

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE DOENÇAS RADICULARES E FOLIARES E  
SUA INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS NA CULTURA  
DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)**

**Sarah dos Santos Valentim**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
Março – 2025**

**INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE DOENÇAS RADICULARES E FOLIARES E  
SUA INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS NA CULTURA  
DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)**

Sarah dos Santos Valentim

Bacharel em Engenharia Agrônômica, UFRB, 2023

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito final para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Agricultura Tropical).

**Orientador:** Prof. Dr. Emerson Dechechi Chambó

**Coorientador:** Prof. Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**Março – 2025**

## FICHA CATALOGRÁFICA

V155i

Valentim, Sarah dos Santos.

Incidência e severidade de doenças radiculares e foliares e sua influência nas características agronômicas na cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) / Sarah dos Santos Valentim. – Cruz das Almas, BA, 2025.

97f.; il.

(Dissertação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Dechechi Chambó.  
Coorientador: Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira.

1.Mandioca – Doenças e pragas – Podridão radicular.  
2.Microorganismos do solo – Produtividade agrícola – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.  
II.Título.

CDD: 633.682

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE DOENÇAS RADICULARES E FOLIARES E  
SUA INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS NA CULTURA  
DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de  
Sarah dos Santos Valentim

Aprovado em 06 de março de 2025

Prof. Dr. Emerson Dechechi Chambó  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Prof. Dr<sup>a</sup> Leilane D'ávila Silveira  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Prof. Dr. Thiago Alves Santos de Oliveira  
Universidade Federal do Acre

## DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, pois foi Ele que “plantou” essa jornada no meu coração. Aos meus pais que me apoiam em tudo que me proponho seguir, em especial a minha mãe Salma. Aos meus amigos que distantes ou pertos sempre acompanham e acreditam em mim. Ao meu futuro eu, que com certeza vai estar muito feliz por não ter desisto.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) pela oportunidade;

À Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), pelo apoio institucional e infraestrutura de trabalho;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Emerson Dechechi Chambó pela orientação, direcionamento, paciência e correções durante o percurso;

Ao meu coorientador Saulo Alves Santos de Oliveira, por me dar direcionamento, correções e me permitir na execução e elaboração do projeto;

Aos órgãos de fomento: CAPES, pelo apoio financeiro e bolsas que possibilitaram a realização deste trabalho;

À toda equipe da mandioca, por ajudar a sanar dúvidas e contribuir na execução do projeto;

À Selma e Cíntia Paula pelo apoio, ensinamentos e contribuições

Às minhas queridas amigas, Camila C., Camilla F. e Paloma, que acompanham todo o meu crescimento e acreditam no meu potencial;

Aos meus pais por todo o acalento e apoio durante essa jornada

À minha mentora da pesquisa, que me mostrou a pesquisa além do laboratório

A todos que contribuíram direta e indiretamente na condução do projeto. Sem ajuda e apoio de todos, jamais teria chegado até aqui.

# INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE DOENÇAS RADICULARES E FOLIARES E SUA INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS NA CULTURA DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

## RESUMO GERAL

A mandioca é uma cultura de grande importância no Brasil, contribuindo para a economia e a geração de empregos. No entanto, doenças que afetam a mandioca resultam em baixa produtividade, causando preocupações entre os produtores. Este estudo teve como objetivo avaliar a interação entre a cobertura vegetal na biodiversidade microbológica e química do solo, dimensionando o impacto da presença de diferentes coberturas vegetais na incidência e severidade da podridão radicular na cultura da mandioca, variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris', bem como o isolamento e caracterização de patógenos foliares, crescimento micelial in vitro e avaliação da severidade e de parâmetros agronômicos na variedade 'BRS Mulatinha'. O capítulo I investigou as doenças radiculares, a podridão radicular seca (*Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticillioides*, *F. solani*, *F. lateritium* e *F. chlamydosporum*) e a podridão radicular negra (*Lasiodiplodia theobromae* e *Neoscytalidium dimidiatum*). Este capítulo relacionou as coberturas vegetais com as características químicas e a microbiota do solo na variedade 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris', estudando 11 coberturas em quatro ciclos de cultivo (40, 130, 170 e 260 dias), resultando em 44 tratamentos, com análises microbiológicas, químicas e agronômicas. O Capítulo II focou em estudos das doenças foliares, incluindo a queima das folhas (*Passalora vicosae*) e mancha parda (*Claro Hilum henningsii*). O experimento em câmara de crescimento contemplou 30 tratamentos dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. Além disso, realizou-se teste de temperatura (14, 21, 28 e 35°C), e contagem UFC 10<sup>4</sup>/mL. Os resultados indicaram que a cobertura de milho favoreceu a presença de bactérias totais, enquanto a aveia preta beneficia bactérias produtoras de endósporos, fungos totais e bactérias produtoras de sideróforos. No ciclo 2, as variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris', associados com o Feijão Caupi, tiveram melhores condições de cultivo. No ciclo 4, a variedade 'BRS Kiriris' indica condições favoráveis ao seu cultivo. No capítulo II, foram obtidos 30 isolados, sendo 24 de *C. henningsii*, cinco de *P. vicosae* e um de *C. kikuchii*. Para a filogenia, somente a região ITS não é suficiente para separar as espécies. Em geral, para *C. henningsii*, a temperatura 28°C foi mais favorável para o crescimento micelial quanto para as UFC 10<sup>4</sup>/mL. Já para *P. vicosae* não houve diferenças entre os isolados no crescimento micelial para as duas temperaturas. As espécies apresentaram temperaturas ótimas de crescimento diferentes. O Isolado CFM3018 de *C. henningsii* e os isolados CFM3020 e CFM3029 de *P. vicosae* foram os que apresentaram maior severidade de doença na variedade 'BRS mulatinha'.

**Palavras-chave:** complexo de manchas, *Passalora* spp; podridões radiculares, severidade,

# IMPACT OF VEGETABLE COVERAGE ON CHEMICAL CHARACTERISTICS, SOIL MICROBIOTA AND THE INCIDENCE OF ROOT DISEASES AND EPIDEMIOLOGY OF LEAF DISEASES IN CASSAVA CROP (*Manihot esculenta* Crantz)

## ABSTRACT

Cassava is a crop of great importance in Brazil, contributing to the economy and job creation. However, diseases that affect cassava result in low productivity, causing concern among producers. This study aimed to evaluate the interaction between vegetation cover on soil microbiological and chemical biodiversity, measuring the impact of the presence of different vegetation covers on the incidence and severity of root rot in cassava crops, varieties 'BRS Formosa' and 'BRS Kiriris', as well as the isolation and characterization of foliar pathogens, in vitro mycelial growth and evaluation of severity and agronomic parameters in the variety 'BRS Mulatinha. Chapter I investigated root diseases, dry root rot (*Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticillioides*, *F. solani*, *F. lateritium* and *F. chlamydosporum*) and black root rot (*Lasiodiplodia theobromae* and *Neoscytalidium dimidiatum*). This chapter related the plant covers with the chemical characteristics and soil microbiota in the variety 'BRS Formosa' and 'BRS Kiriris', studying 11 covers in four crop cycles (40, 130, 170 and 260 days), resulting in 44 treatments, with microbiological, chemical and agronomic analyses. Chapter II focused on studies of foliar diseases, including leaf blight (*Passalora vicosae*) and brown spot (*Claro hilum henningsii*). The experiment in a growth chamber included 30 treatments arranged in a completely randomized design, with six replicates. In addition, a temperature test (14, 21, 28 and 35°C) and UFC 104/mL count were performed. The results indicated that corn cover favored the presence of total bacteria, while black oats benefited endospore-producing bacteria, total fungi and siderophore-producing bacteria. In cycle 2, the varieties 'BRS Formosa' and 'BRS Kiriris', associated with cowpea, had better cultivation conditions. In cycle 4, the variety 'BRS Kiriris' indicated favorable conditions for its cultivation. In chapter II, 30 isolates were obtained, 24 of *C. henningsii*, five of *P. vicosae* and one of *C. kikuchii*. For phylogeny, the ITS region alone is not sufficient to separate the species. In general, for *C. henningsii*, the temperature of 28°C was more favorable for mycelial growth and for CFU 104/mL. For *P. vicosae*, there were no differences between the isolates in mycelial growth for the two temperatures. The species presented different optimal growth temperatures. Isolate CFM3018 of *C. henningsii* and isolates CFM3020 and CFM 3029 of *P. vicosae* were those that presented the greatest disease severity in the 'BRS mulatinha' variety.

**Keywords:** spot complex, *Passalora* spp; root rots, severity

## LISTA DE ABREVIações

INCI	Incidência Interna
INCE	Incidência Externa
COLI	Colonização interna da mandioca
PFPA	Peso fresco da parte aérea
PFR	Peso fresco da Raiz
NH	Número de haste
PSPA	Peso seco da parte aérea
PSR	Peso seco da raiz
VIG	Vigor
HA	Altura
SEV	Severidade
SOBR	Sobrevivência
GERM	Germinação
BT	Bactérias totais
BPE	Bactérias produtoras de endósporo
ACT	Actinobactérias
BPS	Bactérias produtoras de sideróforos
FT	Fungos totais
TRICHO	Trichoderma
PH	Potencial hidrogeniônico
P	P - Fósforo
K	K- Potássio
CA2	Ca <sup>2+</sup> - Cálcio
MG2	Mg <sup>2+</sup> - Magnésio
HAL	H + Al – Acidez potencial ou total
SB	SB- Soma de bases
t	t (– CTC efetiva
T	T – CTC
V	V – Saturação por base
MO	MO - Molibdênio

PREM	P-Rem – fósforo remanescente
CU	Cu - cobre
MN	Mn - manganês
FE	Fe - ferro
ZN	Zn – zinco
FC	Folhas caídas
UFC	Unidade formadora de colônia

## LISTA DE TABELA

### CAPÍTULO I

**Tabela 1:** Tratamentos e cultivos utilizados na avaliação do potencial de coberturas vegetais durante os ciclos de cultivo.....37

**Tabela 2:** Valores médios e desvios-padrão das variáveis microbiológicas para as coberturas vegetais dentro de cada ciclo.....45

### CAPÍTULO II

**Tabela 1:** Isolados de *Claro hilum henningsi*, *Passalora vicosae* e *Cercospora kikuchi* obtidas da cultura de mandioca com sintomas de mancha foliar e dado do GenBank.....79

**Tabela 2:** Comparação entre os isolados de *Claro hilum henningsii* para a área de crescimento micelial (cm<sup>2</sup>) e Unidades Formadoras de Colônia (UFC 10<sup>4</sup>/mL) em duas condições de temperatura (21°C e 28°C).....84

**Tabela 3:** Comparação entre os isolados de *Passalora vicosae* para a área de crescimento micelial (cm<sup>2</sup>) e Unidades Formadoras de Colônia (UFC 10<sup>4</sup>/mL) em duas condições de temperatura (21°C e 28°C).....85

**Tabela 4:** Valores médios e desvio padrão das variáveis de parâmetros agrônômicos e severidade para os 24 isolados de *Claro hilum henningsii*.....88

**Tabela 5:** Valores médios e desvio padrão das variáveis de parâmetros agrônômicos e severidade para os 5 isolados de *Passalora vicosae* .....89

**Tabela 6:** Valores médios e desvio padrão das variáveis de parâmetros agrônômicos e severidade para isolado de *Cercospora Kikuchi*.....89

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1:** Modelo log-normal para valores preditos de BT (Bactérias Totais) em função do ciclo em cada cobertura vegetal.....47
- Figura 2:** Modelo log-normal para valores preditos de BPE (Bactérias produtoras de Endósporos) em função do ciclo em cada cobertura vegetal.....48
- Figura 3:** Modelo log-normal para valores preditos de ACT (Actinobactérias) em função do ciclo em cada cobertura vegetal.....50
- Figura 4:** Modelo log-normal para valores preditos de BPS (Produtoras de Sideróforos) em função do ciclo em cada cobertura vegetal.....51
- Figura 5:** Modelo log-normal para valores preditos de FT (Fungos totais) em função do ciclo em cada cobertura vegetal.....52
- Figura 6:** Modelo log-normal para valores preditos de TRICHO (Trichoderma) em função do ciclo, independentemente da cobertura vegetal.....53
- Figura 7:** Biplot de projeção de vetores de atributos agronômicos, doenças relacionadas a grupos de vegetação cobertura e pousio, microbiológicos e dados químicos do solo, no 2º ciclo agrícola, para as variedades 'BRS Formosa e 'BRS Kiriris'.....54
- Figura 8:** Biplot de projeção de vetores de atributos agronômicos, doenças relacionadas a grupos de vegetação cobertura e pousio, microbiológicos e dados químicos do solo, no 4º ciclo agrícola, para as variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris'.....55
- Figura 9:** Pontuações totais ponderadas calculadas para cada observação do ciclo 2, classificando e ponderando diferentes coberturas avaliadas.....57
- Figura 10:** Pontuações totais ponderadas calculadas para cada observação do ciclo 2, classificando e ponderando diferentes coberturas avaliadas.....58

## CAPÍTULO 2

**Figura 1:** Produtos de PCR (Polymerase Chain Reaction) o conjunto de primers ITS-1 e ITS-4, submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR Green (SYBRTM Safe DNA Gel Stain – Invitrogen), e poço um o marcador 1 kb DNA Ladder, 48 amostras e controle.....78

**Figura 2:** Produtos de PCR (Polymerase Chain Reaction) o conjunto de primers ITS-1 e ITS-4, submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR Green (SYBRTM Safe DNA Gel Stain – Invitrogen), e um poço o marcador 1 kb DNA Ladder, 5 amostras e controle.....78

**Figura 3:** Crescimento micelial de 24 isolados de *Claro hilum henningsii* em meio sabouraud com 30 dias.....80

**Figura 4:** Crescimento micelial de 5 isolados de *Passalora vicosae* (A) e 1 isolado *Cercospora kikuchii* (B) de em meio sabouraud com 30 dias.....81

**Figura 5:** Árvore filogenética de Máxima Parcimônia de espécies de *Claro hilum henningsii*, *Passalora vicosae* e *Cercospora kikuchii*; usando sequências de ITS 1 e 4, obtidos de lesões de mancha parda e queima das folhas e de sequências de *Pseudocercospora*, *Cercospora*, *Clypeospharella* e *Plaeoramularia manihotis*; baixadas do GenBank.....83

**Figura 6:** Efeito de temperatura (14°C, 21°C, 28°C e 36°C) no crescimento micelial para espécies de *Claro hilum henningsii* (A), *Passalora vicosae* (B) e *Cercospora kiluchii* (C); em meio Saborand descrito por função de beta generalizada.....86

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	16
<b>2. REFERÊNCIAL TEÓRICO</b> .....	18
2.1 Cultura da mandioca.....	18
2.2 Doença da mandioca .....	19
2.3 Uso de coberturas e microbiota do solo.....	22
2.4 Estudo epidemiológico.....	23
CAPÍTULO I	
<b>RESUMO</b> .....	<b>32</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>33</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>34</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
2.1 Condução do experimento .....	36
2.2 Preparação do inóculo e infestação do solo.....	37
2.3 Cultivo de mandioca e cobertura vegetal .....	38
2.4 Parâmetros de germinação, agronômicos e de doença .....	39
2.5 Parâmetros microbiológico e químicos. ....	40
2.6 Análises estatísticas .....	42
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>58</b>
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>62</b>
CAPÍTULO II	
<b>RESUMO</b> .....	<b>67</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>68</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>69</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>71</b>
2.1 Obtenção dos isolados.....	71
2.2 Análise Molecular.....	72

2.2.1 Extração de DNA, quantificação e PCR .....	72
2.2.2 Purificação e sequenciamento da amostra.....	73
2.2.3 Análise Filogenética.....	73
2.3 Montagem do experimento .....	73
2.3.1 Cultivo da mandioca .....	74
2.3.2Preparação do inóculo e inoculação nas folhas .....	74
2.4 Avaliação do experimento e parâmetros.....	744
2.4.1 Período de incubação e área de lesão .....	744
2.4.2 Parâmetros agronômicos .....	75
2.4.3 Teste de temperatura e UFC 10 <sup>4</sup> /10mL.....	75
2.5 Análise estatística.....	76
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>77</b>
3.1 Obtenção dos isolados .....	77
3.2 Extração de DNA e PCR.....	79
3.3 Filogenia.....	81
3.4 Crescimento micelial e UFC 10 <sup>4</sup> /mL.....	83
3.5 Parâmetros agronômicos e de doença.....	85
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>90</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>94</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura de grande importância socioeconômica em várias regiões do mundo, incluindo países tropicais e subtropicais (Sanches *et al.*, 2017). Além de possuir características nutricionais relevantes para a saúde humana, é classificada como a mais importante cultura alimentar e consumida por aproximadamente 800 milhões de pessoas em todo o mundo (Sanches *et al.*, 2017).

Cultivada em todas as regiões do Brasil, a mandioca é fundamental na alimentação humana e animal, além de servir como matéria-prima para produtos industriais. A cultura também é vital para a geração de emprego e renda na área rural, especialmente para pequenos e médios produtores com baixa renda per capita (Otsubo; Lorenzi, 2004; Ribeiro *et al.*, 2019; Bester *et al.*, 2021). Em 2023, o país obteve uma produtividade média de cerca de 22 milhões de toneladas de raízes por hectare, mas as estimativas do IBGE para 2024 indicam uma queda de quase 2,5% na produção brasileira, devido à redução da área cultivada (IBGE, 2024).

A produção de mandioca está concentrada em dois estados: Pará, na região norte, e Paraná, no sul do Brasil. O estado de São Paulo aparece em terceiro lugar, com 8% da produção nacional, seguido pela Bahia, que representa aproximadamente 5% (IBGE, 2024).

Entretanto, apesar da alta produtividade, a cultura da mandioca enfrenta grandes problemas fitossanitários, sendo afetada por doenças radiculares e foliares que podem comprometer sua produção. Essas doenças podem resultar em perdas significativas, impactando a qualidade e volume da produção, o que, por sua vez, afeta a renda dos agricultores e a segurança alimentar das comunidades que dependem dessa cultura.

As podridões radiculares seca e negra da mandioca são causadas por patógenos do solo, e os sintomas expressos nas raízes tuberosas são úteis para distinguir os patógenos envolvidos (Bandyopadhyay *et al.*, 2006; Hohenfeld *et al.*, 2018). Entre os patógenos que causam a podridão seca estão *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium solani*,

*Fusarium lateritium* e *Fusarium chlamydosporum*. Já a podridão negra é causada por *Lasiodiplodia theobromae* e *Neoscytalidium dimidiatum*.

A podridão radicular seca é caracterizada pelo amarelecimento e murcha da parte aérea da planta, seguida pela queda das folhas e, eventualmente, a morte da planta. As raízes apresentam estrias ou lesões necróticas, que variam de róseas a marrons (Massola Junior; Bedendo; Oliveira, 2016; Boas *et al.*, 2017). Em contraste, a podridão radicular negra manifesta-se por lesões necróticas secas, de coloração cinza a escura, nas raízes e hastes, levando ao amarelecimento e queda das folhas (Oliveira *et al.*, 2013; Machado *et al.*, 2014).

Dentre as doenças foliares, destaca-se o complexo que inclui a mancha parda (*Clorohilum henningsii*) e a queima das folhas (*Passalora vicosae*). Os sintomas desse complexo variam conforme a espécie, apresentando manchas arredondadas escuras na superfície das folhas variando de grande à pequenas que podem causar amarelecimento e desfolha (Viégas, 1941; Silva e Andrade, 2011; Massola Junior; Bedendo; Oliveira, 2016; Cunha, 2017).

O controle das doenças da mandioca baseia-se principalmente no uso de cultivares resistentes (Massola; Bedendo, 2005; Fukuda, 2006), mas práticas adicionais, como o uso de manivas saudáveis, rotação de culturas, coberturas vegetais e limpeza das áreas, são essenciais para reduzir as perdas (Peruch *et al.*, 2013). Além disso, o uso de coberturas vegetais pode melhorar a estrutura e fertilidade do solo (Magid *et al.*, 2001; Conklin *et al.*, 2002; Cavigelli; Thien, 2003) e diminuir a incidência de doenças causadas por patógenos do solo (Litterick *et al.*, 2004; Noble; Coventry, 2005).

Além de práticas adicionais, a caracterização química do solo desempenha um papel crucial na compreensão de sua fertilidade e na adoção de práticas de manejo sustentáveis (Pereira; Thomaz, 2015). A avaliação dos teores de nutrientes, incluindo nitrogênio, fósforo e potássio, junto a análise do pH do solo, possibilita a implementação de práticas precisas de adubação e correção, garantindo a otimização da produtividade agrícola e a preservação da saúde do solo a longo prazo (Lepsch, 2021).

A mandioca desempenha um papel crucial na segurança alimentar e na subsistência de muitas famílias, tanto pela venda de produtos in natura quanto de derivados e processados. Portanto, é essencial desenvolver estratégias de manejo eficazes para controlar essas doenças e melhorar a produtividade da

cultura, aumentando a renda dos agricultores e promovendo o desenvolvimento sustentável.

Este trabalho baseou-se na necessidade de avançar o conhecimento sobre doenças radiculares, investigando a interação entre a cobertura vegetal, a biodiversidade microbológica e a química do solo, avaliar o impacto do manejo na cultura utilizando as variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris. Além disso, isolar e caracterizar agentes patogênicos das doenças foliares, observando a dinâmica de crescimento *in vitro* e o surgimento de sintomas *in vivo* a partir de parâmetros agronômicos e de severidade na variedade 'BRS Mulatinha'.

## 2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cultura da mandioca

A mandioca (*M. esculenta* Crantz), também conhecida como macaxeira ou aipim, pertence à família Euphorbiaceae e é originária da América do Sul. Sua expansão ocorreu para a América Central, Antilhas e outros países de clima tropical e subtropical, como Ceilão, Filipinas, Java, Tailândia, grande parte da África e Madagascar (Souza *et al.*, 2006; Cenoz *et al.*, 2007; Pinto, 2010; Silva; Andrade, 2011).

Atualmente, a mandioca é a maior fonte de carboidratos para a alimentação humana no mundo. Ela apresenta uma alta taxa de crescimento em condições ideais, e tanto as raízes tuberosas quanto as folhas são utilizadas na alimentação humana, como ração animal e em produtos industriais (Mann, 1997; Gbadegesin, Wills e Beeching, 2008).

A mandioca ocupa a quarta posição em volume de produção, atrás da cana-de-açúcar, soja e milho, com uma produção anual de aproximadamente 19 milhões de toneladas e uma área plantada de 1,4 milhões de hectares (IBGE, 2020).

No final de 2023, o país obteve a produção total de aproximadamente 22 milhões de toneladas. Contudo, as estimativas do IBGE para 2024 apontam para uma queda de quase 2,5% na produção brasileira de raízes, causada pela redução da área cultivada. A produção de mandioca no Brasil está concentrada em dois estados: Pará, na região norte, e Paraná, no sul. O estado de São Paulo

aparece em terceiro lugar, com 8% da produção nacional, seguido pela Bahia, que corresponde a aproximadamente 5% (IBGE, 2024).

A mandioca se destaca como uma cultura notavelmente adaptada, presente em todas as regiões do Brasil. Essa adaptabilidade está relacionada aos mecanismos fisiológicos, como o controle da abertura estomática, que permite manter um balanço de carbono positivo mesmo em condições de seca (Morgante *et al.*, 2020). Dessa forma, a mandioca apresenta uma importância socioeconômica global, sendo a principal fonte de carboidratos para milhões de pessoas, especialmente em países em desenvolvimento (Araújo; da Silva e Lima, 2021).

Além de sua função como fonte de alimento e matéria-prima, a mandioca também é importante para a economia, gerando empregos e proporcionando uma fonte de renda para muitos agricultores. Contudo, a produção de mandioca enfrenta desafios que podem resultar em baixa produtividade, sendo um dos principais fatores as doenças radiculares e foliares que acometem a cultura, causando perdas significativas e gerando preocupações entre os produtores.

## **2.2 Doenças da mandioca**

A produção de mandioca é conhecida por sua alta produtividade e viabilidade no mercado. No entanto, os obstáculos que prejudicam o rendimento tornam-se uma preocupação constante para os produtores. Portanto, o estudo do comportamento das principais doenças no campo, estratégias para mitigar esses problemas e práticas de manejo aprimoradas são recursos valiosos que devem ser empregados em benefício dos agricultores.

Na cultura da mandioca, várias doenças representam uma ameaça à produção, afetando as folhas, hastes e raízes da planta. Dentre as principais doenças que acometem a cultura, destacam-se a bacteriose, antracnose, couro de sapo, superbrotamento, superalongamento, vassoura de bruxa, ferrugem, mosaico comum e das nervuras, além das doenças radiculares (podridão seca, negra e mole) e doenças foliares (queima das folhas, mancha parda e queima das folhas).

As consequências sociais e econômicas das doenças da mandioca são amplas. As perdas no rendimento das raízes armazenadas podem resultar em

escassez de alimentos. Assim, as perdas decorrentes dessas doenças não se limitam à esfera agrícola, mas representam uma grave ameaça à segurança alimentar e aos meios de subsistência de milhões de pessoas (McCallum *et al.*, 2017).

Entre as doenças que afetam a parte radicular, mais de 20 fitopatógenos já foram descritos na literatura, incluindo os gêneros *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Phytopyhtium*, *Neoscytalidium*, *Lasiodiplodia*, *Rosellinia*, *Corallomycetella*, *Diaporthe* e *Sclerotium* (Boas *et al.*, 2017; Bua; Okello, 2011; Machado *et al.*, 2014; Zinsou *et al.*, 2017). Embora as podridões radiculares apresentem sintomas semelhantes na parte aérea, como murcha, amarelecimento e queda das folhas, a diferenciação ocorre no aspecto das raízes.

O controle das doenças radiculares é extremamente complexo, pois os fungos patogênicos são habitantes do solo, capazes de colonizar não só as raízes como também suas hastes, que é a principal estrutura propagativa da mandioca (Mattos, 2006; Bellé, 2018).

A podridão seca, por exemplo, apresenta lesões marrom-escuras nas raízes, sem odor característico e com tecidos relativamente firmes, causadas por espécies do gênero *Fusarium spp.* As raras lesões necróticas apresentadas em suas raízes são secundárias, o principal ataque é nos tecidos vasculares causando infecções e obstruindo esses tecidos, dificultando a livre circulação da seiva floemática e xilemática, o que causa amarelecimento e murcha da parte aérea e, conseqüentemente, provoca podridão indireta de consistência seca e coloração marrom clara nas raízes (Gomes, 2003; Lopes, 2018).

Em contraste, a podridão negra se caracteriza por lesões secas e negras, também sem mau cheiro (Boas *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2019). Esta coloração está relacionada com a produção de estruturas reprodutivas do fitopatógeno na casca, em estágio mais avançado pode haver amarelecimento e queda das folhas, e possivelmente, ocasionando morte da planta (Lopes, 2018). Também está associada com solos que passam por estresses hídricos, tem como agente causal fungos fitopatogênicos da família Botryosphaeriaceae, como exemplo os gêneros *Lasiodiplodia* e *Neoscytalidium* (Philips *et al.*, 2013).

