxa temporal menor que a dos patógenos, possibilitando assim a colonização do meio em que as leveduras estão inseridas. Sendo assim, a rápida colonização permite que as leveduras tenham vantagens na competição por espaço, bem como por nutrientes, devido a adaptação mais rápida ao hospedeiro. Em termos práticos, as leveduras podem ser estudadas como controle preventivo de doenças de plantas, conferindo um efeito protetivo à batata-doce, além da pulverização da suspensão no plantio, mesmo quando o patógeno já se encontra na área (ROBIGLIO et al., 2011; ALMEIDA, 2018).

Para avaliar a interferência dos isolados de leveduras na taxa de crescimento dos isolados patogênicos, foi avaliado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) dos tratamentos, a cada 24 horas, comparando os resultados ao controle e com o patógeno. Na avaliação do IVCM, observou-se que houve diferenças expressivas entre o controle e os tratamentos.

Na análise de IVCM do isolado CFS920, todos os tratamentos apresentaram valores de IVCM menores que os valores apresentados no controle, indicando que houve uma redução na taxa de crescimento diário do patógeno. De acordo com o gráfico 2, pode-se observar que as leveduras LCB22 e LFB13 controlaram em 100% o IVCM do patógeno, inibindo seu crescimento. Para os isolados LFB23 e LCB11, nota-se que houve um crescimento micelial maior nas primeiras 24 horas de avaliação, mas, após as 48 horas, houve uma redução no crescimento, indicando que estes isolados de leveduras até

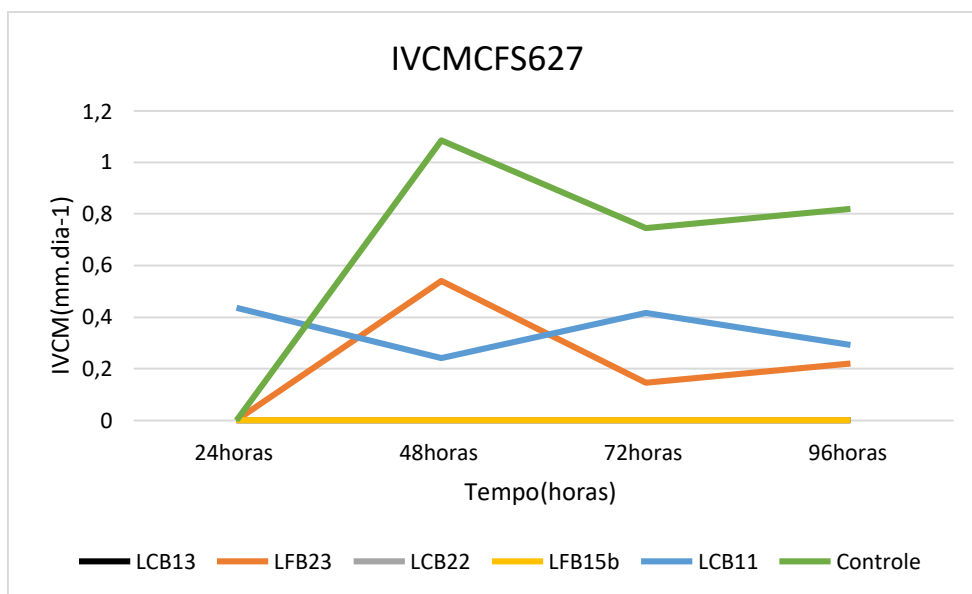
permitem o crescimento inicial do patógeno, mas inibem o seu desenvolvimento. O isolado LFB15b apresentou um comportamento distinto dos demais, inibindo inicialmente o crescimento do patógeno, mas permitindo o crescimento do mesmo entre 48 e 72 horas de avaliação, voltando a inibir o desenvolvimento do isolado após as 72 horas.

Gráfico 2. IVCMI isolado CFS920, submetido aos tratamentos com as leveduras.



