



Dissertação de Mestrado

Leveduras como biocontroladoras da queima das folhas do inhame

Dionísio Gomes Kór

DIONÍSIO GOMES KÓR

Leveduras como biocontroladoras da queima das folhas do inhame

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Delson Laranjeira

Co-orientadores: Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara

Dra. Iwanne Lima Coelho

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal Rural de Pernambuco Sistema Integrado de Bibliotecas Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G6331 Kór, Dionisio Gomes

Leveduras como biocontroladoras da queima das folhas do inhame / Dionísio Gomes Kór. - 2022. 72 f.

Orientador: Delson Laranjeira.

Coorientador: Marcos Paz Saraiva Camara.

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2022.

I. Dioscorea cayennensis. 2. Curvularia eragrostidis. 3. Controle biológico. 4. Atividade antagônica. 5. Cochliobolus eragrostidis. I. Laranjeira, Delson, orient. II. Camara, Marcos Paz Saraiva, coorient. III. Título

CDD 632

Leveduras como biocontroladoras da queima das folhas do inhame

DIONÍSIO GOMES KÓR

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora: 22/02/2022

ORIENTADOR:	
	Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)
EXAMINADORES	S:
	Profa. Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)
-	Profa. Dra. Rejane Pereira Neves (UFPE)

RECIFE - PE FEVEREIRO-2022

Ao senhor Jesus Cristo que sempre me deu a vontade de lutar por aquilo que é importante e que me ensinou a não desistir nunca mesmo que seja muito difícil.

À memória eterna do meu falecido pai, Armando Gomes Kór, apesar que seja a lei da vida, mas a sua prematura partida deixou um vazio no meu coração que nada nesse mundo pode preencher.

À minha mãe, Angel Mendes, que me deu a oportunidade de chegar aonde cheguei hoje.

À minha filha, Janísia Dionísio Gomes Kór, que sempre entendeu a situação da minha ausência na sua vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), por meio do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela oportunidade da realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa durante o curso.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Delson Laranjeira, Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara e Dra. Iwanne Lima Coelho pelos ensinamentos, confiança e a contribuição neste trabalho.

Aos meus pais, Armando (*in memoriann*) e Angel, pela confiança, amor, força e consideração.

Ao meu tio Gabriel Wrinque Mendes e a sua esposa Martina Mendes, pela consideração.

Aos meus irmãos Nazário Gomes Kór e Wilson Gomes Côr, pela força e a confiança.

À minha filha, Janísia Dionísio Gomes Kór, por me fazer sentir sempre feliz e seguro.

À toda a minha família em geral, principalmente Nicásio Urinque Mendes, pela força e a consideração.

À minha namorada Winnie Queiroz Brandão, pelo companheirismo e os conselhos.

A todos os membros do Laboratórios de Fungos do Solo (Lafsol), pelo apoio durante este trabalho, principalmente Iwanne Lima Coelho, Igor Alexsander de Melo Pimentel, Sérgio Batista Ramos e Elder Felipe de Moura Silva, que se ofereceram voluntariamente para me ajudar até nas madrugadas.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia pelas contribuições pertinentes a minha formação.

Aos agricultores de Bonito-PE, Gabriel Gênis da Silva, Adeilson Félix do Nascimento e Jaime Alexandrino Ribeiro Filho, pela concessão dos materiais propagativos que tornaram esse trabalho possível.

Ao João Izidoro da Silva Filho, pela sua disponibilidade de me acompanhar para as propriedades dos agricultores.

A todos os amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.

Aprenda sempre a não dizer nunca, pois o que se acredita ser impossível pode acontecer em qualquer momento.

Dionísio Gomes Kór

Sumário

RESUMO GERAL	10
GENERAL ABSTRACT	12
CAPÍTULO I	13
1. INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1. ASPECTOS GERAIS E IMPORTÂNCIA DA CULTURA DE INHAME.	14
1.2. QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME	17
2. CONTROLE DA QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME	19
2.1. CONTROLE CULTURAL	19
2.2. CONTROLE ALTERNATIVO	20
2.3. CONTROLE BIOLÓGICO	21
3. UTILIZAÇÃO DE LEVEDURAS NO CONTROLE BIOLÓGICO	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
CAPÍTULO II	37
RESUMO	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	41
RESULTADOS	48
DISCUSSÃO	50
AGRADECIMENTOS	55
REFERÊNCIAS	56
CAPÍTULO III	66
CONCLUSÕES GERAIS	67

RESUMO GERAL

O inhame da costa (Dioscorea cayennensis) é uma cultura de grande importância econômica, que contribui na movimentação de renda nos estados produtores do Nordeste brasileiro. O seu alto consumo tem sido influenciado pelo valor nutricional e energético das suas túberas. A queima das folhas causada pelo fungo Curvularia eragrostidis (Henn.) Meyer [teleomorfo Cochliobolus eragrostidis Tsuda & Ueyama], limita muito a sua produção. Essa doença causa grandes prejuízos à cultura, na Região Nordeste do Brasil, especialmente nos estados de Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Maranhão e Sergipe. O patógeno, em condições favoráveis de temperatura e umidade relativa, afeta seriamente a plantação, provocando manchas circulares e necróticas nas folhas. Não existem registros dos produtos químicos no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o manejo eficiente desta enfermidade. Porém, estão sendo utilizados fungicidas à base de triadimenol, mancozeb e tebuconazol mas não apresentam a eficiência no controle deste fitopatógeno devido a sua produção de micélios heterocarióticos, o que torna imprescindível procurar métodos mais eficazes que possam substituir estes produtos levando em conta a essa baixa eficiência e a contaminação do meio ambiente. As leveduras são principais habitantes do filoplano e apresentam potencial da competição por espaço e nutrientes. O seu uso como agentes de controle biológico pode contribuir de forma significativa na preservação do meio ambiente e na redução da perda de produção acarretada pela C. eragrostidis. Perante o exposto, objetivou-se avaliar e selecionar leveduras potencialmente biocontroladores de C. eragrostidis e da queima das folhas em inhame. Realizou-se teste de patogenicidade através da pulverização das suspensões de esporos de 15 isolados de fitopatógeno nas plantas de inhame com aproximadamente 4 meses de crescimento. Foi avaliado o potencial antagônico in vitro de 77 leveduras isoladas nas folhas de inhame através do pareamento com fitopatógeno. Para testes in vivo, as plantas de inhame mantidas na casa de vegetação com aproximadamente 4 meses de crescimento, foram pulverizadas até o ponto de escorrimento onde as suspensões de leveduras foram aplicadas quatro dias antes da pulverização das suspensões do fitopatógeno. Dos 15 isolados de fitopatógeno utilizados no teste de patogenicidade, 14 foram patogênicos destacando isolados CFS 996, CFS 506 e CFS 985 como os mais virulentos, sendo selecionado o isolado CFS 996 para testes in vivo. A partir dos testes de antagonismo realizados, os isolados de leveduras (Y047, Y051, Y052b, Y085 e Y086) foram selecionados para testes de biocontrole in vivo devido aos seus maiores percentuais de inibição de crescimento micelial do fitopatógeno. Dentre os cinco isolados de leveduras testados in vivo, Y047, Y051 e Y052b foram considerados biocontroladores da queima das folhas em inhame por reduzirem de forma eficiente a severidade da doença. Este é o primeiro relato da redução dos sintomas da queima-das-folhas de inhame pela atividade antagônica de isolados de leveduras, sugerindo-se a sua utilização no manejo da doença.

Palavras-chave: *Dioscorea cayennensis. Curvularia eragrostidis.* Controle biológico. Atividade antagônica. *Cochliobolus eragrostidis.*

GENERAL ABSTRACT

The coastal yam (Dioscorea cayennensis) is a crop of great economic importance, which contributes to the movement of income in the producing states of the Brazilian Northeast. Its high consumption has been influenced by the nutritional and energy value of its tubers. Leaf blight caused by the fungus Curvularia eragrostidis (Henn.) Meyer [teleomorph Cochliobolus eragrostidis Tsuda & Ueyama], greatly limits its production. This disease causes great damage to culture in the Northeast region of Brazil, especially in the states of Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Maranhão and Sergipe. The pathogen, under favorable conditions of temperature and relative humidity, seriously affects the plantation, causing circular and necrotic spots on the leaves. There are no records of chemical products in the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply for the efficient management of this disease. However, fungicides based on triadimenol, mancozeb and tebuconazole are being used but they are not efficient in controlling this phytopathogen due to their production of heterokaryotic mycelia, which makes it essential to look for more effective methods that can replace these products taking into account this low efficiency and environmental contamination. Yeasts are the main inhabitants of the phylloplane and have the potential to compete for space and nutrients. Their use as biological control agents can significantly contribute to the preservation of the environment and the reduction of production loss caused by C. eragrostidis. Given the above, the objective was to evaluate and select yeasts potentially biocontrollers of C. eragrostidis and leaf blight in yam. A pathogenicity test was carried out by spraying spore suspensions of 15 phytopathogen isolates on yam plants with approximately 4 months of growth. The *in vitro* antagonistic potential of 77 yeasts isolated from yam leaves was evaluated by pairing with a phytopathogen. For in vivo testing, yam plants kept in the greenhouse at approximately 4 months of growth were sprayed to the run-off point where the yeast suspensions were applied four days before spraying the phytopathogen suspensions. Of the 15 phytopathogen isolates used in the pathogenicity test, 14 were pathogenic, highlighting isolates CFS 996, CFS 506 and CFS 985 as the most virulent, and the isolate CFS 996 was selected for in vivo tests. From the antagonism tests performed, the yeast isolates (Y047, Y051, Y052b, Y085 and Y086) were selected for in vivo biocontrol tests due to their higher percentages of inhibition of the mycelial growth of the phytopathogen. Among the five yeast isolates tested in vivo, Y047, Y051 and Y052b were considered biocontrollers of leaf blight in yam, as they efficiently reduce the severity of the disease. This is the first report on the reduction of symptoms of yam leaf blight by the antagonistic activity of yeast isolates, suggesting its use in the management of the disease.

Keywords: *Dioscorea cayennensis. Curvularia eragrostidis.* Biological control. antagonistic activity. *Cochliobolus eragrostidis.*

CAPÍTULO I

Introdução Geral

LEVEDURAS COMO BIOCONTROLADORAS DA QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. ASPECTOS GERAIS E IMPORTÂNCIA DA CULTURA DE INHAME

O inhame (*Dioscorea* cayennensis) é uma planta monocotiledônea, perene, da família *Dioscoreaceae*, ordem *Dioscoreales* e gênero *Dioscorea* (NORONHA, 2014). Possui caules delgados e robustos e frequentemente forma um emaranhado sobre outras plantas (PEDRALLI, 1999). As ramificações dos caules podem atingir diversos metros, onde alguns apresentam espinhos peciolares ou bulbilhos nas axilas das folhas (BARROSO et al., 1974). O inhame apresenta flores brancas e amarelas, com simetria radial, pequenas, comumente unissexuais e algumas com odor. As flores masculinas apresentam odor adocicado e grãos de pólen viscoso fortemente aderido à antera. As flores femininas são de grande tamanho e com ovário ínfero, trilocular, tricarpelar, geralmente com muitos óvulos e alguns nectários septais (DAHLGREN; CLIFFORD, 1982; IPGRI/IITA,1997). As folhas são morfologicamente variadas e frequentemente opostas ou espiraladas, alternas, pecioladas em formato de coração ou seta (SIQUEIRA, 2009).

A cultura é conhecida popularmente no Brasil como inhame-da-costa, inhame-de-são-tomé, inhame-da-guiné-branco, cará e cará-da-costa (SIQUEIRA, 2009). A denominação da cultura pelo nome do cará aconteceu através da língua tupi-guarani, falada pelos índios da América (ABRAMO, 1990). A introdução da maioria das variedades do inhame na América do Sul tornou-se possível no séc. XVI, no período da colonização pelos portugueses e espanhóis (SIQUEIRA, 2009).

Algumas espécies desta cultura, como é o caso de *Dioscorea alata* e D. *esculenta* foram originadas na Ásia, entretanto, se dispersaram na América Latina e no continente africano (MESQUITA, 2001). Os relatos indicam que a origem das espécies *D. cayennensis* e *D. rotundata* foi ao oeste do continente africano (CHEVALIER, 1946), enquanto *D. trifida* é nativa na América do Sul. Essa ampla dispersão aconteceu no final do período Cretáceo (LEBOT, 2009). A cultura é muito conhecida no Brasil devido a sua influência na composição dos pratos típicos da cultura negra e dos nordestinos (COUTO et al., 2015; SIQUEIRA, 2009).

Existem 600 espécies do gênero *Dioscorea*, portanto, no Brasil são encontradas 150 a 200 espécies desse gênero e estão presente em todas as regiões do país. Contudo, a maioria das espécies são pouco estudadas (PEDRALLI, 2002). Dentre elas, somente são cultivadas 14, por produzirem túberas comestíveis, com ênfase para: inhame ou cará-da-costa (*D. cayennensis* Lam.), inhame branco (*D. rotundata* Poir.), Cará São Tomé (*D. alata* L. Many), Cará roxo (*D. trifida*) e Taro (*D. esculenta* L. Burk) (COPR, 1978). Na região Nordeste do Brasil, as espécies mais cultivadas dessa cultura são *D. cayennensis* e *D. alata*, porém, a mais predominante é a *D. cayennensis* e possui apenas uma variedade comercial (MARISONIA, 2014).

A produção de Inhame ocorre praticamente em todos os países do mundo (IPA, 2008). Com base na estatística da FAO (2010), a produção total a nível mundial em 2008 foi de 51.778.000 mil toneladas com a área plantada de 4.928.000ha, onde a África representou 93% da produção com 49.833.000 toneladas, sendo a Nigéria o maior produtor (35.017.000 toneladas), Cote d'Ivore ocupando a segunda posição com 6.933.000 toneladas e o Brasil se encontra na décima segunda posição com a produção de 250.000 mil toneladas.

Entre os países da América do Sul, o Brasil se destaca na produção de inhame, ocupando segunda posição em 2013 com aproximadamente de 242 mil toneladas (FAO, 2014). A produção teve aumento significativo em 2017, pois de acordo com IBGE (2021) a quantidade produzida foi de 336.195 mil toneladas. A maior produção de inhame no Brasil se concentra nos Estados da região Nordeste, onde a Paraíba representa a maior percentagem seguido por Pernambuco, Bahia, Alagoas, Maranhão e Sergipe (MORAES, 2009).

O cultivo de inhame no Nordeste representa uma atividade promissora, com potencial de expansão, devido às condições edafoclimáticas favoráveis (SANTOS, 2002). Em 2017, a quantidade produzida nos Estados de Nordeste (Paraíba, Pernambuco, Bahia e Alagoas) foi de 29,1 mil toneladas e com a geração de renda de 68,80 milhões de reais. A maior parte deste valor foi da participação do Estado de Paraíba com 20,98 milhões de reais (BRAINER, 2019).

A propagação do inhame (*D. cayennensis*) é realizada em duas formas, através de túberas-semente inteira ou por fragmentos das túberas grandes. A propagação utilizando as túberas-semente inteira oferece mais vantagens em relação ao segundo método, pois elas apresentam maior número de gemas germinativas, o que por sua vez, promovem a rápida brotação e a uniformização das plantas (OLIVEIRA et al.; 2012), além de apresentar baixo percentual de apodrecimento nas condições de altas umidades. Durante o cultivo, torna-se imprescindível instalar o sistema de tutoramento para orientar o crescimento das plantas. A instalação pode ser feita através de madeiras ou com fio de sisal (CARVALHO, 2019).

A seleção do material de propagação é baseada na qualidade e tamanho das túberas e configura-se como um fator primordial para o sucesso do estabelecimento das plantas no campo (OLIVEIRA et al.; 2012). As túberas-semente de tamanho muito reduzido produzem plantas pequenas e consequentemente há possibilidade da produção das túberas de menor tamanho refletindo no seu valor comercial. Segundo Andrade et al. (2010), a cultura contém quatro fases fenológicos do seu ciclo: dormência fisiológica, vegetativo, reprodutivo e maturação fisiológica. A fase de dormência inicia a partir do plantio até a brotação (20-80 DAP); a fase vegetativa (80-180 DAP), que sucede a brotação e estende até o início do florescimento; a fase reprodutiva (180-210 DAP), que tem o seu início do florescimento ao secamento das flores e a fase de maturação, geralmente ocorre no final de secamento das flores à colheita (210-270 DAP) (MORAES, 2009).

O inhame (*D. cayennensis*) se adapta melhor nos solos de textura arenosa e média, com alta concentração de matéria orgânica, boa fertilidade, arejados e bem drenados, mas também, pode ser cultivado em vários tipos de solos. A cultura consegue sobreviver nos períodos prolongados de estiagem, portanto, não resiste a geadas devido o apodrecimento das raízes em condições de alta umidade do solo. A cultura prefere pH ácido, girando em torno de 5,5-6,0 (SIQUEIRA, 2009).

O inhame apresenta grande importância econômica em termo da geração de renda para os pequenos e grandes produtores (MELO, 2013; OLIVEIRA et al., 2012), além de ser um produto hortícola que contribui na movimentação da economia das regiões produtoras (MORAES, 2009). Atua como um dos principais componentes básicos na alimentação em comunidades de diversos países tropicais, especialmente Nigéria, Costa do Marfim e Brasil (MOURA et al., 2005).

A grande importância nutricional e energética tem conduzido ao alto consumo das túberas. É um alimento rico em vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, adermina), carboidratos (amido principalmente), minerais além de apresentar baixos teores de gorduras (SANTOS et al., 2007), e propriedades medicinais (XUE et al., 2021). Segundo Siqueira (2009), o habitual consumo do inhame diminui os riscos de câncer de mama e doenças cardiovasculares. Dentre as inúmeras propriedades medicinais do inhame, pode se destacar a prevenção de doenças como a febre amarela, malária e dengue. A medicina tradicional utiliza este tubérculo para o tratamento das erupções de pele, pois acredita-se no seu poder na limpeza das impurezas. Os nutricionistas destacaram a importância do seu uso em pacientes anêmicos, afirmando a sua riqueza em ferro. Foi descoberto na África que as

túberas de inhame promovem o aumento da fertilidade das mulheres que o consomem com frequência (BALBACH; BOARIM, 1993; READERS'S DIGEST BRASIL, 1999).