Além das doenças radiculares, as doenças foliares também merecem destaque complexo *Passalora* da mandioca, que inclui as doenças comumente

chamadas de cercosporioses, é o mais frequente em todo o mundo (Wydra; Verdier, 2002; Banito *et al.*, 2007). Este complexo abrange três doenças diferentes: queima das folhas, causada por *Passalora vicosae*; mancha parda, causada por *Claro Hilum henningsii*; e mancha branca, provocada por *P. manihotis*. Sob condições favoráveis, essas doenças podem causar perdas de até 25% na produção de mandioca (Banito *et al.*, 2007).

Os sintomas característicos deste complexo incluem manchas arredondadas na superfície da folha, que podem estar presentes até o terço superior da planta, resultando em amarelecimento e desfolha. A sintomatologia varia de acordo com a espécie: *C. henningsii* apresenta lesões pequenas, arredondadas a angulares, com coloração castanha a escuro, alcançando de 5 a 10 mm de diâmetro, com bordos mais escuros e um halo amarelado (Massola Junior; Bedendo; Oliveira, 2016).

A *P. vicosae* exibe manchas pardas grandes e irregulares, sem bordos definidos, que ao longo do tempo crescem e adquirem uma coloração marrom uniforme em ambas as faces do limbo foliar (Cunha, 2017). Já *P. manihotis* apresenta lesões circulares, geralmente de 1 a 2 mm de diâmetro (raramente ultrapassando 5 mm), com coloração branca, às vezes marrom-amarelada, bem distintas das manchas pardas e da queima das folhas (Viégas, 1941; Silva; Andrade, 2011).

As doenças foliares levam à redução da área foliar sadia, afetando a atividade fotossintética das plantas. Além da diminuição na produção de raízes, pode haver também redução da parte aérea devido à desfolha parcial ou total, comprometendo a produção de massa verde, que em algumas regiões é utilizada na alimentação animal (Viégas, 1941; Teri; Thurston; Lozano, 1978; Lozano; Booth, 1974).

Essas doenças foliares foram relatadas em diferentes zonas geográficas e climáticas em todo o mundo, sendo especialmente abundantes em áreas tropicais e subtropicais. Por ocorrerem simultaneamente na mesma área de cultivo, sua sintomatologia é muitas vezes confundida, dificultando o diagnóstico (Viégas, 1941; Lozano; Booth, 1974; Banito *et al.*, 2007; Braun *et al.*, 2013; Pei *et al.*, 2014), especialmente as manchas pardas e a queima das folhas.

Por isso, a caracterização de fitopatógenos é importante, pois permite a identificação da espécie, a compreensão da diversidade de populações e a

associação correta entre o agente causal e os sintomas causados na planta. Essas informações são essenciais para estudos de prevalência e para programas de melhoramento visando ao desenvolvimento de genótipos resistentes a doenças (Cunha, 2017).

As doenças mais comuns na cultura da mandioca devem ser alvo de estudos aprofundados. Esse empenho científico é essencial para avançar no conhecimento e, assim, contribuir de maneira significativa para a sociedade como um todo. Essa contribuição se traduz em benefícios para os produtores e no reforço da segurança alimentar do país. Para alcançar esse objetivo, devem ser desenvolvidas estratégias de controle que considerem a dinâmica dessas doenças no campo e entre variedades.

### **2.3 Uso de coberturas e microbiota do solo**

O manejo e a incorporação de coberturas vegetais têm um impacto significativo na saúde e produtividade das plantas, além de provocar mudanças físicas, químicas e biológicas no solo, resultantes do aumento da matéria orgânica (Bailey; Lazarovits, 2003). Altos níveis de matéria orgânica estão geralmente associados a uma menor incidência e severidade de doenças (Cohen *et al.*, 2005; Kasuya *et al.*, 2006).

Os resíduos de cultura, incluindo materiais orgânicos brutos, como adubos verdes e detritos de culturas (exemplos incluem folhas, caule e raiz), são indicados para o controle de patógenos que sobrevivem no solo (Pérez-Piqueres *et al.*, 2006; Klein *et al.*, 2007; Bonanomi *et al.*, 2007). Esses resíduos podem influenciar as propriedades do solo e, indiretamente, afetar a comunidade microbiana do solo (Wiggins; Kinkel, 2005; Finney *et al.*, 2017), como no caso do fungo patogênico *Fusarium spp.*

Diversos autores relatam que o uso de coberturas vegetais melhora a estrutura e a fertilidade do solo (Magid *et al.*, 2001; Conklin *et al.*, 2002; Cavigelli; Thien, 2003) e diminui a incidência de doenças causadas por patógenos do solo (Litterick *et al.*, 2004; Noble; Coventry, 2005). Nesse contexto, a aplicação de coberturas vegetais pode impulsionar a atividade microbiana, resultando em uma redução significativa das doenças.

A quantidade e a qualidade da matéria orgânica introduzida afetam não apenas as propriedades físico-químicas do solo, mas também modificam fatores bióticos relacionados à microbiota, como biomassa e diversidade microbiana, estrutura da comunidade e atividades do solo. Esses fatores têm um efeito direto no controle biológico de doenças (Cesarano *et al.*, 2017; Francioli *et al.*, 2016; Hadar; Papadopoulou, 2012; Wang *et al.*, 2017).

Segundo García-Orenes *et al.* (2010), a adição de MO altera os atributos físicos, químicos e biológicos do solo e tem sido utilizada como indicador da qualidade do solo. A incorporação de material vegetal aumenta a densidade de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* spp. (Bulluck; Ristaino, 2002; Mazzola *et al.*, 2001), estreptomicetos e actinobactérias (Mazzola *et al.*, 2001; Palaniyandi *et al.*, 2013; Cordovez *et al.*, 2015), e do gênero *Trichoderma* spp. (Nur Ain Izzati; Abdullah, 2008) no solo. *Trichoderma* spp. é amplamente utilizado como agente de biocontrole contra diversos patógenos do solo (Bulluck; Ristaino, 2002; Nur Ain Izzati; Abdullah, 2008). Na maioria dos estudos, a presença desses microrganismos está associada à supressividade do solo (Wiggins; Kinkel, 2005).

O manejo das comunidades microbianas do solo é um fator-chave para a supressão de doenças, já que essas comunidades atuam como indutores eficazes de supressividade (De Corato, 2023). Além de promover mudanças na química do solo que podem ser benéficas, principalmente pelo aumento da matéria orgânica. Nesse sentido, é fundamental compreender como as coberturas do solo podem impactar a microbiota, abrindo caminho para pesquisas que explorem a influência dos microrganismos sobre as doenças que afetam a cultura. Essa abordagem representa uma alternativa viável para o controle de doenças.

## **2.4 Componentes epidemiológicos**

O cultivo da mandioca é amplamente disseminado em diversas regiões do Brasil e do mundo, cada uma com suas particularidades climáticas. Essa diversidade de ambientes resulta em uma variação significativa na intensidade e na severidade das doenças que afetam a planta, uma vez que fatores climáticos,

como temperatura e umidade, são cruciais para a ocorrência e o desenvolvimento de epidemias (Madden, 2007; Agrios, 2005).

A ocorrência de doenças no campo depende da interação entre três componentes essenciais: um patógeno virulento, um hospedeiro suscetível e condições ambientais favoráveis à infecção. Esses elementos formam o que se denomina triângulo da doença, onde cada vértice representa um dos fatores (Agrios, 2005).

Dentre esses, o ambiente é considerado o mais variável e influente ao longo do ciclo da cultura. Fatores como umidade do solo e do ar, incidência de luz solar, intensidade do vento, temperatura, práticas de manejo e nutrição da planta têm um papel fundamental na disseminação e na severidade das doenças (Bedendo *et al.*, 2018).

Sabe-se que as doenças causadas por fungos são particularmente sensíveis às condições climáticas, já que muitos patógenos requerem água livre na superfície foliar para germinação e penetração (Zadoks; Schein, 1979). No ambiente, a temperatura é um dos principais elementos climáticos que influencia todas as fases de crescimento do hospedeiro e também no ciclo de vida do patógeno (Agrios, 2005).

A temperatura é um fator importante no surgimento dos sintomas, bem como na esporulação e disseminação. Em estudos realizados por Souza *et al.* (1991) no estado do Maranhão, verificaram maior incidência da mancha parda no período chuvoso, enquanto, no período seco, predominava a mancha branca. Já no estado da Paraíba, Morais *et al.*, (2014) observaram baixos indícios de severidade da mancha parda, cujo aumento foi relacionado com as chuvas.

No contexto das doenças foliares da mandioca, como mancha branca, mancha parda e queima das folhas, a epidemiologia ainda não é completamente compreendida. Estudos a respeito são limitados, e há uma necessidade urgente de pesquisa mais aprofundada sobre como essas doenças se comportam em diferentes regiões (Madden, 2007).

Os principais danos causados por essas doenças são a redução da área foliar e a desfolha prematura, que reduzem a área fotossintética, afetando diretamente a produção de raízes (Lozano e Booth, 1974; Teri *et al.*, 1978; Massola Junior; Bedendo; Oliveira, 2016).

Além disso, a disseminação dos esporos é frequentemente facilitada por eventos climáticos extremos, como chuvas fortes e ventos intensos, que podem espalhar os patógenos para plantas saudáveis. A ação de insetos também não deve ser subestimada, pois muitos deles podem atuar como vetores, transportando esporos de um local para outro, exacerbando a situação epidemiológica no campo (Zadoks; Schein, 1979).

Uma das estratégias mais eficazes para o controle das doenças da mandioca é o uso de cultivares resistentes. Pesquisadores têm se dedicado a identificar e avaliar diferentes variedades de mandioca em busca de fontes de resistência (Viegas, 1941; Santos *et al.*, 2004; Massola *et al.*, 2016). Os resultados têm mostrado que algumas cultivares apresentam características que as tornam menos suscetíveis a doenças, o que pode representar uma solução sustentável para os produtores. No entanto, estudos voltados há cultivares resistentes ao complexo de doenças foliares ainda precisam ser aprofundados, a partir de estudos preliminares.

Assim, o entendimento da epidemiologia das doenças na cultura da mandioca é crucial não apenas para a proteção da planta, mas também para garantir a segurança alimentar e a sustentabilidade da produção. Estudos mais abrangentes e investigações direcionadas são fundamentais para o avanço do conhecimento nessa área, permitindo a formulação de estratégias mais eficazes para o manejo das doenças e a promoção da saúde das lavouras (Cunha, 2017).

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Florida: Elsevier 5<sup>a</sup> ed, 2005.
- ARAÚJO, É. De O., *et al.* Análise comportamental do agronegócio da mandioca no Brasil e no estado do Amazonas de 2006 a 2015. **Acta Geográfica**, v. 15, n. 38, p. 102-123, 2021.
- BAILEY, K. L.; LAZAROVITS, G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. **Soil and Tillage Research**, v. 72, n. 2, p. 169-180, 2003.
- BANDYOPADHYAY, R. *et al.* Fusarium species from the cassava root rot complex in West Africa. **Phytopathology**, v. 96, n. 6, p. 673-676, 2006.
- BANITO, A.; VERDIER, V.; KPÉMOUA, K. E.; WYDRA, K. Assesment of major cassava disease in Togo in relation to agronomic and environmental characteristics in a systems approach. **African Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 9, p. 418-428, 2007.
- BEDENDO, I. P.; BELASQUE, J. Bactérias fitopatogênicas. In: AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. Ouro Fino: Agronômica ceres, 2018.
- BELLÉ, R. B.; FONTANA, D. C. Patógenos de solo: principais doenças vasculares e radiculares e formas de controle. **Enciclopédia biosfera**, v. 15, n. 28, p. 779, 2018.
- BESTER, A. U, *et al.* Three decades of cassava cultivation in Brazil: Potentialities and perspectives. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 15, n. 2, 2021.
- BOAS, S. A. V. *et al.* Survey of fungi associated with cassava root rot from different 217 producing regions in Brazil. **Scientia Agricola**. v. 74, p. 60-67, 2017.
- BONANOMI, G. *et al.* Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. **Journal of Plant Pathology**, v. 89, n. 3, p. 311-324, 2007.
- BRAUN, U.; NAKASHIMA, C.; CROUS, P. W. Cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae). Species on other fungi, Pteridophyta and Gymnospormar. **International Mycological Association Fungus**, v. 4, n. 2, p. 265-345, 2013.
- BUA, B; OKELLO, C. Isolation and identification of cassava root rot disease causal pathogens from Lira district, Uganda. **African Crop Science Society**, v. 10, p. 183-186, 2011.
- BULLUCK, L. R.; RISTAINO, J. B. Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on southern blight, soil microbial communities, and yield of processing tomatoes. **Phytopathology**, v. 92, n. 2, p. 181-189, 2002.
- CAVIGELLI, M. A.; THIEN, S. J. Phosphorus Bioavailability following Incorporation of Green Manure Crops. **Soil Science Society of America Journal**, v. 67, n. 4, p. 1186-1194, 2003

- CENÓZ, P. J.; BURGOS, A. M.; LÓPEZ, A. E. Factores ambientales que afectan la calidad de raíces en mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Horticultura Argentina**, v. 26, n. 60, p. 5-9, 2007.
- CESARANO, G., *et al.* Organic amendment type and application frequency affect crop yields, soil fertility and microbiome composition. **Applied Soil Ecology**, v.120, p. 254–264, 2017.
- COHEN, M. F.; YAMASAKI, H.; MAZZOLA, M. Brassica napus seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of Rhizoctonia root rot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 1215-1227, 2005.
- CONKLIN, A. E. *et al.* Effects of red clover (*Trifolium pratense*) green manure and compost soil amendments on wild mustard (*Brassica kaber*) growth and incidence of disease. **Plant and Soil**, v. 238, n. 2, p. 245-256, 2002.
- CORDOVEZ, V. *et al.* Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1081, 2015.
- CUNHA, D. S. **Caracterização dos agentes causais da mancha parda, mancha branca e queima das folhas da mandioca**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Pernambuco Garanhuns, Pernambuco 2017.
- DE CORATO, U. Governance of soil amendment to enhance suppression to soil-borne plant pathogens from a long-term perspective. **Applied Soil Ecology**, v. 182, p. 104721, 2023.
- FINNEY, D. M.; BUYER, J. S.; KAYE, J. P. Living cover crops have immediate impacts on soil microbial community structure and function. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 72, n. 4, p. 361-373, 2017.
- FRANCIOLI, D., *et al.* Mineral vs. organic amendments: Microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1446, 2016
- FUKUDA, C. Doenças e seu controle. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P. *et al.* (Eds.). **Aspectos Socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 2006.
- GARCÍA-ORENES, F. *et al.* Biomassa e atividade microbiana do solo sob diferentes sistemas de manejo agrícola em um agroecossistema mediterrâneo semiárido. **Soil and Tillage Research**, v. 109, n. 2, p. 110-115, 2010.
- GBADEGESIN, M. A., *et al.* Diversity of LTR-re-trotransposons and Enhancer/Suppressor Mutator-like transposons in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Mol Genet Genomics**, v. 280, p. 305-317, 2008
- GOMES, J. C.; LEAL E. C. **Cultivo da Mandioca para a Região dos Tabuleiros Costeiros**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura tropical, 4ª ed, 2003.

HADAR, Y.; PAPADOPOULOU, K. K. Suppressive composts: Microbial ecology links between abiotic environments and healthy plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 50, p. 133–153, 2012

HOHENFELD, C.; WERNER, C. J.; REETZ, K.; Resting-state connectivity in neurodegenerative disorders: Is there potential for an imaging biomarker? **NeuroImage: Clinical**, v. 18, p. 849-870, 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA). Análise Mensal janeiro, Mandioca. 2024. Disponível em: [file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Mandioca\\_AnaliseZMensal\\_Janeiro2024.pdf](file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Mandioca_AnaliseZMensal_Janeiro2024.pdf). Acessado: 17 de maio de 2024.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento sistemático da produção agrícola de 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html> . Disponível em: 01 de maio de 2023.

KASUYA, M. *et al.* Induction of soil suppressiveness against *Rhizoctonia solani* by incorporation of dried plant residues into soil. **Phytopathology**, v. 96, n. 12, p. 1372-1379, 2006.

KLEIN, E. *et al.* Controlled laboratory system to study soil solarization and organic amendment effects on plant pathogens. **Phytopathology**, v. 97, n. 11, p. 1476- 1483, 2007.

LEPSCH, Igo F. **19 lições de pedologia**. 2ª ed. São Paulo: Oficina de textos, 2021.

LIMA, A. M., *et al.* Expression profiles of defense genes in cassava storage roots upon exposure to *Phytophthora* sp., causal agent of soft root rot disease. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 104, p. 23-30, 2018.

LITTERICK, A. M. *et al.* The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production—a review. **Critical reviews in plant sciences**, v. 23, n. 6, p. 453-479, 2004.

LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. **Desafios do Manejo de Doenças Radiculares Causadas por Fungos**. 1ª ed. Recife: EDUFRPE, 2018.

LOZANO, J. C.; BOOTH, R. H. Diseases of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **PANS Pest Articles & News Summaries**, v. 20, n. 1, p. 30-54, 1974.

MACHADO, A. R. *et al.* Novas ocorrências de *Botryosphaeriaceae* causando podridão negra da raiz da mandioca no Brasil. **Patologia de Plantas Tropicais**, v. 39, n. 6, p. 464-470, 2014.

MADDEN, L. V. *et al.* **The study of plant disease epidemics**. Ed American Phytopathological. Society, 2007.

MAGID, J. *et al.* Disproportionately high N-mineralisation rates from green manures at low temperatures - Implications for modeling and management in cool temperate agro-ecosystems. **Plant and Soil**, v. 228, n. 1, p. 73-82, 2001.

MANN, R. B. Pair production of topological anti-de Sitter black holes. **Classical and Quantum Gravity**, v. 14, n. 5, p. 109, 1997.

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. Eds. **Manual de Fitopatologia: doenças de Plantas Cultivadas**. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p. 515-522, 2016.

MASSOLA, N.S.; BEDENDO, I.P. Doenças da mandioca. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

MATTOS, PLP de; FARIAS, A. R. N.; FERREIRA FILHO, J. R. **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

MAZZOLA, M. *et al.* Suppression of specific apple root pathogens by Brassica napus seed meal amendment regardless of glucosinolate content. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 673-679, 2001.

MCCALLUM. E.J.; ANJANAPPA. R.B.; GRUISSEM. W. Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). **Current Opinion in Plant Biology**, v.38, p.50–58, 2017.

MORAIS, M. S. *et al.* Epidemiology of diseases affecting cassava shoot in Alagoa Nova City, Paraíba. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 3, p. 264-269, 2014

MORGANTE, C. V. *et al.* Genetic and physiological analysis of early drought response in *Manihot esculenta* and its wild relative. **Acta Physiologiae Plantarum** v. 42, n. 22, p. 1-11, 2020.

NOBLE, R.; COVENTRY, E. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review. **Biocontrol Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 3-20, 2005.

NUR AIN IZZATI, M. Z.; ABDULLAH, F. Disease Suppression in Ganoderma - infected Oil Palm Seedlings Treated with *Trichoderma harzianum*. **Plant Protection Science**, v. 44, n. 3, p. 101-107, 2008.

OLIVEIRA, S. A. S. D., HOHENFELD, C. S., SANTOS, V. D. S., HADDAD, F.; OLIVEIRA, E. J. D. Resistance to 614 Fusarium dry root rot disease in cassava accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n.10, p. 1414-1417, 2013.

OTSUBO, A. A.; LORENZI, J. O. **Cultivo da mandioca na região Centro-Sul do Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 1ª ed, 2004.

PALANIYANDI, S. A. *et al.* Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 22, p. 9621-9636, 2013

PEI, Y., *et al.* Distribution and pathogen identification of cassava brown leaf spot in China. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 13, p. 3461-3473, 2014

PEREIRA, A. A.; THOMAZ, E. L. Atributos químicos do solo em áreas sob diferentes sistemas de uso e manejo no município de Reserva - PR. **Caminhos de geografia**, v. 16, n. 55, p. 186-194, 2015.

PÉREZ-PIQUERES, A. *et al.* Response of soil microbial communities to compost amendments. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 460-470, 2006.

PERUCH, L. A. M. *et al.* Sintomas e controle das principais doenças da mandioca em Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, v. 2, p. 52-54, 2013.

PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; ABDOLLAHZADEH, J.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. **Studies in mycology**, v. 76, n. 1, p. 51-167, 2013.

PINTO, F. C. Aspectos da Cadeia produtiva da mandioca em Feira de Santana no distrito de Maria Quitéria (povoado de Lagoa Grande e Olhos D'água das Moças). **Sitientibus**, n. 43, p. 157-173, 2010.

RIBEIRO, F. W., *et al.* Custos de produção e rentabilidade econômica do cultivo da mandioca em Goiás. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 14, n. 1, p. 104-110, 2019.

SANCHES, A. G., *et al.* Análise sensorial e viabilidade econômica da mandioca de mesa in natura e congelada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa. v. 11, n. 2, p. 2332-2349, 2017.

SANTOS, R. P. *et al.* Avaliação de cultivares de mandioca, para consumo in natura, quanto à resistência à mancha parda da folha. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 232-237, 2004.

SILVA, H.S.A.; ANDRADE, E. C. **Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011.

SOUZA, E. A. P.; DIAS, A. S. **Doenças da cultura da mandioca no Maranhão**. São Luiz: EMAPA-MA. Comunicado técnico, 1991.

SOUZA, L. S., *et al.* Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca. 1ª ed, Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2006.

TERI, J.M., THURSTON, H.D., LOZANO, J.C. The Cercospora leaf diseases of cassava. In: Brekelbaum, T., Bellotti, A., Lozano, J.C. (Eds.), **Proceedings of the Cassava Protection Workshop**. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 1978.

VIÉGAS, A. P. Manchas das folhas de mandioca, produzidas por Cercosporas. **Bragantia**, v. 1, n. 3, p. 233-248, 1941.

WANG, Y., *et al.* Long-term no-tillage and organic input management enhanced the diversity and stability of soil microbial community. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 341-347, 2017.

WIGGINS, B. E.; KINKEL, L. L. Green manures and crop sequences influence alfalfa root rot and pathogen inhibitory activity among soil-borne streptomycetes. **Plant and Soil**, v. 268, n. 1, p. 271-283, 2005.

WYDRA, K.; VERDIER, V. Occurrence of cassava diseases in relation to environmental, agronomic and plant characteristics. **Agriculture, Ecosystem and Environment**, v. 93, n.1-3 p. 211–226, 2002.

ZADOKS, J.C. & SCHEIN, R.D. Epidemiology and Plant Disease Management. **Oxford University Press**. New York. p. 427, 1979.

ZINSOU, V. A., AFOUDA, L. A. C., AHOHUENDO, B. C., & WYDRA, K. (2017). Importance of fungal root rot pathogens of cassava in Benin. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, n. 5, p. 2023-2028, 2017.

## IMPACTO DA COBERTURA VEGETAL NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, MICROBIOTA DO SOLO E NA INCIDÊNCIA DE DOENÇAS RADICULARES NA CULTURA DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

### RESUMO

A mandioca se destaca como uma cultura de grande potencial econômico no Brasil, contribuindo para a geração de alimentos, matérias-primas, empregos e renda. No entanto, doenças fúngicas representam um desafio significativo, reduzindo a produtividade e preocupando os produtores. Este estudo teve como objetivo avaliar o impacto de diferentes coberturas vegetais sobre a biodiversidade microbológica e química do solo e sua relação com a incidência e severidade de doenças radiculares seca e negra, bem como os efeitos sobre os parâmetros agrônômicos das variedades de mandioca 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris', ao longo de quatro ciclos de cultivo. Para a podridão radicular seca, tem-se os patógenos do gênero *Fusarium* (incluindo *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium solani*, *Fusarium lateritium* e *Fusarium chlamydosporum*), e na podridão radicular negra, tem-se a *Lasiodiplodia theobromae* e *Neoscytalidium dimidiatum*. Foram testadas 11 coberturas vegetais ao longo de quatro ciclos de cultivo, totalizando 44 tratamentos. Após a preparação do inóculo, as coberturas vegetais foram implementadas nos ciclos 1 e 3, e a mandioca nos ciclos 2 e 4. As análises abrangeram germinação, incidência de doenças e parâmetros agrônômicos foram realizadas ao final dos ciclos 2 e 4, além da microbiota e da química do solo que foram realizadas em todos os ciclos. A cobertura com milho apresentou o melhor desempenho em relação à variável de bactérias totais. A aveia preta destacou-se em relação às bactérias produtoras de endósporos, fungos totais e bactérias produtoras de sideróforos. Não houve aumento nas actinobactérias em nenhuma das coberturas testadas. A análise de componentes principais (PCA) revelou que, no ciclo 2, as variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris' mostraram-se promissoras. No ciclo 4, o feijão caupi destacou-se, indicando condições favoráveis para seu crescimento, enquanto o feijão de porco 'BRS Kiriris' também apresentou desempenho positivo, sugerindo um ambiente propício para seu cultivo. Este estudo fornece informações significativas sobre a interação entre coberturas vegetais e doenças radiculares na mandioca, contribuindo para práticas agrícolas que visam aumentar a produtividade e a sustentabilidade dessa importante cultura no Brasil.

**Palavras-chave:** Manejo, Podridão radicular, Redução de doença, Rotação de cultura

## IMPACT OF VEGETABLE COVERAGE ON CHEMICAL CHARACTERISTICS, SOIL MICROBIOTA AND THE INCIDENCE OF ROOT DISEASES IN CASSAVA CROPS (*Manihot esculenta* Crantz)

### ABSTRACT

Cassava stands out as a crop with great economic potential in Brazil, contributing to the generation of food, raw materials, jobs and income. However, fungal diseases represent a significant challenge, reducing productivity and causing concern to producers. This study aimed to evaluate the impact of different plant covers on soil microbiological and chemical biodiversity and their relationship with the incidence and severity of dry and black root diseases, as well as the effects on the agronomic parameters of the cassava varieties 'BRS Formosa' and 'BRS Kiriris', over four cycles. For dry root rot, there are pathogens of the genus *Fusarium* (including *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium solani*, *Fusarium lateritium* and *Fusarium chlamydosporum*), and for black root rot, there are *Lasiodiplodia theobromae* and *Neoscytalidium dimidiatum*. Eleven cover crops were tested over four crop cycles, totaling 44 treatments. After inoculum preparation, cover crops were implemented in cycles 1 and 3, and cassava in cycles 2 and 4. The analyses included germination, disease incidence and agronomic parameters were performed at the end of cycles 2 and 4, in addition to soil microbiota and chemistry, which were performed in all cycles. Cover crops with corn showed the best performance in relation to the total bacteria variable. Black oat stood out in relation to endospore-producing bacteria, total fungi and siderophore-producing bacteria. There was no increase in actinobacteria in any of the tested cover crops. Principal component analysis (PCA) revealed that, in cycle 2, the varieties 'BRS Formosa' and 'BRS Kiriris' showed promise. In cycle 4, cowpea stood out, indicating favorable conditions for its growth, while the jack bean 'BRS Kiriris' also showed positive performance, suggesting a favorable environment for its cultivation. This study provides significant information on the interaction between cover crops and root diseases in cassava, contributing to agricultural practices that aim to increase the productivity and sustainability of this important crop in Brazil.

**Key words:** Management, root rot, disease reduction, crop rotation

## 1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura alimentar básica, tolerante à seca, cultivada em áreas tropicais e subtropicais onde muitas pessoas sofrem de subnutrição e, portanto, pode ser usada como fonte alimentar potencialmente valiosa para os países em desenvolvimento (Bayata, 2019).