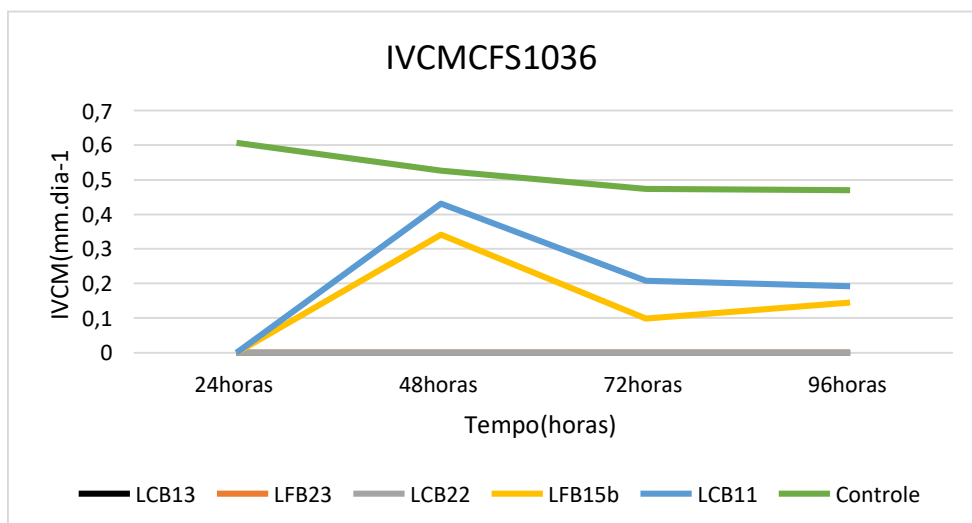
Para o isolado CFS 627, o tratamento com a levedura LCB11 mostrou que, na primeira 24 horas, o patógeno cresceu numa taxa superior à taxa do controle, podendo essa levedura apresentar algum efeito sinérgico no crescimento inicial do patógeno e, mesmo sendo observada uma redução durante o período avaliado, o tratamento LCB11 apresentou um resultado de IVCMI maior que os demais. O tratamento com a levedura LFB23 obteve um comportamento semelhante ao controle, porém com valores mais baixos. Os demais isolados de levedura foram responsáveis pela inibição do crescimento do patógeno em 100%, como podemos observar no gráfico 3.

Gráfico 3.IVCMisoladoCFS627, submetido aostratamentoscom asleveduras.



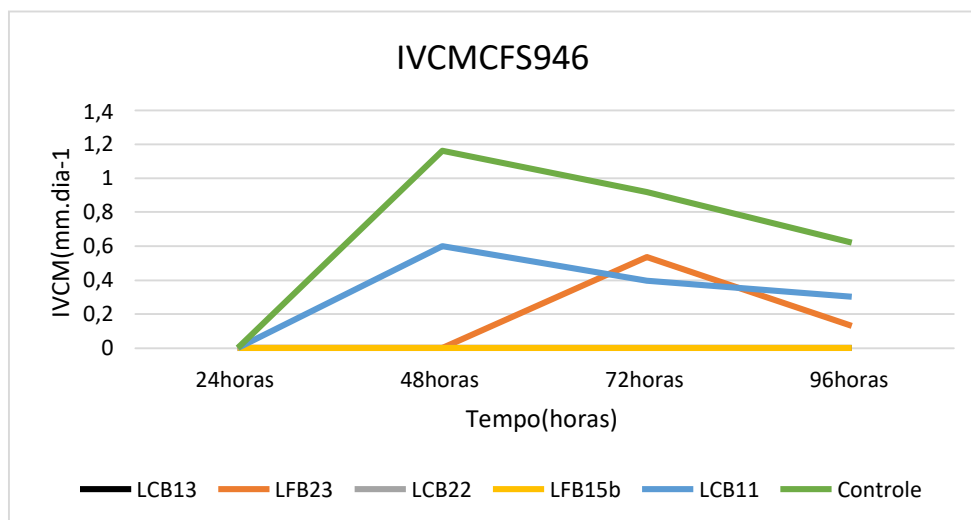
Ao avaliar o isolado CFS1036, todos os tratamentos apresentaram valores de IVCM menores que o controle, ao longo de todo o período, destacando-se os isolados LCB13, LCB22 e LFB23, com inibição de 100% do IVCM (Gráfico 4).