A utilização das túberas no preparo de farinhas mistas evidencia a possibilidade de seu uso em substituição a farinha de mandioca, com maiores vantagens, devido ao seu baixo percentual de glúten (BATISTA et al., 2008).

O inhame embora seja uma via de obtenção de alimento e de alta demanda em diversos países do mundo, a sua produção tem sido considerada baixa devido a problemas relacionados a fitossanidade (COSTA, 2010). As doenças causadas por fungos e nematoides, são apontadas como um dos fatores limitantes da sua produção, sobretudo a queima das folhas, causada por *Curvularia eragrostidis* (teleomorfo Cochliobolus eragrostidis Tsuda & Ueyama) (LEITE; NASCIMENTO; OLIVEIRA, 2018), a antracnose cujo agente causador *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc. (SIQUEIRA, 2009) e a casca preta acometida por *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew) Andrássy e *Pratylenchus* spp. (NORONHA, 2015).

Entre os agentes citados, a *C. eragostidis* é o principal patógeno da parte aérea e está amplamente disseminado nos estados produtores de inhame, principalmente da região Nordeste do Brasil (COSTA, 2010), sendo responsável por grandes prejuízos na cultura limitando a sua produtividade (ANDRADE et al., 2010). De forma geral, os danos causados nos órgãos aéreos da planta, devido à queima das folhas causadas pela ação fitopatogênica de *C. eragrostidis*, provocam interferências na capacidade de aproveitamento dos compostos fotoassimilados e, consequentemente, baixo desenvolvimento da planta e a redução de produtividade (MORAES, 2009).

1.2. QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME

A *C. eragrostidis* pertence ao Reino: Fungi, Filo: Ascomycota, Classe: Euascomycetes, Ordem: Pleosporales, Família: Pleosporaceae, Gênero: *Curvularia* (Kimati, 2005). O fungo cresce vigorosamente, produzindo colônias circulares de cor negra no meio da cultura (Batata Dextrose Ágar-BDA). Apresenta conidióforos simples e ramificados as vezes, retos ou curvos, cor marrom escura, multisseptados e com comprimento maior ou igual a 5μm de diâmetro. Os conídios formados no ápice possuem formato elipsoidal ou ovóide, com a presença de três septos transversais e tamanhos que variam dentre 18 – 37 x 11 – 20 μm (FRANÇA, 2011). O patógeno pode ser observado nos tecidos foliares necrosados das plantas submetidas à câmara–úmida, depois do período de 24 a 48 horas, formando-se uma enorme quantidade de conidióforos com conídios (ANDRADE et al., 2010).

Apesar da cultura do inhame ser plenamente adaptada às condições edafoclimáticas do Nordeste do Brasil e de fácil manejo (COSTA, 2010), a queima das folhas também chamada de varíola ou pinta preta do inhame (CARVALHO, 2019), causada pela *C. eragrostidis* (teleomorfo Cochliobolus eragrostidis Tsuda & Ueyama) limita a sua produção, todavia, a incidência e severidade dessa doença são altas nas áreas produtoras da região Nordeste do Brasil (MOURA, 2005).

A primeira reportagem desta enfermidade no Brasil na cultura do inhame, aconteceu em 1964, por Medeiros e Aquino, no estado de Pernambuco (ANDRADE et al., 2010). É uma doença da parte aérea com extrema importância na cultura do inhame (*Dioscorea cayennensis*), pois pode incidir sobre plantios irrigados e de sequeiro em todos os Estados que o produzem. Em alta incidência e severidade, o fungo pode ocasionar perdas na produção de até 100% (BRITO, 2009) ou de 35 a 40% do peso das túberas comerciais (CARVALHO; AMORIM; PEIXINHO, 2021).

A doença ocorre frequentemente acometendo os cultivos de inhame no Nordeste brasileiro, causando manchas necróticas de coloração marrom escura (sintomas primários) e, consequentemente, a redução do crescimento da planta devido às dificuldades da realização do processo de fotossíntese (COSTA, 2010; LEITE; GOMES; OLIVEIRA, 2020). E em algumas circunstâncias, principalmente nas plantas mais jovens, o crescimento das folhas em desenvolvimento é consideravelmente reduzido além de ficarem retorcidas e com um quadro típico de nanismo (LEITE; GOMES; OLIVEIRA, 2020). Também em outras situações, mesmo com baixa frequência da doença, podem aparecer lesões nos pecíolos e nos ramos, resultando em um rápido colapso das folhas, que pode ocorrer dentre sete a dez dias após o início da doença (SANTOS, 1996; MOURA, 2005; BRITO, 2009). Os sintomas secundários desta doença são refletidos na qualidade e no tamanho das túberas (COSTA, 2010).

A incidência de *C. eragrostidis* é influenciada diretamente pela ocorrência de baixa temperatura e de alta umidade do ambiente. Em condições das temperaturas noturnas em média de 21°C e com umidade relativa de 100%; as diurnas com média de 26,5°C e umidade relativa de 65% juntamente com o vento, a doença pode causar, em pequeno intervalo de tempo, a destruição total da área do cultivo (COSTA, 2010; FRANÇA, 2011).

A penetração de *C. eragrostidis* foi verificada, em ambas as faces do limbo foliar de *D. cayennensis*, neste caso, para o seu controle, recomenda-se também, a pulverização das duas faces (adaxial e abaxial) das folhas (RAMOS, 1991).

Apesar de não existirem produtos químicos para o manejo deste patógeno na cultura de inhame, registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

(NORONHA, 2015), para evitar grandes perdas, são realizadas pulverizações com fungicidas à base de triadimenol, mancozeb e tebuconazol (CARVALHO; AMORIM; PEIXINHO, 2021), após o aparecimento dos primeiros sintomas (Santos, 1996). Este método de controle tem sido contribuído no desiquilíbrio da população microbiana no filoplano devido a poluição (GRICOLETTI Jr; SANTOS; AUER, 2000). Além do mais, os fungos fitopatogênicos produtores de conídios multinucleados (PAULA et al., 2000), incluindo *C. eragrostidis* (SIVANESAN, 1990), são capazes de produzir micélios heterocarióticos tornando-se resistentes a fungicidas (SUMMERS; HEANEY; GRINDLE,1984).

As medidas alternativas principalmente aquelas baseadas na utilização dos microrganismos com potencial de controle biológico podem ser melhores opções para minimizar a contaminação do meio ambiente e os danos na cultura causados pela *C. eragrostidis*. Um dos microrganismos que vêm sendo testados ultimamente nas pesquisas laboratoriais como agentes de biocontrole, são as leveduras (FREIMOSER et al., 2019), devido a sua aceitação por parte dos consumidores e seu envolvimento na produção de alimentos e bebidas (FERRAZ, 2014). As leveduras são agentes de controle biológico potencialmente mais efetivos, pois são fenotipicamente mais adaptadas as superfícies vegetais e podem colonizá-las e manterem viáveis por longos períodos, além de exercer mecanismos de competição por espaço e nutrientes (FILONOW, 1998; PIMENTA et al., 2009; RODRIGUES et al., 2018). Estes microrganismos representam os maiores componentes da comunidade microbiana na superfície das folhas (FERRAZ; CUNHA; KUPPER, 2018).

2. CONTROLE DA QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME

2.1. CONTROLE CULTURAL

O controle cultural consiste na utilização de práticas que incrementam o desenvolvimento da cultura. É uma prática de extrema importância visando minimizar os efeitos de doenças sobre a produção da cultura. Atua nos vértices do triangulo da doença (hospedeiro, patógeno e ambiente), objetivando dificultar o estabelecimento e o desenvolvimento do patógeno no campo da produção (AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018). Para isso, recomenda-se utilizar túberas de inhame de boa qualidade, evitar fontes de inóculos através de eliminação da matéria orgânica morta (MORAES, 2009; FRANÇA, 2010), controle de irrigação para evitar a alta umidade, eliminação de partes ou plantas doentes e de hospedeiros alternativos, escolher áreas com boa drenagem do solo, evitar

microclima que pode ser promovido por pequenos espaçamentos entre linhas e plantas, montar barreira de quebra-vento caso possível para evitar a transferência dos esporos do patógeno provenientes das outras áreas (AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018).

2.2. CONTROLE ALTERNATIVO

A procura por métodos alternativos para o manejo de doenças começou desde a consolidação de movimentos contrários. Esses movimentos pretendiam solucionar o problema da fome e alcançou o seu auge nos anos de 1970. Durante este período, foram estudadas várias formas alternativas de controle, sendo utilizadas em vários patossistemas. Os produtos naturais, a exemplo de extratos vegetais provenientes de plantas medicinais merecem destaque nesse sentido (ANDRADE et al., 2010).

Os produtos naturais produzidos na base de plantas medicinais são métodos alternativos para controlar as doenças nas plantações. Estes produtos de modo geral, são extratos aquosos ou óleos essenciais com potenciais de inibição de crescimento micelial e germinação de esporos (BRITO, 2009; COELHO, 2013).

A utilização desses produtos para controle dos fitopatógenos, diferentemente dos fungicidas químicos convencionais, evita a degradação do meio ambiente e promove a saúde do consumidor. As pesquisas baseadas nestes métodos alternativos têm comprovado a eficiência desses produtos no manejo integrado de doenças (PENTEADO, 1999; INNECCO, 2004), desta forma, podem contribuir na redução do uso dos fungicidas altamente tóxicos (ANDRADE et al., 2010).

Algumas plantas, como é caso do alho (*Allium sativum* L.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e nim (*Azadirachta indica* A. Juss.), já foram utilizadas nesse processo de controle alternativo de várias doenças tendo sido mostrado resultados promissores (ABREU JÚNIOR, 1998; PENTEADO, 2001; CARVALHO et al., 2002; BRITO, 2009).

O alho apresenta nicotinamida, inulina, alicina, ajoeno, galantamina, ácidos fosfórico e sulfúrico, proteínas e sais minerais, vitaminas A, B e C, óleos essenciais, glicosídios, glicinas, resinas, enzimas e sulfuretos como os seus constituintes químicos (VIEIRA, 1992; LORENZI, 2002; MARTINS et al., 2003). A sua utilização é na forma de extratos, tinturas e com a mistura de outros compostos no controle de doenças bacterianas, podridão de colmo, míldio, manchas folhares, ferrugens e podridões. (ABREU JÚNIOR, 1998; PENTEADO, 2001; SOUZA, 2007; BRITO, 2009). O extrato de alho já foi utilizado por Carvalho et al. (2021) no controle da queima das folhas de inhame e mostrou eficiência na inibição de esporulação de *C. eragrostidis*. No estudo de Santos et al. (2008), também foi verificada a redução de 15% da

incidência e da severidade da queima-das-folhas do inhame. Ainda, no óleo foi eficiente no controle *in vitro* de doenças ocasionadas por fungos do grupo *Aspergillus flavus* (Viegas*et al.*, 2005) e a ação do seu extrato no desenvolvimento do *Fusarium proliferatum* (Matsush) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg em milho (SOUZA; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2007).

O gengibre possui óleo essencial com um aroma e ação antimicrobiana, que aparece apenas no rizoma fresco. Os seus principais constituintes são gingerol, bisaboleno, zingibereno, citral, cineol, borneol, sesquiterpenos, cafeno, além de açúcares, proteínas, vitaminas do complexo B e vitamina C e carboidratos (VIEIRA, 1992; LORENZI; MATOS, 2002; MARTINS et al., 2003; BRITO, 2009). A utilização de gengibre no controle de doenças em alta escala é através do seu potencial fungitóxico sobre uma gama de fitopatógenos, abrangendo *Curvularia eragrostidis*, em inhame, pois interfere no aspecto do crescimento *in vitro* deste patógeno (CARVALHO et al., 2002).

O nim apresenta azadiractina como o seu componente principal ativo. O extrato é preparado a partir do pó obtido por meio da trituração das folhas ou sementes e a sua aplicação nas plantas é por via de pulverização (VIANA; PRATES; RIBEIRO, 2006). O extrato e o óleo essencial dessa planta mostraram potenciais no controle do oídio (*Oidium lycopersici* Cook e Massee) na cultura do tomateiro (CARNEIRO, 2003).

2.3. CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico de doenças em plantas consiste na utilização de um microrganismo não patogênico para controlar microrganismo patogênico (AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018). O microrganismo não patogênico tem sinônimo de antagonista e com capacidade para intervir nos processos vitais de fitopatógenos dependendo do mecanismo executado e da interação entre eles (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005). Entretanto, qualquer intercessão negativa de um microrganismo no crescimento, infectividade, virulência, agressividade resulta no controle biológico (AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018).

As estratégias baseadas no controle biológico visam diminuir diretamente o uso de produtos de natureza química que causam impactos ambientais, além de permitirem o equilíbrio ambiental e a redução dos custos da produção e preservação da qualidade do produto (MEDEIROS, 2018).

Os fungos do gênero *Trichoderma* spp. vêm sendo utilizados por muito tempo no controle biológico de doenças de plantas e apresentam bons resultados devido aos seus

diversos mecanismos de controle de patógenos da parte aérea das plantas, na proteção de sementes e raízes e assim como os seus efeitos na promoção de crescimento das plantas (AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018). Carvalho, Amorim e Peixinho (2021), estudando sobre a eficiência *in vitro* de *Trichoderma* sp. no controle de *C. eragrostidis*, agente causador da queima das folhas de inhame e observaram que o fungo inibiu totalmente a esporulação do patógeno. Em pesquisa similar realizado por Tenório e Santos (2018), utilizando *Trichoderma* spp., foi concluído que este fungo apresenta a capacidade de inibir o crescimento de *C. eragrostidis*. Os autores ainda sugeriram que o potencial desempenhado por este fungo neste trabalho possivelmente está relacionado à maior concorrência de nutrientes ou da produção de protease e cisteína que inativam o potencial enzimático do patógeno.

As leveduras surgiram ultimamente como alternativas e configuram-se como agentes promissores de controle biológico e podem ser envolvidas nos processos de biocontrole de fitopatógenos no campo, uma vez que são principais colonizadores da flora epifítica dos vegetais, podendo competir com outros microrganismos, por espaço e nutrientes, além da sua produção de compostos antimicrobianos voláteis e não voláteis (SILVA et al., 2015), compostos antifúngicos livres de células, enzimas hidrolíticas que comprometem a atividade do patógeno (FERRAZ; CUNHA; KUPPER, 2018).

As leveduras apresentam várias características que as tornam uma importante opção para biocontrole, como é o caso da alta capacidade da utilização de nutrientes, que lhes permitem a rápida multiplicação, limitando, deste modo, o espaço para o desenvolvimento do fitopatógeno (SPADARO; DROBY, 2016), e a produção de polissacarídeos extracelulares que aumentam a sua sobrevivência em diversos ambientes (KOT et al., 2021).

Os estudos sobre controle biológico de doenças de plantas ainda são escassos, portanto, a contínua realização dos trabalhos pode contribuir no aumento da disponibilidade dos produtos biológicos e reduzir a utilização de agroquímicos, assim, promovendo o consumo de produtos agrícola de forma segura (MIYAUCHI, 2012).

3. UTILIZAÇÃO DE LEVEDURAS NO CONTROLE BIOLÓGICO

As leveduras são microrganismos unicelulares, pertencentes ao reino Fungi, incluindo os filos Basidiomycota e Ascomycota (FEYDER et al., 2015). A classificação das leveduras do filo Basidiomycota inclui os subfilos Pucciniomycotina e Agaricomycotina e o filo Ascomycota está inserido nos subfilos Taphrinomycotina e Saccharomycotina (SPERANDIO, 2012).

A reprodução das leveduras ocorre através de brotamento ou fissão binária (FEYDER et al., 2015). Não formam corpo de frutificação, mas a reprodução sexuada ocorre por via das células especializadas designadas esporos (SPERANDIO, 2012) o que as tornam diferentes dos outros fungos. Possuem células individuais, hifas septadas com intervalos regulares e compostas por uma cadeia alongada de brotos (Amorim, 2014).

A parede celular das leveduras é rígida e núcleo organizado com membrana nuclear (SPERANDIO, 2012) e é formada por quitina, possuindo pequenos orifícios (poros) e corpos de Woronim, além da produção de ascomas (maioria), ascos e ascósporos. (AMORIM, 2014; SANTOS, 2015). Os septos das hifas apresentam vários poros (AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018). São aclorofilados, sem mobilidade e com nutrição heterotrófica por via de absorção de nutrientes devido à ausência de pigmentos fotossintetizantes (FUENTEFRIA, 2004). Crescem bem em condições de baixa umidade, pH ácido e com a temperatura variando entre 25 e 30°C.

Algumas leveduras são capazes de secretar a toxina killer, uma substância de natureza protéica com baixo peso molecular e com potencial de afetar os microrganismos que são sensíveis (SANTOS, 2014). As leveduras podem ser encontradas em vários lugares, em solos com vegetação natural, solos sem cobertura vegetal, em solos cultivados (ARAÚJO, 2013), em superfícies de animais e das plantas, no ar, em águas de rios, lagos e mares (SPERANDIO, 2012). O solo e as folhas são lugares de maior presença de leveduras do filo Basidiomycota todavia, nestes lugares, os nutrientes disponíveis são mais complexos. A presença de leveduras do filo Ascomycota é frequentemente nos lugares ricos em açucares simples, a exemplos de frutos e seus insetos polinizadores (SANTOS et al., 1996).

Segundo Kurtzman e Fell (1998), uma das vantagens que as leveduras do filo Basidiomycota possuem em relação às do filo Ascomycota, são possuir um potencial mais amplo para assimilação de fontes de carbono, presença de características que favorecem a permanência de algumas no filoplano devido a produção de estruturas de resistência, como por exemplo, clamidósporos, capsula mucóide e pigmentos carotenoides que são essenciais na proteção à luz do sol.

As leveduras são apropriadas para utilização no biocontrole devido a sua alta capacidade de permanecer na superfície externa das folhas (FILONOW, 1998) incluindo o modo acelerado de reprodução que lhes dão vantagens a vencer os patógenos fúngicos (ELTARABILITY; SILVASITHAMPARAM, 2006). Essa capacidade de permanência prolongada na superfície externa das folhas, relacionada, principalmente ao potencial de formação de clamidósporos, por sua vez, confere a resistência destas ao processo de

dessecação. Estas características, associadas a diversidade de leveduras presentes no filoplano podem ser consideradas como fatores determinantes do seu sucesso nos processos de colonização, proliferação e manutenção (FUENTEFRIA, 2004).