A mandiocultura é a quarta cultura de produção de alimentos mais importante no mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, seus tubérculos e seus subprodutos são consumidos por mais de 800 milhões de pessoas em todo o mundo (FAO, 2019).

A planta exporta todos os nutrientes absorvidos, as raízes tuberosas são a principal parte comercial e são destinadas à produção de farinha, fécula e outros produtos, bem como para a alimentação humana e animal; já a parte aérea (manivas e folhas), são destinadas principalmente para novos plantios, alimentação humana e animal (Thomas *et al.*, 2016)

A produção brasileira de raiz de mandioca no ano de 2023, de acordo com o Levantamento Sistemático da Produção (LSPA), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foi equivalente a 19,13 milhões de toneladas colhidas em uma área total de 1,24 milhões de hectares (CONAB, 2023).

Já as primeiras estimativas do IBGE para o ano de 2024, apontam para uma dinâmica diferente, indicando a queda de quase 2,5% na produção brasileira de raízes, causada novamente pela redução da área cultivada, já que a produtividade deverá se manter praticamente estável.

Neste sentido, a produção brasileira de mandioca está concentrada em dois estados: Pará, na região norte e Paraná, no sul do Brasil. O Pará é responsável por quase 21% da produção brasileira de mandioca, já o Paraná pode chegar a 19,82% da produção. Em terceiro lugar aparece o estado de São Paulo com 8% da produção nacional e em quarto lugar permanece a Bahia, com a aproximadamente 5% da produção (IBGE, 2024).

Apesar de se tratar de uma cultura bastante importante e comumente usada na alimentação dos brasileiros, existem grandes desafios enfrentados por essa cultura, como a presença de doenças radiculares que afetam de forma significativa a produção da mesma. As doenças das plantas causadas por patógenos presentes no solo afetam as culturas e têm sido reconhecidas

mundialmente como um fator crucial devido à perda de produtividade e à real dificuldade na erradicação do patógeno e à falta de um conteúdo adequado de matéria orgânica no solo devido a lavoura frequente e cultivo intensivo (Jambhulkar *et al.*, 2015). Sendo importante aprofundar os estudos voltados a incorporação de matéria orgânica, ou até mesmo pousios no solo, para compreender melhor a dinâmica de supressividade no solo.

Cravo *et al.* (2016) ainda enfatiza que as causas da baixa produtividade da mandioca podem estar relacionada às características do cultivo em si, como: a não seleção do material de propagação, por grande parte dos agricultores; a falta de controle das plantas daninhas; não adoção de espaçamentos adequados; não utilização de variedades tolerantes à podridão radicular; não aproveitamento dos resíduos, na adubação orgânica da mandioca; e dificuldade de acesso às tecnologias de cultivo.

Por esta razão, algumas práticas preventivas, como o uso de aditivos orgânicos, mudam o ambiente microbiano e características físico-químicas dos solos e, portanto, essas aplicações podem ser úteis para o manejo das culturas (Vida *et al.*, 2019).

A supressividade natural do solo contra uma ampla gama de patógenos transmitidos pelo solo muitas vezes oferece uma alternativa válida ao uso de fungicidas sintéticos para melhorar a saúde do agroecossistema em sistemas agrícolas orgânicos (Baum *et al.*, 2015; Kilany *et al.*, 2015; Mahatma e Mahatma, 2015; Val-Moraes, 2015). Uma outra demanda é usar coberturas vegetais e incorpora-las ao solo a fim de verificar a dinâmica de microrganismos e da química do solo ao longo de um tempo, para compreender como que as doenças radiculares se comportam.

Os mecanismos subjacentes aos efeitos supressores do composto estão principalmente associados à atividade biológica da sua microbiota, que interage globalmente com a matéria orgânica do solo e da planta hospedeira, regulando a comunidade microbiana da rizosfera (De Corato, 2023). A microbiota do solo desempenha uma função importante em solos supressores de doenças, juntamente com o aumento da produtividade das plantas (Mendes *et al.*, 2011).

Na cultura da mandioca a prática de adubação prevê a reposição dos principais nutrientes extraídos pela cultura, como por exemplo os macronutrientes cálcio, magnésio, nitrogênio, fósforo e potássio (Borges *et al.*,

2021). Em função disto, a presença de nutrientes, em quantidades adequadas, favorece o aumento na produtividade (Rós, 2013).

Embora a planta de mandioca seja rústica e adaptada a solos de baixa fertilidade, apresenta respostas significativas ao uso de adubos, apresentando aumento expressivo na produtividade (Adiele *et al.*, 2020).

O estudo baseia-se em avaliar o impacto de diferentes coberturas vegetais sobre a biodiversidade microbiológica e química do solo e sua relação com a incidência e severidade de doenças radiculares seca e negra, bem como os efeitos sobre os parâmetros agrônômicos das variedades de mandioca 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris', ao longo de quatro ciclos de cultivo.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Condução do experimento**

O experimento foi conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada em Cruz das Almas, Bahia, Brasil, em casa de vegetação, sob temperatura controlada de  $32 \pm 2$  °C. O solo utilizado foi coletado do campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros (11°22'37.9" S, 37°40'29.6" W), na cidade de Umbaúba - SE, uma área com alta incidência de podridões radiculares na mandioca.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em um esquema de parcelas subdivididas. O fator da parcela foi definido como 'cobertura vegetal', abrangendo 11 classes: Pousio 1, Pousio 2, Pousio 3, Pousio 4, Amendoim, Aveia Preta, Crotalária, Feijão Caupi, Feijão de Porco, Mandioca e Milho. O fator da subparcela foi o 'ciclo', com quatro níveis: 40, 130, 170 e 260 dias, totalizando três repetições. Assim, foram realizados 44 tratamentos em 33 unidades experimentais.

Inicialmente, o solo foi infestado com inóculos em vasos e, após um período de 15 dias, iniciou-se o primeiro ciclo com a implementação da cobertura vegetal ou pousio. Após o crescimento e floração da cobertura, ela foi incorporada ao solo. Quinze dias depois, amostras de solo foram coletadas para análises. Seguiu-se então o segundo ciclo, que consistiu no plantio da mandioca.

Após o desenvolvimento da cultura, a maniva da unidade experimental foi coletada para análises agronômicas. Novamente, após 15 dias, uma nova coleta foi realizada e iniciou-se o terceiro ciclo com a implantação das coberturas vegetais. Por fim, no quarto ciclo, o plantio da mandioca foi repetido.

Os ciclos de cultivo corresponderam a uma sucessão de plantios alternados entre as coberturas vegetais e a mandioca. Cada unidade experimental consistiu em um vaso contendo uma maniva de mandioca das variedades 'BRS Kiriris' e 'BRS Formosa', com diferentes combinações de cobertura vegetal e cultivo em cada ciclo (Tabela 1).

**Tabela 1:** Tratamentos e cultivos utilizados na avaliação do potencial de coberturas vegetais durante os ciclos de cultivo

Cobertura	Ciclo			
	1º	2º	3º	4º
<b>Pousio 1</b>	PO	PO	PO	MA
<b>Pousio 2</b>	PO	PO	MA	MA
<b>Pousio 3</b>	PO	MA	MA	MA
<b>Pousio 4</b>	PO	MA	PO	MA
<b>Amendoim</b>	AM	MA	AM	MA
<b>Aveia preta</b>	AP	MA	AP	MA
<b>Crotalária</b>	CO	MA	CO	MA
<b>Feijão Caupi</b>	FC	MA	FC	MA
<b>Feijão de porco</b>	FP	MA	FP	MA
<b>Mandioca</b>	MA	MA	MA	MA
<b>Milho</b>	MI	MA	MI	MA

PO = pousio; MA = mandioca; FC = feijão caupi; FP = feijão de porco; MI = milho; CO = crotalária ocreleuca; AP = aveia preta; AM = amendoim

## 2.2 Preparação do inóculo e infestação do solo

Foram utilizados isolados de patógenos causadores de podridão seca, incluindo *Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticillioides*, *F. solani*, *F. lateritium* e *F. chlamydosporum*, além de isolados de podridão negra, representados por *Lasiodiplodia theobromae* e *Neoscytalidium dimidiatum*.

Todos os isolados foram obtidos da micoteca do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Os isolados foram repicados em meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) em placas de Petri e mantidos em estufas tipo B.O.D a uma temperatura de  $25 \pm 2$  °C, com fotoperíodo de 12 h durante sete dias. Após esse período, foram preparadas suspensões de esporos utilizando 10 mL de água destilada esterilizada para a liberação dos conídios, o que foi realizado com o auxílio de uma escova macia. A suspensão foi filtrada em dupla camada de gaze para garantir a pureza.

Para a preparação da fonte de inóculo, foram utilizados 500 g de arroz, acondicionados em sacos plásticos transparentes e autoclavados a 120 °C por 25 min. Após o resfriamento a temperatura ambiente durante 24 h, adicionou-se 20 mL da suspensão de esporos de cada isolado ao substrato. Para promover o crescimento uniforme dos propágulos fúngicos, o material foi homogeneizado a cada três dias. Quando ocorreu o crescimento total do inóculo no substrato, este foi utilizado para infestar o solo.

Misturou-se 200 g das fontes de inóculo, com uma concentração de  $10^6$  UFC/mL, referentes à podridão seca e negra, de forma proporcional, no solo de vasos de 8 L. Em seguida, o solo foi homogeneizado e deixado em pousio por 15 dias para assegurar a eficácia da infestação.

### **2.3 Cultivo de mandioca e cobertura vegetal**

No 1º e 3º ciclos, foram cultivadas as coberturas vegetais: amendoim, aveia preta, crotalária, feijão caupi, feijão de porco, mandioca e milho, além de pousios. No 2º e 4º ciclos, foram realizados apenas o plantio das variedades 'BRS Kiriris' e 'BRS Formosa', junto com pousios, conforme descrito na Tabela 1.

O plantio do 1º ciclo com a cobertura vegetal foi realizado 15 dias após a infestação do solo. O 2º ciclo começou 15 dias após a incorporação da cobertura vegetal, enquanto o 3º ciclo teve início 15 dias após a retirada do material de mandioca. O 4º ciclo foi iniciado 15 dias após a incorporação da cobertura vegetal. Antes do início de cada cultivo, foram retiradas amostras de solo para análise química e microbiológica de cada tratamento.

Para a semeadura das coberturas vegetais, foram distribuídas cinco sementes por vaso. Após 15 dias de plantio, realizou-se o desbaste, deixando três plantas por vaso. Quando as coberturas vegetais atingiram o estágio de plena floração (mais de 50% das plantas florescendo), os materiais vegetais foram cortados e incorporados ao solo, respeitando um intervalo mínimo de 15 dias entre a incorporação e o novo ciclo de cultivo, a fim de permitir a decomposição parcial dos restos de cultura.

Antes do plantio da maniva da variedade de mandioca 'BRS Kiriris', considerada resistente à podridão radicular (Fukuda, 2002), o material de propagação foi submetido a um tratamento com a solução de cloreto de benzalcônio (0,5 mL/L) para assepsia. A proporção utilizada foi de 10 mL da solução para 20 L de água. As manivas foram imersas por 3 min e deixadas para secar à temperatura ambiente durante 24 h, sendo então plantada uma maniva por vaso.

#### **2.4 Parâmetros de germinação, agronômicos e de doença**

Durante os 2º e 4º ciclos, foram avaliados a germinação das sementes ao longo de 30 dias e a incidência de doenças e sintomas externos em intervalos de sete dias durante todo o ciclo de cultivo. A avaliação foi realizada utilizando escalas de notas variando de 0 a 4, onde:

- 0 = sem sintoma,
- 1 = amarelecimento e/ou murcha das folhas do terço médio,
- 2 = amarelecimento e/ou murcha das folhas do terço inferior e médio,
- 3 = amarelecimento e/ou murcha das folhas de toda a planta,
- 4 = desfolha completa e/ou morte.

A avaliação dos parâmetros agronômicos foi realizada ao final de cada ciclo, seguindo a metodologia de Fukuda e Guevara (1998), que inclui:

- **Número de hastes da planta**
- **Altura das plantas (em cm):** medida do solo ao topo das plantas,
- **Vigor da planta:** avaliado numa escala de 1 (pouco), 2 (intermediário) a 3 (vigoroso)
- **Peso fresco da parte aérea e das raízes (em g):** medido em uma balança analítica

- **Peso seco da parte aérea e das raízes (em g):** amostras foram colocadas em estufa a 55 °C e pesadas até atingirem peso constante. Para os parâmetros relacionados às podridões radiculares nas variedades, as avaliações seguiram a metodologia de Santiago *et al.* (2018):
  - **Sobrevivência das plantas:** avaliação qualitativa (sim/não);
  - **Colonização interna e externa das manivas:** avaliada qualitativamente pela presença ou ausência de sinais e estruturas de patógenos (sim/não);
  - **Colonização interna das manivas:** avaliada com uma escala de notas:  
0 = não colonizado,  
1 = colonização < 1/3 da área interna da maniva,  
2 = colonização ≥ 1/3 e < 2/3 da área interna da maniva,  
3 = ≥ 2/3 da área interna da maniva.

As análises realizadas incluíram as seguintes variáveis: INCI (Incidência Interna %), INCE (Incidência Externa %), COLI (Colonização interna da mandioca %), PFFA (Peso fresco da parte aérea real – g), PFR (Peso fresco da raiz real – g), NH (Número de hastes), PSPA (Peso seco da parte aérea - g), PSR (Peso seco da raiz – g), VIG (Vigor), H (Altura - cm), SEV (Severidade), SOBR (Sobrevivência – sim/não), GERM (Germinação – sim/não) para a cultura da mandioca.

## 2.5 Parâmetros microbiológico e químicos.

As análises microbiológicas foram realizadas para quantificar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) a partir de amostras de solo coletadas na profundidade de 0-10 cm de cada tratamento. Para a diluição, utilizou-se 1 g de solo em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina esterilizada de MgCl<sub>2</sub> a 10 mM, que foi vortexada. Foram efetuadas diluições em série de 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup> em meios específicos para as seguintes categorias: bactérias totais (BT), bactérias produtoras de endósporos (BPE), bactérias produtoras de sideróforos (BPS), actinobactérias (ACT), fungos totais (FT) e Trichoderma (TRICHO). Essas diluições foram feitas em triplicata, e o plaqueamento consistiu na adição de 100 µL da suspensão nos meios de cultura seletivos.

Para a quantificação das UFC das bactérias totais e das bactérias produtoras de endósporos (BPE), foi utilizado o meio nutritivo ágar, que continha: extrato de carne (1,0 g/L), extrato de levedura (2,0 g/L), peptona (5,0 g/L), cloreto de sódio (5,0 g/L) e ágar (15,0 g/L). As diluições de BPE foram submetidas a banho-maria a 80°C por 20 min antes do plaqueamento. As bactérias produtoras de sideróforos (BPS) foram cultivadas em meio Agar PGS (Lamichhane, 2013), composto por: proteose (10 g/L), peptona (20 g/L), gelatina (20 g/L), sacarose (20 g/L),  $K_2HPO_4$  (1 g/L),  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (1 g/L) e ágar (15 g/L). Para as actinobactérias (ACT), utilizou-se meio de extrato de malte (20 g/L de extrato de malte e 20 g/L de ágar). O meio para fungos totais foi o BDA (Batata Dextrose Ágar), que continha infusão de batata (200,0 g/L), glicose (20,0 g/L) e ágar (17,0 g/L). Para *Trichoderma* spp. (Promwee et al., 2014), utilizou-se um meio contendo: 15 g de ágar, 1 g de  $KH_2PO_4$ , 0,5 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 5 g de peptona, 10 g de dextrose, 0,033 g de rosa bengala e 0,1 g de estreptomicina.

As semeaduras das diluições em placas foram realizadas utilizando alças Drigalski esterilizadas. As placas foram incubadas por 24 h a  $25 \pm 2$  °C e  $70 \pm 2$  % de umidade relativa. As populações bacterianas foram avaliadas após 24 h de incubação, enquanto as de fungos foram avaliadas após 72 h. Cada população foi expressa em UFC por grama de solo ( $UFC\ mL^{-1}$ ).

As análises químicas do solo foram realizadas pelo Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante da Universidade Federal de Viçosa, seguindo os procedimentos recomendados por Alvarez et al. (1999). As análises incluíram: pH ( $H_2O$ ), P ( $mg/dm^3$ ), K ( $mg/dm^3$ ),  $Ca^{2+}$  ( $cmolc/dm^3$ ),  $Mg^{2+}$  ( $cmolc/dm^3$ ),  $Al^{3+}$  ( $cmolc/dm^3$ ), H + Al ( $cmolc/dm^3$ ), SB ( $cmolc/dm^3$ ), t ( $cmolc/dm^3$ ), T ( $cmolc/dm^3$ ), V (%), m (%), MO (dag/kg), P-rem ( $mg/L$ ), Cu ( $mg/dm^3$ ), Mn ( $mg/dm^3$ ), Fe ( $mg/dm^3$ ) e Zn ( $mg/dm^3$ ).

## 2.6 Análises estatísticas

O modelo ANOVA em parcelas subdivididas adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ik} + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde:

$Y_{ijk}$  = valor observado da variável de resposta para a i-ésima cobertura, j-ésimo ciclo e k-ésima repetição.

$\mu$  = média geral.

$\alpha^i$  = efeito da i-ésima classe do fator cobertura vegetal.

$\varepsilon_{ik}$  = erro aleatório associado às parcelas, estimado na classe i e na repetição k;

$\beta_j$  = efeito do j-ésimo nível de ciclo.

$(\alpha\beta)_{ij}$  = efeito da interação entre cobertura e ciclo.

$\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Para adequar os dados às pressuposições da análise estatística, foi realizada a transformação logarítmica natural para as variáveis de resposta: bactérias totais (BT), bactérias produtoras de endósporos (BPE), actinobactérias (ACT), bactérias produtoras de sideróforos (BPS), fungos totais (FT) e Trichoderma (TRICHO).

Para verificar a adequação dos modelos de análise de variância (ANOVA) e garantir a validade das inferências estatísticas, foram realizados os seguintes procedimentos: o teste de Levene foi utilizado para verificar a homogeneidade de variâncias entre os grupos de tratamento para cada variável transformada; o teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a normalidade dos resíduos dos modelos de ANOVA; e o teste de Durbin-Watson foi utilizado para verificar a independência dos erros.

Após a verificação desses pressupostos, foi realizada uma análise de parcelas subdivididas para cada variável transformada, avaliando os efeitos de interação entre 'cobertura vegetal' e 'ciclo', bem como o efeito simples dos fatores individualmente. Para comparar as médias do fator 'cobertura vegetal' dentro de cada ciclo, foi aplicado o teste de Scott-Knott.

Para avaliar o impacto do ciclo (40, 130, 170 e 260 dias) para cada cobertura nas variáveis BT, BPE, ACT, BPS, FT e TRICHO, ajustamos modelos lineares generalizados (GLMs) do tipo log-normal, utilizando a função 'glm' no R com uma família gaussiana e função de ligação identidade.

Após o ajuste do modelo, foram verificados os pressupostos de normalidade, homogeneidade e independência dos erros. Em seguida, geramos previsões, destacando os valores preditos pelos modelos. Esses valores foram visualizados em gráficos, permitindo uma interpretação clara das tendências estimadas ao longo dos ciclos.

Para a análise de componentes principais (ACP), primeiramente, os dados foram normalizados para uma escala com média zero e desvio padrão unitário, a fim de evitar qualquer viés causado por diferenças nas unidades de medida. Os resultados da ACP ponderada foram interpretados com base nos componentes principais identificados e nos pesos iguais atribuídos às variáveis. A interpretação incluiu a análise dos biplots para visualizar a contribuição das variáveis para cada componente principal, bem como a avaliação das cargas das variáveis em cada componente. Além disso, as pontuações totais foram calculadas para cada observação, permitindo a classificação e comparação das diferentes coberturas avaliadas no estudo.

### 3. RESULTADOS

Houve efeito significativo da interação entre cobertura vegetal e ciclo para as variáveis log de bactérias totais (BT) ( $F = 9,11$ ;  $P < 0,0001$ ), bactérias produtoras de endósporos (BPE) ( $F = 26,63$ ;  $P < 0,0001$ ), actinobactérias (ACT) ( $F = 35,52$ ;  $P < 0,0001$ ), bactérias produtoras de sideróforos (BPS) ( $F = 11,64$ ;  $P < 0,0001$ ) e fungos totais (FT) ( $F = 9,54$ ;  $P < 0,0001$ ). Não houve efeito de interação para o log de Trichoderma (TRICHO) ( $F = 0,34$ ;  $P = 0,99$ ), mas houve efeito simples para ciclo ( $F = 47,87$ ;  $P < 0,0001$ ).

As análises revelaram diferenças significativas na quantidade de microrganismos entre as coberturas vegetais testadas dentro dos ciclos. Para o ciclo 1, as menores médias de BT foram observadas nas coberturas Pousio 1 e Pousio 2, e as demais coberturas não diferiram entre si. Para BPE, as coberturas Pousio 1, Pousio 2, Pousio 3, Crotalária e Feijão de Porco apresentaram as

maiores médias, enquanto as demais coberturas tiveram médias significativamente menores.

Em relação às BPS, as coberturas de Feijão Caupi, Feijão de Porco e Mandioca se destacaram com os maiores valores médios, enquanto a Crotalária apresentou a menor média. Para ACT, as coberturas Pousio 1, Pousio 4, Aveia Preta, Crotalária e Feijão Caupi tiveram os maiores valores médios, com Pousio 2 registrando a menor média. Para FT, todas as coberturas vegetais apresentaram médias estatisticamente semelhantes, indicando que não houve variação significativa entre as diferentes coberturas dentro do ciclo 1.

No ciclo 2, as maiores médias de BT foram observadas nas coberturas Aveia Preta, Crotalária, Mandioca e Milho, enquanto a menor foi para o Pousio 1. Para BPE, as coberturas Pousio 2, Amendoim, Crotalária, Mandioca e Milho não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios, enquanto o Pousio 3 teve a menor média. Em relação às BPS, as coberturas Pousio de 1 a 4, Feijão Caupi e Feijão de Porco não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios em comparação com as demais coberturas. Para ACT, o Pousio 4 apresentou o maior valor médio em comparação com as demais coberturas, que não diferiram entre si. Para FT, as coberturas Pousio 3, Pousio 4, Amendoim, Aveia Preta, Crotalária e Mandioca não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios, enquanto o Pousio 2 registrou o menor valor médio.

No ciclo 3, os maiores valores médios de BT foram observados nas coberturas Aveia Preta, Amendoim, Crotalária e Feijão de Porco, que não diferiram entre si, enquanto Pousio 1, 3 e 4 não diferiram entre si e apresentaram os menores valores médios. Para BPE, as coberturas Amendoim e Mandioca não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios, enquanto Feijão de Porco teve a menor média em comparação às demais coberturas. Em relação às BPS, o Milho apresentou o menor valor médio e diferiu das demais coberturas, que foram semelhantes entre si. Para ACT, as coberturas não diferiram entre si. Para FT, as coberturas Amendoim e Crotalária não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios, enquanto o Pousio 3 registrou o menor valor médio.

Para o ciclo 4, o maior valor médio para BT foi observado para o Milho em comparação às demais coberturas, enquanto Amendoim, Feijão Caupi, Feijão

de Porco e Mandioca não diferiram entre si e apresentaram os menores valores médios. Para BPE, a cobertura Aveia Preta apresentou o maior valor médio comparado às demais, sendo que Feijão de Porco e Mandioca não diferiram entre si e apresentaram os menores valores médios. Para BPS, Pousio 1 e 2, bem como Aveia Preta, não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios, seguidos de Pousio 4. Para ACT, Pousio 1 e 2, Amendoim, Aveia Preta, Crotalária e Milho não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores médios. Para FT, Aveia Preta apresentou o maior valor médio comparado às demais coberturas, que não diferiram entre si (Tabela 2). Trichoderma não foi adicionado à tabela, pois não houve diferença estatística significativa entre as coberturas em nenhum dos ciclos avaliados.

**Tabela 2:** Valores médios em escala log das variáveis microbiológicas para as coberturas vegetais dentro de cada ciclo.

(continua)

<b>Cobertura</b>	<b>BT</b>	<b>BPE</b>	<b>BPS</b>	<b>ACT</b>	<b>FT</b>
<b>Pousio 1</b>	15,81b	16,10a	15,08b	15,49a	14,56a
<b>Pousio 2</b>	16,12b	16,19a	15,21b	13,28d	14,56a
<b>Pousio 3</b>	16,52a	15,98a	15,39b	14,12c	14,64a
<b>Pousio 4</b>	16,77a	15,91b	15,27b	15,54a	14,72a
<b>Amendoim</b>	16,77a	15,76b	15,18b	15,35b	14,75a
<b>Aveia Preta</b>	16,70a	15,76b	15,11b	15,61a	14,58a
<b>Crotalária</b>	16,87a	16,01a	14,27c	15,57a	14,82a
<b>Feijão Caupi</b>	16,71a	15,56b	15,64a	15,52a	14,57a
<b>Feijão de Porco</b>	17,13a	16,38a	16,06a	15,44b	14,69a
<b>Mandioca</b>	16,91a	15,67b	15,68a	15,34b	14,82a
<b>Milho</b>	16,70a	15,81b	15,34b	15,37b	14,92a
<b>Pousio 1</b>	14,92c	15,39b	13,89a	14,12b	12,69b
<b>Pousio 2</b>	15,94b	15,75a	14,00a	14,21b	11,91c
<b>Pousio 3</b>	15,73b	14,42d	13,98a	14,19b	14,12a
<b>Pousio 4</b>	15,69b	15,39b	14,09a	15,49a	13,74a
<b>Amendoim</b>	15,65b	15,82a	13,43b	14,31b	13,86a
<b>Aveia Preta</b>	16,42a	15,35b	13,31b	14,04b	13,49a
<b>Crotalária</b>	16,22a	15,89a	13,34b	14,26b	13,66a
<b>Feijão Caupi</b>	15,93b	15,10c	13,85a	14,17b	12,85b
<b>Feijão de Porco</b>	16,00b	15,36b	13,69a	14,25b	12,93b
<b>Mandioca</b>	16,18a	15,77a	13,84a	14,16b	13,74a
<b>Milho</b>	16,05a	15,98a	13,33b	14,22b	13,08b

**Tabela 3:** Valores médios em escala log das variáveis microbiológicas para as coberturas vegetais dentro de cada ciclo.

