



SILVIA MARA COELHO DO NASCIMENTO

**POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS PARA O
CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS E PROMOÇÃO DO
CRESCIMENTO NA CULTURA DA MANDIOCA**

**LAVRAS-MG
2023**

SILVIA MARA COELHO DO NASCIMENTO

**POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO
DE DOENÇAS E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO NA CULTURA DA MANDIOCA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

Dr. Ricardo Magela de Souza
Orientador

Dra. Alessandra Keiko Nakasone
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a)
autor(a).**

Nascimento, Silvia Mara Coelho do.

Potencial de bactérias endofíticas para o controle
biológico de doenças e promoção do crescimento na cultura
da mandioca / Silvia Mara Coelho do Nascimento. - 2023.

106 p. : il.

Orientador(a): Ricardo Magela de Souza.

Coorientador(a): Alessandra Keiko Nakasone.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras,
2023.

Bibliografia.

1. Controle biológico. 2. Bacteriose da mandioca. 3.
Podridões radiculares da mandioca. I. Souza, Ricardo Magela
de. II. Nakasone, Alessandra Keiko. III. Título.

SILVIA MARA COELHO DO NASCIMENTO

**POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO
DE DOENÇAS E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO NA CULTURA DA MANDIOCA**

**POTENTIAL OF ENDOPHYTIC BACTERIA FOR BIOLOGICAL CONTROL
DISEASE AND GROWTH PROMOTION IN CASSAVA CROP**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 28 de março de 2023.

Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza	UFLA
Dra. Alessandra Keiko Nakasone	EMBRAPA
Dra. Ruth Linda Benchimol	EMBRAPA
Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira	EMBRAPA
Profª. Dra. Andrea Bittencourt Moura Baccarin	UFPEL
Prof. Dr. Carlos Ivan Aguilar Vildoso	UFOPA



Documento assinado digitalmente

RICARDO MAGELA DE SOUZA

Data: 13/09/2024 17:57:38-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza
Orientador

Dra. Alessandra Keiko Nakasone
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2023**

A Deus, meu refúgio e minha fortaleza, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e por estar sempre presente em minha vida.

À minha querida coorientadora Dra. Alessandra Keiko, pessoa de luz, pelos incentivos, paciência e confiança, por não desistir de mim, por me encorajar e me guiar neste caminho.

À minha querida filha, Marina do Nascimento, sol e luz da minha vida, pelo amor incondicional que toma conta da minha existência, dando-me forças e coragem para vencer os desafios da vida.

Aos meus preciosos pais, Maria do Socorro e Sigismundo do Nascimento, meus maiores incentivadores das realizações dos meus sonhos, pelo carinho, afeto, dedicação e cuidado durante toda a minha existência.

À minha tia/mãe Mariney da Costa, pelo amor, carinho, afeto, dedicação e cuidado.

À minha querida vizinha Marina (in memoriam), meu anjo, por todo amor.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua infinita bondade e amor, por sempre guiar meus passos pelos caminhos certos, iluminando-me e agraciando sempre minha vida com bênçãos, por me permitir e me capacitar para produzir este trabalho, por poder lembrar-me de ser grata às pessoas que neste processo de formação profissional me ajudaram. Obrigada por colocá-las tão carinhosamente em minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de pesquisa. Pois, o presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

À coordenação do Departamento de Fitopatologia, por toda atenção e assistência sempre que necessário, em especial à Ariane, uma profissional muito dedicada, eficiente e competente. Agradeço por todo o apoio, carinho, preocupação, acolhimento e ajuda.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza, pelo ser humano incrível, exemplo de sabedoria e humildade, por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional. Agradeço a oportunidade, compreensão, paciência, orientações e contribuições para o desenvolvimento deste trabalho. Eternamente grata, Professor!

À minha coorientadora Dra. Alessandra Keiko Nakasone, pela dedicação, paciência, comprometimento e apoio incondicional em todos os momentos. Pelos ensinamentos que me transmitiu, sem medir esforços, sempre pronta e receptiva na orientação e condução deste trabalho. Obrigada por toda ajuda Dra. Keiko e, principalmente, pela sua amizade. Eternamente grata!

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amazônia Oriental), pela parceria, por disponibilizar sua infraestrutura, equipamentos e laboratórios essenciais para a realização desta pesquisa.

Aos membros da banca, pelas considerações relevantes a este trabalho.

À equipe do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa, pesquisadores, técnicos e estagiários, em especial a Aline, seu Manoel e seu Nivaldo, por toda assistência, apoio e amizade.