Gráfico 4.IVCMisolado CFS1036, submetido aostratamentoscom asleveduras.



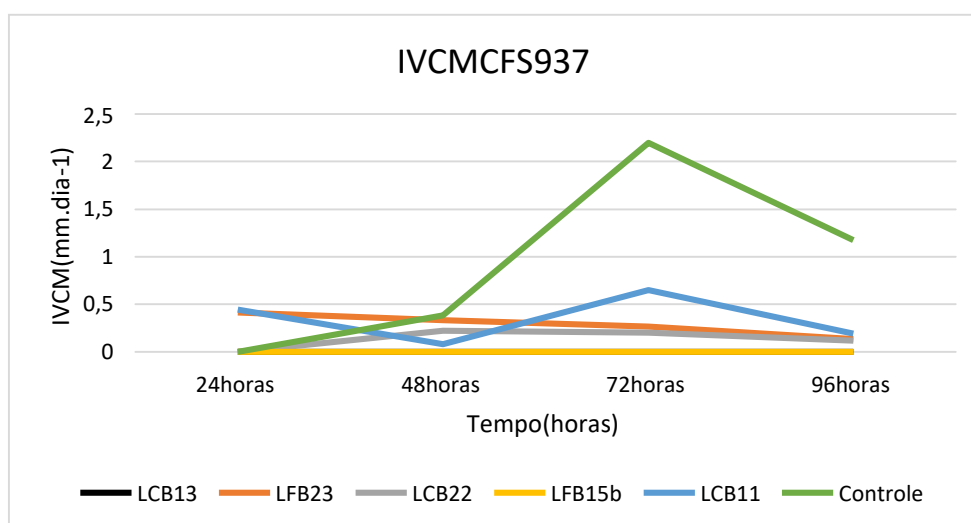
Pode-se observar resultados semelhantes para o isolado CFS946, onde as leveduras foram eficazes na redução do IVCM do patógeno, com valores menores que os valores do controle, ressaltando os isolados LCB13, LFB23 e LCB15b, com inibição de 100% no crescimento do patógeno, como pode ser visualizado no gráfico 5.

Gráfico 5.IVCMisoladoCFS946, submetido aostratamentoscom asleveduras.



O gráfico 6, do isolado CFS937, mostra um comportamento inicial, nas primeiras 24 horas, diferente dos demais, como o valor de IVCM do controle abaixo dos valores de alguns tratamentos (LCB11 e LFB23). Porém, observa-se um aumento significativo no IVCM do controle, entre 48 e 72 horas, o que não se repetiu com os tratamentos, indicando que as leveduras atuaram na redução do desenvolvimento do patógeno. Os isolados LCB13, LCB22 e LFB15b, mostraram-se eficazes na inibição do crescimento micelial também deste patógeno, com 100% de eficácia.

Gráfico 6.IVCMisoladoCFS937, submetido aostratamentoscom asleveduras.



O estudo do IVCM dos isolados patogênicos auxilia na tomada de decisão dos métodos de manejo a serem utilizados. Isolados de levedura que inibem o crescimento

inicial do patógeno, oferecem mais tempo para o produtor entrar com métodos associados para o controle da doença das plantas. Além disso, como controle inicial no desenvolvimento dos isolados, possibilita que a cultura desenvolva-se saudável na fase mais suscetível à ação do patógeno, a fase de muda, permitindo que a planta produza seus mecanismos de defesa antes da ação do patógeno.

Diante disso, estes isolados não podem ser destacados num plano de manejo do mal-do-pé da batata-doce. Porém, devido à severidade da doença e aos altos impactos causados pela ação do patógeno, os melhores isolados de leveduras são aqueles que inibem totalmente o crescimento do patógeno, deixando a área livre e possibilitando o desenvolvimento saudável da cultura. Como já mencionado anteriormente, o isolado LCB13 foi selecionado para os testes posteriores, pois apresentou melhores resultados nos testes de PIC(%) e IVCMM(mm.dia^{-1}).

Poucos são os estudos da atividade biocontroladora de leveduras sobre agentes causais do mal-do-pé da batata-doce, por isso, a próxima etapa deste estudo foi avaliar a concentração ideal, *in vitro*, para aplicação da suspensão de leveduras.