Cobertura	(Conclusão)						
	BT	BPE	BPS	ACT	FT		
<b>Pousio 1</b>	15,44d	13,77c	13,56a	14,10a	13,43b		
<b>Pousio 2</b>	15,71c	14,03c	14,03a	14,15a	13,32c		
<b>Pousio 3</b>	15,50d	13,92c	13,85a	14,20a	12,50d		
<b>Pousio 4</b>	15,31d	13,73c	13,77a	14,14a	13,17c		
<b>Amendoim</b>	Ciclo 3	16,17a	15,51a	13,67a	14,13a	13,76a	
<b>Aveia Preta</b>		16,16a	13,77c	13,81a	14,02a	13,60b	
<b>Crotalária</b>		16,29a	13,74c	13,81a	14,22a	14,09a	
<b>Feijão Caupi</b>		15,86b	15,22b	13,70a	14,21a	13,11c	
<b>Feijão de Porco</b>		16,14a	13,27d	13,90a	14,20a	13,54b	
<b>Mandioca</b>		15,73c	15,62a	13,87a	14,17a	13,22c	
<b>Milho</b>		15,86b	13,87c	12,95b	14,22a	13,38b	
<b>Pousio 1</b>		Ciclo 4	16,21c	15,75b	15,26a	14,53a	12,29b
<b>Pousio 2</b>			16,53b	15,75b	15,49a	14,63a	12,44b
<b>Pousio 3</b>			16,26c	15,75b	13,57c	14,25b	12,40b
<b>Pousio 4</b>	16,13c		15,66b	14,45b	14,46b	12,27b	
<b>Amendoim</b>	15,90d		15,50c	13,76c	14,56a	12,46b	
<b>Aveia Preta</b>	16,62b		16,48a	15,34a	14,54a	13,77a	
<b>Crotalária</b>	16,68b		15,74b	13,48c	14,60a	12,18b	
<b>Feijão Caupi</b>	15,89d		15,68b	13,56c	14,40b	12,27b	
<b>Feijão de Porco</b>	15,82d		15,46c	13,96c	14,40b	12,20b	
<b>Mandioca</b>	16,00d		15,38c	13,51c	14,48b	12,62b	
<b>Milho</b>	17,74a	15,82b	13,62c	14,75a	12,47b		

BT = Bactérias totais; BPE = Bactérias produtoras de endósporo; BPS = Bactérias produtoras de sideróforos; ACT = Actinobactéria; FT = Fungos totais. Médias seguidas por letras diferentes entre as coberturas dentro de cada ciclo diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de significância de 5%.

Os resultados da análise de regressão revelaram padrões distintos na relação entre a quantidade de bactérias totais (BT, em logaritmo) e os ciclos para diferentes coberturas vegetais. Observou-se que tanto o Pousio 1 quanto o Pousio 2 apresentaram tendências de aumento linear ao longo dos ciclos, indicando uma resposta positiva em termos de microrganismos. Em contraste, o Pousio 3 exibiu uma diminuição gradual, sugerindo uma possível redução na atividade microbiana ao longo do tempo.

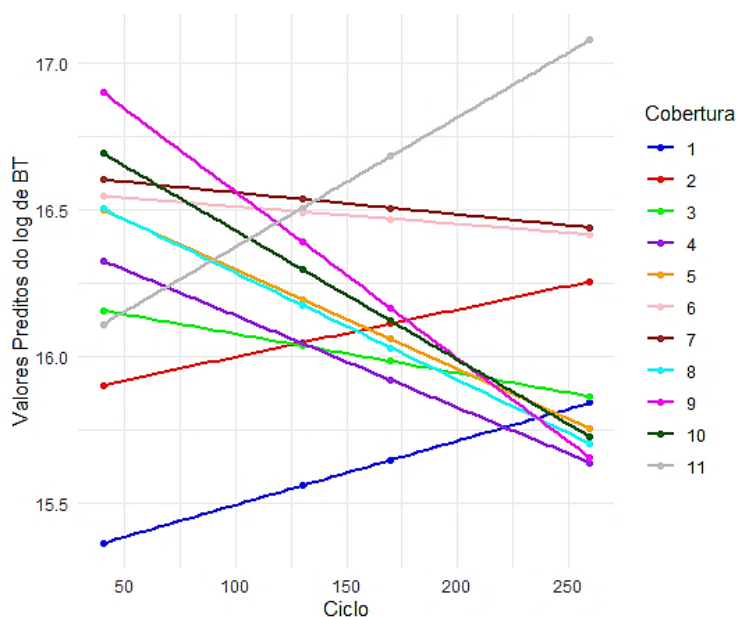
Por sua vez, o Pousio 4 demonstrou uma diminuição mais acentuada em relação aos ciclos subsequentes, o que pode indicar um esgotamento mais rápido da matéria orgânica ou condições menos favoráveis para o desenvolvimento microbiano. As coberturas de Amendoim e Feijão Caupi mostraram uma queda constante na quantidade de BT ao longo dos ciclos, o que

pode refletir uma competição mais intensa por recursos ou uma alteração na dinâmica do solo.

Feijão de Porco revelou uma diminuição ainda mais marcada a cada ciclo, apontando para uma possível limitação na sustentação da população microbiana nesse contexto. A Mandioca, por sua vez, exibiu uma diminuição gradual, sugerindo uma resposta mais moderada. O Milho apresentou um padrão de aumento ao longo dos ciclos, indicando que essa cobertura pode ser mais favorável para a manutenção ou incremento das populações de BT.

Por fim, Aveia Preta e Crotalária demonstraram padrões mais complexos, com variações sutis ao longo dos ciclos. Essas descobertas sugerem que diferentes coberturas vegetais podem ter respostas distintas ao longo do tempo em relação à quantidade de BT, refletindo suas influências variadas nas condições do solo e na dinâmica microbiana (Figura 1).

**Figura 1:** Modelo log-normal para valores preditos de BT (Bactérias Totais) em função do ciclo em cada cobertura vegetal



1 = Pousio 1 ( $\log(\text{BT}) = 15.2768 + 0.0022 * \text{ciclo}$ ); 2 = Pousio 2 ( $\log(\text{BT}) = 15.8379 + 0.0016 * \text{ciclo}$ ); 3 = Pousio 3 ( $\log(\text{BT}) = 16.2097 - 0.0013 * \text{ciclo}$ ); 4 = Pousio 4 ( $\log(\text{BT}) = 16.451 - 0.0031 * \text{ciclo}$ ); 5 = Amendoim ( $\log(\text{BT}) = 16.6358 - 0.0034 * \text{ciclo}$ ); 6 = Aveia preta ( $\log(\text{BT}) = 16.5689 - 0.0000006 * \text{ciclo}$ ); 7 = Crotalária ( $\log(\text{BT}) = 16.6313 - 0.00000007 * \text{ciclo}$ ); 8 = Feijão Caupi ( $\log(\text{BT}) = 16.6478 - 0.0036 * \text{ciclo}$ ); 9 = Feijão de porco ( $\log(\text{BT}) = 17.1255 - 0.0057 * \text{ciclo}$ ); 10 = Mandioca ( $\log(\text{BT}) = 16.8666 - 0.0044 * \text{ciclo}$ ); 11 = Milho ( $\log(\text{BT}) = 15.9332 + 0.0044 * \text{ciclo}$ ).

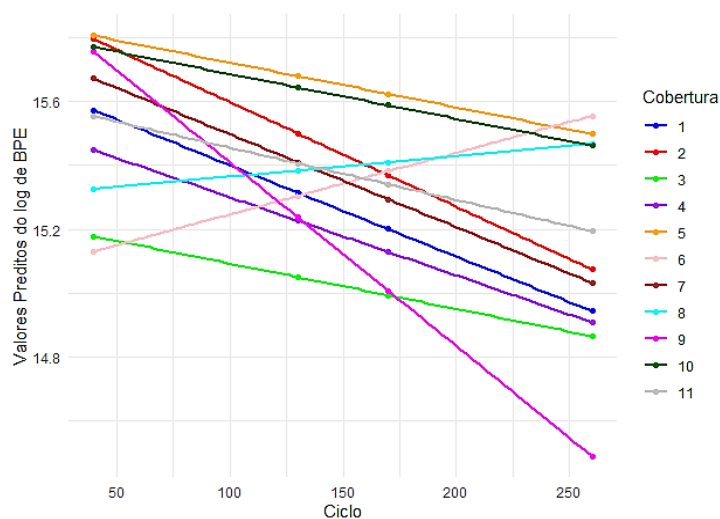
Os resultados da análise de regressão para as bactérias produtoras de endósporos (BPE, em logaritmo) em relação ao ciclo revelaram padrões distintos entre as diferentes coberturas vegetais. As coberturas Pousio 1, Pousio 2 e Pousio 3 apresentaram uma tendência de queda ao longo dos ciclos, com o Pousio 3 exibindo a maior diminuição, indicando uma redução significativa na quantidade de BPE.

Em contraste, Pousio 4 mostrou uma diminuição menos acentuada em comparação aos ciclos subsequentes, sugerindo que essa cobertura pode ter um efeito mitigador sobre a perda das populações de BPE.

Além disso, as coberturas de Amendoim e Feijão de Porco também demonstraram uma tendência de queda ao longo dos ciclos, sendo que o Feijão de Porco apresentou uma diminuição mais pronunciada em cada ciclo, o que pode indicar um impacto mais forte nas populações microbianas. As coberturas de Aveia Preta, Crotalária e Mandioca exibiram padrões de variação mais complexos, com flutuações sutis ao longo dos ciclos, refletindo uma interação dinâmica entre essas coberturas e as condições ambientais.

Por fim, o Milho apresentou uma tendência de queda relativamente constante ao longo dos ciclos, sugerindo que essa cobertura pode não proporcionar condições ideais para a manutenção das populações de BPE. Esses padrões evidenciam a importância da escolha das coberturas vegetais na dinâmica das bactérias produtoras de endósporos ao longo do tempo (Figura 2).

**Figura 2:** Modelo log-normal para valores preditos de BPE (Bactérias produtoras de Endósporos) em função do ciclo em cada cobertura vegetal



1 = Pousio 1 ( $\log(\text{BPE}) = 15.687 - 0.0029 * \text{ciclo}$ ); 2 = Pousio 2 ( $\log(\text{BPE}) = 15.9263 - 0.0033 * \text{ciclo}$ ); 3 = Pousio 3 ( $\log(\text{BPE}) = 16.2352 - 0.0014 * \text{ciclo}$ ); 4 = Pousio 4 ( $\log(\text{BPE}) = 15.546 - 0.0025 * \text{ciclo}$ ); 5 = Amendoim ( $\log(\text{BPE}) = 15.8625 - 0.0014 * \text{ciclo}$ ); 6 = Aveia preta ( $\log(\text{BPE}) = 15.054 - 0.0019 * \text{ciclo}$ ); 7 = Crotalária ( $\log(\text{BPE}) = 15.7886 - 0.0029 * \text{ciclo}$ ); 8 = Feijão Caupi ( $\log(\text{BPE}) = 15.3006 + 0.0000004 * \text{ciclo}$ ); 9 = Feijão de porco ( $\log(\text{BPE}) = 15.9863 - 0.0058 * \text{ciclo}$ ); 10 = Mandioca ( $\log(\text{BPE}) = 15.8267 - 0.0014 * \text{ciclo}$ ); 11 = Milho ( $\log(\text{BPE}) = 15.6194 - 0.0016 * \text{ciclo}$ ).

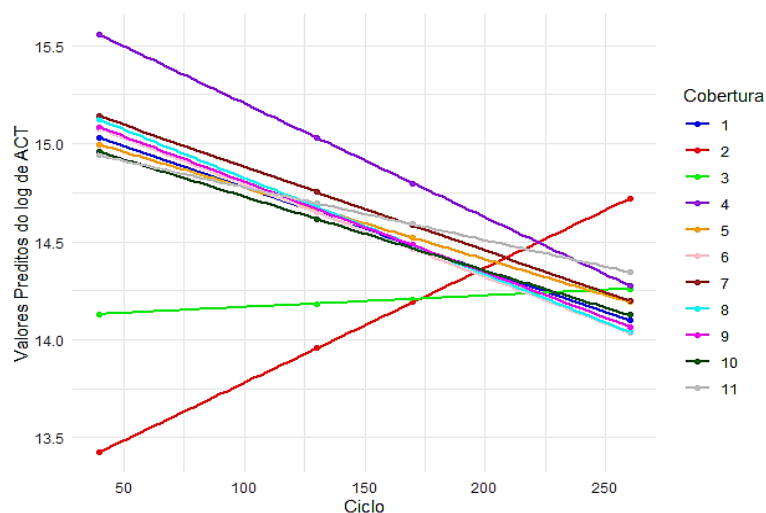
As análises de regressão para as actinobactérias (ACT, em logaritmo) em relação ao ciclo revelaram padrões distintos entre as diversas coberturas vegetais. Pousio 2 e Pousio 3 apresentaram tendências de aumento ao longo dos ciclos, com Pousio 2 destacando-se pela maior elevação nas populações de ACT, enquanto pousio 3 exibiu um crescimento mais moderado, sugerindo uma resposta positiva a essas condições.

Em contrapartida, Pousio 1 e Pousio 4 mostraram tendências de queda ao longo dos ciclos, com Pousio 4 apresentando a diminuição mais acentuada, indicando que essa cobertura pode não favorecer a manutenção das actinobactérias.

As coberturas de Amendoim, Aveia Preta, Crotalária, Feijão Caupi e Feijão de Porco também demonstraram uma tendência geral de diminuição ao longo dos ciclos, embora com variações sutis que podem refletir as diferentes interações com o ambiente e o solo. Mandioca e Milho, por outro lado, apresentaram quedas relativamente estáveis ao longo dos ciclos, o que sugere que essas coberturas mantêm uma dinâmica mais constante nas populações de ACT.

Esses resultados evidenciam como a escolha das coberturas vegetais pode influenciar significativamente a dinâmica das actinobactérias ao longo do tempo (Figura 3).

**Figura 3:** Modelo log-normal para valores preditos de ACT (Actinobactérias) em função do ciclo em cada cobertura vegetal



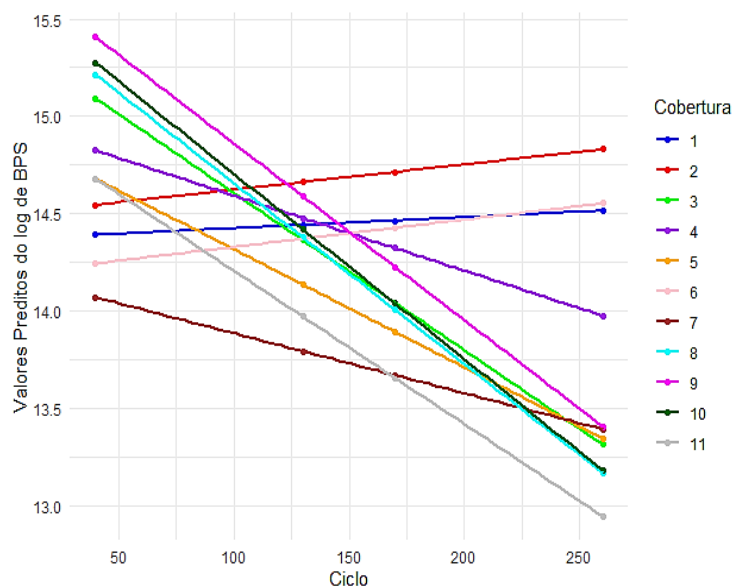
1= Pousio 1 ( $\log(\text{ACT}) = 15.2002 - 0.0042 * \text{ciclo}$ ); 2= Pousio 2 ( $\log(\text{ACT}) = 13.193 + 0.0059 * \text{ciclo}$ ); 3= Pousio 3 ( $\log(\text{ACT}) = 14.1077 + 0.0000006 * \text{ciclo}$ ); 4= Pousio 4 ( $\log(\text{ACT}) = 15.7873 - 0.0058 * \text{ciclo}$ ); 5= Amendoim ( $\log(\text{ACT}) = 15.1413 - 0.0037 * \text{ciclo}$ ); 6 = Aveia preta ( $\log(\text{ACT}) = 15.2642 - 0.0047 * \text{ciclo}$ ); 7 = Crotalária ( $\log(\text{ACT}) = 15.3103 - 0.0043 * \text{ciclo}$ ); 8 = Feijão Caupi ( $\log(\text{ACT}) = 15.3176 - 0.0049 * \text{ciclo}$ ); 9 = Feijão de porco ( $\log(\text{ACT}) = 15.2682 - 0.0046 * \text{ciclo}$ ); 10= Mandioca ( $\log(\text{ACT}) = 15.1082 - 0.0038 * \text{ciclo}$ ); 11 = Milho ( $\log(\text{ACT}) = 15.0475 - 0.0027 * \text{ciclo}$ ).

As análises de regressão para as bactérias produtoras de sideróforos (BPS, em logaritmo) em relação ao ciclo revelaram padrões distintos entre as diferentes coberturas vegetais. Pousio 3, juntamente com as coberturas de Feijão Caupi, Feijão de Porco e Mandioca, apresentou uma clara tendência de queda ao longo dos ciclos, sendo Pousio 3 aquele que exibiu a maior diminuição nas populações de BPS.

Em contraste, as coberturas Pousio 1, Pousio 2, Pousio 4 e Aveia Preta,, demonstraram uma tendência de aumento ao longo dos ciclos. Essas coberturas mostraram variações sutis em suas respostas, indicando que diferentes ambientes e práticas de manejo podem influenciar positivamente as populações de bactérias produtoras de sideróforos. As demais coberturas apresentaram uma tendência de queda ao longo dos ciclos.

Esses resultados destacam a importância da escolha de coberturas vegetais, que pode ter um impacto significativo na dinâmica das BPS ao longo do tempo (Figura 4).

**Figura 4:** Modelo log-normal para valores preditos de BPS (Produtoras de Sideróforos) em função do ciclo em cada cobertura vegetal

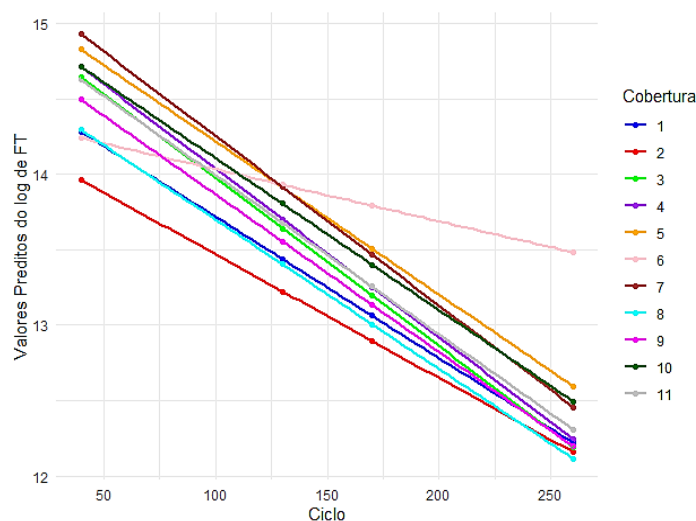


1= Pousio 1 ( $\log(\text{BPS}) = 14.3683 + 0.0000006 * \text{ciclo}$ ); 2= Pousio 2 ( $\log(\text{BPS}) = 14.4937 + 0.0013 * \text{ciclo}$ ); 3= Pousio 3 ( $\log(\text{BPS}) = 15.4151 - 0.0081 * \text{ciclo}$ ); 4= Pousio 4 ( $\log(\text{BPS}) = 14.9793 - 0.0039 * \text{ciclo}$ ); 5= Amendoim ( $\log(\text{BPS}) = 14.9233 - 0.0016 * \text{ciclo}$ ); 6 = Aveia preta ( $\log(\text{BPS}) = 14.1881 + 0.0014 * \text{ciclo}$ ); 7 = Crotalária ( $\log(\text{BPS}) = 14.1947 - 0.0031 * \text{ciclo}$ ); 8 = Feijão Caupi ( $\log(\text{BPS}) = 15.5868 - 0.0093 * \text{ciclo}$ ); 9 = Feijão de porco ( $\log(\text{BPS}) = 15.77 - 0.0091 * \text{ciclo}$ ); 10= Mandioca ( $\log(\text{ACT}) = 15.6571 - 0.0095 * \text{ciclo}$ ); 11 = Milho ( $\log(\text{BPS}) = 14.9953 - 0.0079 * \text{ciclo}$ ).

Em relação à quantidade de fungos totais (FT) ao longo do ciclo, os modelos de regressão revelaram padrões distintos de variação conforme as diferentes coberturas vegetais. As coberturas Pousio 1, Pousio 2, Feijão Caupi, Mandioca, Pousio 3, Pousio 4, Amendoim, Feijão de Porco, Crotalária, Aveia Preta e Milho demonstraram uma clara tendência de queda constante ao longo dos ciclos.

Por outro lado, a aveia preta apresentou uma tendência de queda ao longo dos ciclos, com diminuição mais sutil na sua dinâmica. Essas semelhanças ressaltam como as escolhas de coberturas vegetais não possui capacidade de aumentar na comunidade de fungos no solo, refletindo a complexidade das interações ecológicas ao longo do tempo (Figura 5).

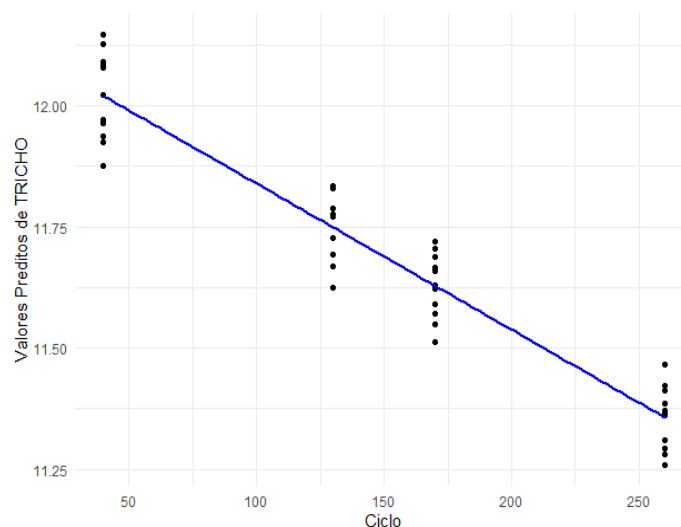
**Figura 5:** Modelo log-normal para valores preditos de FT (Fungos totais) em função do ciclo em cada cobertura vegetal



1= Pousio 1 ( $\log(\text{FT}) = 14.6599 - 0.0094 * \text{ciclo}$ ); 2= Pousio 2 ( $\log(\text{FT}) = 14.292 - 0.0082 * \text{ciclo}$ ); 3= Pousio 3 ( $\log(\text{FT}) = 15.0926 - 0.0112 * \text{ciclo}$ ); 4= Pousio 4 ( $\log(\text{FT}) = 15.1627 - 0.0112 * \text{ciclo}$ ); 5= Amendoim ( $\log(\text{FT}) = 15.2365 - 0.0102 * \text{ciclo}$ ); 6 = Aveia preta ( $\log(\text{FT}) = 14.3805 - 0.0035 * \text{ciclo}$ ); 7 = Crotalária ( $\log(\text{FT}) = 15.3805 - 0.0112 * \text{ciclo}$ ); 8 = Feijão Caupi ( $\log(\text{FT}) = 14.6931 - 0.0099 * \text{ciclo}$ ); 9 = Feijão de porco ( $\log(\text{FT}) = 14.9151 - 0.0105 * \text{ciclo}$ ); 10= Mandioca ( $\log(\text{FT}) = 15.1181 - 0.0101 * \text{ciclo}$ ); 11 = Milho ( $\log(\text{FT}) = 15.0518 - 0.01106 * \text{ciclo}$ ).

Ao analisar o efeito simples do parâmetro *Trichoderma*, verificou-se que não houve diferença estatística significativa entre as coberturas em nenhum dos ciclos avaliados. Assim, os níveis de *Trichoderma* mantiveram uma tendência de queda consistente ao longo dos ciclos, independentemente do tipo de cobertura vegetal ou dos períodos de pousio (Figura 6). Essa constatação sugere que a presença de *Trichoderma* no solo pode ser influenciada por fatores distintos, que não variaram de acordo com as diferentes práticas de manejo adotadas.

**Figura 6:** Modelo log-normal para valores preditos de TRICHO (*Trichoderma*) em função do ciclo, independentemente da cobertura vegetal

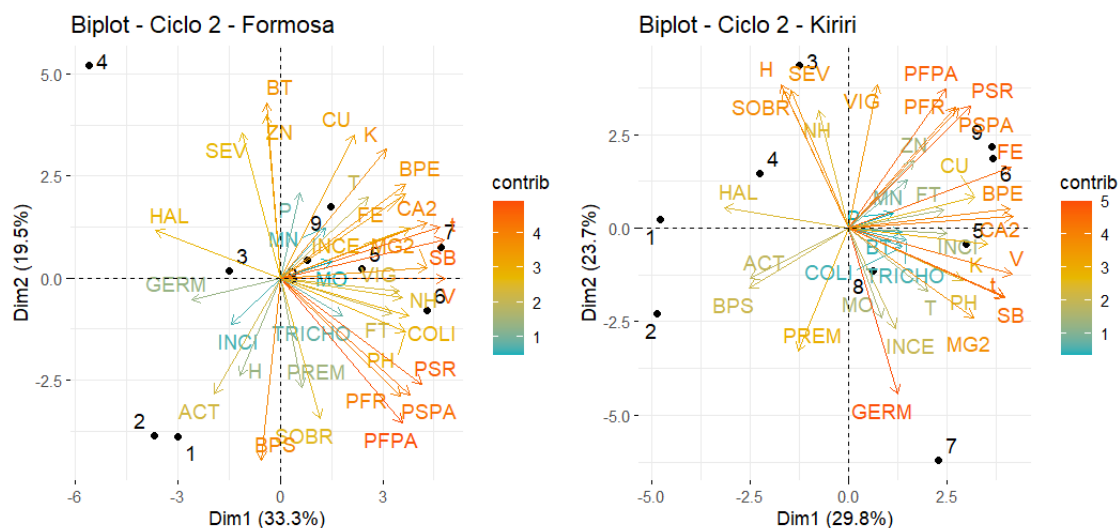


Equação de regressão:  $\log(\text{TRICHO}) = 12.06 - 0.002986 * \text{ciclo}$

No ciclo 2, para a variedade 'BRS Formosa', a ACP revelou que as duas primeiras componentes explicam aproximadamente 52,8% da variabilidade total dos dados. A CP1 contribui com 33,3% da variância total, enquanto a CP2 explica 19,5%. Na CP1, as variáveis como, PSR, PFPA, PSPA, VIG, t, SB e PFR têm alta contribuição, indicando que essas variáveis são fundamentais para a variabilidade capturada pela CP 1 e coberturas como Feijão de Porco e feijão caupi contribuem significativamente para esta dimensão. Na CP2, as variáveis BT, SEV, K e BPS destacam-se como mais influentes para aveia e amendoim, onde contribuem significativamente.

Para a variedade 'BRS Kiriris', os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) explicam 53.5% da variância total dos dados, sendo que CP1 explica 29.8% e CP2 explica 23.7%. As variáveis que mais contribuem para CP1 incluem PFPA, PFR, PSPA, PSR, VIG, H e SOBR. Essas variáveis têm altos valores de contribuição (ctr) e de cos2 (coeficiente de determinação), indicando uma forte associação com este componente e feijão caupi e milho contribuem significativamente para estas variáveis. As variáveis que mais contribuem para CP2 incluem PSR, PFR, PFRB, PSPA, e GERM. Essas variáveis também têm contribuições significativas, mas menores que as observadas no CP1 (Figura 7).