No decorrer do processo de biocontrole, as leveduras utilizam as suas propriedades que se baseiam na competição por nutrientes, parasitismo, colonização de ferimentos, produção de enzimas hidrolíticas, compostos antibióticos e toxinas *killer* (FERRAZ; CUNHA; KUPPER, 2018). Além destas, também são indutores de resistência das plantas (FREIMOSER et al., 2019). A competição por espaço e nutrientes é considerada em leveduras, como um dos mecanismos antagônicos mais importantes. Essa afirmação é sustentada pelo processo de reprodução e de assimilação de nutrientes disponíveis no meio (COELHO, 2013; RODRIGUES, 2016). As leveduras dos gêneros *Candida* e *Rhodotorula*, independentemente da produção de substâncias antibióticas e tóxicas, também podem produzir sideróforos, compostos orgânicos que atuam na captação de ferro. A produção destes compostos concede estas leveduras, privilégios especiais de competição (ROSA et al., 2010).

Os estudos envolvendo leveduras no controle de doenças de plantas e em pós-colheita já foram realizados por vários pesquisadores (ARAÚJO, 2013; RODRIGUES, 2016). Eltarability e Silvasithamparam (2006) citaram os gêneros *Debaryomyces, Kloeckera, Sporothrix, Saccharomyces, Zygosaccharomyces, Sporobolomyces, Metschnikowia, Rhodotorula, Cryptococcus, Aureobasidium, Pichia* e *Candida* como leveduras que apresentam mecanismos de biocontrole. Rodrigues, Pires e Luz (2019), concluíram em alguns estudos sobre potencial de leveduras que, a espécie *Rhodosporidium paludigenum* é um agente bastante eficiente e pode ser utilizado no processo de controle biológico.

O mecanismo antagônico da competição por espaço e nutrientes, relacionado a rápida assimilação de nutrientes no meio em que se encontram abrangendo a reprodução em pequeno intervalo de tempo, é um dos mais importantes exercidos por leveduras. Estas particularidades que apresentam despertam a atenção dos pesquisadores interessando-os na sua contínua investigação sobre os seus comportamentos em diferentes ambientes (COELHO, 2013; ELTARABILITY; SILVASITHAMPARAM, 2006). Para Spadaro e Gullino (2002); Zhang et al. (2008), as leveduras dos gêneros *Rhodosporidium* e *Rhodotorula* utilizam com frequência o mecanismo da competição por nutrientes na pós-colheita tendo em conta a este estar ligado à capacidade de controle da deterioração de frutos. Filonow (1998) tem sugerido ainda que possivelmente estas leveduras podem agir por antibiose no controle de deterioração das frutas na pós-colheita. Segundo Lima et al. (2000) e Filonow (1998), a produção de ácido rodotorúlico e de β-1,3-glucanase por *Rhodotorula glutinis* (Fresen.) F.C. Harrison pode estar

envolvida durante o processo de antagonismo. Para além das ações mencionadas, há ainda relatos de que *R. paludigenum* Fell & Tallman apresenta grande capacidade em seu crescimento populacional e adaptação quanto à salinidade (WANG et al., 2010), acidez (WANG et al., 2014), e quitina (LU et al., 2014). Muitas dessas ações inibitórias de *R. paludigenum* são incrementadas por enzimas do grupo das β-1,3-glucanase (GLU), polifenoloxidase (PPO) fenilalanina amônioliase (PAL) e peroxidase (POD) (Zhao*et al.*, 2008). Essas enzimas têm sido estudadas na área de biocontrole de pós-colheita por estarem ligadas na resistência das doenças de plantas (RODRIGUES, 2018).

A levedura *R. paludigenum* é capaz de reduzir a deterioração dos frutos de modo significativo, possibilitando o aumento do tempo destes na prateleira (LU et al., 2014). Num estudo realizado por Lu et al. (2013), esta levedura foi aplicada antes do desligamento dos frutos de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco cv. *ponkan*) na planta e diminuiu consideravelmente a severidade da doença ocasionada por *Penicillium italicum* e *P. digitatum*. Em outro estudo feito por Wang et al. (2010), a *R. paludigenum* foi testada *in vitro* e *in vivo* sobre mofo cinzento do tomate cereja, causado por *Botrytis* sp. e chegaram à conclusão de que este antagonista tem a capacidade de reduzir a porcentagem da incidência de doença, o que torna evidente que o mecanismo utilizado por ela é de competição por nutrientes. Rodrigues, Pires e Luz (2019) mencionaram ainda que, entre todos os antagonistas utilizados no controle da murcha de cacaueiro, *R. paludigenum* (LEV169) causou maiores porcentagens de inibição de *C. cacaofunesta*, o que comprova o alto potencial desta levedura para o controle biológico.

A capacidade de *Rhodotorula* sp. no controle de doenças é mencionada por vários autores (RODRIGUES, 2016), sendo testada contra *Botrytis cinerea* e mostrou potencial na sua inibição da germinação de esporos (EL-TARABILITY; SILVASITHAMPARAM, 2006). Também foi verificado que *R. mucilaginosa* apresentou bons resultados no controle de *Penicillium expansum* Link em maçãs, utilizando o mecanismo da competição por nutrientes (COELHO et al., 2011).

As espécies *Candida albidus* Saito & Skinner var. *aerius* e *C. guillermondii* (Castell.) Langeron & Guerra constituem o grupo dos primeiros agentes eficientes de biocontrole das doenças de pós-colheita de hortaliças e frutas (ARAÚJO, 2013). Existem no mercado produto comercial Aspire®, à base de *C. oleophila* I-182 para o controle de diversas doenças fúngicas (BETTIOL et al., 2012; SENHOR et al., 2009; SILVA et al., 2014). O potencial de *C. musea* ("Nakase" SA Mey & Yarrow), *C. quercitrusa* "SA Mey & Phaff") e *Pichia guillermondii* no biocontrole de *Colletotrichum capsici* "Syd.") EJ Butler & Bisby) na cultura de pimentão (*Capsicumannum* L.) (Chanchaichaovivat; Bhinyo; Ruenwongsa, 2008) já foi verificado na Tailândia e também de *C. membranifaciens* ("Lodder & Kreger" Wick. & Burton) utilizada para inibição de *C.*

gloeosporioides em manga (mangifera indica L.), na Etiópia (Kefialew; Ayalew, 2008). De acordo com Souza et al. (2014), a *Pichia burtonii* mostrou-se ser eficiente quando foi utilizada no controle de *C. cacaofunesta* na cultura de Cacau, inibindo o crescimento e a esporulação do patógeno.

Sporobolomyces roseus Kluyver & C.B. Niel tem demonstrado também um elevado potencial no controle biológico (MELO, 2012; COELHO et al., 2011; ALVES, 2007). Segundo Rodrigues, Pires e Luz (2019), a aplicação desta levedura nas raízes das plântulas de Cacau contra *C. cacaofunesta*, reduz a taxa de mortalidade. Fokkema e Meulen (1976), também aplicaram esta mesma levedura contra *Septoria nodorum* nas folhas de trigo e verificaram a redução de 50% da infecção.

As leveduras, ainda que, com vantagens descritas no controle biológico das doenças de plantas em relação aos outros antagonistas, não foram encontradas informações sobre o seu envolvimento no controle de *C. eragrostidis* na cultura de inhame no campo, sendo escassas referências bibliográficas voltadas a esse tema. Dessa forma, este trabalho teve objetivo de avaliar e selecionar leveduras potencialmente biocontroladores de *C. eragrostidis* e da queima das folhas em inhame.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMO M.A. Taioba, cará e inhame: o grande potencial inexplorado. São Paulo: Editora Ícone, 1990, p. 80.

ABREU JÚNIOR, H. **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura: coletânea de receitas**. Campinas, SP: EMOPI, 1998, p. 115.

ALVES, M. L. N. Avaliação do potencial de leveduras dos géneros Pseudozyma e Rhodosporidium no controlo biológico póscolheita de bolodres. 2007. Dissertação (Mestrado em Controlo da Qualidade e Toxicologia dos Alimento). Lisboa, Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, Portugal, 2007, p. 121.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. Departamento de Fitopatologia e Nematologia – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. **Agronômica Ceres Ltda**. Volume I; 5°edição, 2018, p. 128-275.

ANDRADE, D.E.G.T. et al. Manejo alternativo da casca—preta e da queima das folhas do inhame. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, vol.7, 2010, p. 209-223.

ARAÚJO, E. R. **Controle biológico em morangos in natura**. 2013. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013, p. 17-18.

AULER, A. C. V.; CARVALHO, D. D. C.; MELL, S. C. M. Antagonismo de Trichoderma harzianum a Sclerotium rolfsii nas culturas do feijoeiro e soja. **Revista Agro@mbiente online**, v. 7, n. 3, 2013, p. 01-07.

BALBACH A.; BOARIM D. F. S. **As hortaliças na medicina natural**. 2ª ed., São Paulo: Missionária, 1993, p. 436.

BATISTA et al. Farinha de inhame (*Dioscorea sp.*): uma alternativa para celíacos. In: **I Jornada Científica e VI FIPA do CEFET Bambuí**, Bambuí. Anais, 2008, p. 02-03.

BARROSO, G.M. et al. Flora da Guanabara; família Dioscoreaceae. **Sellowia**, n. 25, 1974, p. 09-256.

BETIOL, W. et al. Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas. **Embrapa Meio Ambiente Jaguariúna**, ISSN 1517-5111, 2012, p. 98.

BRAINER, M. S. C. P. Informe setorial de hortaliças. **Caderno Setoria ETENE**, Ano 4, nº 105, 2019, p. 06-07.

BRITO, N. M. Alternativas de controle da queima das folhas do inhame (*Dioscorea cayennensis*). 2009. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, 2009, p. 04-07.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito de extratos de folhas e de óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 29, 2003, p. 262-265.

CARVALHO, R. A.; LACERDA, J. T.; OLIVEIRA, E. F.; SANTOS, E. S. Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste. In: II Simpósio Nacional sobre as culturas do inhame e do taro. João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, PB: EMEPA – PB, v. 1, 2002, p. 99-112.

CARVALHO, V. N. Controle alternativo da pinta preta do inhame (*Dioscorea* sp.). 2019. Dissertação (Mestrado em proteção de plantas) — Universidade Federal de Alago, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2019, p. 15.

CARVALHO, V.N.; AMORIM, E.P.R.; PEIXINHO, F.S. Avaliação da eficiência de diferentes formas de controle da queima das folhas do inhame causada por *Curvularia* eragrostides. **Summa Phytopathologica**, v.47, n.1, 2021, p. 34-37.

CHANCHAICHAOVIVAT, A.; BHINYO, P.; RUENWONGSA, P. Putative modes of action of *Pichia guilliermindii* strain R13 in controlling chilli anthracnose after harvest. **Biological control**, Orlando, v.47, 2008, p. 207-215.

CHEVALIER A. Nouvelles recherches sur les ignames cultivées. Revue Internationale de Botanique appliquée à l'Agriculture Tropicale 26, 1946, p.26-31.

CLEMENT, C.R. et al. Origin and domestication of native Amazonian crops. **Diversity**, **2**, 2010, p. 72-106.

COELHO, I. L. Potencial de leveduras no biocontrole da resinose do coqueiro, causada por Ceratocystis paradoxa. 2013. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) — Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2013, p. 08-17.

COELHO, A. R. et al. Avaliação do potencial antagônico de leveduras, visando biocontrole de deterioração por Penicillium expansum. **Ciências Agrárias** (Brasil) 32 (1), 2011, p. 1879-1892.

COPR.**Pest control intropical root crops**. London: Centre for Overseas Pest Research, 1978, p.235.

COSTA, S. N. Patogenicidade e agressividade de *Curvularia eragrostidis* em inhame (*Dioscorea rotundata*). 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Centro de Ciências Agrárias, ambientais e biológicas curso de ciências biológicas. Cruz das Almas, Bahia, 2010, p.01-16.

COUTO, R. S.; LOPES, R. C.; BRAGA, J. M. A. *Dioscorea flabellispina* (Dioscoreaceae), a new endangered species from the Brazilian Atlantic Rainforest. **Phytotaxa**, v. 231, n. 1, 2015, p. 89–94.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T. **The Monocotyledons**: A comparative study. London: Academic Press, 1982, p. 378.

EL-TARABILY, K. A.; SILVASITHAMPARAM, K. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plants growth promoters, Mycosciense, 47(1), 2006, p. 25-35.

FEYDER, S. et al. Membrane Trafficking in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 1, 2015, p. 1509-1525.

FERRAZ, L. P.**Estudo dos mecanismos de ação de leveduras envolvidos no biocontrole de doenças de pós-colheita em citros**. 2014. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014, p. 08.

FERRAZ, L. P.; CUNHA, T.; KUPPER, K. C. Mecanismos de ação de isolados de leveduras envolvidos no biocontrole de *Penicillium digitatum*, agente causal do bolor verde em frutos cítricos. **Citrus Res. Technol.**, 39, e-1033, 2018, p. 01-12.

FILONOW, A. B. Role of competition for sugars by yeast in the biocontrol of gray mold of apple. **Biocontrol Science and Technology**, Oxfordshire, v. 8, n. 2, 1998, p. 242-256.

FREIMOSER, F. M.; RUEDA-MEJIA, M. P.; TILOCCA, B.; MIGHELI, Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2019, p. 03.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION (FAO). Food & Agricultural Organizativos. **Production Year Book**. Trade vol. 46(115), 2005, p. 18-24.

FAO (2010). Food and Agricultural Organization. FAOSTATDATA. FAO, Rome, Italy.Disponível em: https://www.feedipedia.org/node/3255. Acesso em: junho de 2020.

FAO. (2005). **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/Agricultural statistic database**. Roma.World Agricultural Information Center, Disponívelem: < http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S >. Acesso em: maio de 2020.

FOKKEMA, N. J.; MEULEN, V. D. Antagonism of yeast like phyllosphere fungi against Septoria nodorum on wheat leaves. **Netherlands Journal of Plant Pathology 82**, 1976, p. 13-16.

FRANÇA, I. F. Estrutura e relações genéticas de *curvularia eragrostidis* no nordeste do **Brasil**. 2011. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2011, p. 10-19.

FUENTEFRIA, A. M.Identificação e avaliação do potencial biotecnológico de Leveduras e Fungos semelhantes a Leveduras isolados de filoplano *Hibiscus rosa-sinensis*. 2004.

Dissertação (Microbiologia Agrícola e do Ambiente) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004, p. 04.

GOMES, A. M.A.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R. Tratamento pós-colheita com cálcio e microrganismos para controle da podridão-mole em tomate. **Horticultura brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n.1, 2005, p. 108-111.

Grigoletti Jr, A.; Santos, A. F. dos; Auler, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta** 30(1/2), 2000, p. 155-165.

IBGE. (2021). SIDRA – **Sistema de recuperação automática. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Unidade Estadual – AL. Supervisão Estadual de Pesquisas Agropecuárias. Disponivel em: https://www.Sidra.Ibge.gov.br. Acessado em fevereiro, 2021.

INNECCO, R. Controle alternativo de patógenos de sementes. In: VIII Simpósio

Brasileiro de Patologia de Sementes, João Pessoa. Anais... João Pessoa, PB. João Pessoa: EMEPA – PB, v.1, 2004, p. 12-15.

INSTITUTO AGRONOMICO DE PERNAMBUCO (IPA). (2008). Cultura de inhame. Disponível em: http://www.ipa.br/resp19.php. Acessado em fevereiro de 2021.

IPGRI/IITA. **Descriptors for Yam** (*Dioscorea* spp.). Rome, Italy: International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria/International Plant Genetic Resources Institute, 1997, p. 61.

KEFIALEW, Y.; AYALEW, A. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica* L.). **Postharvest biological** and technology, Amsterdan, v.50, 2008, p.08-11.

KIMATI, H. et al.Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. Ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 2005, p. 415-419.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. The Yeasts, a taxonomic study. 4° Ed. Amstrdam: **Elsevier Science Publieshers**, 1998, p. 1088.

KOT, A. M. et al. Sporobolomyces and Sporidiobolus e non-conventional yeasts for use in industries. Fungal Biology Reviews, v.37, 2021, p. 41-58. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.06.001.

LEBOT, V. Tropical root and tuber crops: Cassava, sweet potato, yams and aroids. **CABI**, 2009, p. 413.

LEITE, R.P.; NASCIMENTO, L.C.; OLIVEIRA, M.D.M. Inoculação de *Curvularia* eragrostidis em inhame (*Dioscorea alata*) cv. São Tomé. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.3, 2018, p. 281-282.

LEITE, R.P.; NASCIMENTO, L.C.; GOMES, E.C.S.; OLIVEIRA, M.D.M.Indução de resistência no manejo da queima das folhas do inhame. *Summa Phytopathologica*, v.46, n.1, 2020, p. 31-35.

LIMA, L. H. C. et al. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). Controle Biológico. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, v.2, 2000, p. 268 – 304.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, p. 512.

LU, L. et al. *Rhodosporidium paludigenum* induces resistance and defense-related responses against *Penicillium digitatum* in citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, 2013, p. 196-202. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.014.

LU, H. et al. Effect of chitin on the antagonistic activity of *Rhodosporidium paludigenum* against *Penicillium expansum* in apple fruit. **Postharvest Biology and Technology** v. 92, 2014, p. 9–15. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.01.009.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2003, p. 220.

MEDEIROS, A.G.; AQUINO, M.L.N. Ocorrência de *Curvularia maculans* (Bancroft) Boedijn var. *macrospora*, nova variedade, em folhas de cará (Dioscoreaceae) no Estado de Pernambuco. Instituto de Pesquisas Agronômicas. **Boletim Técnico, n. 7**, 1964.

MEDEIROS, T.R. et al. Controle alternativo do fungo *Curvularia* sp com o uso de extratos alcoólicos. **Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF** – Vol. 13, N° 1, Jul, 2018, p. 01-02.

MELO, E. A. **Eficácia de leveduras no biocontrole da mancha aquosa em meloeiro**. 2012. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) — Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2012, p. 58.

MELO, R. F.; ANJOS, J. B.; PEREIRA, J. S. Efeito da adubação orgânica no desenvolvimento e rendimento do inhame da costa (*Dioscorea cayennensis*) em sistema 21 irrigado no Submédio do Vale do São Francisco. Petrolina, PE: **EMBRAPA Semiárido**, 2013, p. 04.