7.6. Determinação da concentração de inóculo de leveduras para o biocontrole do mal-do-pé em batata doce *in vitro*

Os resultados do teste de concentração (gráfico 7) mostram que não houve diferença significativa entre as concentrações de 10^5 e 10^6 células. ml^{-1} . Ambas as concentrações conseguiram controlar o crescimento do patógeno em mais de 85%, enquanto a concentração de 10^4 células. ml^{-1} controlou apenas cerca de 44,5%.

As diferentes concentrações da suspensão de levedura, foram analisadas estatisticamente pelo teste de comparação de médias, através do programa Statistix 9, o resultado apontou que houve diferença significativa na concentração de 10^5 e 10^6 células. ml^{-1} com relação à concentração de 10^4 células. ml^{-1} (Tabela 7). Essa diferença ocorre devido à menor quantidade de células de leveduras presentes na suspensão. Com isso, para que as leveduras atinjam um bom potencial biocontrolador do patógeno, torna-se indispensável que a concentração de células de leveduras seja igual ou superior a concentração 10^5 ou 10^6 células. ml^{-1} .

Gráfico 7. Diferentes concentrações da suspensão de leveduras na Inibição do Crescimento micelial dos Patógenos

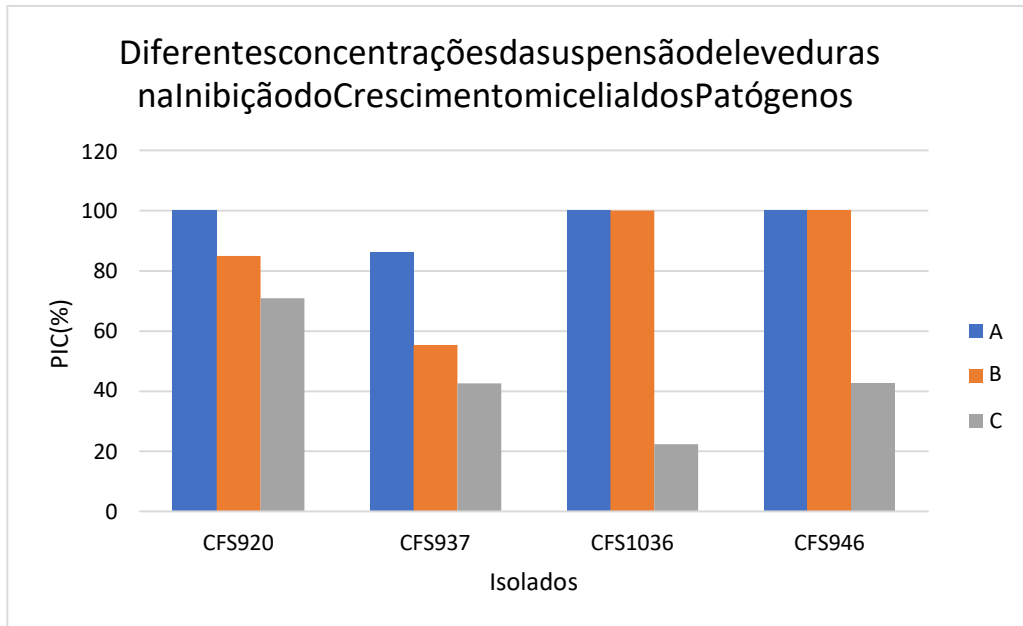


Tabela 7. Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial de Leveduras sobre isolados de *Diaporthe* sp., de acordo com as concentrações dasuspensão

Tratamento	Médias	Ranking*
10^6	96.58	A
10^5	85.05	A
10^4	44.58	B

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

De acordo com o teste de concentrações da suspensão de leveduras, foi possível avaliar também a variação no IVCM dos patógenos, permitindo concluir que a concentração de 10^6 células.mL⁻¹ foi a que apresentou o melhor crescimento diário dos patógenos, em todos os isolados (Fig. 7). Nas imagens a seguir, é possível observar a diferença no crescimento micelial dos isolados CFS920 (Fig. 8), CFS937 (Fig. 9), CFS946 (Fig. 10) e CFS1036 (Fig. 11), em função da concentração da suspensão. Devido a dificuldades no repique do isolado CFS627, o mesmo não foi utilizado para o teste de concentrações.