**Figura 7:** Biplot de projeção de vetores de atributos agrônômicos, doenças relacionadas a grupos de vegetação cobertura e pousio, microbiológicos e dados químicos do solo, no 2º ciclo agrícola, para as variedades 'BRS Formosa e 'BRS Kiriris'



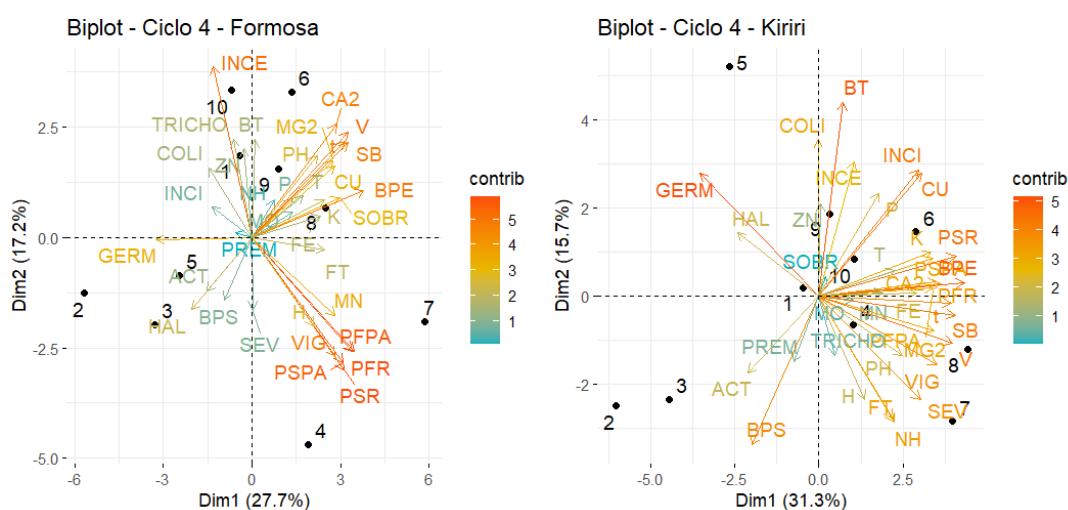
1 = Pousio 3, 2 = Pousio 4, 3 = Amendoim, 4 = Aveia, 5 = Crotalaria, 6 = Feijão Caupi, 7 = Feijão de Porco, 8 = Mandioca, 9 = Milho / INCI (Incidência Interna %), INCE (Incidência Externa %), COLI (Colonização interna da mandioca %), PFFPA (Peso fresco da parte aérea real – g), PFR (Peso fresco da Raiz real – g), NH (Número de haste), PSPA (Peso seco da parte aérea), PSR (Peso seco da raiz – g), VIG (Vigor), H (Altura), SEV (Severidade), SOBR (Sobrevivência), GERM (Germinação), BT (Bactérias totais), BPE (Bactérias produtoras de endósporo), ACT (Actinobactérias), BPS (Bactérias produtoras de sideróforos), FT (Fungos totais), TRI (Trichoderma), PH (PH - H<sub>2</sub>O), P (P(mg/dm<sup>3</sup>), K (K (mg/dm<sup>3</sup>), CA2 (Ca<sup>2+</sup> (cmolc/dm<sup>3</sup>), MG2 (Mg<sup>2+</sup> (cmolc/dm<sup>3</sup>), AL<sup>3</sup> (Al<sup>3+</sup> (cmolc/dm<sup>3</sup>), HAL (H + Al (cmolc/dm<sup>3</sup>), SB (SB (cmolc/dm<sup>3</sup>), t (t (cmolc/dm<sup>3</sup>), T (T (cmolc/dm<sup>3</sup>), V (V (%), M (m (%), MO (MO (dag/kg), PREM (P-Rem (mg/L), CU (Cu (mg/dm<sup>3</sup>), MN (Mn (mg/dm<sup>3</sup>), FE (Fe (mg/dm<sup>3</sup>), ZN (Zn (mg/dm<sup>3</sup>).

No ciclo 4, para a variedade 'BRS Formosa', a ACP revelou que as duas primeiras componentes explicam aproximadamente 44,9% da variabilidade total dos dados. A CP1 contribui com 27,7% da variância total, enquanto a CP2 explica 17,2%. Na CP1, as variáveis como, PFFPA, PFR, PSR, PSPA e SOBR são as que mais contribuem e na CP2 INCE, SEV, e GERM também possuem contribuições significativas, mas menores que na CP1. A cobertura Feijão caupi possui maiores valores na CP1, enquanto crotalária possui os menores valores. Na CP2, a cobertura Milho possui um score mais alto, indicando uma alta variação explicada por características adicionais, como a INCE.

Para a variedade 'BRS Kiriris', no ciclo 4, as duas primeiras componentes explicam aproximadamente 47% da variabilidade total dos dados. A CP1

contribui com 31,3% da variância total, enquanto a CP2 explica 15,7%. Na CP1, as variáveis que mais contribuem para a CP1 incluem, PFR, PSR, BPE, VIG e GERM, com altas contribuições (ctr) e altos valores de cos2 (coeficiente de determinação), indicando uma forte associação com este componente. As variáveis que mais contribuem para a CP2 incluem BT, COLI, INCE e SOBR, com contribuições significativas, embora menores que as da CP1. Na CP1, a cobertura Crotalária e Feijão de porco possuem um score muito alto, indicando um desempenho melhor nas características agrônômicas favoráveis, e o pousio 3 e 4 possuem um score negativo, indicando condições menos favoráveis. Na CP2, a aveia possui um score alto, indicando uma alta variação explicada por características indesejáveis, como COLI (Figura 8).

**Figura 8:** Biplot de projeção de vetores de atributos agrônômicos, doenças relacionadas a grupos de vegetação cobertura e pousio, microbiológicos e dados químicos do solo, no 4º ciclo agrícola, para as variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris'



1 = Pousio 2, 2 = Pousio 3, 3 = Pousio 4, 4 = Amendoim, 5 = Aveia, 6 = Crotalária, 7 = Feijão Caupi, 8= Feijão de Porco, 9= Mandioca, 10= Milho / INCI (Incidência Interna %), INCE (Incidência Externa %), COLI (Colonização interna da mandioca %), PFP (Peso fresco da parte aérea real – g), PFR (Peso fresco da Raiz real – g), NH (Número de haste), PSPA (Peso seco da parte aérea), PSR (Peso seco da raiz – g), VIG (Vigor), H (Altura), SEV (Severidade), SOBR (Sobrevivência), GERM (Germinação), BT (Bactérias totais), BPE (Bactérias produtoras de endósporo), ACT (Actinobactérias), BPS (Bactérias produtoras de siderófitos), FT (Fungos totais), TRI (Trichoderma), PH (PH - H<sub>2</sub>O), P (P(mg/dm<sup>3</sup>), K (K (mg/dm<sup>3</sup>), CA<sub>2</sub> (Ca<sup>2+</sup> (cmolc/dm<sup>3</sup>), MG<sub>2</sub> (Mg<sup>2+</sup> (cmolc/dm<sup>3</sup>), AL<sup>3</sup> (Al<sup>3+</sup> (cmolc/dm<sup>3</sup>), HAL (H + Al (cmolc/dm<sup>3</sup>), SB (SB (cmolc/dm<sup>3</sup>), t (t (cmolc/dm<sup>3</sup>), T (T (cmolc/dm<sup>3</sup>), V (V (%), M (m (%), MO (MO (dag/kg), PREM (P-Rem (mg/L), CU (Cu (mg/dm<sup>3</sup>), MN (Mn (mg/dm<sup>3</sup>), FE (Fe (mg/dm<sup>3</sup>), ZN (Zn (mg/dm<sup>3</sup>).

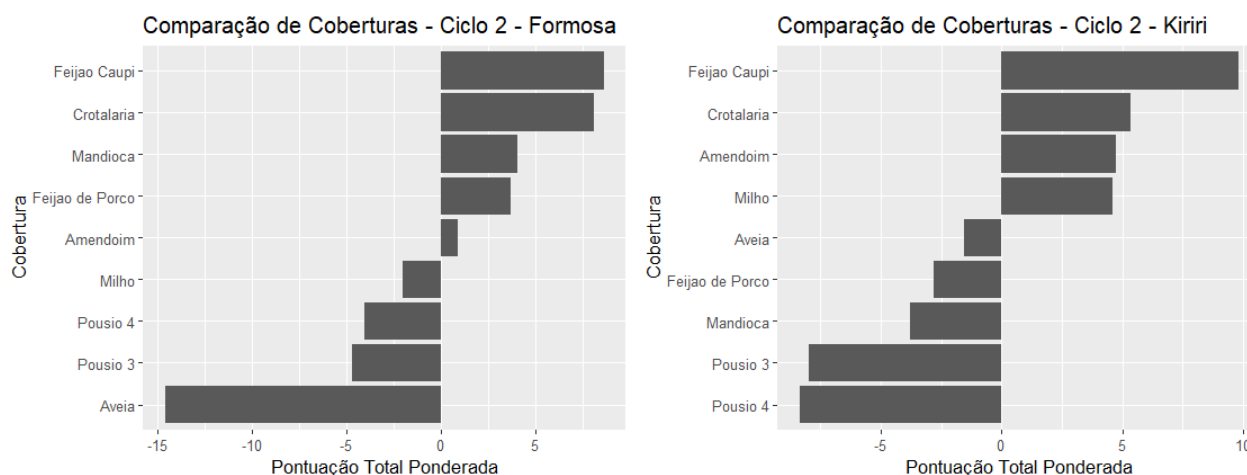
Na comparação das variedades do ciclo 2, para a variedade 'BRS Formosa', o Feijão caupi alcançou a pontuação mais alta, indicando condições excepcionais para o crescimento das culturas, tanto em termos agronômicos quanto de qualidade do solo. Do mesmo modo, a crotalária obteve uma pontuação alta, destacando-se como uma excelente opção para cobertura do solo, graças às suas condições favoráveis.

As coberturas mandioca e feijão de porco receberam uma pontuação moderada, sugerindo condições aceitáveis para o cultivo, embora possa não ser tão vantajosa quanto o feijão caupi e a crotalária. Em contraste, o amendoim registrou uma pontuação próxima de zero, indicando condições neutras ou menos favoráveis para o seu crescimento.

Em contraste, Milho recebeu uma pontuação negativa, sugerindo condições desfavoráveis para o seu cultivo. Ambos os tipos de pousio, Pousio 4 e pousio 3, obtiveram pontuações negativas, indicando que essas áreas estão menos propícias ao cultivo de culturas agrícolas. Por fim, a Aveia recebeu a pontuação mais baixa entre todas as coberturas avaliadas, indicando condições menos favoráveis para o seu uso no controle biológico em comparação com as demais coberturas.

Para o ciclo 2, na variedade 'BRS Kiriris', o Feijão caupi alcançou a pontuação mais alta, indicando boas condições para o crescimento da cultura, tanto em termos agronômicos quanto de qualidade do solo. Como na 'BRS Formosa', a crotalária na 'BRS Kiriris' se apresenta como uma cobertura com boa pontuação e suas condições favoráveis. O amendoim e o milho se aproximam em questão de valores e apresentaram uma pontuação moderada, sugerindo uma condição favorável ao cultivo, embora não seja tão vantajosa quanto ao Feijão caupi. Em contraste, o feijão de porco e a aveia registraram uma pontuação negativa, indicando condições desfavoráveis para o seu cultivo. Por fim, o Pousio 3, Pousio 4 e Mandioca receberam as menores as pontuações entre todas as coberturas avaliadas, sugerindo que essas áreas possuem condições menos favoráveis para o cultivo em comparação com as demais coberturas (Figura 9).

**Figura 9:** Pontuações totais ponderadas calculadas para cada observação do ciclo 2, classificando e ponderando diferentes coberturas avaliadas.



Na comparação das variedades do ciclo 4, para a variedade 'BRS Formosa', o Feijão caupi recebeu a pontuação mais alta, indicando que apresenta boas condições agronômicas, microbiológicas e químicas de solo favoráveis para o crescimento da cultura. Seguindo, o Amendoim também obteve uma pontuação alta, que permite ser uma boa opção como cobertura do solo, devido a condições favoráveis que oferece.

O Feijão de Porco, recebeu uma pontuação moderada, indicando condições razoavelmente boas para o cultivo, no entanto ainda possui coberturas melhores como Feijão de caupi e Amendoim.

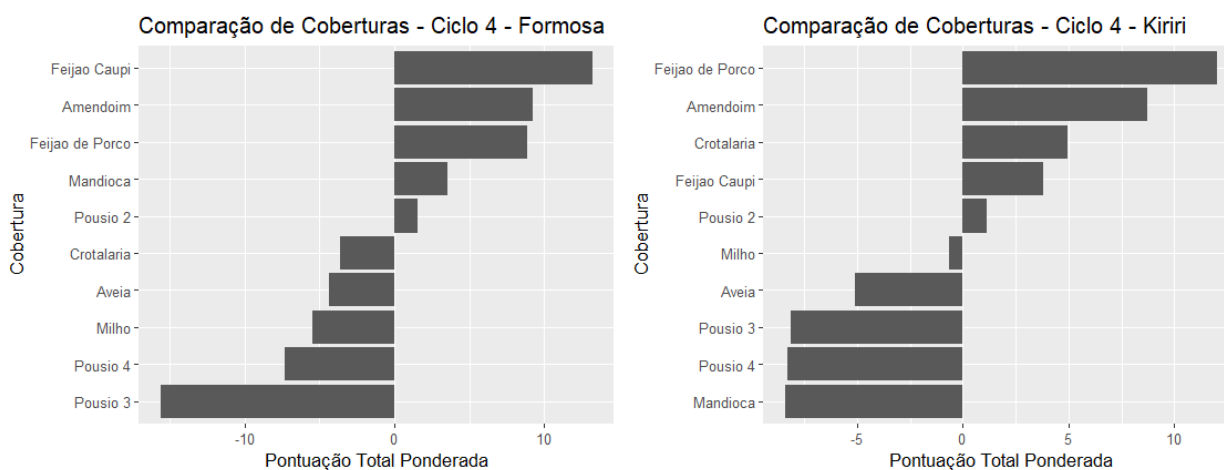
O Pousio 2 e Mandioca receberam uma pontuação próxima de zero, sugerindo uma condição desfavorável e até neutra para o cultivo. Crotalaria e Aveia preta receberam uma pontuação negativa próxima, indicando condições menos favoráveis ao cultivo dessa cultura. Por fim, Pousio 3 e Pousio 4, ambos tipos de Pousio receberam as menores pontuações negativas, sugerindo que as áreas estão menos propícias ao cultivo de culturas agrícolas, sendo o Pousio 3 com a menor pontuação negativa.

Para o ciclo 4, na variedade 'BRS Formosa' diferente do ciclo 2, foi o feijão de porco foi a cobertura que recebeu a pontuação mais alta, indicando que possui condições agronômicas, microbiológicas e química do solo mais favoráveis para o crescimento da cultura. No entanto, o Amendoim também

obteve uma pontuação alta, sugerindo uma boa cobertura de solo oferecendo condições favoráveis.

Feijão caupi e Crotalaria, também possuiu uma pontuação moderada, sendo uma cultura com condições boas para o cultivo, embora não seja tão ideal quanto ao Feijão de porco e o amendoim. Pousio 2 se aproximaram de zero, sugerindo uma condição menos desfavoráveis e até neutra para o cultivo. Aveia preta, pousio 4, pousio 3 e mandioca receberam uma pontuação negativa próximas, indicando condições menos favoráveis ao cultivo dessa cultura, sendo a mandioca com a menor pontuação negativa (Figura 10).

**Figura 10:** Pontuações totais ponderadas calculadas para cada observação do ciclo 4, classificando e ponderando diferentes coberturas avaliadas.



#### 4. DISCUSSÃO

A implementação de coberturas vegetais associadas ao cultivo da mandioca demonstrou influências significativas nas propriedades microbiológicas e químicas do solo, além de impactar diretamente na severidade da podridão seca e negra das raízes. A microbiota do solo, como mencionado por Jenkinson e Ladd (1981), desempenha um papel crucial na decomposição de resíduos orgânicos e na ciclagem de nutrientes, além de influenciar a estrutura e a fertilidade do solo. A quantificação dos microrganismos ao longo do tempo, em resposta às diferentes coberturas, nos permitiu observar como essas interações afetam o solo e, conseqüentemente, o desenvolvimento da mandioca.

Os resultados mostraram que, embora as actinobactérias não tenham apresentado um aumento significativo sob diferentes coberturas, sua presença é essencial na ciclagem de nutrientes e no controle biológico de fitopatógenos (Baker & Cook, 1974; El-TarabilY; Sivasithamparam, 2005). A inversa proporção entre as actinobactérias e a matéria orgânica (Figura 7) sugere que a dinâmica do solo pode estar sendo influenciada por práticas de manejo que promovem a degradação da matéria orgânica, mas que ainda não se traduzem em um aumento das actinobactérias. Essa observação ressalta a importância de considerar o equilíbrio entre a quantidade de matéria orgânica aplicada e a atividade microbiana desejada, uma vez que um excesso de decomposição pode levar à redução de microrganismos benéficos.

Adicionalmente, as observações sobre as bactérias produtoras de sideróforos revelaram que, enquanto algumas coberturas, como a Aveia Preta, mostraram um aumento nesse parâmetro, outras, como o Feijão Caupi e a Crotalária, foram menos eficientes ao longo do ciclo. A importância dessas bactérias na absorção de ferro e na promoção da saúde das plantas foi verificada por Patel *et al.* (2018) e Ferreira *et al.* (2019), que ressaltaram o papel fundamental do ferro na fotossíntese. O aumento da disponibilidade de ferro no solo está diretamente ligado ao crescimento saudável das plantas, o que poderia explicar a variação nas respostas das diferentes coberturas.

Os resultados que indicam uma diminuição da população de *Trichoderma* ao longo dos ciclos (Figura 6) refletem a necessidade de um manejo mais cuidadoso, dado que esse fungo é frequentemente associado à supressividade de doenças (Melo, 1991; Harman, 2005). A redução de *Trichoderma* poderia sugerir um comprometimento no controle biológico das podridões radiculares, levando a um aumento na suscetibilidade das plantas a doenças. Este achado é particularmente relevante, pois destaca que a manutenção de uma microbiota saudável é fundamental para a proteção das culturas, e que o manejo deve focar em práticas que promovam a sobrevivência e a eficácia de microrganismos benéficos.

As análises indicaram que, apesar de haver um aumento na biodiversidade do solo devido às diferentes coberturas, as variáveis químicas e microbiológicas não apresentaram correlações diretas com a redução das doenças, como se esperava.

Essa observação se alinha com a conclusão de Silva *et al.* (2017), que indicaram que os atributos bióticos e abióticos do solo não se correlacionam de forma direta com a supressividade das doenças, sugerindo que outros fatores, como a qualidade do manejo e a interação entre as espécies vegetais, também desempenham um papel crucial. Essa complexidade é frequentemente subestimada, mas é essencial para o desenvolvimento de estratégias de manejo que realmente funcionem.

Os dados das análises de componentes principais mostram que a matéria orgânica, embora fundamental, não foi determinante no controle das doenças. Isso se confirma em estudos anteriores, onde a relação entre a matéria orgânica e o controle biológico de doenças se mostra complexa e dependente de fatores como a interação de diferentes espécies de plantas e práticas de manejo (Cesarano *et al.*, 2017; Francioli *et al.*, 2016).

Portanto, o impacto das coberturas no controle de doenças não deve ser avaliado apenas pela presença de matéria orgânica, mas sim por uma abordagem mais holística que leve em conta o ecossistema microbiano como um todo.

Como para Silva *et al.* (2017), avaliaram os aspectos relacionados ao fenômeno de supressividade da podridão radicular da mandioca, os atributos bióticos e abióticos do solo foram submetidos a correlação. Nos gráficos (Figura 7), os parâmetros GERM, SOBR, VIG e H não possuem correlações altas nos parâmetros de química no solo.

Quanto à produtividade da mandioca foi variada de acordo com as coberturas utilizadas. O Feijão Caupi e feijão de porco mostraram-se mais benéficos (Figura 8). Isso corrobora o trabalho de Junior (2018), que destacou o aumento da produtividade em consórcio com Feijão Caupi.

No trabalho realizado por Do Nascimento *et al.* (2021), onde foi realizado análises de produtividade de raízes tuberosas em monocultura de mandioca e em consórcio com feijão caupi, sorgo e guandu; onde concluiu que o consórcio de mandioca com o feijão caupi foi a mais eficiente quando comparada com as outras culturas.

No ciclo 2 para a variedade 'BRS Formosa' e no ciclo 4 para a variedade 'BRS kiriris', a crotalária também apresenta boas condições de parâmetros de doenças, no entanto em questão de desenvolvimento da planta ficou atrás das

coberturas de feijão de porco e feijão caupi, sendo a crotalária uma vegetação que se mostrou competitiva desde o início atingindo um grande porte e isso trouxe uma concorrência por luz com as plantas, fazendo um abafamento da mandioca.

Já o amendoim é uma forrageira que possui capacidades benéficas ao solo, pois se trata de uma planta com uma boa capacidade de reciclar nutrientes, no entanto, a cultura do amendoim não obteve resultado plausível, sendo no ciclo 2 para a variedade 'BRS Kiriris' e no ciclo 4 para a variedade 'formosa', o amendoim apresentou nota positiva, porém próximas de zero.

Estudos realizados na colômbia, Leihner e Lopez (1988) relataram que no período de 5 anos o cultivo único da mandioca, mesmo com gerenciamento e fertilização moderada não resultou em um aumento de produtividade, porém quando a mandioca foi rotacionada com Crotalária (Fabaceae) como adubo verde, milho, mandioca, feijão comum, sorgo e mandioca novamente, o rendimento da mandioca voltou para 30 tonelada/hectare. No caso, a cobertura Milho, somente no ciclo 2 para a variedade 'BRS Kiriris' obteve uma pontuação relativamente alta. Podendo afirmar que por um período ainda maior como foi relatado, esta cultura pode apresentar resultados satisfatórios.

Em relação aos pousios, nos ciclos 2 e 4 não obteve pontuações satisfatórias nas análises, sendo negativas ou próximas de zero. No entanto, já foram relatados na literatura o pousio como uma alternativa para o aumento da produção de mandioca, contudo um pousio subsequente de 2 a 4 anos (Vanlauwe *et al.*, 2013). Um período bem acima do que foi utilizado na pesquisa, até 260 dias.

A diferenciação nas respostas das variedades de mandioca, como indicado por Kuyper e Adjei-Nsiah (2017), sugere que a escolha da cobertura deve ser cuidadosamente considerada em função da variedade cultivada, de modo a otimizar tanto a produtividade quanto o controle de doenças. A interação entre as características da cobertura e as variedades de mandioca também pode influenciar a absorção de nutrientes e a resistência a estresses abióticos e bióticos.

Dessa forma, este estudo não apenas confirma a relevância das coberturas vegetais na gestão de solos e na saúde das plantas, mas também destaca a

necessidade de uma abordagem integrada que considere a interação entre as variáveis bióticas e abióticas para o manejo eficiente da mandioca.

Portanto, a escolha das coberturas deve ser baseada em um entendimento aprofundado das interações ecológicas, levando em conta a biodiversidade microbiana e as propriedades químicas do solo, a fim de promover um agroecossistema mais sustentável e produtivo.

## 5. CONCLUSÃO

Entre as coberturas avaliadas, a aveia preta se destacou ao final dos quatro ciclos, apresentando os maiores valores para bactérias produtoras de endósporos, fungos totais e bactérias produtoras de sideróforos, indicando seu potencial na indução de supressividade. Por outro lado, nenhuma cobertura foi eficaz no estímulo ao crescimento de actinobactérias, e também não foram observadas diferenças estatísticas relevantes entre as coberturas quanto à presença de *Trichoderma*, sugerindo a necessidade de novos estudos voltados a esse grupo.

Na análise multivariada dos ciclos 2 e 4, observou-se que as coberturas com feijão caupi e feijão-de-porco apresentaram os melhores desempenhos para as variedades 'BRS Formosa' e 'BRS Kiriris', tanto em termos de produtividade quanto de qualidade microbiológica e química do solo. Além disso, a cobertura com milho no ciclo 2 e com crotalária no ciclo 4 também demonstraram resultados promissores para a variedade 'BRS Kiriris'.

Diante os resultados é preciso verificar e estudar os dados expostos de outros olhares na estatística, afim de ampliar o olhar referente a supressividade do solo a doenças de planta, para que assim possa elucidar de forma clara formas de manejo assegurando a indução de supressividade do solo.

## REFERÊNCIAS

- ADIELE, J. G. *et al.* Rumo ao fechamento da lacuna de rendimento da mandioca na África Ocidental: eficiência agrônômica e respostas de rendimento de raiz de armazenamento para fertilizantes NPK. **Field Crops Research**, v. 253, p. 107820, 2020.
- BAKER, R.; COOK, J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W.H. Freeman & Co. p. 433, 1974.
- BARDGETT, R. D. **The biology of soil: a community and ecosystem approach**. Oxford: Oxford University Press, 2005. 242 p.
- BAUM, C., EICHLER-LÖBERMANN, B., HRYNKIEWICZ, K. Impact of organic amendments on suppression of Fusarium wilt. In: Meghvansi, M., Varma, A. (eds) Organic amendments and soil suppression in plant disease management. **Soil Biology**, v. 46, 2018.
- BAYATA, A. Revisão do valor nutricional da mandioca para uso como alimento básico. **Science Journal of Analytical Chemistry**, v. 7, n. 4, p. 83-91, set, 2019.
- BORGES, A. L. *et al.* Calagem e adubação para a mandioca. In: Embrapa Mandioca e Fruticultura-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E), p. 205-224, 2021.
- CESARANO, G. *et al.* Organic amendment type and application frequency affect crop yields, soil fertility and microbiome composition. **Applied Soil Ecology**, v. 120, p. 254-264, 2017.
- CRAVO, M. S.; SMYTH, T. J.; SOUZA, B. D. L. Calagem e adubação para a cultura da mandioca. In: MODESTO JUNIOR, M.S.; ALVES, R.N.B. **Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria**. Brasília, DF: Embrapa, p. 111-121. 2016.
- DE CORATO, U. Governance of soil amendment to enhance suppression to soil-borne plant pathogens from a long-term perspective. **Applied Soil Ecology**, v. 182, p. 104721, 2023.
- DO NASCIMENTO, R. M. *et al.* Produtividade de raízes e características agrônômicas da mandioca em consórcio com guandu, feijão caupi e sorgo, na região Sudoeste da Bahia. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 12, p. 114491-121682, 2021.

EL-TARABILY, K. A.; SIVASITHAMPARAM, K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, n. 7, p.1505–1520, 2005.

FAO - Food and agriculture data. **Dados da produção mundial da mandioca**, 2019. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 24 maio. 2023.

FERREIRA, C. M. H.; SOARES, H. M. V. M.; SOARES, E. V. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects. **Science of the Total Environment**, v. 682, p. 779-799, 2019.

FRANCIOLI, Davide *et al.* Mineral vs. organic amendments: microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 215318, 2016.

FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores morfológicos e agrônômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMF, 1998, 38p

FUKUDA, W. M. G. *et al.* Cassava breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 617-638, 2002

HARMAN, G. E. The Nature and Application of Biocontrol Microbes II: Trichoderma spp. Overview of Mechanisms and Uses of Trichoderma spp. **Phytopathology**, v. 96, p. 190-194. 2005

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção AgrÍSULA (LSPA). Análise Mensal janeiro, Mandioca. 2024. Disponível em: [file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Mandioca\\_AnaliseZMensal\\_Janeiro2024.pdf](file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Mandioca_AnaliseZMensal_Janeiro2024.pdf). Acessado: 17 de maio de 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 15 de maio de 2024.

JAMBHULKAR, Prashant P. *et al.* Mecanismos naturais de supressão do solo contra doenças causadas por *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* e *Phytophthora*. Correções orgânicas e supressividade do solo no manejo de doenças de plantas. **Springer Series Soil Biology**, v.46, p. 95-123, 2015.