MENDES, H. T. A. et al. Antagonismo in vitro de Trichoderma longibrachiatum e Trichoderma harzianum aFusarium oxysporum f. sp. cubense. **Cadernos de Agroecologia** – **ISSN 2236-7934** – **Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF** – Vol. 13, N° 1, 2021, p. 01-06.

MENDÉZ, S. V.; MONDINO, P. Control biologico postcosecha en Uraguay. **Horticultura Internacional**, Reus, v. 7, n. 26, 1999, p. 29-36.

MESQUITA, A. S. Inhame na Bahia: a produção a caminho da competitividade. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 4, n. 2, 2001, p. 39-48.

MIYAUCHI, M. Y. H. **Biocontrole de fungos fitopatogênicos por actinobactérias isoladas de rizosfera de Araucaria angustifólia**. 2012. Tese (Doutorado em ciências) — Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, 2012, p. 19-20.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – **Imprensa Universitária**, 2005, p. 303-312.

MORAES, EDILENE MARIA DA SILVA. Análise de espécies de *Curvularia* associadas à cultura do inhame no Estado de Alagoas. 2009. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Proteção de Plantas) — Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrarias, Rio Largo, 2009, p. 01-18.

MOURA, R. M. Doenças do inhame-da-costa (*Dioscorea cayennensis*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4ª edição. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 2005, p. 415-419.

NORONHA, M. A. **Comunicado Técnico**: principais doenças do inhame (*Dioscorea Cayennensis*) nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste. ISSN 1678-1937 dezembro, Aracaju, SE, 2014, p. 01.

NORONHA, M. A. Manejo da queima das folhas e casca preta do inhame. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 1ª edição on-line, Aracaju, SE, 2015, p. 01-02.

NORONHA, M. A. (2015). **Comunicado Técnico**: Intensidade da Queima das Folhas do Inhame no Estado de Alagoas. Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678:1937 dezembro, 2015, p. 01-06.

OLIVEIRA, A.P.; SILVA D.F.; SILVA, J.A.; OLIVEIRA ANP; SANTOS, R.R.; SILVA, N.V.; OLIVEIRA, F.J.M. Tecnologia alternativa para produção de túberas-semente de inhame e seus reflexos na produtividade. **Horticultura Brasileira**; v. 30, n. 3, jul – set, 2012, p. 01-02.

PAULA, H. et al. Variabilidade de aislamients de *Curvularia eragrostidis* que causan atizonamiento de las hojas de ñame (*Dioscorea cayennensis*) en Pernambuco, Brasil. **Boletín Micológico** vol. 15, 2000, p. 85-92.

PEDRALLI G. Dioscoreaceae. In: RIBEIRO J. E.; HOPKINS M; VICENTINI A. (eds). Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme da Amazônia. 1ª ed. Manaus, AM: INPA/DFID, v. 1, 1999, p. 723-724.

PEDRALLI, G. Dioscoreaceae e Araceae: Aspectos taxonômicos, Etnobotânicos e Espécies nativas com Potencial para Melhoramento Genético. In: II SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO. Anais. João Pessoa, PB: **EMEPA-PB**, 2002, p. 39-53.

PENTEADO, S. R.**Defensivos alternativos e naturais para uma agricultura saudável**. Campinas: Ed. D'Áurea, 1999, p. 79.

PENTEADO, S. R. A utilização dos defensivos alternativos na agricultura: histórico e perspectivas. In: HEIN M.; GUEDES, A. C. L.; AGUIAR, M. S. Resumos do 1ºEncontro de Processos de Proteção de Plantas: controle ecológico de pragas e doenças. **Agroecológica**, Botucatu, 2001, p. 13-21.

PIMENTA, R. S. et al. Utilization of Yeasts in Biological Control Programs, Yeast Biotechnology: Diversity and Applications. Springer Science 1, 2009, p. 200-212.

RAMOS, J. E. L. Estudos sobre a etiologia da queima das folhas do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) e eficiência dos fungicidas mancozeb e iprodione no controle dadoença. 1991. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1991, p. 101.

READERS'S DIGEST BRASIL. Alimentos saudáveis, alimentos perigosos: guia prático de uma alimentação rica e saudável. São Paulo, 1999, p. 400.

RODRIGUES, G. S. Antagonismo de *Trichoderma* spp. e Leveduras à *Ceratocystis cacaofunesta*. 2016. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) -Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2016, p. 17-18.

RODRIGUES G. S. et al. Antagonismo de leveduras ao agente etiológico da Murcha de Ceratocistis em Cacaureiro. **Agrotrópica** 30(2), 2018, p. 83-92. DOI:10.21757/0103-3816.2018v30n2p83-92.

RODRIGUES, G. S.; PIRES, J. L.; LUZ, E. D. M. N. Índice de severidade da vassoura de bruxa para avaliar genótipos de cacaueiro inoculados artificialmente. **Agrotrópica**, Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, Bahia, Brasil, 30(2), 2019, p. 83 - 92.

ROSA, M. M. et al. Evaluation of the biological contrl by yeast Torulaspora globosa against Colletotrichum sublineolum in sorgum. **World Journal Microbiol Biotechnol**, v. 26, n. 1, 2010, p. 1491-1502.

SANTOS, E. S. Inhame (*Dioscorea* spp): aspectos básicos da cultura. João Pessoa: EMEPA-PB, SEBRAE, 1996, p. 158.

SANTOS, E. A.; De OLIVEIRA, R. B.; MENDONÇA-HAGLER, L. C.; HAGLER, A. N. Yeasts associated with Flowers and fruits from a semi-arid region of northeastern Brazil. **Review of Microbiology**, v.27, 1996, p. 33-40.

SANTOS, E. S. Manejo sustentável da cultura do inhame (D*ioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2. João Pessoa, PB. **Anais**... João Pessoa: EMEPA-PB; v. 1, 2002, p. 181-195.

SANTOS, E. S.; CAZÉ FILHO, J.; LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Inhame (Dioscorea sp.) tecnologias de produção e preservação ambiental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 1, n. 1, 2007, p. 01-02.

SANTOS, E. S.; CARVALHO, R. A.; LACERDA, J. T. Alternativas naturais e ecológicas no controle de doenças fúngicas do inhame (*Dioscorea* spp.). **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, João Pessoa, v.2., n.2, 2008, p. 01-06.

SANTOS, D. A.**Controle biológico em morangos in natura**. 2014. Trabalho de conclusão do curso (Bacharelado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Londrina, 2014, p. 22-23.

SENHOR, R. F. et al. Manejo de doenças pós-colheita. **Revista Verde**, v. 4, n. 1, 2009, p. 01-13.

SILVA, M. S. et al. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 4, 2014, p. 718-725.

SILVA, A. M. et al. Eficiência de espécies de leveduras no controle de doenças pós-colheita de manga. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**-EMBRAPA, 2015, p.03.

SIQUEIRA M.V.B.M. Inhame (Dioscorea spp): uma cultura ainda negligenciada. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo — Departamento de Genética. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009, p. 03-06.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos demilho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.6, 2007, p. 465-471.

SOUZA, M. L. et al. Fator pH e Inibição da Produção de Esporos de Fungos Toxigênicos em Co-Cultivo com Leveduras. In: Congresso Latinoamericano de Microbiologia e Higiene de Alimentos, 12°. **Anais**. São Paulo, SP, Editora, Blucher, 2014, p. 541-542.

SPADARO, D.; GULLINO, M.L. Mechanism of action and efficacy of four isolates of the yeast *Metschnikowia pulcherrima* active against postharvest pathogen on apples. **Postharvest Biol. Technol**, v. 24, 2002, p. 123-134.

SPADARO, D; DROBY, S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. Trends Food Sci Technol 47, 2016, p. 39–49. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.003.

SPERANDIO, E. M. Ocorrência, diversidade e potencial biotecnológico de leveduras associadas a plantas do Cerrado. 2012. Dissertação (Mestrado em fitopatologia) - Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, 2012, p.07-08.

SUMMERS, R.W.; HEANEY, S.P.; GRINDLE, M. Studies a dicarboximide resistant heterokaryon of *Botrytis cinerea*. **I Brighton Crop Protection Conference**. Proceedings. Pes and Diseases, 1984, p. 453-458.

TENÓRIO, F. A.; SANTOS, T. M. C. *In Vitro* Inhibition of *Curvularia eragrostidis* by the Antagonistic Fungi *Trichoderma* spp. and *Acremonium cephalosporium*. **International Journal of Agriculture Innovations and Research** Volume 6, Issue 6, ISSN (Online) 2319:1473, 2018, p. 01-04.

VIANA, P.A.; PRATES, H.T.; RIBEIRO, P.E.A. Uso do extrato aquoso de folhas de NIM para controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. **Circular Técnica** nº88, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Sete Lagoas- MG, 2006, p. 01-05.

VIEGAS, E. C.; SOARES, A.; CARMO, M. G. F.; ROSSETTO, C. A. V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*.**Horticultura Brasileira**, v. 23, n.4, 2005, p. 915-919.

VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia: manual de plantas medicinais**. 2ª Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992, p. 347.

WANG, Y. et al. Control of postharvest decay on cherry tomatoes by marine yeast *Rhodosporidium paludigenum* and calcium chloride. **J. Appl. Microbiol**. v. 109, 2010, p. 651–656.

WANG, Y. et al. Acid adaptation and biocontrol efficacy of antagonistic marine yeast *Rhodosporidium paludigenum*. **J. Appl. Microbiol**., v. 64, 2014, p.503-508.

WANG, Y. et al. Biocontrol of postharvest gray mold of cherry tomatoes with the marine yeast *Rhodosporidium paludigenum*. **Biol. Control**, v. 53, 2010, p. 178–182.

WILSON, C. L. et al. A selection strategy for microbial antagonists to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 53, n. 3, 1993, p. 182-189.

XUE, Z., et al. New steroid saponins from *Dioscorea Zingiberensis* yam and their medicinal use against I/R via anti-inflammatory effect. **Food & Function**, 8314-83252021, p. 01-12. https://doi.org/10.1039/D1FO01301G.

ZHAO, Y. et al. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, 2008, p. 113–120.

ZHANG, H. Y. et al. Control of postharvest pear diseases using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. **Int J Food Microbiol**, v. 126, 2008, p. 167–171.

CAPÍTULO I	I =
Potencial biocontrolador de leveduras a <i>Curvularia eragrostidis</i> e da queima das folh em inhame	
Potencial biocontrolador de leveduras a <i>Curvularia eragrostidis</i> e da queima das folh	
Potencial biocontrolador de leveduras a <i>Curvularia eragrostidis</i> e da queima das folh	
Potencial biocontrolador de leveduras a <i>Curvularia eragrostidis</i> e da queima das folh	
Potencial biocontrolador de leveduras a <i>Curvularia eragrostidis</i> e da queima das folh	
Potencial biocontrolador de leveduras a <i>Curvularia eragrostidis</i> e da queima das folh	

- 1 Potencial biocontrolador de leveduras a Curvularia eragrostidis e da queima
- 2 das folhas em inhame

3

- 4 Dionísio Gomes Kór¹. Iwanne Lima Coelho¹. Sérgio Batista Ramos². Igor Alexsander de
- Melo Pimentel¹. Elder Felipe de Moura Silva¹. Rejane Pereira Neves². Cícero Pinheiro
- 6 Inácio². Marcos Paz Saraiva Câmara¹. Willie Anderson dos Santos Vieira¹. João Izidoro
- 7 da Silva Filho³. Delson Laranjeira¹.

8

- 9 (1)Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,
- 10 Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife-PE, Brasil.
- 11 (2)Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade
- 12 Universitária, CEP: 52171-900, Recife-PE, Brasil.
- ³Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Rua Misael Galindo, Centro, CEP: 55680-000,
- 14 Bonito-PE, Brasil.
- Autores correspondentes: Endereço de E-mail: dionisiokor2014@gmail.com (Dionísio Gomes
- 16 Kór); iwannecoelho@gmail.com (Iwanne Lima Coelho) e delson.laranjeira@ufrpe.br (Delson
- 17 Laranjeira).

18

- 19 **RESUMO** O inhame da costa (*Dioscorea cayennensis*) é uma das culturas que contribuem mais na
- 20 geração de renda para grandes e pequenos produtores no Nordeste brasileiro. A sua produção é muito
- 21 afetada pela queima das folhas causada pelo fungo Curvularia eragrostidis. A doença é de alta
- 22 incidência e severidade em todas as áreas de produção do inhame especialmente na região Nordeste.
- 23 São utilizados agroquímicos não registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- para o controle desta doença e isso pode causar efeitos indesejáveis para o homem e ao meio ambiente,
- 25 além do surgimento de doenças iatrogênicas. O biocontrole utilizando leveduras pode ser uma

alternativa viável para auxiliar no manexo desta doença devido a sua baixa agressividade ao meio ambiente. Objetivou-se avaliar e selecionar leveduras potencialmente biocontroladores a *C. eragrostidis* e da queima das folhas em inhame. Foram testados 15 isolados do fungo quanto a sua patogenicidade e 14 causaram sintomas, portanto, foi selecionado o isolado CFS 996 para testes *in vivo* por ser um dos que causaram maiores percentuais da severidade de doença. Foram feitos os testes de antagonismo *in vitro* dos 77 isolados de leveduras através do pareamento com os isolados do patógeno e 5 apresentaram maior potencial de inibição de crescimento micelial do patógeno sendo selecionados para testes de biocontrole. Entre os 5 isolados de leveduras utilizados no biocontrole, apenas os isolados Y047, Y051 e Y052b que reduziram os sintomas de forma significativa mostrando ser promissores agentes de controle biológico.

- 37 Palavras-chave: Dioscorea cayennensis. Controle biológico. Crescimento micelial.
- 38 Curvularia eragrostidis. Cochliobolus eragrostidis. Potencial antagônico.

INTRODUÇÃO

O inhame (*Dioscorea cayennensis*) é uma das culturas com grande importância na dieta humana (Carvalho, 2019) devido as excelentes características nutricionais das suas túberas (Polycarp et al., 2012), apresentando-se como base alimentar em vários países tropicais (Andrade et al., 2010). No Brasil, o cultivo de inhame vem aumentando nos últimos anos e a região Nordeste é responsável pelo aumento da produção (Leite et al., 2018). Os estados da Paraíba, Pernambuco, Bahia, Alagoas, Maranhão e Sergipe configuram-se como maiores produtores (Noronha, 2014; Moraes, 2009). A quantidade produzida em 2017 foi de 336.195 mil toneladas, onde o Estado de Paraíba participou com maior quantidade produzida, seguido pelos Estados de Pernambuco, Bahia, Alagoas, Maranhão e Sergipe (IBGE, 2021).

Apesar do aumento do cultivo de inhame, a produção está sendo limitada cada vez mais devido à ocorrência de doenças, dentre as quais a queima das folhas, causada pelo fungo

Curvularia eragrostidis (Henn.) Meyer [teleomorfo Cochliobolus eragrostidis Tsuda & Ueyama], é considerada a principal doença da parte aérea dessa cultura. O patógeno ataca plantas de inhame acometendo nas folhas, manchas necróticas de coloração marrom-escura, com centro claro (Noronha, 2015; Leite et al., 2018). Em altos níveis de doença, pode ocorrer a queda das folhas refletindo se no tamanho e na qualidade das túberas.

Os danos causados na cultura são reduzidos por via de pulverização com fungicidas à base de triadimenol, mancozeb e tebuconazol (Carvalho et al., 2021). A utilização destes produtos vem preocupando a população devido a questão da sua agressividade ao meio ambiente e da saúde humana (Sui et al., 2015), o surgimento de doenças iatrogênicas, a eliminação de microrganismos benéficos e a redução da biodiversidade (Bettiol e Morandi, 2009), além da sua perda de eficiência com o passar do tempo visto que os microrganismos patogênicos produtores de conídios multinucleados, incluindo *C. eragrostides*, podem sofrer mutações e tornam-se resistentes (Paula et al., 2000).

A busca por soluções ou alternativas seguras e ecológicas (Dukare et al., 2018), visando atender o atual interesse da população mundial em causar menos impactos negativos ao meio ambiente, despertou a atenção e o interesse dos pesquisadores em utilizar os microrganismos com potencial biocontrolador. O emprego destes microrganismos é uma estratégia de controle de doenças com menos agressividade ao meio ambiente (Ferraz, 2014).

As leveduras são microrganismos promissores que vêm sendo utilizadas ultimamente nas pesquisas laboratoriais devido a sua alta capacidade de tolerar as condições ambientais estressantes e da competição com outros microrganismos patogênicos (Droby et al., 2016). As leveduras já foram testadas contra alguns microrganismos patogênicos, incluindo *C. eragrostidis*, agente causador da queima das folhas de inhame e mostraram potencial na inibição do seu crescimento (Ferraz et al., 2018). Considerando-se estas vantagens que as leveduras apresentam para biocontrole, torna-se fundamental a realização dos estudos para melhor entendimento dos seus comportamentos. Por esta razão, o presente trabalho objetivou

avaliar e selecionar leveduras antagonistas a *C. eragrostidis* e potencialmente biocontroladores da queima das folhas em inhame.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fungos do solo (LAFSOL) e casa de vegetação de Centro de Pesquisa de Produção Vegetal-CEPEVE da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE (08°01'S e 34°51'W), no período de abril de 2020 a janeiro de 2022.

OBTENÇÃO DE PLANTAS DE INHAME

As túberas de inhame (cultivar inhame da costa) foram adquiridas em cultivo comercial situado no município de Bonito, Pernambuco, Brasil. As plantas com aproximadamente 4 meses de crescimento foram obtidas por meio de semeio das túberas sementes em vasos com capacidade de 5L contendo substrato (are ia +fibra vegetal) na proporção de 2:1 e mantidas em casa de vegetação com a temperatura e umidade média de 36 ± 2° C e 55 ± 2%. As plantas de aproximadamente 3 meses de crescimento foram tutoradas com Fio de sisal para orientar o seu crescimento.