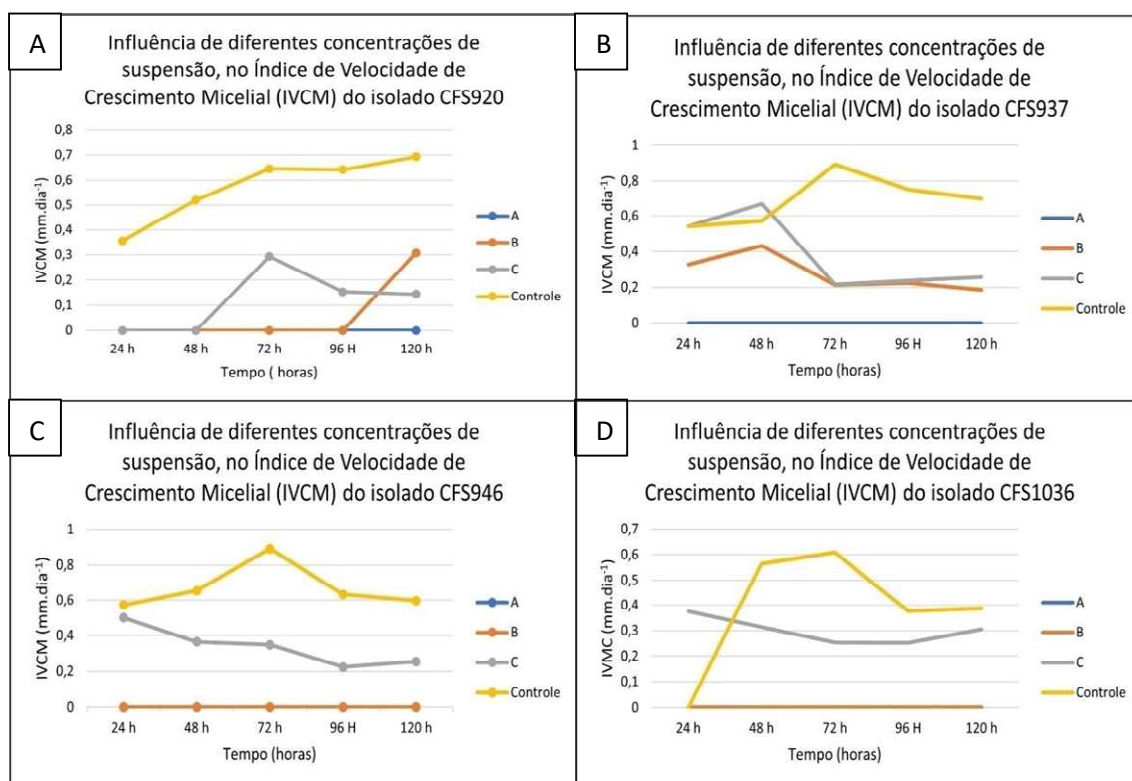


Figura 7. Influência de diferentes concentrações da suspensão de leveduras no IVCM de isolados patogênicos da batata-doce. A. IVCM do isolado CFS920; B. IVCM do isolado CFS937; C. IVCM do isolado CFS946; D. IVCM do isolado CFS1036;

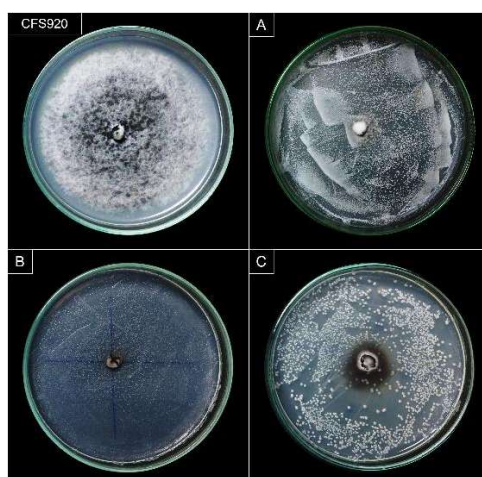


Figura8. Influência de diferentes concentrações das suspensão de leveduras no IVC M do isolado CFS920.