JENKINSON, David S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. **Soil biochemistry**, v. 5, n. 1, p. 415-471, 1981.

JUNIOR, Francisco de Assis. **Produtividade de variedades de mandioca em diferentes arranjos de plantio, épocas de colheita, fisiologia do estresse e déficit hídrico**. 2018. 86 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-BA, 2018.

KILANY, M., *et al.* Microbial suppression of Pythium damping-off diseases. In: Meghvansi, M., Varma, A. (eds) Organic amendments and soil suppression in plant disease management. **Soil Biology**, v. 46, 2015.

KUYPER, T. W.; ADEJEH-NSIAH, S. **Intercropping and crop rotations in cassava cultivation: a production systems approach**. Burleigh Dodds Science Publishing.p. 1-20, 2017.

LAMICHHANE, J. R.; VARVARO, L. A new medium for the detection of fluorescent pigment production by pseudomonads. **Plant Pathology**, v. 62, n. 3, p. 624-632, 2013.

LEIHNER, D. E., LOPEZ, J.. Effects of different cassava cropping patterns on soil fertility, crop yields and farm income. In: Degras, L. (ed.), **Proceedings of the International Society for Tropical Root Crops**. Gosier, Guadeloupe. Institut National de Recherche Agronomique (INRA), Paris, p. 63–74, 1988.

MAHATMA, M.K., MAHATMA, L. Soil suppressive microorganisms and their impact on fungal wilt pathogens. In: Meghvansi, M.K., Varma, A. (Eds.), Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Management. **Soil Biology**. v.46, p. 249–275, 2015.

MELO, I. S. **Potencialidades da utilização de Trichoderma spp. no controle biológico de doenças de plantas**. (Ed.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: CNPDA/EMBRAPA, p. 135-156, 1991

MENDES, R. *et al.* Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, v. 332, n. 6033, p. 1097-1100, 2011.

PATEL, P., *et al.* Iron biofortification in mungbean using siderophore producing plant growth promoting bacteria. **Environmental Sustainability**, v. 1, p. 357-365, 2018.

PINTO, F. C. Aspectos da Cadeia produtiva da mandioca em Feira de Santana no distrito de Maria Quitéria (povoado de Lagoa Grande e Olhos D'água das Moças). **Sitientibus**, n. 43, p. 157-173, 2010.

RÓS, A. B. Produtividade de raízes de mandioca em função de doses de potássio. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 9, n. 1, p. 25-32, 2013

SANTIAGO, C. H. *et al.* Methodologies for selecting cassava with resistance to dry and black root rot under controlled conditions. **Bragantia**, n. 3, v. 77, p. 440-451, 2018.

SILVA, JÉSSICA MORAIS DA *et al.* FAMES and microbial activities involved in the suppression of cassava root rot by organic matter. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 708-717, 2017.

TAYLOR, D. L.; SINSABAUGH, R. L. **The soil fungi: occurrence, phylogeny, and ecology**. 4. ed. New York: Elsevier, p. 77-109, 2015

THOMAS, Paula Ciléia *et al.* Exigências nutricionais da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **XI Semana Universitária, X Encontro da Iniciação Científica, III Feira de Ciência, Tecnologia e Inovação, mostra das profissões. UNIFIMES, Brazil**, 2016.

VAL-MORAES, S.P. SUPPRESSIVENESS in Different Soils for *Rhizoctonia solani*. In: Meghvansi, M., Varma, A. (eds) *Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Management. Soil Biology*, Springer, vol 46, 2015.

Vanlauwe, B., P. Mutuo, N. Mahungu and P. Pypers. Boosting the productivity of cassava-based systems in DR Congo. **IITA. R4D Review**, v. 9, 2013.

VERBAENDERT, I; De Vos, **Studying denitrification by aerobic endosporeforming bacteria in soil**. In: Logan, N. A.; de Vos, Paul. *Endospore-forming Soil Bacteria. Soil Biology*, v.27, p. 14: 271-285, 2011.

VIDA, C.; DE VICENTE, A.; CAZORLA, F. M. The role of organic amendments to soil for crop protection: induction of suppression of soilborne pathogens. **Annals of Applied Biology**, v. 176, n. 1, p. 1-15, 2020.

## CARACTERIZAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE PATÓGENOS CAUSADORES DE DOENÇAS FOLIARES E IMPACTO SOBRE PARÂMETROS AGRÔNOMICOS NA CULTURA DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

### RESUMO

No Brasil, a mandioca é uma cultura de grande importância econômica, sendo uma relevante fonte de alimento para humanos e animais, além de gerar empregos e renda. No entanto, doenças que afetam essa cultura comprometem sua produção e produtividade, causando preocupações entre os produtores. Este estudo tem como objetivo isolar e caracterizar patógenos foliares da mandioca, realizar a análise filogenética dos isolados, avaliar o crescimento micelial em condições *in vitro*, bem como analisar a severidade das doenças e os parâmetros agrônômicos da variedade 'BRS Mulatinha'. Foram estudados os patógenos causadores da queima das folhas (*Passalora vicosae*) e da mancha parda (*Claro-hilum henningsii*). Os isolados foram obtidos e, posteriormente, foram realizados a extração de DNA, a quantificação e a PCR com amplificação ITS-1 e ITS-4 para identificação. Após a identificação, 30 isolados foram pulverizados na variedade em câmara de crescimento, contemplando 30 tratamentos dispostos em delineamento inteiramente casualizados, com seis repetições. As análises realizadas incluíram parâmetros agrônômicos, período de incubação, severidade da doença, teste de temperatura (14°C, 21°C, 28°C e 35°C) e contagem UFC 10<sup>4</sup>/mL. Após as análises moleculares e filogenia, foram obtidos 30 isolados, sendo 24 de *C. henningsii*, cinco de *P. vicosae* e 1 *Cercospora Kikuchii*. Para a filogenia, apenas a região ITS 1-4 não é suficiente para separar as espécies. Para *C. henningsii*, na temperatura de 21°C, o isolado CFM3016 apresentou o maior crescimento de área micelial, enquanto os isolados CFM3003 e CFM3010 tiveram os maiores valores de UFC 10<sup>4</sup>/mL. Em geral, a temperatura de 28°C foi mais favorável tanto para o crescimento micelial quanto para as UFC 10<sup>4</sup>/mL, com destaque para o isolado CFM3000 nessa última variável. Para *P. vicosae*, não houve diferenças entre os isolados na área de crescimento micelial em ambas as temperaturas; contudo, o isolado CFM3020 apresentou maior UFC 10<sup>4</sup>/mL em ambas as condições. As espécies apresentaram temperaturas ótimas de crescimento distintas. O isolado CFM3018 de *C. henningsii* e os isolados CFM3020 e CFM3029 de *P. vicosae* foram os que apresentaram maior severidade da doença na variedade 'BRS Mulatinha'. Por outro lado, o isolado CFM3024 de *C. kikuchii* não diferiu do controle quanto à severidade da doença.

**Palavras-chave:** *Cercospora spp.*, Complexo de manchas, *Passalora spp.*, Progresso da doença.

## CHARACTERIZATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENS CAUSING FOLIAR DISEASES AND IMPACT ON AGRONOMIC PARAMETERS IN CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz)

### ABSTRACT

In Brazil, cassava is a crop of great economic importance, being a relevant source of food for humans and animals, in addition to generating jobs and income. However, diseases that affect this crop compromise its production and productivity, causing concern among producers. This study aims to isolate and characterize cassava foliar pathogens, perform phylogenetic analysis of the isolates, evaluate mycelial growth under in vitro conditions, as well as analyze the severity of the diseases and the agronomic parameters of the variety 'BRS Mulatinha'. The pathogens causing leaf blight (*Passalora vicosae*) and brown spot (*Claro-hilum henningsii*) were studied. The isolates were obtained and, subsequently, DNA extraction, quantification and PCR with ITS-1 and ITS-4 amplification were performed for identification. After identification, 30 isolates were sprayed on the variety in a growth chamber, contemplating 30 treatments arranged in a completely randomized design, with six replicates. The analyses performed included agronomic parameters, incubation period, disease severity, temperature test (14°C, 21°C, 28°C and 35°C) and CFU 10<sup>4</sup>/mL count. After molecular and phylogeny analyses, 30 isolates were obtained, 24 of *C. henningsii*, five of *P. vicosae* and one *Cercospora kikuchii*. For phylogeny, only the ITS 1-4 region is not sufficient to separate the species. For *C. henningsii*, at a temperature of 21°C, isolate CFM3016 showed the highest growth of mycelial area, while isolates CFM3003 and CFM3010 had the highest CFU 10<sup>4</sup>/mL values. In general, the temperature of 28°C was more favorable for both mycelial growth and CFU 10<sup>4</sup>/mL, with emphasis on the isolate CFM3000 in this last variable. For *P. vicosae*, there were no differences between the isolates in the mycelial growth area at both temperatures; however, the isolate CFM3020 presented the highest CFU 10<sup>4</sup>/mL in both conditions. The species presented different optimal growth temperatures. The isolate CFM3018 of *C. henningsii* and the isolates CFM3020 and CFM3029 of *P. vicosae* were the ones that presented the highest disease severity in the 'BRS Mulatinha' variety. On the other hand, the isolate CFM3024 of *C. kikuchii* did not differ from the control regarding disease severity.

**Keywords:** *Cercospora* spp., spot complex, *Passalora* spp., disease progress

## 1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Monihot esculenta* Crantz) é uma planta tropical pertencente à família das Euphorbiaceae com cerca de 80 espécies e bastante rica em amido e adaptada a condições adversas (Zhu, 2015). Originária da América, tem raízes tuberculosas, feculentas sendo uma cultura importante para subsistência e segurança alimentar de várias comunidades (Ayetigbo *et al.*, 2021). No Brasil, a cultura da mandioca é amplamente distribuída no Brasil devido à sua elevada capacidade de adaptação a diferentes tipos de solo e variações de temperatura.

Em 2023, a produção brasileira de raízes alcançou aproximadamente 22 milhões de toneladas de raízes. As estimativas do IBGE para o ano de 2024 indicam uma queda de quase 2,5% na produção, devido à redução da área cultivada. A produção de mandioca no Brasil está concentrada no estado do Pará (região Norte) e Paraná (região Sul), com São Paulo em terceiro lugar, representando 8% da produção nacional, seguido pela Bahia com 5% (IBGE, 2023).

Embora a mandioca apresente boa produtividade e ampla adaptação a diferentes condições climáticas, essa variabilidade ambiental pode influenciar a ocorrência e a severidade das doenças, pois fatores climáticos são determinantes no desenvolvimento de epidemias (Madden, 2007).

A mandioca e seus derivados são comumente utilizados na alimentação humana e de animais, além de promover a geração de empregos no campo. No entanto, a cultura da mandioca enfrenta desafios na produção com a presença de doenças foliares, que reduzem a capacidade fotossintética da planta afetando o seu desenvolvimento da planta (Nascimento *et al.*, 2024). Contudo, atualmente há poucos estudos sobre a ocorrência e manejo dessas doenças.

As doenças causadas por fungos são as mais prevalentes, com infecções ocorrendo desde as manivas utilizadas no plantio até as plantas na fase de produção e nas raízes em pós-colheita (Mattos *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2008; Vidal *et al.*, 2009). As doenças foliares em estudo (mancha parda e queima das folhas) causam danos semelhantes, caracterizados por queda de folhas no terço afetado, amarelecimento e redução da fotossíntese, seguida de baixa produção.

Os sintomas desse complexo incluem manchas arredondadas na superfície das folhas, que podem estar presentes até o terço superior da planta, resultando em amarelecimento e desfolha. A sintomatologia varia de acordo com a espécie: *C. henningsii* apresenta lesões pequenas, arredondadas a angulares, com coloração castanha a escuro, alcançando de 5 a 10 mm de diâmetro, com bordos mais escuros e um halo amarelado (Massola Junior; Bedendo; Oliveira, 2016). *P. vicosae* exibe manchas pardas grandes e irregulares, sem bordos definidos, que ao longo do tempo crescem e adquirem uma coloração marrom uniforme em ambas as faces do limbo foliar (Cunha, 2017). Já *P. manihotis* apresenta lesões circulares, geralmente de 1 a 2 mm de diâmetro (raramente ultrapassando 5 mm), com coloração branca, às vezes marrom-amarelada, bem distintas das manchas pardas e da queima das folhas (Viégas, 1941; Silva; Andrade, 2011).

Teri *et al.* (1980) observaram perdas de até 23% da produção em variedades suscetíveis com sintomas de mancha parda. Para queima das folhas, a pesquisa é escassa, possivelmente devido à semelhança dos sintomas com a mancha parda, que pode ter sido considerada nos estudos anteriores como parte dessa doença, uma vez que a caracterização da espécie foi realizada tardiamente (Teri *et al.*, 1978). As manchas brancas, embora menos comuns, podem se expandir até o terço superior da planta, afetando-a por completo.

A queima das folhas é predominante em períodos chuvosos e em áreas quentes, podendo ocorrer simultaneamente com a mancha parda (Lozano; Booth, 1974). Ela afeta principalmente as folhas mais velhas de plantas com mais de cinco meses de idade, podendo causar desfolha severa em plantas suscetíveis (Lozano; Booth, 1974; Massola Junior; Bedendo; Oliveira, 2016).

Estudar a ocorrência das doenças foliares é fundamental para o controle. A dinâmica de propagação, a temperatura, a umidade favorável, o tempo de latência e os genótipos resistentes são parâmetros importante a serem estudados. É necessário o aprofundar o conhecimento sobre a ocorrência e dinâmica dessas doenças para buscar alternativas de manejo e controle eficaz.

Portanto, este estudo tem como objetivo o isolamento e a caracterização de patógenos foliares da mandioca, além da realização da filogenia, a avaliação do crescimento micelial *in vitro*, a análise da severidade das doenças e dos

parâmetros agronômicos da variedade 'BRS Mulatinha', visando compreender melhor os impactos dessas doenças na qualidade da cultura."

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Obtenção dos isolados**

Os isolados foram encontrados em folhas de mandioca com sintomas de doenças foliares, incluindo mancha parda e queima das folhas, provenientes dos campos experimentais da Embrapa Mandioca e Fruticultura e da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, além de amostras armazenadas na micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, que foram coletadas anteriormente na cidade de Laje-BA.

As folhas coletadas foram transportadas para o laboratório, onde passaram por um processo de limpeza. Inicialmente, foram higienizadas em uma solução composta por 1000 mL de água e 20 mL de detergente neutro, durante 40 segundos. Em seguida, foram enxaguadas em água corrente e cuidadosamente dispostas sobre bandejas forradas com papel-toalha, permanecendo ali até a secagem completa.

Em seguida, as folhas foram transferidas para o fluxo laminar, onde pequenos cortes foram realizados com bisturis esterilizados nas regiões de transição entre as áreas lesionadas e as partes saudáveis. Os fragmentos encontrados foram inicialmente submersos em uma solução de hipoclorito de sódio por 2 min, depois imersos em álcool 70% por 30 s e por fim, enxaguados cuidadosamente em água esterilizada.

Os fragmentos foram colocados em placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud, distribuídos em três pontos equidistantes em cada placa. Em seguida, os isolados foram incubados em estufas do tipo BOD, mantidos a uma temperatura constante de  $28 \pm 2$  °C e sob fotoperíodo de 12 h, por um período de 15 dias.

## 2.2 Análise Molecular

### 2.2.1 Extração de DNA, quantificação e PCR

Os protocolos de Extração de DNA, quantificação e PCR, foram realizados nas dependências do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Todos os isolados foram cultivados em meio Sabouraud líquido em um período de 15 dias em agitação à 115 RPM. Após os 15 dias os patógenos foram filtrados com auxílio de filtros de papel estéreis, após a filtração, os isolados foram dispostos em capela por 24 h até as amostras perderem completamente a umidade. As amostras filtradas foram maceradas com nitrogênio líquido em cadinhos, posteriormente reservadas em microtubos de 1,5 mL e reservadas a -20 °C para uso posterior.

Todos os isolados obtidos anteriormente foram submetidos à extração de DNA por meio do protocolo CTAB modificado (Doyle & Doyle, 1990), após a extração o DNA foi submetido à eletroforese em gel contendo Gel Red para quantificação de 40 min a 1 h. Para as amostras foram utilizadas: 2 µL de Gel Red + 5 µL de amostra, e os marcadores utilizados foram: 50ng, 100 ng e 300 ng + 2µL de Gel Red em cada.

A fim de caracterizar molecularmente os isolados, optou-se pelo sequenciamento a regiões gênicas ITS 1 e 4. Inicialmente, foi realizada a amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), utilizando o conjunto de primers ITS-1 e ITS-4 para a região ITS. As reações foram realizadas em um volume final de 50 µL, contendo 0,2 µL de GoTaq® G2 Colorless Master Mix (Promega), 1,0 µL de cada primer (a 10 µM), 28,8 µL de água ultrapura livre de nucleasse, 4 µL de dNTP (a 2,5 mM), 10 µL de Tampão 5x, 4 µL de MgCl (a 25 mM) e 1 µL de DNA (aproximadamente 50 ng a 300ng). A amplificação foi realizada no termociclador Mastercycle Pro (*Eppendorf, Hamburg, Alemanha*) e consistiu nas seguintes etapas: desnaturação inicial a 94 °C por 2 min; 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a 54 °C para TEF-1α a 1 min e 72 °C para ITS por 1 min, e uma extensão final a 72 °C por 5 min. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR Green (*SYBR™ Safe DNA Gel Stain – Invitrogen*) e em um poço o marcador 1 kb DNA Ladder, e a cuba a 80V de forma constante para a migração

de DNA, por cerca de 1:30h e visualizados sob luz ultravioleta. Os produtos de PCR foram purificados e armazenados a -20 °C.

### 2.2.2 Purificação e sequenciamento da amostra

As cepas isoladas foram submetidas à purificação do DNA genômico utilizando o Kit PureLink PCR Purification Kit (Invitrogen).

Os fragmentos de DNA foram sequenciados, nas regiões ITS-1 e ITS-4 em ambas as direções, no sentido 5'-3' (forward) ou 3'-5' (reverse), pelo serviço de sequenciamento de DNA da empresa de ACTGene Análises Moleculares Ltda na cidade de Alvorada - RS. As sequências consenso foram observadas e construídas utilizando o *software SeqAssem*.

### 2.2.3 Análise filogenéticas

Para as análises filogenéticas, as sequências das regiões de interesse (ITS-1 e ITS-4) dos isolados coletados foram comparadas com a base de dados de nucleotídeos GenBank do NCBI, por meio do algoritmo MegaBLAST, a fim de obter sequências com alta similaridade. O conjunto de dados contendo as sequências dos isolados e outras obtidas de banco de dados (Tabela 1) foram alinhadas utilizando o MUSCLE (EDGAR et al., 2004) implementado no MEGA v.7 (Molecular Evolutionary Genetics Analyses) (TAMURA et al., 2016) e os alinhamentos foram realizados manualmente.

A análise filogenética baseada no critério de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood* – ML) foi realizada usando o programa MEGA v.11 (Kumar et al., 2016). O modelo de substituição Kimura-2-parâmetros com distribuição gama (K2+G) foi adotado, empregando 1000 replicações da análise de Suporte Bootstrap (BS).

## 2.3 Montagem do experimento

O experimento foi realizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil, em uma câmara de crescimento mantida a uma temperatura controlada de  $28 \pm 2$  °C. Como substrato, foi utilizada vermiculita expandida ((MgFe,Al)<sub>3</sub>(Al,Si)<sub>4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O), acondicionada em vasos com capacidade de 500 mL, para o cultivo da variedade 'BRS Mulatinha'.

Os 30 isolados foram replicados para meio de cultivo Ágar Sabouraud em placas de Petri e incubados em estufas do tipo B.O.D a  $25 \pm 2$  °C, sob um fotoperíodo de 12 h, ao longo de um período de quinze dias.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 30 tratamentos e seis repetições.

### **2.3.1 Cultivo de mandioca**

No plantio, as manivas da variedade 'BRS Mulatinha', foram submetidas ao tratamento com a solução de princípio ativo Cloreto de Benzalcônio (0,5 ml/L) para a assepsia do material de propagação na proporção de 10 ml da solução para 20 L de água. As manivas foram imersas durante 3 min e deixadas por 24 h em temperatura ambiente até estivessem secas.

O planejamento foi realizado em vasos com capacidade de 500 mL, utilizando uma maniva por vaso. Inicialmente, os vasos foram irrigados com 20 mL de água a cada 2 dias. Após uma semana, o volume de água foi ajustado para 30 mL, aplicado a cada 7 dias.

No decorrer do cultivo foram realizados o período de incubação e severidade da doença e no final do cultivo realizou-se as avaliações de parâmetro agrônômicos

### **2.3.2 Preparação do inóculo e inoculação nas folhas**

Todos os isolados foram cultivados em meio de cultura Ágar Sabouraud líquido em um período de 15 dias em agitação à 115 RPM. Após os 15 dias os patógenos foram filtrados com auxílio de gases.

Para a inoculação foi preparada uma suspensão a  $10^4$  UFC/mL para pulverização diretamente nas folhas das mandiocas com o auxílio de borrifadores.

## **2.4 Avaliação do experimento e parâmetros**

### **2.4.1 Período de incubação e área de lesão**

Após a inoculação de patógenos, as folhas foram observadas a cada 24 h durante os primeiros dois dias. Após 48 h, as avaliações passaram a ser realizadas em intervalos maiores, variando de 48 a 72 h. Ao final de sete dias, o

período de incubação foi considerado concluído. Para cada repetição, foi atribuída uma nota qualitativa (sim / não) e, ao final do experimento, os dados foram convertidos em porcentagens para determinar a frequência de aparecimento dos sintomas em cada dia.

Para observar a área lesionada, as medições foram realizadas inicialmente sete dias após a inoculação, e três semanas depois. Após não verificar crescimento considerável, o espaçamento de tempo aumentou para 10 dias, completando cinco avaliações. Três folhas de cada repetição foram fotografadas com câmera digital as áreas das lesões a serem acompanhadas. Para realizar as medidas das áreas lesionadas foi utilizado o software ImageTool (UTHSCSA, Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Texas, San Antônio)

#### **2.4.2 Parâmetros agronômicos**

Durante o ciclo da mandioca e pulverização de inóculos foi avaliada a incidência dos sintomas intervalos de 7 dias durante o cultivo por meio de fotos, realizando as medidas das áreas sintomáticas por meio do programa ImageJ.

A avaliação dos parâmetros agronômicos foi realizada ao final do ciclo, as avaliações serão conforme a metodologia de Fukuda e Guevara (1998).

- Número de hastes da planta;
- Altura das plantas: medida do solo ao topo superior das plantas, expresso em centímetros;
- Número de folhas caídas
- Peso fresco da parte aérea e de raiz, obtido em grama, com auxílio de uma balança analítica;
- Peso seco da parte aérea e raízes em gramas. Estas serão colocadas em estufa a 55 °C e pesadas até atingir um peso constante.

#### **2.4.3 Teste de temperatura e UFC 10<sup>4</sup>/mL**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O crescimento dos 30 isolados foram cultivados em meio de cultura Sabouraud em fotoperíodo de 12 h, por 28 dias. Discos de aproximadamente de 5 mm de diâmetro contendo as estruturas do patógeno

foram removidas das placas de origem contendo o meio de cultura Ágar Sabouraud e incubados por 28 dias em B.O.D em 4 diferentes (14°C, 21°C, 28°C e 35°C), com três repetições.

A avaliação de crescimento micelial foi estimada com base na medida da área (cm<sup>2</sup>) do crescimento patógeno em um intervalo de sete dias, totalizando 4 avaliações.

Após 30 dias do final da última avaliação foi realizada a contagem de UFC 10<sup>4</sup>/mL. Foi adicionado 3 mL de água autoclavada nas placas, e com uma escova os micélios foram raspados cuidadosamente, logo após as suspensões foram filtradas em gazes e a concentração foi estimada com o auxílio da câmara de Neubauer.

## 2.5 Análise estatística

Os dados coletados foram organizados e analisados no *software* R (R Core Team, 2024). Para verificar a adequação dos modelos de análise de variância (ANOVA) e garantir a validade das inferências estatísticas, foram realizados os seguintes testes: o teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a normalidade dos resíduos dos modelos de ANOVA e o teste de Barlett foi utilizado para verificar a homogeneidade de variância. Após a verificação dos pressupostos, realizou-se a ANOVA; quando significativa, aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias para os isolados de *Passalora vicosae* e *Cercospora kikuchii* e o teste de Scott-Knott para os isolados de *Clarothilum henningsii*. Em todas as análises adotou-se o nível de 5% de significância.

Para estimar a temperatura ótima de crescimento, ajustou-se um modelo de regressão beta-generalizado por meio da função nlsLM do pacote minpack.lm no software R. O modelo empregado foi:

$$y = b_1 \times (T - T_{min} + \varepsilon)^{b_3} \times (T_{max} - T + \varepsilon)^{b_5}$$

onde:

- **y** = representa o crescimento,
- **T** = a temperatura,
- **T<sub>min</sub>** e **T<sub>max</sub>** = limites de temperatura,
- **b<sub>1</sub>**, **b<sub>2</sub>**, e **b<sub>5</sub>** = parâmetros ajustáveis,

- $\varepsilon$  = foi fixado em  $10^{-6}$  para evitar valores negativos ou nulos dentro das potências.

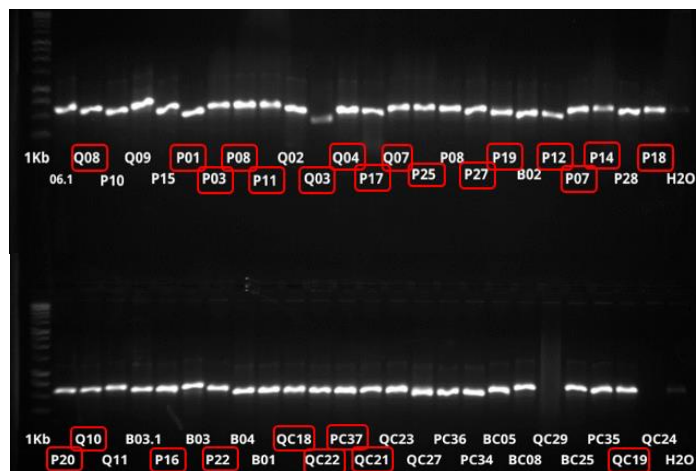
Os ajustes foram realizados com estimativas iniciais apropriadas e limite máximo de 1000 iterações. A temperatura ótima ( $T_{opt}$ ) e o crescimento máximo ( $y_{max}$ ) foram calculados com base na função ajustada, e a qualidade do ajuste foi avaliada com base na estimativa do coeficiente de determinação pseudo- $R^2$ . Os dados observados foram representados graficamente com pontos indicando as médias calculadas para cada temperatura, acompanhados das barras de erro correspondentes.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Obtenção dos isolados, extração de DNA e quantificação

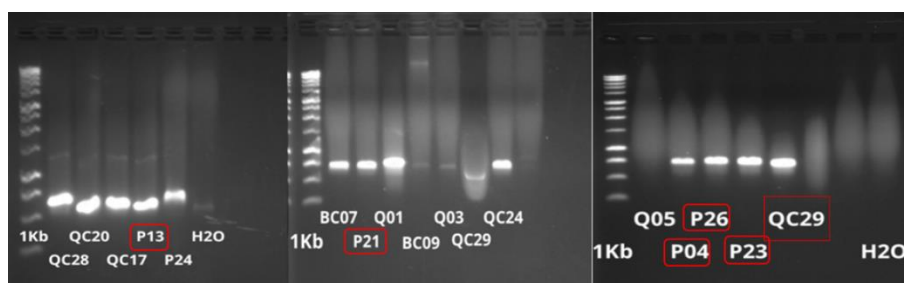
Após o isolamento de folhas coletadas em campos experimentais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e na Podium Alimentos na cidade Laje-BA. A extração de DNA e quantificação foram realizadas para todos os isolados que tiveram crescimento puro em placas de Ágar Sabouraud. Após a quantificação em gel de agarose 1% contendo SYBR, todos os isolados que apresentaram uma 'banda' com concentração maior ou igual ao marcador de 50 ng/ml (Figura 3 e 4) necessários para seguir com a extração de PCR (*polymerase chain reaction*), onde tiveram as concentrações que foram necessárias para a sua identificação. Foram obtidos 30 isolados, sendo cinco de queima das folhas, 24 de mancha parda e uma de *Cercospora kikuchii*. A partir desse processo, foi possível confirmar a diversidade dos patógenos presentes nas amostras coletadas e estabelecer as relações filogenéticas entre eles (Figura 1).