OBTENÇÃO E ISOLAMENTO DE C. ERAGROSTIDIS E DE LEVEDURAS

C. eragrostidis foi isolado a partir das folhas de inhame com sintomas típicos da queima-das-folhas, adquiridos nos estados de Pernambuco, Sergipe, Alagoas e Paraíba. As folhas foram lavadas previamente em água corrente e foram retirados fragmentos de aproximadamente 5 mm da região limítrofe entre a área lesionada e sadia. Os fragmentos foram desinfestados com álcool 70% durante 1 min, hipoclorito de sódio a 1,5% por 2 min e por fim foram enxaguados duas vezes com água destilada esterilizada (ADE) e secas em papel filtro. Em placas de Petri, contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), foram sobrepostos

três fragmentos. As placas foram incubadas por cinco dias a $25 \pm 2^{\circ}$ C sob fotoperíodo de 12h. As colônias encontradas com características compatíveis (coloração marrom escura) ao de *C. eragrostidis* foram transferidas para outras placas contendo meio BDA (Leite et at., 2018).

As leveduras foram obtidas a partir das folhas de plantas sadias de inhame-da-costa, coletadas em diferentes cultivos comerciais de inhame no estado de Pernambuco. As folhas foram lavadas com água destilada para retirar poeira. Os fragmentos foram retirados e adicionados nos tubos de ensaio contendo 10 mL de água estéril misturada com 50 mg.L⁻¹ de cloranfenicol e submetidos a banho ultrassônico durante 25 min. Os tubos foram agitados no vórtex e em seguida foi realizada plaqueamento em placas de Petri contendo meio Sabouraud-Dextrose-Ágar (SDA) suplementado de 1,5 g.L⁻¹ de extrato de levedura e 50 mg.L⁻¹ de cloranfenicol. O material contido nas placas foi uniformizado através da alça de Drigalski e as placas foram incubadas a 25 ± 2° C durante 72h (Into et al., 2020). Após este período, as colônias foram repicadas para novas placas contendo meio de cultura SDA.

Os isolados de *C. eragrostide s*e de leveduras foram preservados na Coleção de Fungos do Solo (CFS) após a obtenção da colônia pura.

TESTE DE PATOGENICIDADE DE C. eragrostidis

A fim de obter os esporos para a inoculação, os isolados CFS 499, CFS 506, CFS 509, CFS 624, CFS 626, CFS 703, CFS 709, CFS 721, CFS 722, CFS 732, CFS 738, CFS 980, CFS 981, CFS 985 e CFS 996 foram crescidos inicialmente no meio BDA e após a obtenção da colônia pura foram repicados para meio BCA (Batata-Cenoura-Ágar), sendo mantidos no escuro durante 12 dias a 25 ± 2°C. Os esporos foram raspados com auxílio de lâmina e a suspensão foi preparada com adição de ADE nas placas, filtrada com dupla camada de gazes e ajustada através de microscópio de luz e Câmara de Neubauer, para 10⁵ conidios.mL⁻¹. Foi adicionado 0,5% de Tween 20 nas suspensões. As plantas foram mantidas em câmara úmida durante 24h antes da inoculação e 48h após a inoculação com as condições de casa de

vegetação de 36 ± 2° C e 55 ± 2%. As plantas foram inoculadas pulverizando as folhas em faces adaxial e abaxial até o ponto de escorrimento. As plantas inoculadas com o fitopatógeno tinham aproximadamente 4 meses de crescimento. O controle foi pulverizado apenas com água destilada esterilizada (Leite; Nascimento; Oliveira, 2018). Realizou-se a avaliação em oito dias após a inoculação utilizando a escala diagramática proposta por Michereff et al. (2000).

136

137

130

131

132

133

134

135

AVALIAÇÃO DO ANTAGONISMO IN VITRO DE LEVEDURAS À C. eragrostidis

Nesta primeira avaliação de ação antagônica, foram utilizados 77 isolados (Y001, 138 139 Y003, Y004, Y005, Y006a, Y006b, Y007, Y010, Y011, Y012, Y013, Y014, Y016, Y019, Y021, Y022a, Y024, Y025, Y027, Y029, Y030, Y031, Y032, Y033, Y034, Y035, Y040, 140 Y041, Y042, Y044, Y045, Y046, Y047, Y048, Y111, Y112, Y113, Y114, Y116 Y117a, 141 142 Y118, Y050, Y051, Y052a, Y052b, Y053, Y054, Y055, Y060, Y061, Y063, Y064, Y067a, Y067b, Y069, Y071, Y072, Y074, Y076, Y079, Y080, Y083, Y085, Y086, Y087, Y089, 143 Y090, Y092, Y093, Y095, Y096, Y098, Y100, Y101, Y102, Y103 e Y109) de leveduras e um 144 isolado (CFS 996) de fitopatógeno. Os isolados de leveduras foram cultivados nas placas de 145 Petri contendo meio YEPD-ÁGAR e incubadas por 5 dias a 25 ± 2°C. Posteriormente, com 146 147 auxílio de alça Drigalski, as colônias foram transferidas para tubos de Falcon estéril de 50 mL contendo aproximadamente 10 mL do meio líquido YEPD. Os tubos foram homogeneizados 148 no vórtex e mantidos em agitação durante três dias (80 rpm). Após esse período foi 149 adicionado aos tubos de agitação, o meio YEPD-ÁGAR fundente (aproximadamente a 38° C) 150 completando volume de 50 mL. Os tubos foram agitados manualmente e o material líquido 151 152 (aproximadamente 10 mL) foi fracionado em placas de Petri compondo a primeira camada. As placas foram vedadas com filme plástico e armazenadas por um período de 24h. A 153 segunda camada do meio BDA (aproximadamente 10 mL) foi adicionada sobre a primeira 154 155 camada e após a solidificação dessa camada, foi depositado no centro das placas, um disco

(0,5 mm diâmetro) de meio BDA contendo o micélio do patógeno com 7 dias de idade. O tratamento controle continha apenas duas camadas, sendo a primeira de YEPD-Ágar sem leveduras e a segunda de BDA e um disco de BDA com micélio do patógeno (Rodrigues et al., 2018). As placas foram acondicionadas a 25 ± 2° C sob fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada a cada 48 horas durante 8 dias determinando o índice de velocidade de crescimento micelial e porcentagem de inibição de crescimento micelial do patógeno com auxílio de uma régua graduada (Coelho, 2018).

O experimento foi repetido com 10 isolados (Y013, Y016, Y025, Y030, Y047, Y051, Y052b, Y085, Y086 e Y089) de leveduras que apresentaram maior efeito antagônico no primeiro teste e 15 isolados (CFS 499, CFS 506, CFS 509, CFS 624, CFS 626, CFS 703, CFS 709, CFS 721, CFS 722, CFS 732, CFS 738, CFS 980, CFS 981, CFS 985 e CFS 996) de fitopatógeno utilizando-se as metodologias do primeiro experimento. Os isolados de leveduras com maior percentual de inibição dos isolados do fitopatógeno foram selecionados para teste *in vivo*.

AVALIAÇÃO *IN VIVO* DO POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE LEVEDURAS SOBRE QUEIMA-DAS-FOLHAS

A suspensão do patógeno foi preparada conforme discutido no teste de patogenicidade. As leveduras (Y047, Y051, Y052b, Y085 e Y086) foram cultivadas em meio YEPD-Ágar e incubadas por 5 dias a 25 ± 2%. As colônias foram removidas no meio com auxílio de lâmina e as suspensões de células preparadas com ADE. As concentrações das suspensões foram ajustadas através de microscópio de luz e Câmara de Neubauer, para 10⁵ células.mL⁻¹ e adicionadas 0,5% de Tween 20. As leveduras foram inoculadas nas plantas de inhame e quatro dias após, procedeu-se com a inoculação do patógeno. As inoculações foram realizadas por via de pulverização de esporos sobre as folhas em ambas as faces (abaxial e adaxial) até o ponto de escorrimento (Reges et al., 2019). O controle positivo foi pulverizado com ADE e

suspensões do patógeno e o controle negativo apenas com ADE sem a inoculação do patógeno. Após a inoculação do patógeno, as plantas foram mantidas em câmara úmida na casa de vegetação durante 48h com as condições de casa de vegetação de $36 \pm 2^{\circ}$ C e $55 \pm 2\%$. As plantas inoculadas tinham aproximadamente 4 meses de crescimento. Realizou-se a avaliação de severidade por 11 dias após a inoculação do patógeno utilizando uma escala diagramática proposta por Michereff et al. (2000). Para garantir a confiabilidade dos resultados, o experimento foi repetido.

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

205

206

182

183

184

185

186

187

188

ANÁLISE MOLECULAR

Para extração de DNA's, foi utilizado o método Murray e Thompson (1980) com algumas alterações. As leveduras foram crescidas no meio YEPD-Ágar (Extrato de leveduras-Peptone-Dextrose-Ágar) e os isolados de Curvularia foram cultivados no meio BDA. As placas foram incubadas a $25 \pm 2^{\circ}$ C durante 5 dias. Uma alça com as colônias de leveduras isoladas foi ressuspendida nos microtubos de 1,5 mL contendo 700 µL de tampão CTAB 2%. O micélio de Curvularia foi removido nas placas através da lâmina de vidro estéril e transferido para almofariz contendo 700 µL de tampão CTAB 2%. O micélio foi macerado e transferido para microtubos de 1,5 mL. Os microtubos contendo material de ambos os isolados foram incubados a 60°C no banho maria durante 60 min seguindo-se de agitação no vórtex a cada 15 min. Posteriormente, foi adicionado nos microtubos, 500µL de CIA (clorofórmio: álcool isoamílico) 24:1, agitados e centrifugados a 14000 rpm, 4°C por 5 min. O sobrenadante foi transferido para novos microtubos e adicionou-se 800µL de CIA. Os microtubos foram centrifugados novamente a 14000 rpm, 4°C durante 15 min. O sobrenadante foi transferido para novos microtubos e adicionou-se neles, 500 µL de isopropanol (álcool isopropílico). As amostras foram homogeneizadas por inversão e armazenou-se no freezer para overnight.

As amostras foram submetidas a centrifugação por 15 min a temperatura de 4°C a 14000 rpm. O sobrenadante foi descartado cuidadosamente para não perder o pellet formado no fundo dos microtubos. Adicionou-se 500 μL de etanol 70% gelado nos microtubos e centrifugou-os a 14000 rpm, 4°C durante 15 min. O sobrenadante foi descartado e os microtubos foram invertidos no papel toalha por 5 min, para secagem do pellet. Posteriormente, foi adicionado nos microtubos 100 μL de água ultrapura e incubados no banho maria durante 60 min para dissolução do pellet.

A concentração e a pureza dos DNA's obtidas foram determinadas usando o espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, EUA), seguindo a absorção característica de 260 nm e as razões de pureza A_{260/280} e A_{260/230}, respectivamente (Laboratório de Polímeros Não-Convencionais-Departamento de Física (UFPE)).

Após a extração, foi verificada a qualidade dos DNA's em gel de agarose a 1% (150mL TBE1x e 1,5g agarose) com as amostras coradas com SYBR gold submetidas a eletroforese. A corrida do gel foi de 30 min a 60 volts. As bandas foram observadas a partir de transiluminador e as imagens foram registradas com câmera do celular. Posteriormente, os DNA's foram diluídos em 30ng/μL para reações de PCR.

A identificação dos isolados de *C. eragrostidis* foi baseada na análise filogenética da região correspondente ao Espaço Interno Transcrito (ITS), GAPDH e TEF1 e de leveduras a partir da região D1/D2 e ITS. Foi utilizado o iniciador GTG₅(5'GTGGTGGTGGTGGTGGTG'3). O volume da reação de amplificação foi de 25μ1 (2,0 μ1 OligoGTG5, 0,2 μ1 Taq DNA polimerase, 2,5 μ1 Tampão Tris-HCl pH8, 1,0 μ1 DMSO, 2,0 μ1 MgCl₂, 2,5 μ1 dNTP's e 14,8 μ1 de H₂O ultrapura). A PCR foi realizada no Termociclador (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems) e com as seguintes condições: desnaturação inicial da fita a 94 °C durante 5 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94 °C por 40 segundos de desnaturação; 53 °C por 50 segundos de anelamento do iniciador; 72°C por 90 segundos da extensão e um ciclo da extensão final de 72 °C por 6 minutos.

Os produtos da PCR foram aplicados em gel de agarose a 1,5% (p/v) em tampão TBE 1x a 75 volts por 3 h. As amostras de DNA's foram coradas com SYBR gold e submetidas a eletroforese. Após, o gel foi visualizado em transiluminador UV.

Os produtos da PCR foram purificados a partir do kit de purificação kTM PCR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), seguindo as orientações do fabricante. Foram obtidas as sequências gênicas a partir de eletroforese capilar utilizando sequenciador ABI3500, polímero POP7 e BigDye Terminator 3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Foi utilizado o mesmo iniciador usado na reação da PCR.

As análises filogenéticas foram feitas utilizando inferência bayesiana (IB) e máxima verossimilhança, através de CIPRES Science Gateway v.3.3 (https://www.phylo.org). As análises de inferência bayesiana foram conduzidas determinando o modelo de evolução HKY+I+G f em MrMODELTEST 2.3 (Posada e Buckley, 2004) e baseando se no Critério de Informação Akaike (AIC). As inferências das estimativas filogenéticas foram realizadas por meio de metodologia da Cadeia de Marcov e Monte Carlo-MCMC, a partir da ferramenta MrBayes on XSEDE (https://www.phylo.org). A partir de árvores aleatórias, foram executadas concomitantemente quatro cadeias MCMC de gerações de 50 milhões e amostradas a cada intervalo de 1.000 gerações e no final, foram um total de 50.000 árvores. Depois de descartar os primeiros 25% das gerações e seleção de uma árvore de consenso, obtida com base das últimas árvores, foram calculadas as probabilidades posteriores.

Para a máxima verossimilhança, as análises foram feitas com a ferramenta RAxML, HPC2 on XSEDE, modelo GTR GAMMA. A melhor topologia de árvore foi atrelada aos valores de Bootstrat em 1000 pseudoreplicatas.

A determinação dos agrupamentos filogenéticos específicos foi realizada na base dos critérios de concordância e não discordância entre genealogias e dos conceitos de Reconhecimento de Espécies Filogenéticas Genealógicas e (Taylor et al. 2000).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para os testes de patogenicidade e de biocontrole *in vivo*, foi utilizado delineamento em blocos casualizados-BIC, sendo cinco repetições por tratamento no teste de patogenicidade e quatro no biocontrole. Para testes de antagonismo *in vitro*, utilizou-se delineamento inteiramente casualizado-DIC com cinco repetições por tratamento onde a repetição foi constituída por uma placa de Petri. Os dados dos experimentos de avaliação *in vivo* do potencial biocontrolador de leveduras foram transformados em raiz quadrática de severidade e de todos os experimentos foram submetidos a análise de variância (ANOVA). As médias de teste de patogenicidade foram comparadas pelo teste de Scott-knott (p≤0,05) e *in vivo* do potencial biocontrolador de leveduras pelo teste de Tukey (p≤0,05), a 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa Sisvar.

RESULTADOS

OBTENÇÃO E ISOLAMENTO DE C. eragrostidis E DE LEVEDURAS

Foram obtidos um total de 15 isolados de fitopatógeno *C. eragrostidis* e 77 isolados de leveduras. Entre os isolados de fitopatógeno obtidos, 3 (CFS 499, CFS 732 e CFS 738) foram oriundos de Vitória de Santo Antão-PE, 1 (CFS 506) de Bonito PE, 1 (CFS 509) de Esperança-PE, 1 (CFS 624) de Lucena-PB, 1 (CFS 626) de Aldeia-PE, 3 (CFS 703, CFS 709 e CFS 721) Marcação-PB, 1 (CFS 722) de Conde-PB, 2 (CFS 980 e CFS 981) de Santa Rosa de Lima-SE, 1 (CFS 985) de Viçosa-AL e 1 (CFS 996) de Cruz do Espírito Santo-PB, totalizando 15 isolados. Dos 77 isolados de leveduras, 13 (Y001, Y003, Y004, Y005, Y006a, Y006b, Y007, Y010, Y011, Y012, Y013, Y014 e Y016) foram de Vitória de Santo Antão -PE, 28 (Y019, Y021, Y022a, Y024, Y025, Y027, Y029, Y030, Y031, Y032, Y033, Y034, Y035, Y040, Y041, Y042, Y044, Y045, Y046, Y047, Y048, Y111, Y112, Y113, Y114, Y116

Y117a e Y118) de Recife-PE e 36 (Y050, Y051, Y052a, Y052b, Y053, Y054, Y055, Y060,
Y061, Y063, Y064, Y067a, Y067b, Y069, Y071, Y072, Y074, Y076, Y079, Y080, Y083,
Y085, Y086, Y087, Y089, Y090, Y092, Y093, Y095, Y096, Y098, Y100, Y101, Y102, Y103

e Y109) de Bonito-PE.

TESTE DE PATOGENICIDADE DE C. eragrostidis

Dos 15 isolados testados de *C. eragrostidis*, 14 causaram sintomas, portanto, foram considerados patogênicos. As lesões encontradas nas folhas 72h após a inoculação, foram de coloração marrom-escura, compatíveis as causadas por *C. eragrostidis* na cultura de inhame da costa. Houve a variação de três a seis dias do período de incubação (PI) dos isolados. Os isolados diferiram-se estatisticamente entre si quanto a percentagem de severidade da doença. Os maiores percentuais variaram-se de 3,28 e 3,38% respetivamente (Tabela 1). O isolado CFS 996, sendo um dos que apresentaram maiores percentagens de severidade, foi selecionado para teste *in vivo*.

AVALIAÇÃO DO ANTAGONISMO IN VITRO DE LEVEDURAS À C. eragrostidis

Dos 77 isolados de leveduras obtidos nas folhas de inhame e utilizados no primeiro teste *in vitro* contra o isolado (CFS 996) do fitopatógeno, 10 isolados (Y013, Y016, Y025, Y030, Y047, Y051, Y052b, Y085, Y086 e Y089) foram melhores na inibição de crescimento micelial de *C. eragrostidis*, sendo selecionados para o segundo pareamento (Tabela 2). No tratamento controle, o patógeno colonizou completamento a superfície das placas de Petri em 6 dias apresentando colônias de aproximadamente de 8,5 cm de diâmetro.