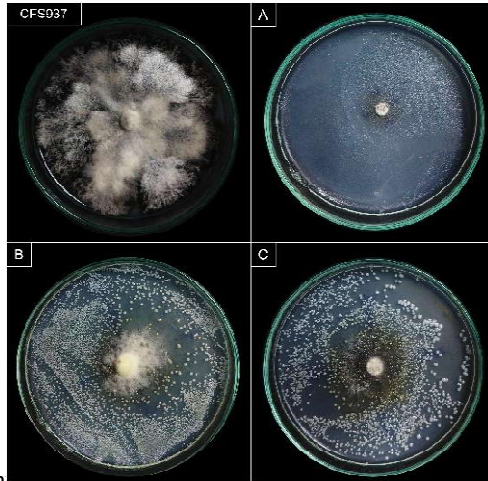
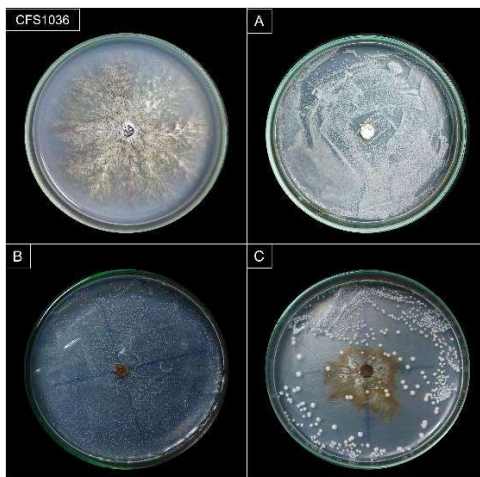


Figura9. Influência de diferentes concentrações das suspensão de leveduras no IVC M do isolado CFS937.



Figura10. Influência de diferentes concentrações das suspensão de leveduras no IVC M do isolado CFS946.



Elaborar relatórios parciais finais						X	X				X	X
Elaborar resumos e participar de eventos científicos							X	X	X		X	X

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluimos que, diante dos resultados obtidos no teste de patogenicidade, todos os isolados causam danos a túbera de batata-doce nos quatro estados coletados, e em algumas áreas causam maiores prejuízos aos produtores. Entre os isolados existem diferenças nos componentes epidemiológicos.

A extração de DNA foi feita de maneira eficiente, adquirindo materiais genéticos para futuro sequenciamento.

No teste em cultivo em conjunto o isolado LCB13 apresentou maior inibição do crescimento dos isolados patogênicos.

As concentrações de 10^6 e 10^5 células.mL⁻¹ da suspensão de leveduras, apresentaram melhor eficiência na inibição de crescimento micelial, nos fitopatógenos testados.

Os estudos mostraram que as leveduras têm potencial biocontrolado para uso no manejo do mal-do-pé da batata-doce.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Consulta de Praga/Doença**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/!ap_praga_detalhe_cons?p_id_cultura_praga=5835> Acesso em: 21/03/2021