**Figura 1:** Produtos de PCR (Polymerase Chain Reaction) dos patógenos isolados amplificados com o conjunto de primers ITS-1 e ITS-4



Q08 (CFM3000), P01 (CFM3001), P03 (CFM3002), P08 (CFM3003), P11 (CFM3004), Q04 (CFM3005), P17 (CFM3006), Q07 (CFM3007), P25 (CFM3008), P27 (CFM3009), P19 (CFM3010), P12 (CFM3011), P07 (CFM3012), P14 (CFM3013), P18 (CFM3014), P20 (CFM3015), Q10 (CFM3016), P16 (CFM3017), P22 (CFM3018), QC18 (CFM3019), QC22 (CFM3020), PC37 (CFM3021), QC21 (CFM3022), QC19 (CFM3024); submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR Green (SYBR™ Safe DNA Gel Stain – Invitrogen). O poço um contém o marcador 1 kb DNA Ladder, seguido de 25 amostras e um controle.

**Figura 2:** Produtos de PCR (Polymerase Chain Reaction) dos patógenos isolados amplificados com o conjunto de primers ITS-1 e ITS-4



P13 (CFM3025), P21 (CFM3027), P04 (CFM3026), P26 (CFM3029), P23 (CFM3028), QC29 (CFM3023); submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR Green (SYBR™ Safe DNA Gel Stain – Invitrogen). O poço um contém o marcador 1 kb DNA Ladder, seguido de cinco amostras e um controle

**Tabela 1:** Isolados de *Claro Hilum henningsii*, *Passalora vicosae* e *Cercospora kikuchi* obtidos de culturas de mandioca com sintomas de mancha foliar e seus respectivos números de acesso no GenBank

Nome de laboratório	Código de linhagem	Nome da Espécie	Origem Geográfica	Número de acesso no GenBank*
Q08	CFM3000	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P01	CFM3001	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P03	CFM3002	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P08	CFM3003	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P11	CFM3004	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
Q04	CFM3005	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P17	CFM3006	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
Q07	CFM3007	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P25	CFM3008	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P27	CFM3009	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P19	CFM3010	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P12	CFM3011	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P07	CFM3012	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P14	CFM3013	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P18	CFM3014	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P20	CFM3015	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
Q10	CFM3016	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P16	CFM3017	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P22	CFM3018	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
QC18	CFM3019	<i>P. vicosae</i>	Laje/BA	
QC22	CFM3020	<i>P. vicosae</i>	Laje/BA	
PC37	CFM3021	<i>C. henningsii</i>	Laje/BA	
QC21	CFM3022	<i>P. vicosae</i>	Laje/BA	
QC29	CFM3023	<i>P. vicosae</i>	Laje/BA	
QC19	CFM3024	<i>C. kikuchii</i>	Laje/BA	
P13	CFM3025	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P21	CFM3026	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P04	CFM3027	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P23	CFM3028	<i>C. henningsii</i>	Cruz das Almas/BA	
P26	CFM3029	<i>P. vicosae</i>	Cruz das Almas/BA	

\*Aguardando número

### 3.2 Caracterização morfológica

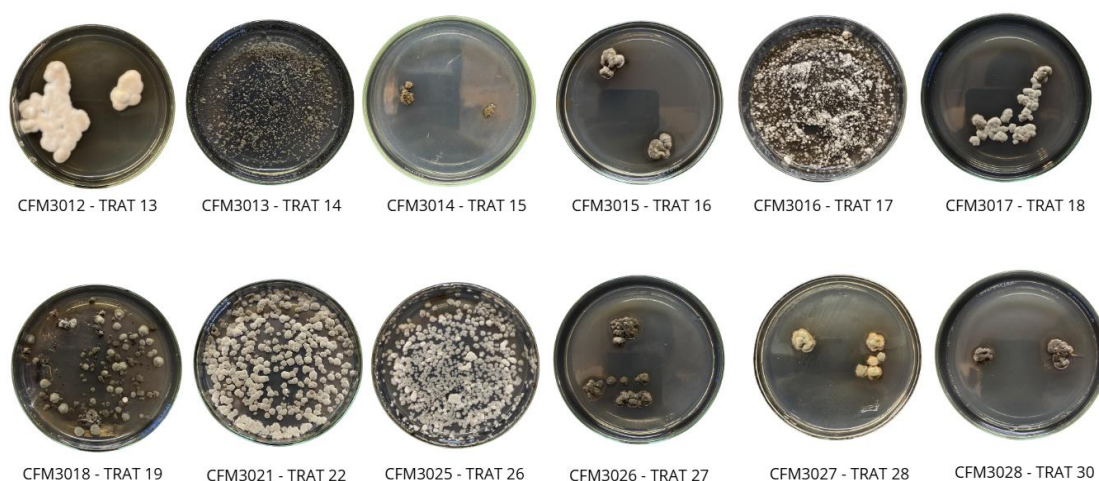
As colônias dos 24 isolados de *C. henningsii* apresentaram crescimento lento (3,13 cm<sup>2</sup> após 28 dias a 25,2<sup>o</sup>c), formato circular, com bordos bem definidos, micélios aéreos escassos, estruturas resistentes e rígido, com colocação branca, branco-cinza a cinza, no reverso apresentam uma

coloração marrom escura. Não houve esporulação em meio de cultura ágar Sabouraud observada com 28 dias de crescimento em B.O.D. Para alguns isolados, foi necessário realizar maceração dos micélios antes de verter, então nesse caso o crescimento tomou a placa por completo, ainda assim com crescimento lento e assemelhando-se a pequenos pontos espalhados (Figura 1).

**Figura 3:** Crescimento micelial de 24 isolados de *Clarothium henningsii* em meio de cultura Ágar Sabouraud após 30 dias de incubação



**Figura 3:** Crescimento micelial de 24 isolados de *Clarothium henningsii* em meio de cultura Ágar Sabouraud após 30 dias de incubação



As colônias de *P. vicosae* apresentaram crescimento lento (2,20 cm<sup>2</sup> em 28 dias a 22,5°C), formato circular, bordos pouco definidos, estruturas resistentes e rígida, micélios aéreos escassos, coloração verde-cinza a verde

escuro e reverso apresentaram coloração marrom escuro, em alguns isolados chegam a causar mudança de coloração no meio. Não houve esporulação no meio de cultura Ágar Sabouraud observada com 28 dias de crescimento em B.O.D. Para alguns isolados, foi necessário realizar maceração dos micélios antes de verter, então nesse caso o crescimento tomou a placa por completo, ainda assim com crescimento lento e assemelhando-se a pequenos pontos espalhados (Figura 2: A).

A colônia de *C. kikuchii* apresenta crescimento lento (2,35 cm<sup>2</sup> em 28 dias a 23,7°C), formato circular com bordos definidos, estruturas resistentes e compactas, micélios aéreos escassos, a coloração dos micélios apresenta-se de forma bicolor podendo ser verde-cinza, branco-cinza e verde escuro distribuídos na placa. Não houve esporulação no meio de cultura ágar Sabouraud (Figura 2: B).

**Figura 4:** Crescimento micelial de cinco isolados de *Passalora vicosa* (A) e um isolado *Cercospora kikuchii* (B) em meio de cultura Ágar Sabouraud após 30 dias de incubação



### 3.3 Filogenia

Sequências da região do espaçador interno transcrito (ITS1-4) foram utilizadas nas análises filogenéticas por Inferência Bayesiana.

As sequências brutas obtidas foram aparadas para obter sequências de boa qualidade. Um alinhamento de sequências múltiplas foi preparado no MEGA usando as sequências ITS recém-geradas (Figura 1) e as sequências de referência recuperadas do NCBI-GenBank. As sequências geradas neste estudo foram depositadas no NCBI-GenBank (Tabela 1). O alinhamento compreende 45 taxas, dos quais 30 foram obtidos nesse estudo e 15 foram baixados do GenBank.

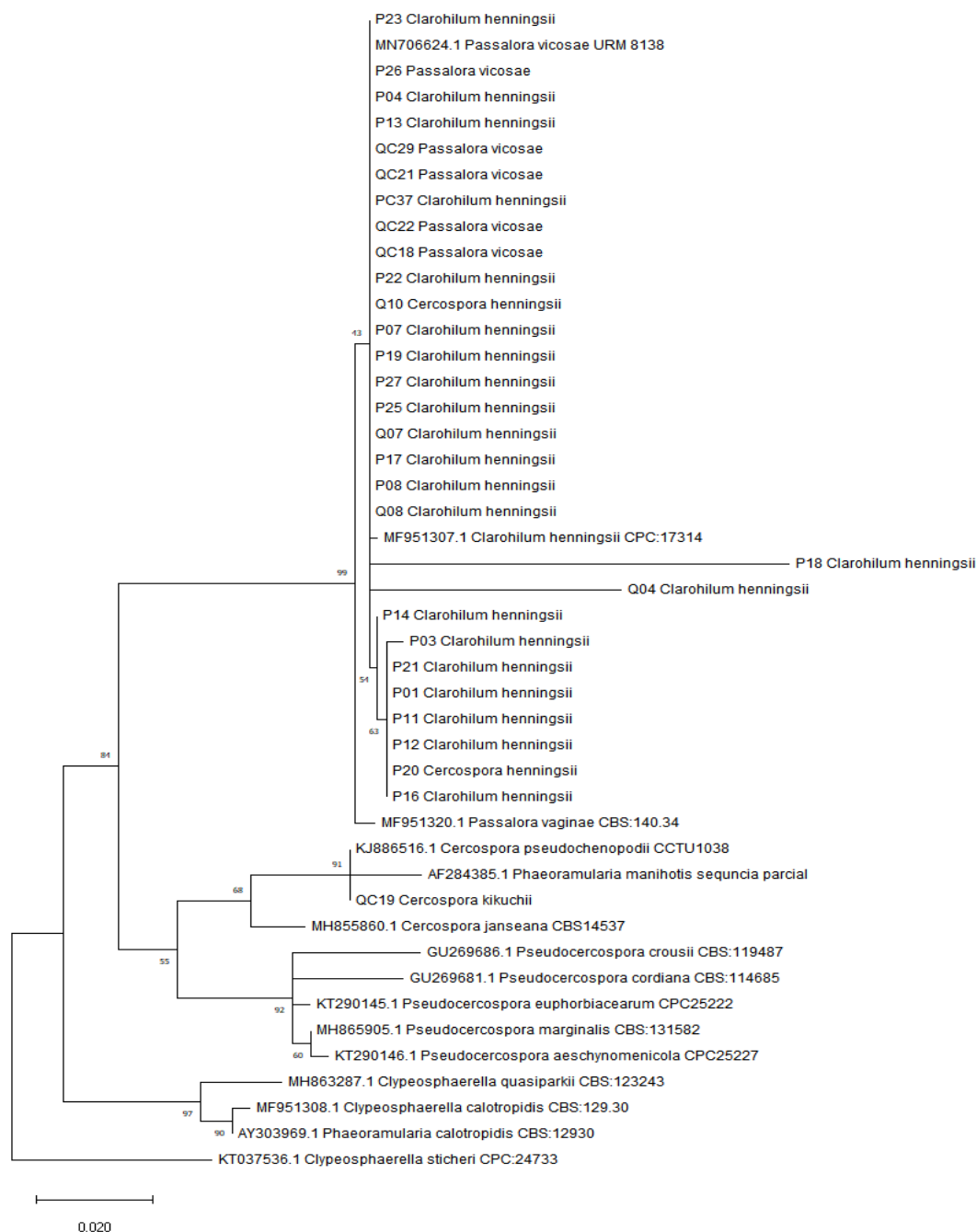
O alinhamento incluindo inserções e/ou deleções constituem 337 pb, contendo 256 sítios conservados, 81 sítios variáveis e 38 sítios informativos para parcimônia. O modelo de substituição de nucleotídeos selecionado para a análise de Máxima Verossimilhança foi o Kimura-2-parâmetros com distribuição gama (K2+G) e 1000 bootstrap.

A árvore foi dividida com base na filogenia da região ITS do rDNA. Dentro dos clados formados o “clado” 1 agrupou as espécies de *Claro hilum henningsii* e *Passalora vicosae* obtidas no estudo, evidenciando um alto grau de similaridade, com um nível de suporte de 99. Neste mesmo clado, também estão presentes sequências das espécies do banco de dados baixadas do GenBank (Figura 5). Sendo assim, não houve separação entre as espécies de *C. henningsii* e *P. vicosae*, pois somente a região genômica amplificada não é suficiente para separar as espécies. Além de isolados destas duas espécies, também foi encontrado o isolado (QC19) com alta similaridade à *Cercospora kikuchii*.

No último clado, estão todas as espécies tipos baixadas obtidas do GenBank, incluindo: *Passalora vaginae*, *Cercospora pseudochenopodii*, , *Cercospora janseane*, *Pseudocercospora crousii*, *Pseudocercospora cordiana*, *Pseudocercospora euphorbiacearum*, *Pseudocercospora marginalis*, *Pseudocercospora aeschynomeicola*, *Clypeospharella quasioarkii*, *Clypeospharella calotripidis*, *Plaeoramularia calotripidis*, *Clypeospharella sticheri* e *Phaeoramularia manihotis* anteriormente conhecida como o patógeno causador da mancha branca na mandioca (Figura 5).

Essas espécies foram incluídas para comparar com isolados obtidos neste estudo e avaliar possíveis similaridades genômicas. Nesse mesmo clado, apenas a *Cercospora kikuchii* apresentou similaridade entre as espécies. Embora seja um patógeno causador da mancha foliar na cultura da soja, e não seja o foco deste estudo, porém foi mantido no estudo, foi mantido na análise

**Figura 5:** Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies de *Clarothilum henningsii*, *Passalora vicosae* e *Cercospora kikuchii*; utilizando sequências de ITS 1 e 4, obtidas de lesões de mancha parda e queima das folhas, além de sequências de *Pseudocercospora*, *Cercospora*, *Clypeosphaerella* e *Phaeoramularia manihotis*; recuperadas do GenBank.



### 3.4 Crescimento Micelial e UFC 10<sup>4</sup>/MI

A área de crescimento micelial está relacionada à expansão do micélio, geralmente quanto maior for a área, melhor será o crescimento da cultura. Ao realizar as medidas das áreas de crescimento micelial e UFC 10<sup>4</sup>/mL em

diferentes temperaturas, as análises revelaram diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os isolados.

A 21°C, para *C. henningsii*, os isolados CFM3000, CFM3001, CFM3002, CFM3004, CFM3006, CFM3007, CFM3010, CFM3012, CFM3013, CFM3016, CFM3018, CFM3021, CFM3027 e CFM3028 não diferem entre si e apresentaram os maiores valores médios de crescimento micelial (Tabela 2). Para UFC 10<sup>4</sup>/mL, houve diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os 24 isolados. Os isolados CFM3003 e CFM3010 não diferem entre si ( $P \geq 0,05$ ) e apresentaram maior valor médio de UFC 10<sup>4</sup>/mL. Por outro lado, os isolados CFM3001, CFM3002, CFM3006, CFM3009, CFM3013, CFM3015, CFM3017, CFM3021 e CFM3028 não diferiram ( $P \geq 0,05$ ) e apresentaram os menores valores médios de UFC 10<sup>4</sup>/mL.

A 28°C, para *C. henningsii*, os isolados CFM3000, CFM3001, CFM3004, CFM3006, CFM3007, CFM3012 e CFM3027 não diferiram entre si ( $P \geq 0,05$ ) e apresentaram maiores médias de crescimento micelial em comparação aos demais isolados, assim como também ocorreu a 21°C. Para UFC 10<sup>4</sup>/mL, a 28°C, o isolado CFM3000 apresentou maior valor médio, diferindo ( $P < 0,05$ ) de todos os outros isolados. Os isolados CFM3005 e CFM3021 apresentaram os menores valores médios, sem diferenças entre si ( $P \geq 0,05$ ). Em geral, a temperatura de 28°C foi a mais favorável tanto para o crescimento micelial quanto para as UFC 10<sup>4</sup>/mL, promovendo maior crescimento em diversos isolados e resultando em mais UFC 10<sup>4</sup>/mL, especialmente no isolado CFM3000 (Tabela 2).

**Tabela 2:** Comparação entre os isolados de *Clarothium henningsii* para a área de crescimento micelial (cm<sup>2</sup>) e unidades formadoras de colônia (UFC 10<sup>4</sup>) em duas condições de temperatura (21°C e 28°C).

(Continua)

Isolado	Temperatura 21 °C		Temperatura 28 °C	
	Área	UFC 10 <sup>4</sup> /mL	Área	UFC 10 <sup>4</sup> /mL
<b>CFM3000</b>	3,05±0,55a	2,34e+05 ± 2,02e+04 d	4,51±0,32a	7,5x10 <sup>5</sup> ±1,5x10 <sup>4</sup> a
<b>CFM3001</b>	2,96±0,32a	1,3x10 <sup>5</sup> ±1,5x10 <sup>4</sup> f	3,02±0,29a	1,5x10 <sup>5</sup> ±1,8x10 <sup>4</sup> g
<b>CFM3002</b>	2,28±0,54a	1,1x10 <sup>5</sup> ±1,3x10 <sup>4</sup> f	2,29±0,49b	2,4x10 <sup>5</sup> ±5x10 <sup>3</sup> f
<b>CFM3003</b>	1,63±0,16b	6.4x10 <sup>11</sup> ±3.6x10 <sup>10</sup> a	2,11±0,34b	1,4x10 <sup>5</sup> ±1,0x10 <sup>4</sup> h
<b>CFM3004</b>	2,69±0,21a	1,4x10 <sup>5</sup> ±8,6x10 <sup>3</sup> e	3,58±0,28a	6,5x10 <sup>5</sup> ±1,8x10 <sup>4</sup> b

(conclusão)

Isolado	Temperatura 21 °C		Temperatura 28 °C	
	Área	UFC 10 <sup>4</sup> /mL	Área	UFC 10 <sup>4</sup> /mL
CFM3005	1,96±0,39b	1,4x10 <sup>5</sup> ± 8,6x10 <sup>3</sup> e	2,68±0,38b	1,0x10 <sup>5</sup> ±1,0x10 <sup>4</sup> i
CFM3006	2,52±1,08a	1,0x10 <sup>5</sup> ±1,6x10 <sup>4</sup> f	3,35±0,39a	3,2x10 <sup>5</sup> ±1,1x10 <sup>4</sup> e
CFM3007	2,75±0,24a	5,1x10 <sup>11</sup> ±3,8x10 <sup>10</sup> b	4,23±1,77a	5,9x10 <sup>5</sup> ±2,6x10 <sup>4</sup> c
CFM3008	1,63±0,28b	5,0x10 <sup>5</sup> ±3,5x10 <sup>4</sup> b	1,91±0,22b	1,9x10 <sup>5</sup> ±1,9x10 <sup>4</sup> g
CFM3009	1,73±0,29b	1,1x10 <sup>5</sup> ±1,6x10 <sup>4</sup> f	2,25±1,11b	2,5x10 <sup>5</sup> ±2,2x10 <sup>4</sup> f
CFM3010	2,76±0,38a	6,7x10 <sup>5</sup> ±3,0x10 <sup>4</sup> a	2,43±0,18b	1,6x10 <sup>5</sup> ±1,4x10 <sup>4</sup> g
CFM3011	1,69±0,08b	1,7x10 <sup>5</sup> ±1,3x10 <sup>4</sup> e	3,18±1,38a	1,4x10 <sup>5</sup> ±2,0x10 <sup>4</sup> h
CFM3012	3,13±0,54a	3,4x10 <sup>11</sup> ±3,3x10 <sup>10</sup> c	3,48±0,46a	4,8x10 <sup>5</sup> ±1,7x10 <sup>4</sup> d
CFM3013	2,50±0,70a	1,3x10 <sup>11</sup> ±1,2x10 <sup>4</sup> f	2,79±0,73b	5,8x10 <sup>5</sup> ±2,8x10 <sup>4</sup> c
CFM3014	0,84±0,02b	5,4x10 <sup>5</sup> ±4,3x10 <sup>10</sup> b	1,00±0,59b	1,7x10 <sup>5</sup> ±1,0x10 <sup>4</sup> g
CFM3015	1,64±0,46b	1,1x10 <sup>5</sup> ±8,0x10 <sup>4</sup> f	2,21±0,38b	4,8x10 <sup>5</sup> ±1,7x10 <sup>4</sup> d
CFM3016	3,16±1,07a	1,4x10 <sup>5</sup> ±1,0x10 <sup>4</sup> e	2,04±0,14b	2,5x10 <sup>5</sup> ±1,9x10 <sup>4</sup> f
CFM3017	2,08±0,14b	1,1x10 <sup>5</sup> ±1,3x10 <sup>4</sup> f	1,81±0,39b	2,6x10 <sup>5</sup> ±2,1x10 <sup>4</sup> f
CFM3018	2,74±0,27a	1,5x10 <sup>5</sup> ±1,3x10 <sup>4</sup> e	2,51±0,18b	1,4x10 <sup>5</sup> ±2,2x10 <sup>4</sup> h
CFM3021	2,46±0,53a	1,0x10 <sup>5</sup> ±1,8x10 <sup>4</sup> f	2,65±0,64b	1,0x10 <sup>5</sup> ±1,2x10 <sup>4</sup> i
CFM3025	1,77±0,26b	1,7x10 <sup>5</sup> ±6,6x10 <sup>3</sup> e	1,01±0,13b	2,6x10 <sup>5</sup> ±3,5x10 <sup>4</sup> f
CFM3026	1,88±0,81b	2,5x10 <sup>5</sup> ±1,5x10 <sup>4</sup> d	1,89±0,37b	1,2x10 <sup>5</sup> ±7,5x10 <sup>3</sup> h
CFM3027	2,52±0,51a	1,9x10 <sup>5</sup> ±1,8x10 <sup>4</sup> e	3,18±0,30a	1,9x10 <sup>5</sup> ±1,9x10 <sup>4</sup> g
CFM3028	2,25±0,18a	1,3x10 <sup>5</sup> ±1,2x10 <sup>4</sup> f	3,40±1,38a	1,3x10 <sup>5</sup> ±1,5x10 <sup>4</sup> h

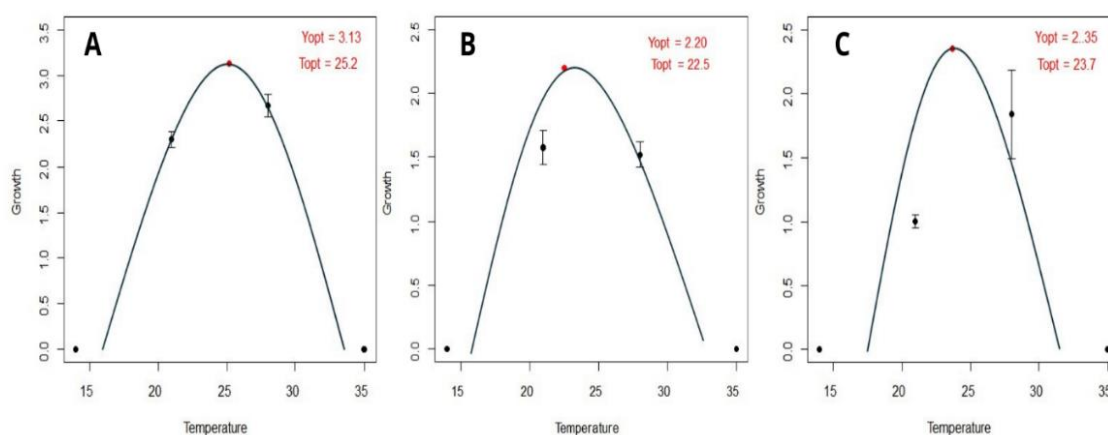
Em *P. vicosae*, a 21°C, o isolado CFM3024 apresentou menores valores médios para a área de crescimento e UFC 10<sup>4</sup>/mL, enquanto o isolado CFM3020 apresentou os maiores valores médios. A 28°C, o isolado CFM3024 apresentou os maiores valores médios para o crescimento micelial, e o isolado CFM3020, para UFC 10<sup>4</sup>/mL. No entanto, essas diferenças não foram estatisticamente significativas em comparação aos demais isolados (Tabela 3).

**Tabela 3:** Comparação entre os isolados de *Passalora vicosae* para a área de crescimento micelial (cm<sup>2</sup>) e unidades formadoras de colônia (UFC 10<sup>4</sup>/mL) em duas condições de temperatura (21°C e 28°C)

Isolado	Temperatura 21 °C		Temperatura 28 °C	
	Área	UFC 10 <sup>4</sup>	Área	UFC 10 <sup>4</sup>
CFM 3019	1,71±0,35a	1,5x10 <sup>5</sup> ±1,5x10 <sup>4</sup> b	1,64±0,54a	2,7x10 <sup>5</sup> ±2,0x10 <sup>4</sup> b
CFM 3020	1,95±1,15a	2,5x10 <sup>5</sup> ±1,9x10 <sup>4</sup> a	1,55±0,35a	3,3x10 <sup>5</sup> ±3,1x10 <sup>4</sup> a
CFM 3022	1,22±0,31a	1,1x10 <sup>5</sup> ±1,5x10 <sup>4</sup> bc	1,48±0,44a	2,0x10 <sup>5</sup> ±2,9x10 <sup>4</sup> c
CFM 3023	1,78±0,17a	2,4x10 <sup>5</sup> ±1,7x10 <sup>4</sup> a	1,19±0,23a	2,9x10 <sup>5</sup> ±3,6x10 <sup>4</sup> ab
CFM 3024	1,00±0,09a	1,0x10 <sup>5</sup> ±9,4x10 <sup>3</sup> c	1,84±0,60a	1,9x10 <sup>5</sup> ±2,2x10 <sup>4</sup> c
CFM 3029	1,79±0,09a	1,1x10 <sup>5</sup> ±1,1x10 <sup>4</sup> bc	1,42±0,26a	1,9x10 <sup>5</sup> ±1, x10 <sup>4</sup> c

Os isolados de *C. henningsii*, *P. Vicosae* e *C. kikuchii* apresentaram amplo crescimento quando submetidos as certas temperaturas de 21 °C e 28 °C. No entanto, não foram observadas diferenças no crescimento micelial para as temperaturas limite inferior e superior (14°C e 38°C), sugerindo uma faixa estreita de temperatura para o crescimento desses patógenos (Figura 6). Para *C. henningsii* a temperatura ótima foi de 25,2 °C com crescimento esperado de 3,13 cm<sup>2</sup>. Para *P. vicosae* a temperatura ótima de crescimento foi menor, de 22,5 °C com crescimento esperado de 2,20 cm<sup>2</sup>. A *C. kiluchii* teve um crescimento ótimo na temperatura de 23,7 °C, com crescimento esperado de 2,35 cm<sup>2</sup> (Figura 6).