No segundo teste, 50% dos isolados utilizados não mantiveram os comportamentos observados no primeiro experimento. Houve diferença significativa ($P \le 0.01$) entre os tratamentos quanto à porcentagem de índice de velocidade de crescimento micelial e da percentagem de inibição de crescimento micelial de *C. eragrostidis*. Os isolados Y047, Y051,

Y052b, Y085 e Y086 mostraram os mesmos comportamentos nos dois experimentos apresentando maiores valores de inibição de crescimento do fitopatógeno, proporcionando respetivamente 94,12%; 92,94%; 88,43%; 87,06% e 86,67% (Tabela 3 e fig. 1). Estes isolados com maiores percentuais foram considerados antagônicos, portanto, foram selecionados para teste *in vivo* em casa de vegetação.

AVALIAÇÃO *IN VIVO* DO POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE LEVEDURAS

SOBRE QUEIMA-DAS-FOLHAS

Os isolados de leveduras testados apresentaram desempenho na redução da taxa de progresso da doença na cultura de inhame, destancando-se os isolados Y047, Y051 e Y052b que obtiveram os melhores resultados nos dois experimentos. Houve a diferença entre os isolados de leveduras e com tratamento controle quanto à percentagem da redução da doença e do período de incubação (PI) do patógeno. Todos os isolados proporcionaram o aumento do período de incubação do patogeno (Tabela 4 e fig. 2).

ANÁLISE MOLECULAR

A partir da análise das amostras de DNA, foram obtidas a concentração de 82,1 ng/ul e valores das razões de pureza de $A_{260/280}$ - 2,0 e $A_{260/230}$ - 2,0, representando DNA de alta qualidade.

As bandas de DNA's extraídos não apresentaram a degradação e todas as amostras de DNA's submetidas a PCR se amplificaram.

DISCUSSÃO

As leveduras possuem habilidade de assimilar uma ampla gama de compostos orgânicos conferindo-lhes a capacidade de sobrevivência em diferentes nichos ecológicos

(Phaff e Starmer, 1987). Elas constituem principais microrganismos colonizadores da superfície epifítica dos vegetais, podendo ser mais encontradas nas folhas (Sperandio, 2012).

Na literatura, existem vários relatos de isolamento de leveduras a partir das folhas de plantas, a exemplo do trabalho de Rodrigues et al. (2018), que testou o antagonismo de leveduras obtidas nas folhas do cacaueiro no controle da murcha de *Ceratocystis* em cacaueiro. Também Fuentefria (2004), obteve êxito no isolamento de leveduras nas folhas das plantas de Hibiscos rosa sinensis. De acordo com os resultados deste trabalho, foi possível isolar leveduras a partir das folhas de inhame, considerando-se como o primeiro relato sobre isolamento de leveduras a partir das folhas de inhame.

Leite et al. (2018), na inoculação de *C. eragrostidis*em plantas de inhame, observaram sintomas primários de coloração marrom-escura semelhantes aos causados pelos isolados utilizados neste trabalho.

Segundo Agrios (2005), a patogenicidade de um microrganismo relativamente aos seus hospedeiros pode ser diminuida ou perdida de forma parcial ou completa quando este for repicado várias vezes ou mantido no meio de cultura por períodos prolongados. Desta forma, a perda de capacidade patogênica pode ser recuperada caso o microorganismo for inoculado no seu hospedeiro em adequadas condições ambientais.

O mecanismo da competição por espaço e nutrientes é um dos mais importantes e utilizados por leveduras antagônicas (Rodrigues, 2016) e está relacionado com a capacidade e rápida multiplicação e consumo de nutrientes disponíveis no meio em que estas se encontram (El-Tarabily e Silvasithamparam, 2006).

A capacidade da rápida multiplicação e colonização permitem com que os microrganismos antagônicos sejam bem-sucedidos durante a competição com outros microrganismos (Grigoletti Jr et al., 2000). Estes dados estão de acordo os resultados obtidos neste trabalho, visto que, os isolados de leveduras que apresentaram melhores comportamentos durante testes *in vitro* colonizaram rapidamente o meio e dificultaram o

crescimento micelial dos isolados do patógeno, mostrondo que o principal mecanismo empregado pelos antagonistas é o da competição por espaço e nutrientes. Estes resultados concordam com Spadaro e Droby (2016), no estudo sobre desenvolvimento de produtos de biocontrole para doenças pós-colheita de frutas Freimoser et al. (2019) ao estudar mecanismos de biocontrole de leveduras. Nestes dois trabalhos, autores afirmaram que os mecanismos da competição por nutrientes e espaço foram os mais utilizados por leveduras no biocontrole. Também resultados semelhantes foram encontrados por Castoria et al. (2001) ao estudar mecanismos de ação de *Aureobasidium pullulans* (LS-30). Os autores relataram que a levedura utilizou mecanismo da competição por nutrientes. No entanto, outros autores não estão de acordo com estes resultados. A exemplo de Ferraz et al. (2018), ao estudarem mecanismos de ação de isolados de leveduras envolvidos no biocontrole de *Penicillium digitatum*, onde concluíram que a competição por nutrientes não foi um dos mecanismos de ação adotado pelas leveduras testadas, de modo que o aumento da concentração de glicose não favoreceu o antagonismo.

A maioria das leveduras possuem a capacidade da competição por ferro (Gore-Lloyd et al., 2019; Sipiczki, 2006) e a produção de compostos antifúngicos voláteis (Contarino et al., 2019), que aumentam a sua eficiência na redução de crescimento do fitopatógeno (Zhang et al., 2019).

É possível que os isolados Y047, Y051 e Y052b tenham apresentado também mecanismos de ação de antagônico baseados na produção de compostos antifúngicos e a competição por ferro, que contribuíram na sua capacidade de inibição dos isolados de fitopatógeno, uma vez que, além da redução do crescimento micelial do fitopatógeno, não foi constatado em alguns tratamentos, o desenvolvimento dos isolados do patógeno nas zonas onde foi verificado crescimento das leveduras, o que se pode sugerir que possivelmente houve a produção de compostos voláteis que bloquearam o desenvolvimento vegetativo do fitopatógeno. Segundo Ferraz et al. (2018), ao analisar os mecanismos de ação de leveduras

envolvidos no biocontrole de *Penicillium digitatum*, relataram que os isolados ACBL-76, ACBL-78, ACBL-80, ACBL-81, ACBL-82 e ACBL- 84produziram compostos antifúngicos voláteis em quantidades suficientes que contribuíram de forma significativa na inibição *in vitro* do patógeno. Resultados semelhantes foram encontrados por Fialho (2004) ao estudar o efeito *in vitro* de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Guignardia citricarpa*. O autor afirmou que o crescimento vegetativo do patógeno mostrou ser suscetível nas proximidades das colônias da levedura formando uma zona de inibição característica, confirmando assim, a produção de compostos voláteis por parte de levedura. Também Saravanakumar et al. (2008), estudando sobre isolados de *Metschnikowia pulcherrima* no controle dos fitopatógenos *Botryti scinerea*, *Penicillium expansum* e *Alternaria alternata*, observaram que os isolados de leveduras apresentaram alta capacidade de competição por ferro disponível no meio, o que permitiram a sua eficiência no controle dos patógenos.

A sensibilidade de um fitopatógeno fúngico em relação aos antagonistas altera em conformidade com a natureza específica da toxina e pela presença de receptores existentes na parede celular (Walker et. al., 1995). Isso talvez justifique a baixa eficiência dos isolados Y013, Y016, Y025, Y030 e Y089 observada no segundo teste *in vitro* deste estudo, tendo em conta aos seus pareamentos com diferentes isolados de fitopatógeno visto que no primeiro teste foi utilizado apenas um isolado de fitopatógeno, já no segundo foram 15 isolados diferentes, o que pode influenciar nos resultados, de modo que podem ter apresentado comportamentos diversificados sobre os antagonistas.

As leveduras, por serem habitantes naturais e fenotipicamente adaptáveis as superfícies dos vegetais (Filonow, 1998), possuírem capacidade de tolerar ampla faixa de umidade relativa, temperaturas baixas e altas, flutuações de pH, baixos níveis de oxigênio, radiação ultravioleta e dessecação (Ariene e Carolina, 2020) são boas opções para serem utilizadas como antagonistas, além do mais, estas particularidades as ajudam a competir com outros microrganismos desafiantes.

O potencial dos antagonistas pode ser mantido ou aumentado quando os microrganismos desafiantes são do mesmo ambiente (Bettiol,1997). Também, os antagonistas possuem mais chance de se adaptarem e serem mais eficientes quando forem utilizados nos lugares que são oriundos (Grigoletti Jr. et al., 2000). Estas afirmações feitas por autores explicam o potencial biocontrolador que os isolados de leveduras mostraram durante os testes *in vivo* contudo, reduziram de forma eficiente as percentagens de severidade da queima das folhas de inhame destacando-se os isolados Y047, Y051 e Y052b que proporcionaram menores quantidades de sintomas nas folhas.

A indução de resistência da planta antes de ataque do patógeno, ajuda a ativar os mecanismos de defesa (Leite et al., 2020), neste caso, a planta fica protegida, o que pode evitar a ocorrência de grandes prejuízos causados por microrganismos fitopatogênicos (Barda et al., 2015; Buxdorf et al., 2013; Lee et al. 2017; Liu et al. 2016). Estas afirmações talvez justifiquem as baixas percentagens de severidade, pois, estes microrganismos possuem a capacidade de promover a resistência das plantas, o que já foi comprovada por De Miccolis et al. (2019); El Ghaouth et al. (2015); Lu et al. (2013 e 2014); Sun et al. (2018), nas leveduras *Saccharomyces cerevisiae, Rhodosporidium paludigenum, Candida saitoana* e *Metschnikowia* spp., induzindo uma resposta imune e a resistência contra patógenos na filosfera.

Leveduras já foram utilizadas em outros trabalhos sobre biocontrole e foram consideradas ótimos agentes de controle de doenças. Alguns destes trabalhos foram realizados por Gomes et al. (2005) e Melo (2012). Porém, não existem outras referências bibliográficas em que mostram a proteção de plantas de inhame com leveduras sobre a queima das folhas causadas por *C. eragrostidis*, sendo assim, este é o primeiro relato.

Os estudos relacionados aos mecanismos de competição são difíceis mecanicamente, portanto, é indispensável a realização de mais trabalhos para melhor compreendê-los, já que os antagonistas podem apresentar comportamentos diversificados em diferentes ambientes.

439	É necessário a produção de produtos biológicos à base de leveduras para subsidiar no
440	controle da queima das folhas em inhame, já que algumas espécies deste patógeno podem
441	sofrer a mutação e tornarem-se resistentes aos produtos químicos utilizados no manejo sem a
442	recomendação do MAPA.
443	
444	AGRADECIMENTOS
445	À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Programa de Pós-Graduação em
446	Fitopatologia, pela oportunidade da realização do curso. Ao Conselho Nacional de
447	Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa durante o curso.
448	
449	
450	
451	
452	
453	
454	
455	
456	
457	
458	

REFERÊNCIAS

459

- 460 Agrios, G. N. Plant Pathology. (2005). Genetics of Plant disease: Loss of Pathogen
- Virulence in Culture, 5 th edition, p. 133.
- Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Filho, A. B. (2018). Manual de fitopatologia: princípios e
- 463 conceitos. Departamento de Fitopatologia e Nematologia Escola Superior de
- Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. **Agronômica Ceres Ltda**.
- 465 Volume I; 5° edição, p. 390-392.
- 466 Andrade, D. E. G. T.; Assis, T. C.; JunioR, W. J. S.; Silva, E. J.; Silva, E. J. (2010). Manejo
- alternativo da casca-preta e da queima das folhas do inhame. Anais da Academia
- **Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, vol.7, p. 209-223.
- Ariene, P. A.; Carolina, O. P. (2020). Inovações no controle biológico de pragas e doenças no
- cultivo protegido e em campo de tomateiros. revista científica eletrônica de ciências
- **aplicadas da fait.** n. 2, p. 01-11.
- Barda, O.; Shalev, O.; Alster, S.; Buxdorf, K.; Gafni, A.; Levy, M. (2015). Pseudozyma
- 473 aphidis induces salicylic-acid-independent resistance to Clavibacter michiganensis in
- tomato plants. **Plant Dis**:621–626, p. 99. doi.org/10.1094/PDIS-04-14-0377-RE.
- 475 Bettiol, W. (1997). Biocontrole na filosfera: problemas e perspectivas. In: W. C. da Luz
- 476 (Org). (Ed.), Revisão Anual de Patologia de Plantas. Passo Fundo: Revisão Anual de
- 477 Patologia de Plantas.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (2009). Biocontrole de doenças de plantas: uso e
- perspectivas. **Embrapa do Meio Ambiente**, ISBN: 978-85-85771-47-8, p. 07.
- Bleve, G.; Grieco, F.; CozzI, G.; Logrieco, A.; Visconti, A. (2006). Isolation of epiphytic
- yeasts with potential for biocontrol of Aspergillus carbonarius and A.niger on grape.
- International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 108, n. 2, p. 204-209.

- Buxdorf, K.; Rahat, I.; Gafni, A.; Levy, M. (2013). The epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis*
- induces jasmonic acid- and salicylic acid/ nonexpressor of PR1-independent local and
- systemic resistance. **Plant Physiol 161**, p. 2014–2022. doi.org/10.1104/ pp.112.212969.
- Bruce, A.; Douglas, S.; Susan, V.; Ron, E. W. (2003). Effect of volatiles from bacteria and
- 487 yeast on the growth and pigmentation of sapstain fungi. International
- **Biodeterioration & Biodegradation**, London, v. 51, n. 2, p. 101-108.
- Carvalho, V. N. (2019). Controle alternativo da pinta preta do inhame (Dioscorea sp.).
- 490 Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) Universidade Federal de Alagoas,
- 491 Centro de Ciências Agrarias, p. 32.
- 492 Castoria, R.; De Curtis, F.; Lima, G.; Caputo, L.; Pacífico, S.; De Cicco, V. (2001).
- 493 Aureobasidium pullulans (LS-30) an antagonistic of postharvest pathogens of fruits:
- study on its mode of action. Postharvest Biology and Technology, 22(1), p. 07-17.
- 495 <u>doi.org/10.1016/ S0925-5214(00)00186-1.</u>
- 496 Carvalho, V.N.; Amorim, E.P.R.; Peixinho, F.S. (2021). Avaliação da eficiência de diferentes
- formas de controle da queima das folhas do inhame causada por Curvularia
- 498 *eragrostides.* **Summa Phytopathologica**, v.47, n°1, p. 34-37.
- 499 Coelho, I. L. Diversidade Populacional de Lasiodiplodia patogênica a coqueiro e ação
- biocontroladora de leveduras. 2018. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade
- Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2018, p.67-68.
- Contarino, R.; Brighina, S.; Fallico, B.; Cirvilleri, G.; Parafati, L.; Restuccia, C. (2019).
- Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. Food
- **Microbiology**, v. 82, p. 70-74.
- DE Miccolis Angelini, R. M.; Rotolo, C.; Gerin, D.; Abate, D.; Pollastro, S.; Faretra, F.
- 506 (2019). Global transcriptome analysis and differentially expressed genes in grapevine
- after application of the yeastderived defense inducer cerevisane. **Pest Manag Sci 75**, p.
- 508 2020–2033. doi.org/10.1002/ps.5317.

- Dukare, A. S.; Paul, S.; Nambi, V. E.; Gupta, R. K.; Singh, R.; Sharma, K.; Vishwakarma, R.
- K. (2018). Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases
- of fruits: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 01-16.
- Droby, S.; Wisniewski, M.; Teixidó, N.; Spadaro, D.; Jijakli, M. H. (2016). The science,
- development, and commercialization of postharvest biocontrol products. **Postharvest**
- **Biology and Technology**, v. 122, p. 22-29.
- 515 El-Gahouth, A.; Wilson, C. L.; Wisniewski, M. (2004). Biologically based alternatives to
- synthetic fungicides for the postharvest diseases of fruit and vegetables. In: Naqvi, S. A.
- M. H. (ED). **Diseases of fruit and vegetables**, v.2, Kluwer Academic Publishers,
- 518 Amsterda, The Netherlands, p. 511-535.
- 519 El-Tarabily, K. A.; Silvasithamparam, K. (2006). Potential of yeasts as biocontrol agents of
- soil-borne fungal plant pathogens and as plants growth promoters. **Mycosciense**, 47(1),
- 521 p. 25-35.
- Ferraz, L. P. (2014). Estudo dos mecanismos de ação de leveduras envolvidos no
- biocontrole de doenças de pós-colheita em citros. Dissertação (Mestrado em
- Microbiologia Agropecuária) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
- Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, p. 02-08.
- Ferraz, L. P.; Cunha, T.; Kupper, K. C. (2018). Mecanismos de ação de isolados de leveduras
- envolvidos no biocontrole de *Penicillium digitatum*, agente causal do bolor verde em
- frutos cítricos. **Citrus Res. Technol.**, 39, e-1033, p. 01-12.
- 529 FIALHO, M. B. (2004). Efeito in vitro de Saccharomyces cerevisiae sobre Guignardia
- citricarpa, agente causal da pinta preta dos citros. Dissertação (Mestrado em
- Microbiologia Agrícola) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
- Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 36-40.
- Fialho, M. B. (2008). Mecanismos de ação de compostos orgânicos voláteis
- antimicrobianos produzidos por Saccharomyces cerevisiae sobre o desenvolvimento

de Guignardia citricarpa, agente causal da pinta preta dos citros. Tese (Doutorado 535 em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz deQueiroz", 536 Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 120. 537 Filonow, A. B. (1998). Role of competition for sugars by yeast in the biocontrol of gray mold 538 apple. **Biocontrol Science and** Technology, 8(2), p. 243-256. 539 of doi. org/10.1080/09583159830315. 540 Freimoser, F. M.; Rueda-mejia, M. P.; Tilocca, B.; Migheli, Q. (2019). Biocontrol yeasts: 541 mechanisms and applications. World Journal of Microbiology and Biotechnology, p. 542 03. 543 544 Fuentefria, A. M. 2004. Identificação e avaliação do potencial biotecnológico de leveduras 545 e fungos semelhantes a leveduras isolados de filoplano do Hibiscus rosa sinensis. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e Ambiental) – Universidade Federal 546 do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, p. 44. 547 Gomes, A. M.A.; Silveira, E. B.; Mariano, R. L. R. (2005). Tratamento póscolheita com 548 cálcio e microrganismos para controle da podridão-mole em tomate. Horticultura 549 **brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n.1, p. 108-111. 550 551 Gore-lloyd, D. et al. (2019). Snf2 controls pulcherriminic acid biosynthesis and antifungal 552 activity of the biocontrol yeast *Metschnikowia pulcherrima*. Mol Microbiol 112, p. 317– 332. doi: 10.1111/mmi.14272. 553 Grigoletti Jr, A.; Santos, A. F. dos; Auler, C. G. (2000). Perspectivas do uso do controle 554 555 biológico contra doenças florestais. **Floresta** 30(1/2), p. 155-165. Hadwiger, L.; Mcdonel, H.; Glawe, D. (2015). Wild yeast strains as prospective candidates to 556 557 induce resistance against potato late blight (Phytophthora infestans). Am J Potato Res **92**, p.379–386. doi.org/10.1007/s12230-015-9443-y. 558 559 IBGE. (2021). SIDRA - Sistema de recuperação automática. Rio de Janeiro: Instituto