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

- BARDA, O.; SHALEV, O.; ALSTER, S.; BUXDORF, K.; GAFNI, A.; LEVY, M. *Pseudozyma aphidis* Induces Salicylic-Acid-Independent Resistance to *Clavibacter michiganensis* in Tomato Plants. *Plant Disease*. v. 99. n° 5, p. 621–626. 2015.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J. V.; CORRÊA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas – Jaguariúna, SP: **Embrapa Meio Ambiente**, 2012. 155 p.
- BUXDORF, K; RAHAT, I; GAFNI, A; LEVY, M. The epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* induces jasmonic acid- and salicylic acid/nonexpressor of PR1-independent local and systemic resistance. **Plant Physiology**, 2013 Apr; 161(4):2014-22 doi:10.1104/pp.112.212969.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 24, p. 270-276, 1939.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#search/Sweet%20potatoes>. Acesso em 11/01/2021.
- GAI, Y.; MA, H.; CHEN, X.; ZHENG, J.; CHEN, H.; LI, H. Stem blight, foot rot and storage tuber rot of sweet potato caused by *Plenodomus destruens* in China. **Journal of General Plant Pathology**. v. 82, p. 181–185. 2016.
- IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. Disponível em: [site.https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado](https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado). Consultado em 25 JAN. 2021.
- MELLO, J. F.; BRITO, A. C.; MOTTA, C. M. S.; VIEIRA, J. C. B.; MICHEREFF, S. J. and MACHADO, A. R. First Report of *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Root Rot in Sweet Potato in Brazil. *Plant Disease*, 102 (2), p. 373, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-18-1242-PDN>
- ROBIGLIO, A.; SOSA, M. C.; LUTZ, M. C.; LOPES, C. A.; SANGORRÍN, M. P. Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature. **International Journal of Food Microbiology**. v. 147. n° 1 p. 211-216, 2011.
- ZAMBOLIM, L.; JESUS JÚNIOR, W. C.; RODRIGUES, F. A. **O Essencial da Fitopatologia: Controle de Doenças de Plantas**. 1 ed. São Paulo: Suprema Gráfica e Editora, 2014.

11. ATIVIDADES RELEVANTES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

- Simpósio e Eventos online:
III Colóquio em Fitopatologia Tropical 2020- Resistência de plantas a doenças, realizado pelo Programa de Pós-graduação em Fitopatologia da UFRPE. Realizado nos dias 17 a 19 de novembro de 2020;

- Minicursos:
Controle químico de plantas, no III Colóquios em Fitopatologia Tropical, promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, em Recife-PE, ministrado pela Dra. Leilane Silveira D’ávila, no dia de 19 de novembro de 2020;
Quantificação de doenças de plantas, no III Colóquios em Fitopatologia Tropical, promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, em Recife-PE, ministrado pela Dr. Humberson Rocha no dia de 18 de novembro de 2020;
- Desenvolvimento de atividades relacionadas aos experimentos dos alunos de Pós-Graduação em Fitopatologia, no Laboratório Fungos de Solo – LAFSOL;
- Auxílios nas atividades de rotina: preparo dos materiais, esterilização de vidrarias e preparos no meio de cultivos, para utilização em experimentos e aulas práticas da graduação e pós-graduação;

12. DIFICULDADES ENCONTRADAS

Aprimórdio, para os testes de patogenicidade, utilizou-se a variedade Co-Roxa. Porém, devido a coloração escura da batata-doce, não foi possível observar o progresso dos sintomas dos isolados, necessitando substituir a variedade Co-Roxa pela variedade branca Rainha da Praia.

Além disso, sabendo que o mal do pé é a doença que mais afeta a batata-doce, houve dificuldade na compra da variedade Rainha da Praia nos mercados atacadistas locais e na Central Estadual de Abastecimento, CEASA-PE, devido à incidência da doença, dificultando a produtividade da cultura.

Devido a Pandemia do Covid-19 e consequentemente o isolamento social, tivemos alguns impasses e os experimentos precisam ser adiados. O projeto e o plano de trabalho dessa pesquisa estão em andamento, ficando pendente apenas a identificação molecular das leveduras biocontroladoras, como também a determinação do período de aplicação e concentração de inóculo no biocontrole preventivo do mal-do-pé em mudas de batata-doce, essas análises e resultados vão ser apresentados no relatório final.

Por conta do cronograma reduzido, não houve tempo hábil para realização dos testes de determinação do período de aplicação de leveduras para o biocontrole do mal-

do-

pédabatadoce. Além disso, a identificação molecular dos isolados está em andamento, com o material genético sendo processado para ser sequenciado.

13. PARECER DO ORIENTADOR

O bolsista Elder Felipe de Moura Silva, apresentou bom desempenho acadêmico e científico, demonstrando avanços progressivos durante o desenvolvimento de seu plano de trabalho. Em todas as etapas, ele demonstrou interesse pela pesquisa, realizando suas atribuições com responsabilidade. Vale salientar a dedicação, a facilidade de convívio e o comprometimento com a equipe LAFSOL.