**Figura 6:** Efeito da temperatura (14°C, 21°C, 28°C e 36°C) no crescimento micelial para espécies de *Clarothium henningsii* (A), *Passalora vicosae* (B) e *Cercospora kiluchii* (C); em meio de cultura ágar Sabouraud



### 3.5 Parâmetros agrônômicos e de doença

Houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os isolados de *C. henningsii* para os parâmetros agrônômicos, com exceção da altura (Tabela 4), que não houve diferença. Em relação ao número de hastes, observou-se que isolados como CFM3005, CFM3007, CFM3008, CFM3013, CFM3014, CFM3015, CFM3016, CFM3017 e CFM3025 apresentaram maiores valores, não diferindo significativamente do controle.

Em relação à folhas caídas (FC), o isolado CFM3002 apresentou a maior média entre todos os isolados, seguido pelos isolados CFM3000, CFM3001,

CFM3003 e CFM3011, que diferiram significativamente dos demais isolados, incluindo o controle.

Quanto ao peso fresco (PFPA) e seco (PSPA) da parte aérea, observou-se que as médias foram estatisticamente semelhantes, indicando que não houve variação significativa no desenvolvimento dessas características entre os isolados. Já no parâmetro peso fresco da raiz (PFR), os isolados CFM3009, CFM3010, CFM3011, CFM3012, CFM3018, CFM3021, CFM3025, CFM3026, CFM3027 e CFM3028 apresentaram as maiores médias, sem diferenças significativas entre si e em relação ao controle. Os outros isolados apresentaram médias menores, porém estatisticamente semelhantes entre si. Para o peso seco da raiz (PSR), apenas os isolados CFM3001, CFM3003, CFM3016, CFM3017 e CFM3018 apresentaram médias semelhantes entre si e ao controle. Os demais isolados obtiveram médias menores, sem diferenças significativas entre si.

Quanto à severidade (SEV), os isolados mostraram uma ampla variação na variedade 'BRS Mulatinha', com destaque para os isolados CFM3004 e CFM3008, que apresentaram as maiores médias de severidade, seguidos pelos isolados CFM3009, CFM3010 e CFM3011. O controle não apresentou severidade (SEV = 0), o que indica a ausência de sintoma ou efeito no controle, em comparação com os isolados (Tabela 4)

**Tabela 4:** Valores médios e desvio padrão dos parâmetros agrônômicos e de severidade para os 24 isolados de *Claro hilum henningsii*

Isolado	Altura	Hastes	FC	PFFA	PSPA	PFR	PSR	SEV
CFM3000	32,32±5,87	5,67±4,37b	2,33±2,02b	4,11±1,46	0,78±0,34	1,63±0,45b	0,21±0,07b	40,80±23,86b
CFM3001	26,35±6,28	6,50±2,59b	2,17±0,75b	3,91±1,77	0,74±0,36	1,33±0,48b	0,34±0,39a	63,90±34,14b
CFM3002	32,57±11,42	5,83±2,71b	3,67±1,97a	3,52±1,74	1,00±0,49	1,55±0,72b	0,19±0,06b	37,75±14,89b
CFM3003	28,18±7,99	5,33±3,67b	2,5±1,97b	3,14±0,80	0,64±0,20	1,38±0,55b	0,32±0,39a	65,24±33,56b
CFM3004	27,35±15,41	6,50±1,38b	1,50±0,84c	3,01±2,22	0,74±0,57	1,32±0,55b	0,17±0,07b	106,89±62,01a
CFM3005	28,95±13,94	8,33±1,51a	0,67±0,82c	3,46±2,73	0,86±0,57	1,03±0,45b	0,19±0,06b	65,26±33,41b
CFM3006	23,33±7,74	7,00±2,19b	0,33±0,52c	3,53±1,32	0,71±0,26	1,66±0,47b	0,18±0,05b	64,10±35,64b
CFM3007	36,23±14,88	7,83±1,94a	1,17±1,17c	5,54±1,48	1,25±0,30	1,65±0,43b	0,26±0,08b	65,14±37,75b
CFM3008	29,75±12,82	7,50±2,43a	1,00±0,89c	4,13±1,98	0,95±0,52	1,69±0,46b	0,23±0,09b	114±83,06a
CFM3009	25,88±10,30	6,83±1,17b	0,33±0,52c	3,53±2,27	0,70±0,44	1,89±0,64a	0,28±0,14b	104,26±54,04a
CFM3010	35,82±15,05	7,33±1,86b	1,17±0,98c	4,08±2,53	0,92±0,48	1,79±0,44a	0,18±0,09b	115,08±21,44a
CFM3011	34,57±6,78	6,00±1,10b	2,17±0,41b	4,07±1,85	0,93±0,39	2,14±0,61a	0,22±0,12b	86,18±25,89a
CFM3012	37,37±15,36	7,17±1,33b	1,50±1,05c	5,11±2,70	1,17±0,67	2,28±0,50a	0,24±0,11b	90,82±57,96a
CFM3013	27,87±12,05	8,69±1,03a	1,50±0,55c	3,77±2,73	0,78±0,54	1,44±0,64b	0,17±0,06b	96,89±52,15a
CFM3014	31,33±11,35	8,83±1,72a	0,17±0,41c	4,97±2,41	0,95±0,46	1,45±0,66b	0,17±0,10b	59,83±34,12b
CFM3015	31,33±8,39	8,67±1,63a	0,83±1,17c	3,58±2,53	0,81±0,43	1,35±0,54b	0,15±0,10b	101,59±43,73a
CFM3016	27,13±6,94	7,67±0,82a	0,33±0,52c	4,07±1,44	0,74±0,36	1,66±0,52b	0,38±0,05a	96,20±42,09a
CFM3017	38,07±14,01	9,67±2,94a	0,50±0,84c	5,85±2,97	1,23±0,58	1,57±0,48b	0,44±0,05a	91,80±57,92a
CFM3018	27,40±7,54	6,83±0,41b	0,67±0,82c	3,46±1,56	0,72±0,27	2,16±0,64a	0,37±0,11a	116,98±24,79a
CFM3021	28,60±10,45	7,33±1,21b	0,83±0,75c	4,02±1,09	0,83±0,39	1,98±0,76a	0,23±0,10b	59,43±39,89b
CFM3025	29,13±8,53	7,83±1,47a	0,37±0,82c	4,61±1,29	0,85±0,22	1,87±0,76a	0,27±0,08b	74,23±40,01b
CFM3026	21,72±7,03	6,00±0,89b	0,50±0,55c	3,35±1,34	0,63±0,27	2,06±0,97a	0,22±0,12b	93,41±51,91a
CFM3027	26,27±10,06	7,17±1,47b	0,50±0,55c	3,70±1,46	0,70±0,30	1,81±0,98a	0,26±0,07b	97,90±47,10a
CFM3028	25,82±6,43	7,00±0,63b	1,00±0,89c	3,33±0,60	0,56±0,12	2,06±0,64a	0,23±0,09b	104,82±13,54a
Controle	20,08±3,61	8,50±1,38a	0,50±0,55c	4,44±1,86	0,74±0,19	2,56±1,17a	0,43±0,20a	0±0b

Altura (Altura da planta – cm), Hastes (Número de hastes), FC (Folhas caídas), PFFA (Peso fresco da parte aérea real – g), PFR (Peso fresco da Raiz real – g), PSPA (Peso seco da parte aérea - g), PSR (Peso seco da raiz - g), SEV (Severidade). Isolados com letras minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Para *P. vicosae*, não houve diferença ( $P \geq 0,05$ ) entre os isolados para os parâmetros agronômicos, exceto para severidade da doença (Tabela 5). Os isolados CFM3019, CFM3022 e CFM3023 apresentaram médias estatisticamente semelhantes, não diferindo entre si nem do controle. Os isolados CFM3020 e CFM3029 apresentaram maior severidade de doença. O isolado CFM3024 de *Cercospora kikuchi* não diferiu do controle (Tabela 6).

**Tabela 5:** Valores médios e desvio padrão dos parâmetros agronômicos e de severidade para os cinco isolados de *Passalora vicosae*

Isolado	Altura	Hastes	FC	PFPA	PSPA	PFR	PSR	SEV
CFM 3019	26,55±6,18	7,67±1,03	0,67±0,82	4,35±2,12	0,89±0,41	2,20±0,59	0,44±0,10	61,67±33,3 5ab
CFM 3020	32,35±14,86	7,17±1,60	0,83±0,75	4,86±3,03	1,02±0,59	2,33±0,62	0,31±0,07	121,12±64, 06a
CFM 3022	27,62±5,58	9,00±1,67	0,67±0,83	4,51±2,51	0,81±0,47	1,93±0,59	0,22±0,08	84,65±43,7 3ab
CFM 3023	29,50±10,21	7,17±0,75	1,17±0,75	4,40±1,88	0,77±0,42	1,81±0,48	0,33±0,38	89,91±46,1 3ab
CFM 3029	25,15±12,46	7,17±1,94	0,83±0,41	3,65±2,39	0,68±0,49	2,07±0,52	0,18±0,07	120,64±93, 99a
Controle	20,08±3,61a	8,50±1,38	0,50±0,55	4,44±1,86	0,74±0,19	2,56±1,17	0,43±0,20	0±0b

Altura (Altura da planta – cm), Hastes (Número de hastes), FC (Folhas caídas), PFPA (Peso fresco da parte aérea real – g), PFR (Peso fresco da Raiz real – g), PSPA (Peso seco da parte aérea - g), PSR (Peso seco da raiz - g), SEV (Severidade). Isolados com letras minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 6:** Valores médios e desvio padrão dos parâmetros agronômicos e de severidade para isolado de *Cercospora kikuchi*

Isolado	Altura	Hastes	FC	PFPA	PSPA	PFR	PSR	SEV
CFM 3024	29,38±7,83	7,00±1,10	0,33±0,52	4,17±2,13	0,75±0,40	1,68±0,39	0,19±0,07	97,93±43,0 6a
Controle	20,08±3,61a	8,50±1,38	0,50±0,55	4,44±1,86	0,74±0,19	2,56±1,17	0,43±0,20	0±0a

Altura (Altura da planta – cm), Hastes (Número de hastes), FC (Folhas caídas), PFPA (Peso fresco da parte aérea real – g), PFR (Peso fresco da Raiz real – g), PSPA (Peso seco da parte aérea - g), PSR (Peso seco da raiz - g), SEV (Severidade). Isolados com letras minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4. DISCUSSÃO

Assim, a maioria dos isolados obtidos foi de *Cercospora henningsii*, uma vez que as condições climáticas predominantes no campo experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia favoreceram o desenvolvimento da mancha-parda, sendo este o maior número dentre os isolados de interesse para o estudo. Segundo Massola Júnior e Bedendo (2016), a estação chuvosa é mais favorável à ocorrência da mancha parda, porém é comum encontrá-la tanto em regiões quentes e secas como em regiões frias e úmidas, refletindo a alta capacidade de adaptação de *C. henningsii* a diversas condições climáticas, razão pela qual a doença possui ampla distribuição geográfica e ocorre em qualquer época do ano.

Na análise filogenética, embora a região ITS seja proposta como um código de barras padrão para estudos de relações filogenéticas dos fungos (Schoch *et al.*, 2012), foi verificado neste estudo que apenas a região ITS não é suficiente para separar as espécies. Corroborando com outros estudos (Groenewald *et al.*, 2013; Vale, 2016). Groenewald *et al.* (2013) sugerem que outras regiões gênicas, como ACT, CAL e HIS, sejam mais eficientes para distinguir espécies do gênero *Cercospora*.

No estudo de Bakhshi *et al.* (2015), foi realizada uma análise filogenética utilizando cinco locus gênicos: ITS, ACT (actina), TEF1- $\alpha$  (fator de alongamento da tradução 1-alfa), CAL (calmodulina) e HIS3 (histona H3). Embora esses locus tenham sido tradicionalmente empregados na delimitação de espécies de *Cercospora*, verificou-se que, isoladamente, eles não forneciam resolução suficiente para distinguir todas as espécies dentro do gênero. Posteriormente, Bakhshi e Zare (2020) identificaram que fragmentos do gene *gapdh* (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) são candidatos promissores para uma melhor delimitação de espécies em *Cercospora*, devido à sua maior variabilidade e capacidade de discriminar entre espécies próximas.

No entanto, estudos anteriores relataram dificuldades na amplificação do locus *gapdh* com os primers disponíveis, o que limitava sua aplicabilidade (Bakhshi *et al.*, 2018; Bakhshi, 2019). Para superar essa limitação, Bakhshi e Zare (2020) desenvolveram dois novos primers, denominados GpdF-Cer e

GpdR-Cer, específicos para a amplificação de fragmentos do gene *gapdh* em espécies de *Cercospora*.

Desse modo, as espécies de *C. henningsii* e *P. vicosae* ficaram agrupadas no mesmo clado da árvore filogenética, assim como as espécies do GenBank de cada um dos isolados, indicando semelhança evolutiva dentro da região genômica amplificada. As demais espécies baixadas do GenBank ficaram em um clado separado, não demonstrando nenhuma relação com as demais espécies do complexo de *Passalora*.

O crescimento *in vitro* de ambos os patógenos são desafiadores devido à formação de micélios aéreos compactos, rígidos e altamente incrustados (Viégas, 1945). Em alguns casos, o crescimento dos isolados foi comprometido ao longo do tempo, o que impossibilitou a continuidade dos experimentos. Observou-se que os isolados de *C. henningsii* não produziram esporos em meio de cultura corroborando com estudos realizados por Silva (2016). A esporulação de *P. vicosae* também não foi observada em nenhuma das temperaturas testadas nesse estudo.

Os isolados não apresentaram crescimento micelial *in vitro* nas temperaturas extremas de 14 °C e 35 °C, desenvolvendo-se apenas nas faixas intermediárias de 21 °C e 28 °C. Esses resultados corroboram os dados obtidos por Santana (2018), que observou temperaturas ótimas de crescimento para *Pseudocercospora vicosae* e *Cercospora henningsii* em torno de 27,1 °C e 26,5 °C, respectivamente.

Resultados semelhantes foram relatados por Zhang et al. (2014), que identificaram crescimento ótimo de *Passalora henningsii* entre 26 °C e 28 °C em condições controladas na China. Tais faixas de temperatura coincidem com as condições climáticas predominantes nas regiões tropicais produtoras de mandioca, onde a mancha-parda apresenta elevada prevalência e severidade durante períodos chuvosos e quentes (Tanaka et al., 1979; Lozano, 1989). Em campo, essas condições ambientais favoráveis ao fungo estão diretamente associadas ao aumento da severidade da doença, principalmente em cultivos com mais de cinco meses de idade (Silva et al., 1988).

Os isolados de *P. vicosae* apresentaram sintomas no quinto dia após a inoculação. Quanto aos isolados de *C. henningsii*, 17 manifestaram sintomas no

sétimo dia, enquanto os demais apresentaram sintomas após esse período. No estudo de Morais *et al.* (2014), os sintomas foram observados em casa de vegetação oito dias após a última inoculação, com isolados associados a manchas foliares na cultura da mandioca.

De modo geral, no experimento de câmara de crescimento, as variáveis agrônômicas não apresentaram diferenças significativas quando os patógenos foram inoculados. A altura da planta variou entre 20,08 a 38,07 cm; por se tratar de uma mesma variedade ('BRS Mulatinha'), essa variável não apresentou diferença estatística. O mesmo ocorreu para número de hastes (0,17 a 3,67 cm), PFPA (3,01 a 5,85 cm) e PSPA (0,56 a 1,25 cm). Os resultados sugerem uma possível resistência fisiológica da cultivar 'BRS Mulatinha' frente aos patógenos foliares testados, esse comportamento é compatível com estudos anteriores, que mostraram que genótipos de mandioca podem manter características agrônômicas, como número de hastes e biomassa, mesmo sob alta severidade de doenças foliares, como antracnose, mancha-parda e mancha-branca (Nascimento *et al.*, 2024). Além disso, Ogunsola *et al.* (2016) observou correlação positiva entre a retenção foliar e o rendimento de raízes frescas em genótipos resistentes ao mosaico da mandioca, o que reforça a importância de cultivares com maior capacidade de manter parâmetros agrônômicos frente ao estresse biótico.

No entanto, houve diferença significativa para FC, uma vez que as plantas infectadas, com os sintomas aparentes, começaram a perder as folhas do terço inferior à medida que a doença avançava. A desfolha prematura é um problema geral do efeito da doença (Teri *et al.*, 1978).

No caso da severidade de mancha parda, o isolado CFM3018 apresentou maior severidade da doença, enquanto o isolado CFM3020 foi o que causou a maior queima das folhas. Este índice de severidade reduz a área fotossintética e, como consequência, diminui a síntese de amido pelas raízes, produto explorado economicamente desta cultura (Teri *et al.*, 1980).

Os sintomas das doenças foram inicialmente observados no terço inferior das plantas de mandioca, espalhando-se posteriormente para os terços médio e superior. Essa progressão pode ser atribuída à idade das folhas e à maior proximidade com a umidade do solo, fatores que favorecem a infecção pelo

patógeno, conforme observado em estudos anteriores (Teri *et al.*, 1978; Michereff *et al.*, 1998; Madden, 2007). Folhas mais velhas tendem a ser mais suscetíveis devido à diminuição de suas defesas naturais.

A modulação dos sintomas da mancha-parda pode ser influenciada por práticas de manejo, como o controle da irrigação. A irrigação por gotejamento, por exemplo, é recomendada para minimizar a umidade foliar e reduzir a incidência de doenças fúngicas em diversas culturas (Agrios, 2005). O uso de cultivares resistentes e de manivas saudáveis é fundamental para prevenir a entrada e disseminação do patógeno no campo (Bonfim Junior *et al.*, 2024). A rotação de culturas com espécies não hospedeiras também contribui para a diminuição da pressão de inóculo no solo.

Embora a quantidade de inóculo aplicada tenha sido uniforme para todas as plantas, observou-se que os isolados de *P. vicosae* e *C. henningsii* diferiram quanto à intensidade dos sintomas. Isso pode ser explicado pelas características distintas das lesões causadas por cada patógeno. As lesões da mancha-parda, causadas por *P. vicosae*, são geralmente pequenas, exigindo um número elevado para que se atinjam níveis altos de severidade (Lima Filho *et al.*, 2018). Em contrapartida, a queima das folhas, associada a *C. henningsii*, produz lesões maiores, o que resulta em valores elevados de severidade mesmo com menor número de lesões (Leite *et al.*, 2019).

## 5. CONCLUSÃO

Para identificação das espécies somente a região genômica ITS 1 e ITS 4 não é suficiente para a separar as espécies, sendo necessário a utilização de outros primers que amplifiquem outras regiões genômicas.

O cultivo *in vitro* dos isolados de *C. henningsii* e de *P. vicosae* é desafiador, além de demandar mais tempo os micélios não tomam totalmente as placas. Não foi observado a estrutura de esporos nos isolados.

Não houve diferenças significativas nos parâmetros agrônômicos entre os isolados, exceto o número de folhas caídas que é um dos sintomas da folha infectada.

Em geral, para *C. henningsii*, a temperatura de 28°C foi mais favorável para o crescimento micelial quanto para as UFC 10<sup>4</sup>/mL, sendo CFM3000 o que apresentou o maior valor médio para UFC 10<sup>4</sup>/mL nessa temperatura. Não houve diferenças entre os isolados de *P. vicosae* e *C. kikuchii* para a área de crescimento micelial para as duas temperaturas. As espécies *C. henningsii*, *P. vicosae* e *C. kikuchii*, apresentaram temperaturas ótimas de crescimento diferentes.

O Isolado CFM3018 de *C. henningsii* e os isolados CFM3020 e CFM 3029 de *P. vicosae* foram os que apresentaram maior severidade de doença na variedade 'BRS mulatinha'. O isolado CFM3024 de *C. kikuchii* não deferiu do controle quanto a severidade da doença.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, **George N.** **Plant pathology**. Florida: Elsevier 5<sup>a</sup> ed, 2005.
- AYETIGBO, O. *et al.* Drying kinetics and effect of drying conditions on selected physicochemical properties of foam from yellow-fleshed and white-fleshed cassava (*Manihot esculenta*) varieties. **Food and Bioproducts Processing**, v. 127, p. 454–464, 2021.
- BAKSHI, Mounes *et al.* Cryptic diversity, multilocus phylogeny, and pathogenicity of cercosporoid fungi associated with common bean and cowpea. **Plant Pathology**, v. 70, n. 7, p. 1665-1676, 2019.
- BAKSHI, M. *et al.* Cercospora from Iran: new species, new records and new combinations. **Mycologia**, v. 107, n. 5, p. 993–1009, 2015.
- BAKSHI, M. *et al.* Gapdh, a potential new barcode for species of Cercospora and related genera. **Mycological Progress**, v. 17, p. 1–17, 2018
- BAKSHI, M.; ZARE, R. Development of new primers for amplification of the gapdh gene in Cercospora species. **Mycological Progress**, v. 19, p. 755–765, 2020.
- BONFIM JUNIOR, M. F., *et al.* Controle das doenças da mandioca sob condições de cultivo no Brasil. **Agropecuária Catarinense**, v. 37, n. 3, p. 12–15, 2024.
- CUNHA, D. S. Caracterização dos agentes causais da mancha parda, mancha branca e queima das folhas da mandioca. Dissertação (mestrado) - Garanhuns, PE: UFRPE/UAG, 2017
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11–15, 1990.
- EDGAR, R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, p. 1792-1797, 2004.
- FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMF, 38p, 1998.
- GROENEWALD, J. Z.; NAKASHIMA, C.; NISHIKAWA, J.; SHIN, H. D.; PARK, J. H.; JAMA, A. N.; GROENEWALD, M.; BRAUN, U.; CROUS, P. W. Species concepts in Cercospora: spotting the weeds among the roses. **Studies in Mycology, Utrecht**, n. 75, p. 115–170, 2013.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção AgrÍSULA (LSPA). Análise Mensal janeiro, Mandioca. 2024. Disponível em:  
[file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Mandioca\\_AnaliseZMensal\\_Janeiro2024.pdf](file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Mandioca_AnaliseZMensal_Janeiro2024.pdf). Acessado: 17 de maio de 2024.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, 2021.

LEITE, I. C. H. L. *et al.* Standard area diagrams to aid assessments of the severity of blight leaf spot symptoms on cassava leaves. **Journal of Plant Pathology**, v. 101, p. 155-160, 2019.

LIMA FILHO, F. A. S. *et al.* Accuracy and efficiency of assessments of cassava brown leaf spot aided by standard area diagram sets based on whole compound leaves or single central leaflets. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, p. 627-638, 2019.

LOZANO, J. C.; BOOTH, R. H. Diseases of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **PANS Pest Articles e News Summaries**, v. 20, n. 1, p. 30-54, 1974.

MADDEN, L. V. *et al.* **The study of plant disease epidemics**. Ed American Phytopathological Society (APS Press), 2007.

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. eds. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 515-522, 2016.

MATTOS, P. L. P. *et al.* Cultivo da mandioca nas regiões norte e nordeste do Brasil. **Agricultura: tuberosas amiláceas latinoamericanas**. São Paulo: Fundação Cargill, p. 448-504, 2002.

MICHERFF, S. J. *et al.* Escala diagramática e tamanho de amostra para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca (*Cercosporidium henningsii*). **Agrotropica**, v. 10, n. 3, p.143-148, 1998.

MORAIS, M. S., *et al.* Epidemiologia das doenças da parte aérea da mandioca no Município de Alagoa Nova, Paraíba. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 308–313, 2014.

NASCIMENTO, J. H. B., *et al.* Variabilidade fenotípica na resistência à antracnose, mancha-parda, mancha-branca e pinta-preta em germoplasma de mandioca. **Plants**, v. 13, n. 9, p. 1187, 2024.

OGUNSOLA, A. O.; OKOGBENIN, E.; FREGENE, M.; EGESE, C. Correlation between leaf retention and fresh root yield in cassava genotypes resistant to mosaic disease. **Journal of Root Crops**, v. 42, n. 1, p. 25–32, 2016.

OLIVEIRA, A. M. G. *et al.* Doenças da mandioca. In: EMBRAPA. Curso sobre o cultivo da mandioca. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMFT. 2008

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, 2024.

SANTANA, M. F. Crescimento micelial de *Pseudocercospora vicosae* e *Cercospora henningsii* em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 43, n. 2, p. 150–156, 2018.

SCHOCH, C. L., *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **Washington**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SILVA, H.S.A.; ANDRADE, E. C. **Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 263-272, 2011

SILVA, M. **Exploring fungal diversity: Passalora, Pseudocercospora, Sirosporium and Zasmidium on brazilian plants**. Universidade Federal de Viçosa(UFV), Visoça, Brasil, 2016. Tese (Doutorado em Fitopatologia), 2016. 103p

SILVA, M. F.; CAVALCANTE, M. A.; LIMA, D. M.; POROCA, D. M. Influência de fatores climáticos e idade da planta na ocorrência de cercosporiose em mandioca. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 13, n. 1, p. 51–53, 1988

TANAKA, F. A. O.; LOZANO, J. C. **Doenças da mandioca: identificação e controle**. Brasília: EMBRAPA, 1979.

TANAKA, M. A. S.; CHALFOUN, S. M.; ABREU, M. S. Doenças da mandioca e seu controle. **Informe Agropecuário**, v. 5, n. 59/60, p. 70–78, 1979.

TERI, J. M.; THURSTON, H. D.; LOZANO, J. C. The Cercospora leaf diseases of cassava. In: **Proceedings of cassava protection workshop. Annual Report, Cali**. 1978. p. 101-116.

TERI, J.; THURSTON, H.; LOZANO, J. Effect of brown leaf spot and Cercospora leaf blight on cassava production. **Tropical Agriculture**. Colômbia, v. 57, n.3, p. 239- 243, 1980.

VALE, P. A. S. **Caracterização de *Cercospora coffeicola* por filogenia molecular multigênica**. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Brasil, 2016. Dissertação (Biotecnologia vegetal), 2016. 64 f.

VIDAL, Á. M. *et al.* Micropropagação de variedades de mandioca cultivadas no Nordeste. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**. v. 5, n. 1, p. 479-483, 2009.

VIÉGAS, A. P. Alguns fungos do Brasil: Cercospora. **Boletim da Sociedade Brasileira de Agronomia**, v. 8, n. 1, p. 1-160, 1945

VIÉGAS, A. P. Manchas das folhas de mandioca, produzidas por Cercosporas. **Bragantia**, v. 1, n. 3, p. 233-248, 1941.

ZHANG, Y., *et al.* Effects of temperature on mycelial growth of *Passalora henningsii*. **Journal of Plant Pathology**, v. 96, n. 2, p. 447–451, 2014.

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate polymers**, v. 122, p. 456–480, 2015.