Brasileiro de Geografia e Estatística. Unidade Estadual – AL. Supervisão Estadual de

560

- Pesquisas Agropecuárias. Disponivel em: https://www.Sidra.Ibge.gov.br. Acessado em
- fevereiro, 2021.
- Into, P. et al. (2020). Yeast Diversity Associated With the Phylloplane of Corn Plants
- Cultivated in Thailand. Microorganisms, v. 80, n.8, p. 02.
- doi:10.3390/microorganisms8010080.
- Leite, R. P.; Nascimento, L. C.; Oliveira, M. D. M. (2018). Inoculação de Curvularia
- *eragrostidis* em inhame (*Dioscorea alata*) cv. São Tomé. **Summa Phytopathologica**, v.
- 568 44, n.3, p. 281-282.
- Leite, R. P.; Nascimento, L. C.; Gomes, E. C. S.; Oliveira, M. D. M. (2020). Indução de
- resistência no manejo da queima das folhas do inhame. Summa Phytopathologica,
- 571 v.46, n.1, p. 31-35.
- Lee, G.; Lee, S. H.; Kim, K. M.; Ryu, C. M. (2017). Foliar application of the leaf-colonizing
- yeast *Pseudozyma churashimaensis* elicits systemic defense of pepper against bacterial
- and viral pathogens. **Sci Rep 7**, p. 39432. doi.org/10.1038/srep39432.
- Liu, P.; Chen, K.; Li, G.; Yang, X.; Long, C. A. (2016). Comparative transcriptional profling
- of orange fruit in response to the biocontrol yeast *Kloeckera apiculata* and its active
- 577 compounds. **BMC Genom 17**, p. 17. <u>doi.org/10.1186/s12864-015-2333-3</u>.
- 578 Lu, L. et al. (2013). Preharvest application of antagonistic yeast Rhodosporidium
- 579 paludigenum induced resistance against postharvest diseases in mandarin orange. Biol
- **Control 67**, p. 130–136. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.016.
- Lu, L.; Xu, S.; Zeng, L.; Zheng, X.; Yu, T. (2014). Rhodosporidium paludigenum induced
- resistance in Ponkan mandarin against Penicillium digitatum requires ethylene-
- dependent signaling pathway. **Postharvest Biol Technol 97**, p. 93–101.
- 584 <u>doi.org/10.1016/j. postharvbio.2014.06.007</u>.
- Mari, M.; Martini, C.; Guidarelli, M.; Neri, F. (2011). Postharvest biocontrol of Monilinia
- *laxa*, *Monilinia fructicola* and *Monilinia fructigena* on stone fruit by two.

- 587 Aureobasidium pullulans strains. Biological Control, v.60, ed.02, p. 132-140.
- 588 doi:10.1016/j.biocontrol.2011.10.013.
- Matsheka, M. I.; Lastovica, A. J.; Zappe, H.; Elisha, H. G. (2006). The use of (GTG)5
- oligonucleotide as an RAPD primer to type Campylobacter concisus. Journal
- compilation The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology
- **42**, p.600–605. doi:10.1111/j.1472-765X.2006.01900.x.
- 593 Melo, E. A. (2012). Eficácia de leveduras no biocontrole da mancha aquosa em meloeiro.
- 594 Dissertação (Programa de Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal Rural de
- 595 Pernambuco, Recife, PE, p. 58.
- 596 Michereff, S. I., Maffia, L. A. & Noronha, M. A. (2000). Escala diagramática para avaliação
- da severidade da queima das folhas do inhame. Fitopatologia Brasileira 25, p. 612-
- 598 619.
- Michereff, S. J.; Noronha, M. A.; Maffia, L. A. (2008). Tamanho de amostras para avaliação
- da severidade da queima das folhas do inhame. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 34,
- 601 n. 2, p. 189-191.
- Murray, G. M.; Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant
- DNA. Nucleic Acid Research, Oxford, v.8, p. 4321–4325
- Noronha, M. A. (2015). Intensidade da Queima das Folhas do Inhame no Estado de Alagoas.
- Comunicado técnico **Embrapa de Tabuleiros Costeiros**, ISSN 1678-1937, p. 01-06.
- Paula, H.; Micheref, S. J.; Oliveira, V. S.; Oliveira, S. M. A.; Laranjeira, D. (2000).
- Variabilidad de aislamientos de *Curvularia eragrostidis* que causan atizonamiento de
- las hojas de ñame (*Dioscorea cayennensis*) en Pernambuco Brazil. **Boletim Micológico**
- 609 **Vol. 15**, p. 85-92.
- Phaff, H. J.; Starmer, W. T. (1987). Yeasts associated with plants, insects and soils. The
- yeasts. London: **Academic Press**, p. 123-180.

- Polycarp, D.; Afoakwa, E. O.; Budu, A. S.; Otoo, E. (2012). Characterization of chemical
- composition and anti-nutritional factors in seven species within the Ghanaian yam
- (Dioscorea) germplasm. **International Food Research Journal, Salangor**, v. 19, n. 3,
- p. 985-992.
- 616 Posada, D., Buckley, T.R. 2004. Model selection and model averaging in
- phylogenetics:advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian approaches
- over likelihoodratio tests. **Syst Biol**. 53, p. 793-808.
- doi.org/10.1080/10635150490522304.
- Reges, J. T. A., et al. (2019). Teste de patogenicidade dos isolados de *Pyricularia oryzae* nos
- hospedeiros de trigo, cevada, arroz e braquiária. Cultura Agronômica, Ilha Solteira,
- 622 v.28, n.1, p. 19-28.
- Reyes, M. E. Q.; Rohrbach, K. G.; Paull, R. E. (2004). Microbial antagonists
- controlpostharvest black rot of pineapple fruit. **Postharvest Biology and Technology**,
- 625 v.33, p.193-203.
- Rodrigues, G. S. (2016). Antagonismo de Trichoderma spp. e Leveduras à Ceratocystis
- cacaofunesta. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Estadual de
- Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, p.17-18.
- 629 Rodrigues, G. S.; NETO, A. P.; Magalhães, D. M. A.; Costa, A. M.; Luz, E. D. M. N. 2018.
- Antagonismo de leveduras ao agente etiológico da murcha de ceratocystis em cacaueiro.
- **Agrotrópica** 30(2), p. 83-92.
- Romano, E. (1998). Extração de DNA de tecidos vegetais. In: Brasileiro, A.C.M.; Carneiro,
- V. T. C. ed. Manual de transformação genética de plantas. Embrapa-SPI/Embrapa-
- **CENARGEN**, p. 163-177.
- Rosa, M. M. et al. (2010). Evaluation of the biological contrl by yeast *Torulaspora globosa*
- against Colletotrichum sublineolum in sorgum. World Journal Microbiol Biotechnol,
- v. 26, n. 1, p. 1491-1502.

Santos, E. S. dos; Carvalho, R. A.; Lacerda, J. T. (2008). Alternativas naturais e ecologicas no 638 639 controle de doenças fungicas do inhame (Dioscorea spp.). Tecnol. & Ciên. Agropec., 640 João Pessoa, v.2., n.2, p. 1-6. Saravanakumar, D.; Clavorella, A.; Spadaro, D.; Garibaldi, A.; Gullino, M. L. (2008). 641 642 Metschnikowia pulcherrima strain MACH1 outcompetes Botrytis cinerea, Alternaria alternata and Penicillium expansum in apples through iron depletion. Postharvest Biol 643 Technol 49, p. 121–128. 644 Sharma, R. R.; Singh, D.; Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits 645 646 and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, v.50, p. 205-22. 647 Sipiczki, M. (2006). Metschnikowia strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion. Appl Environ Microb 72, p. 6716–6724. 648 Spadaro, D.; Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases 649 650 of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. Trends Food Sci Technol 47, p. 39–49. 651 spadaro, D.; Gullino, M. L. (2004). State of the art and future prospects of the biological 652 control of postharvest fruit diseases. International Journal of Food Microbiology, 653 654 Amsterdam, v. 91, n. 2, p. 187. 655 spadaro, D.; Gullino, M.L. (2002). Mechanism of action and efficacy of four isolates of the yeast Metschnikowia pulcherrima active against postharvest pathogen on apples. 656 Postharvest Biol. Technol, v. 24, p. 123-134. 657 658 Sperandio, E. M. (2012). Ocorrência, diversidade e potencial biotecnológico de leveduras associadas a plantas do Cerrado. Dissertação (Programa de Pós-graduação em 659 660 Fitopatologia) – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasilia, p. 25. Strobel, G. (2006). Muscodor albus and its biological promise. Journal of industrial 661 Microbiology & Biotechnology, Heidelberg, v.33, p. 514-522. 662

- 663 Sui, Y.; Wisniewski, M.; Droby, S.; Liu, J. (2015). Responses of yeast biocontrol agents to
- environmental stress. Applied and Environmental Microbiology, v. 81, n. 9, p. 2968-
- 665 2975.
- Sun, C.; Fu, D.; Lu, H.; Zhang, J.; Zheng, X.; Yu, T. (2018). Autoclaved yeast enhances the
- resistance against Penicillium expansum in postharvest pear fruit and its possible
- mechanisms of action. **Biol Control 119**, p. 51–58.
- doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.01.010.
- 670 Taylor IA, et al. (2000). Caracterização dos domínios de vinculação de DNA dos fatores de
- transcrição do ciclo celular de levedura Mbp1 e Swi4. *Bioquímica* 39(14), p. 3943-
- 672 3954.
- Vinale, F.; Marra, R.; Scala, F.; Ghisalert, E. L.; Lorito, M.; Sivasithamparam, K. (2006).
- Major secondary metabolites produced by two commercial Trichoderma Strains.
- Letters in Applied Microbiology, Oxford, v.43, p. 143-148.
- Walker, G. M.; Mcleod, A. H.; Hodgson, V. J. (1995). Interactions between killer yeasts and
- pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 127, p. 213-222.
- Wiid, I. J. F.; Werely, C.; Beyers, N.; Donald, P.; Heldeni, P. D. V. (1994). Oligonucleotide
- 679 (GTG)5 as a Marker for Mycobacterium tuberculosis Strain Identification. **JOURNAL**
- **OF CLINICAL MICROBIOLOGY**, Vol. 32, N. 5, p. 1318-1321.
- Wisniewski, M.; Biles, C.; Drobi, S.; Mclaughlin, R.; Wilson, C.; chalutz, E. (1991). Mode of
- action of the postharvest biocontrol yeast Pichia guilliermondii. Characterization of
- attachm,ent to *Botrytes cynerea*. Physiological and Molecular Plant Pathology, v.39, p.
- 684 245-258.
- Zhang, D.; Spadaro, D.; Garibaldi, A.; Gullino, M. L. (2010). Efficacy of the antagonist
- Aureobasidium pullulans PL5 against postharvest pathogens of peach, appel and plum
- and its modes of action. **Biological Control**, v.54, p. 172-180.

Zhang, Y.; LI, T.; Liu, Y.; Li, X.; Zhang, C.; Feng, Z.; Peng, X.; Li, Z.; Qin, S.; Xing, K.

(2019). Volatile Organic Compounds Produced by Pseudomonas chlororaphis subsp.

aureofaciens SPS-41 as Biological Fumigants to Control Ceratocystis fimbriata in

Postharvest Sweet Potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n.

13, p. 3702-3710.

CAPÍTULO III

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Os isolados Y047, Y051, Y052b, Y085 e Y086 foram eficientes na inibição do crescimento *in vitro* dos isolados de *C. eragrostidis* e na redução dos sintomas da queima das folhas de inhame da costa.
- Os isolados apresentaram diferenças quanto as percentagens de severidade da queima das folhas na cultua de inhame da costa.
- As leveduras são principais competidores por espaço e nutrientes e dificultam o crescimento dos patógenos durante o processo da competição.
- Os isolados Y047, Y051 e Y052b são potenciais agentes de controle biológico de *C. eragrostidis* e podem ser associados com outros métodos para o manejo da queima das folhas de inhame da costa.

Tabela 1. Período de incubação e médias de severidade de queima-das-folhas em inhame-da-costa causada por

Curvularia spp.

Espécie	Isolado	PI*	SEV**
	CFS 499	5	2,08 A
	CFS 506	3	3,38 A
	CFS 509	5	0,48 B
	CFS 624	3	0,53 B
	CFS 626	8***	0,00 B
	CFS 703	3	0,62 B
	CFS 709	5	2,27 A
	CFS 721	5	1,82 A
	CFS 722	6	0,04 B
	CFS 732	6	0,35 B
	CFS 738	3	2,30 A
	CFS 980	5	1,97 A
	CFS 981	5	2,02 A
	CFS 985	3	3,28 A
	CFS 996	3	3,22 A
	\mathbf{MG}		1,62
	CV (%)		28,70

^{*} PI - Período de incubação (dias): determinado pelo intervalo de tempo entre a inoculação e o surgimento dos primeiros sintomas da queima-das-folhas;

CV (%) – Porcentagem do coeficiente de variação estatístico;

^{**}SEV – Severidade dos sintomas de queima-das-folhas em inhame-da-costa determinada pela escala diagramática indicando níveis de 1, 2, 4, 8, 16 e 32%; valores médios ± valores de desvio médio;

Médias seguidas por letras diferentes, diferem entre si $(p \le 0.01)$ pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade, em delineamento de blocos inteiramente casualizados – BIC; os dados foram transformados para raiz (SEV).

^{8***-} Até o último dia da avaliação não foram observados sintomas nas plantas inoculadas.

Tabela 2. Efeito de leveduras sobre o índice de velocidade de crescimento micelial – IVCM (mm h⁻¹) e porcentagem de inibição de crescimento micelial – PIC (%) de Curvularia eragrostidis – CFS 996, após 8 dias de crescimento *in vitro*.

Isolado	IVCM ^y	PICz	Isolado	IVCM ^y	PICz
Y001	$0.38 \pm 0.02 \text{ C}$	49,27 ± 3,04 D	Y054	$0.55 \pm 0.06 \mathrm{D}$	25,74 ± 8,31 E
Y003	$0,40 \pm 0,05 \text{ C}$	$45,43 \pm 4,20 D$	Y055	$0,67 \pm 0,06 E$	$0,77 \pm 1,20 \text{ G}$
Y004	$0.55 \pm 0.04 D$	$1,27 \pm 1,56$ G	Y060	$0,61 \pm 0,11 D$	$5,94 \pm 7,20 \text{ G}$
Y005	$0.31 \pm 0.02 \text{ C}$	$51,60 \pm 3,20 D$	Y061	$0.54 \pm 0.02 D$	$29,91 \pm 4,63 \text{ E}$
Y006a	$0,50 \pm 0,05 \text{ D}$	$32,08 \pm 3,71 \text{ E}$	Y063	$0.59 \pm 0.14 D$	$7,94 \pm 10,67 \text{ F}$
Y006b	$0,67 \pm 0,05 \text{ E}$	$13,89 \pm 5,84 \text{ F}$	Y064	$0,59 \pm 0,23 D$	$38,45 \pm 27,69 D$
Y007	$0,68 \pm 0,06 \text{ E}$	$1,64 \pm 3,27 \text{ G}$	Y067A	$0.85 \pm 0.12 \mathrm{F}$	$4,24 \pm 6,48 \text{ G}$
Y010	$0,44 \pm 0,08 \text{ C}$	$42,09 \pm 6,92 D$	Y067B	$0,52 \pm 0,13 D$	$11,58 \pm 8,14 \text{ F}$
Y011	$0,53 \pm 0,09 D$	$33,58 \pm 6,45 \text{ E}$	Y069	$0,57 \pm 0,11 D$	$6,61 \pm 7,63 \text{ G}$
Y012	$0,44 \pm 0,08 \text{ C}$	$44,09 \pm 4,38 D$	Y071	$0,43 \pm 0,08 \text{ C}$	$31,08 \pm 12,86 E$
Y013	$0,09 \pm 0,02 \text{ A}$	$79,64 \pm 0,66 \text{ B}$	<i>Y072</i>	$0.37 \pm 0.05 \text{ C}$	$32,74 \pm 7,62 E$
Y014	$0.38 \pm 0.25 \text{ C}$	$47,60 \pm 27,29 D$	Y074	$0,51 \pm 0,08 D$	$4,44 \pm 5,13 \text{ G}$
Y016	$0,22 \pm 0,13 \text{ B}$	$81,14 \pm 9,82 \text{ B}$	Y076	$0.78 \pm 0.15 \mathrm{F}$	$25,91 \pm 4,63 \text{ E}$
Y019	$0.18 \pm 0.02 \text{ B}$	$57,44 \pm 4,60 D$	Y079	$0,63 \pm 0,07 \text{ E}$	$1,47 \pm 2,93 \text{ G}$
Y021	$0.34 \pm 0.01 \text{ C}$	$44,93 \pm 1,76 \mathrm{D}$	Y080	$0,60 \pm 0,07 \text{ D}$	$4,94 \pm 5,70 \text{ G}$
Y022a	$0,50 \pm 0,12 D$	$26,90 \pm 10,48 \text{ E}$	Y083	$0,69 \pm 0,01 \text{ E}$	$0.00 \pm 0.00 \text{ G}$
Y024	$0,66 \pm 0,06 E$	$2,44 \pm 3,12 \text{ G}$	Y085	$0,14 \pm 0,01 \text{ A}$	$79,03 \pm 1,38 \text{ B}$
Y025	$0.37 \pm 0.07 \text{ C}$	$62,95 \pm 4,89 \text{ C}$	Y086	$0,23 \pm 0,03 \text{ B}$	$71,79 \pm 1,38 \text{ B}$
Y027	$0,49 \pm 0,11 D$	$27,40 \pm 9,01 \text{ E}$	Y087	$0,59 \pm 0,18 D$	$11,45 \pm 13,35 \mathrm{F}$
Y029	$0,47 \pm 0,14 D$	$39,26 \pm 16,76 \mathrm{D}$	Y089	$0,21 \pm 0,06 \text{ B}$	$69,46 \pm 4,09 \text{ C}$
Y030	$0.14 \pm 0.02 \text{ A}$	$83,48 \pm 2,52 \text{ B}$	Y090	$0,29 \pm 0,03 \text{ C}$	$55,11 \pm 3,05 D$
Y031	$0.51 \pm 0.04 D$	$20,73 \pm 6,46 E$	Y092	$0,64 \pm 0,04 \text{ E}$	$0,64 \pm 1,27 \text{ G}$
Y032	$0,60 \pm 0,18 D$	$33,91 \pm 6,92 E$	Y093	$0,66 \pm 0,01 \text{ E}$	$0,64 \pm 1,27 \text{ G}$
Y033	$0.54 \pm 0.14 D$	$32,08 \pm 14,38 E$	Y095	$0.52 \pm 0.04 D$	$25,91 \pm 1,44 E$
Y034	$0,45 \pm 0,04 \text{ C}$	$42,93 \pm 0,86 D$	Y096	$0,66 \pm 0,11 \text{ E}$	$5,58 \pm 6,35 \text{ G}$
Y035	$0.71 \pm 0.05 E$	$3,27 \pm 4,11 \text{ G}$	Y098	$0.82 \pm 0.07 \; \mathrm{F}$	$1,97 \pm 3,94 \mathrm{G}$
Y040	$0.36 \pm 0.11 \text{ C}$	$45,76 \pm 10,57 \text{ D}$	Y100	$0.59 \pm 0.09 D$	$33,08 \pm 6,68 E$
Y041	$0.82 \pm 0.10 \mathrm{F}$	$28,74 \pm 5,32 \text{ E}$	Y101	$0.75 \pm 0.09 \text{ F}$	$3,74 \pm 4,05 \text{ G}$
Y042	$0.36 \pm 0.12 \mathrm{C}$	$43,93 \pm 7,76 \mathrm{D}$	Y102	$0.46 \pm 0.08 \mathrm{C}$	$33,38 \pm 8,34 E$
Y044	$0.53 \pm 0.17 D$	$48,10 \pm 8,73 D$	Y103	$0.67 \pm 0.11 E$	$1,30 \pm 2,60 \mathrm{G}$
Y045	$0.51 \pm 0.16 \mathrm{D}$	$15,62 \pm 18,11 \mathrm{F}$	Y109	$0.51 \pm 0.12 D$	$8,61 \pm 10,08 \mathrm{F}$
Y046	$0.26 \pm 0.05 \text{ B}$	$51,94 \pm 5,17 D$	Y111	$0.39 \pm 0.04 \text{ C}$	$30,24 \pm 4,57 E$
Y047	$0.00 \pm 0.00 \text{ A}$	$93,32 \pm 0,00 \text{ A}$	Y112	$0.74 \pm 0.02 \mathrm{F}$	$2,10 \pm 3,08 \text{ G}$
Y048	$0.68 \pm 0.10 \mathrm{E}$	$10,58 \pm 10,47 \mathrm{F}$	Y113	$0.49 \pm 0.18 D$	$29,41 \pm 18,01 \mathrm{E}$
Y050	$0.57 \pm 0.08 D$	$16,56 \pm 3,66 \mathrm{F}$	Y114	$0.68 \pm 0.10 E$	$1,64 \pm 3,27 \text{ G}$
Y051	$0.32 \pm 0.06 \mathrm{C}$	$68,29 \pm 5,49 \text{ C}$	Y116	$0.44 \pm 0.04 \mathrm{C}$	$25,74 \pm 1,84 E$
Y052a	$0.65 \pm 0.15 E$	$16,59 \pm 11,92 \mathrm{F}$	Y117A	$0.53 \pm 0.02 \mathrm{D}$	$12,22 \pm 2,69 \mathrm{F}$
Y052b	$0.34 \pm 0.03 \text{ C}$	$68,46 \pm 1,48 \text{ C}$	Y118	$0.71 \pm 0.06 \mathrm{E}$	$3,37 \pm 1,48 \mathrm{G}$
<u>Y053</u>	$0,43 \pm 0,15$ C	$47,26 \pm 18,40 D$	CONTROLE	$0.56 \pm 0.11 \mathrm{D}$	- NA
MG				0,50	29,82
CV				19,39	28,48

yValores médios de IVCM \pm valores de desvio padrão. IVCM foi determinado segundo a equação: $IVCM = \frac{CT-Ci}{t}$, sendo Cf = crescimento final; Ci = crescimento inicial e t= intervalo de avaliação;

Na coluna, diferentes letras representam diferenças significativas ($p \le 0.01$) pelo teste de Scott knott a 5% de probabilidade.

Valores médios em negrito representam os tratamentos selecionado

^z Valores médios de PIC \pm valores de desvio médio. PIC foi determinado segundo a equação: $PIC = \frac{cc - Ct}{cc} * 100$, sendo Cc = Crescimento do controle; Ct = Crescimento tratamento.

⁻NA Não aplicado;

Tabela 3. Efeito de leveduras sobre a porcentagem de inibição de crescimento micelial – PIC (%) de diferentes isolados de *Curvularia eragrostidis*, após oito dias de crescimento *in vitro*.

						PIC (%)**						
Isolados*	Y013	Y016	Y025	Y030	Y047	Y051	Y052b	Y085	Y086	Y089	MG	CV (%)
CFS 499	$54,31 \pm 4,17 \; D$	$20{,}79 \pm 8{,}24~E$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{F}$	$26,\!67 \pm 8,\!57~\mathrm{E}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$76,\!08 \pm 3,\!45~\mathrm{C}$	$83,\!14\pm1,\!80~B$	$70{,}98\pm2{,}96~C$	$82,\!36\pm3,\!58~B$	$0,\!00\pm0,\!00\;\mathrm{F}$	50,84	8,69
CFS 506	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{H}$	$15,49 \pm 3,02 \text{ G}$	$25,49 \pm 1,83 \text{ F}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{H}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$70,98 \pm 1,93 \; D$	83,33 \pm 0,86 B	$70,19 \pm 4,25 \text{ D}$	$78,\!24 \pm 0,\!60~\mathrm{C}$	$36,47 \pm 4,22 \; \mathrm{E}$	47,43	4,86
CFS 509	$19,61 \pm 1,89 \text{ F}$	$34,51 \pm 1,80 \; \mathrm{E}$	$8,63 \pm 8,03 \; \mathrm{G}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{H}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$70{,}78\pm2{,}78~\mathrm{C}$	$83,53 \pm 5,13 \text{ B}$	$62,55 \pm 1,48 \; D$	$74,70 \pm 4,44 \text{ C}$	$56,\!47 \pm 8,\!48~D$	50,49	8,84
CFS 624	$40{,}19 \pm 7{,}19~D$	$59,02 \pm 5,14 \text{ B}$	$47,65 \pm 6,55 \text{ C}$	$0,\!00\pm0,\!00\;\mathrm{F}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$60{,}78\pm1{,}80~\mathrm{B}$	$66,\!82\pm5,\!07~\mathrm{B}$	$61{,}77\pm1{,}01~\mathrm{B}$	$63,53 \pm 1,02 \text{ B}$	$32,55 \pm 2,23 \; \mathrm{E}$	52,65	7,53
CFS 626	$49,81 \pm 12,01 \text{ C}$	$22{,}94 \pm 7{,}78~\mathrm{D}$	$26,27 \pm 2,22 \text{ D}$	$23,33 \pm 5,95 \text{ D}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$73,73 \pm 1,23 \text{ B}$	$66,67 \pm 3,39 \text{ B}$	$70,39 \pm 4,42 \text{ B}$	$74,51 \pm 2,90 \text{ B}$	$43,73 \pm 6,80 \text{ C}$	54,55	10,57
CFS 703	$25,49 \pm 6,01 \; \mathrm{E}$	$20{,}78\pm2{,}22~\mathrm{E}$	$47,65 \pm 7,65 \text{ D}$	$4,\!51\pm7,\!81\;\mathrm{F}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$73,13 \pm 1,23 \text{ B}$	$75,29 \pm 3,11 \text{ B}$	$73,72 \pm 2,71 \text{ B}$	$61,37 \pm 6,00 \text{ C}$	$20,\!00 \pm 1,\!02~E$	49,61	13,31
CFS 709	$50,\!00 \pm 11,\!81~\mathrm{C}$	$28,43 \pm 1,80 \text{ D}$	$42,94 \pm 4,59 \text{ C}$	$31,18 \pm 5,61 \text{ D}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$74,90 \pm 6,29 \; \mathrm{B}$	$76,47 \pm 3,58 \; \mathrm{B}$	$72{,}75\pm1{,}80~\mathrm{B}$	$71,57 \pm 3,54 \text{ B}$	$21,96 \pm 5,44 \text{ D}$	56,43	9,59
CFS 721	$37,45 \pm 6,35 \text{ C}$	$28,24 \pm 5,61 \text{ C}$	$39,22 \pm 1,80 \text{ C}$	$30,39 \pm 8,27 \text{ C}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$59,02 \pm 6,69 \text{ B}$	$65,69 \pm 2,66 \text{ B}$	$61,18 \pm 1,77 \; \mathrm{B}$	$69{,}02 \pm 6{,}50~\mathrm{B}$	$37,25 \pm 13,42 \text{ C}$	52,16	12,44
CFS 722	$57,65 \pm 3,53 \text{ C}$	$47,84 \pm 2,78 \; D$	$8,\!23\pm7,\!15~\mathrm{F}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{G}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$59,22 \pm 1,36 \text{ C}$	$60,39 \pm 3,24 \text{ C}$	$63,53 \pm 1,02 \text{ C}$	$72,35 \pm 3,53 \text{ B}$	$19{,}21\pm5{,}80\:\mathrm{E}$	48,25	7,50
CFS 732	$0,\!00\pm0,\!00~E$	$0,\!00\pm0,\!00~E$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	$0,\!00\pm0,\!00~E$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$80,39 \pm 1,22 \text{ C}$	$84{,}51 \pm 0{,}35~\mathrm{B}$	$76,86 \pm 1,23 \; D$	$77,06 \pm 1,56 \text{ D}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	41,29	1,80
CFS 738	$34,12 \pm 1,55 \; \mathrm{E}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{G}$	$17,\!45 \pm 7,\!67~{\rm F}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{G}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$65{,}29 \pm 0{,}59~\mathrm{E}$	$81,18 \pm 1,16 \text{ B}$	$81{,}57\pm1{,}80~\mathrm{B}$	$72,35 \pm 0,59 \text{ C}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{G}$	44,61	5,79
CFS 980	$72,94 \pm 1,18 \text{ B}$	$0,00\pm0,00~{\rm H}$	$45{,}10 \pm 3{,}24~\mathrm{E}$	$16,47 \pm 6,22 \text{ G}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$76,\!08\pm0,\!68~B$	$66,67 \pm 0,34 \text{ C}$	$60,20 \pm 2,90 \text{ D}$	$14,12 \pm 2,70 \text{ G}$	$25,88 \pm 6,55 \; \mathrm{F}$	47,16	7,03
CFS 981	$23,14 \pm 6,48 \text{ C}$	$38,04 \pm 1,80 \text{ B}$	$34,71 \pm 8,70 \text{ B}$	$27,\!45\pm1,\!70~\mathrm{C}$	$86,08 \pm 0,34 \text{ A}$	$84,32 \pm 0,68 \text{ A}$	$86,\!67 \pm 0,\!68~A$	$87,06 \pm 1,02 \text{ A}$	$92,94 \pm 0,00 \text{ A}$	$15,69 \pm 4,49 \text{ D}$	57,61	6,64
CFS 985	$27,45 \pm 6,45 \text{ D}$	$0,\!00\pm0,\!00~E$	$40,79 \pm 9,12 \text{ C}$	$0,\!00\pm0,\!00~E$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$88,43 \pm 0,33 \text{ B}$	$86,67 \pm 0,68 \; \mathrm{B}$	$83,73 \pm 1,23 \text{ B}$	$83,14 \pm 0,68 \text{ B}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	50,43	7,08
CFS 996	$10,78 \pm 9,34 \text{ D}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	$94,12 \pm 0,00 \text{ A}$	$71,37 \pm 1,48 \; \mathrm{B}$	$76,08 \pm 6,47 \; \mathrm{B}$	$57,65 \pm 1,18 \text{ C}$	$70,59 \pm 3,27 \text{ B}$	$0,\!00\pm0,\!00~\mathrm{E}$	38,06	9,96

MG – Média geral de PIC, dentro da variável isolado de Curvularia eragrostidis.

CV (%) – Porcentagem do coeficiente de variação estatístico.

^{*}Leveduras antagonistas: Y013, Y016, Y025, Y030, Y047, Y051, Y052b, Y085, Y086 e Y089; Isolados de *Curvularia eragrostidis*: CFS 499, CFS 506, CFS 509, CFS 624, CFS 626, CFS 703, CFS 709, CFS 721, CFS 722, CFS 732, CFS 738, CFS 980, CFS 981, CFS 985, CFS 996.

^{**} Valores médios de PIC \pm valores de desvio médio. PIC foi determinado segundo a equação: $PIC = \frac{cc - Ct}{cc} * 100$, sendo Cc = Crescimento do controle; Ct = Crescimento tratamento. Na linha, diferentes letras representam diferenças significativas (p \le 0,01) pelo teste de Scott knott a 5% de probabilidade, em DIC.

Tabela 4. Severidade de queima-das-folhas em inhame-da-costa causada por diferentes isolados de *Curvularia* erag*rostidis*.

	EXPER	RIMENTO I	EXPER	IMENTO II
Isolados	PI*	SEV**	PI*	SEV**
Y047	7	$0.76 \pm 0.3 \text{ A}$	6	$1,14 \pm 0,2 \text{ A}$
Y051	6	$0.93 \pm 0.5 \text{ A}$	6	$1,65 \pm 0,4 \text{ A}$
Y052b	7	$1,29 \pm 0,2 \text{ A}$	7	$1,31 \pm 0,2 \text{ A}$
Y085	5	$4,06 \pm 0,5 \text{ B}$	5	$3,45 \pm 0,3 \text{ B}$
Y086	5	$4,28 \pm 0,8 \text{ B}$	5	$3,00 \pm 0,4 \text{ B}$
Controle	2	$5,90 \pm 0,3 \text{ C}$	2	$5,90 \pm 03 \text{ C}$
MG		2,87		2,74
CV (%)		14,31		8,92

^{**}SEV – Severidade dos sintomas de queima-das-folhas em inhame-da-costa (%); valores médios ± valores de desvio médio; médias seguidas por letras diferentes, diferem entre si (p≤0,01) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; os dados foram transformados para raiz (SEV).

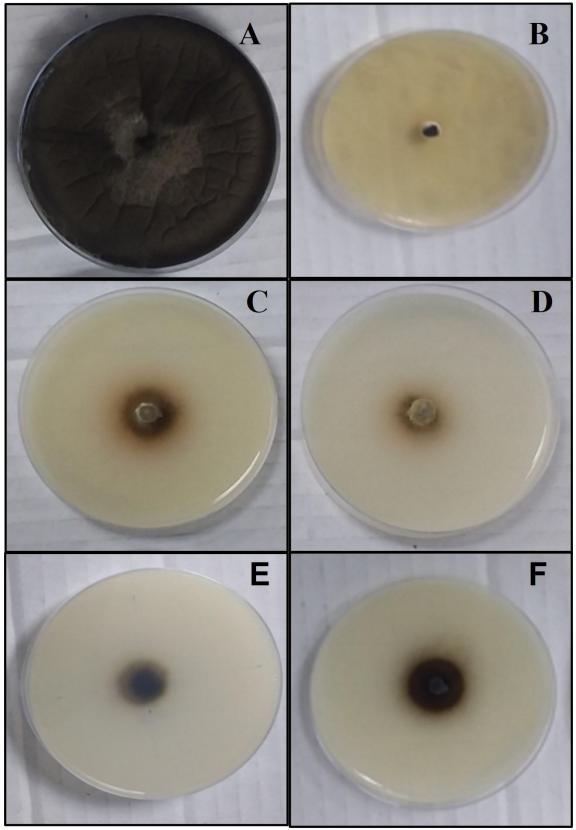


Fig. 1. Efeito *in vitro* de isolados de leveduras contra fitopatógeno *Curvularia eragrostidis* no segundo teste. Controle (A); isolado Y047 (B); isolado Y051 (C); isolado Y052b (D); isolado Y085 (E); isolado Y086

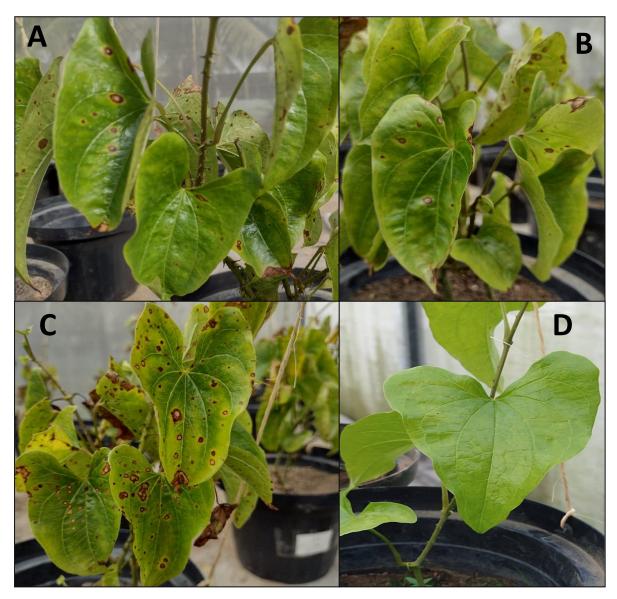


Fig. 2. Sintomas da queima das folhas de inhame em plantas tratadas e não tratadas com leveduras: A (ISO Y047) e B (ISO Y051). C (Controle positivo). A letra D representa controle negativo (sem inoculação do patógeno e nem tratamento com leveduras).