Às meninas da Bacteriologia do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa, Sandra, Deyse, Luana e Jackeline, que compartilharam risadas, desafios e momentos memoráveis

durante esta jornada. Cada aprendizado e obstáculo superado foram moldados pela presença inspiradora de vocês.

Ao aluno de Iniciação Científica , Carlos, que também contribuiu para a realização deste trabalho

Ao técnico da Embrapa, seu Edson, pela ajuda, sempre que foi necessário.

Aos colegas do Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Fitopatologia da UFLA, em especial à Ana, por todo apoio, paciência, acolhimento e amizade.

À Dra. Sarah Costa, pelos ensinamentos, assistência e apoio durante o doutorado.

Às amigas de Belém que me acolheram em Lavras, Thaissa, Ieda, Sandra e Alessandra, pelo apoio, amizade e por toda ajuda.

Aos amigos de Lavras, Carla, Sandra Barros, Naiane, Nevenka e Tarcísio, pelo acolhimento, carinho, ajuda e apoio.

Às minhas amigas de sempre, Marlene, Lucélia e Camila, pela amizade e por todo apoio.

Aos meus pais e à minha tia Ney, pela presença e amor incondicional na minha vida sempre, a todo o esforço investido na minha educação e por todo o apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações.

À minha vizinha Marina (*in memoriam*), amor de minha vida, por todas as orações e por toda felicidade demonstrada com as minhas vitórias, por tudo que representa em minha vida, por todo amor dedicado à nossa família.

À minha amada filha Marina, grande incentivadora das conquistas da mamãe, que nestes anos de construção da tese esteve sempre presente, mantendo os meus dias mais leves, felizes e cheios de vida. Filha, a tua alegria, tua curiosidade, o teu universo de descobertas e, principalmente, o teu amor intenso foram marcantes e revitalizadores.

À minha amada família, minhas irmãs, sobrinhos (as), tias e prima, que sempre me apoiaram.

Aos demais amigos e a todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

Todos vocês são responsáveis por mais esta vitória em minha vida, que Deus os abençoe hoje e sempre.

Muito Obrigada!

Ora, aquele que é poderoso para fazer tudo muito mais abundantemente além daquilo que pedimos ou pensamos, segundo o poder que em nós opera, a esse seja glória na igreja, por Jesus Cristo, em todas as gerações, para todo sempre. Amém! (Efésios 3:20 e 21)

RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das culturas mais importantes do mundo. No entanto, doenças fúngicas e bacterianas estão entre as principais causas da redução de sua produção. Bactérias endofíticas são reconhecidas como agentes de controle biológico eficientes e representam uma alternativa promissora para o controle de doenças e/ou por promover o crescimento de plantas. Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho, selecionar isolados de bactérias endofíticas com potencial para o controle biológico da bacteriose e das podridões radiculares da mandioca, bem como, para a capacidade em promover o crescimento de plantas. Cento e quarenta e cinco isolados de bactérias endofíticas foram obtidos de raízes tuberosas sadias de 40 acessos de mandioca. Os isolados foram caracterizados quanto à morfologia da colônia, fisiologia e produção de enzimas, e testados em ensaios de antagonismo *in vitro* aos fitopatógenos *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* - *Xpm* (bacteriose), *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. (podridões radiculares) e em ensaios de promoção do crescimento vegetal. Do total, 50,3% dos isolados foram gram-positivos, 49,7% gram-negativos e 85% apresentaram atividade positiva para catalase. 72% dos isolados foram produtores das enzimas protease, 47% amilase, 79% lipase e 28% quitinase. 26,21% produziram AIA em meio com acréscimo de L-triptofano e 45,52% solubilizaram fosfato inorgânico. Na avaliação da atividade antagonista, 37% inibiram o crescimento *in vitro* de *Xpm*, 73,8% de *Phytophthora* sp., 80 % de *Fusarium* sp. e 77,24% *Lasioidiplodia* sp. Doze isolados foram selecionados para o controle da bacteriose e treze para as podridões radiculares no ensaio *in vivo*. Os isolados EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 e EM21 reduziram entre 36% e 65,26% a severidade da bacteriose. Em raízes de mandioca do acesso Nova Timboteua verificou-se redução de 100% das lesões das podridões radiculares proporcionada pelos isolados EM122 (*Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp.), EM16 (*Phytophthora* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM08 (*Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp., *Neoscytalidium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM95 (*Fusarium* sp.), EM91 (*Fusarium* sp. e *Neoscytalidium* sp.) EM13 (*Lasioidiplodia* sp.), EM96 (*Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.), EM43 (*Lasioidiplodia* sp.). No acesso chifre de boi, houve a redução de 100% das lesões proporcionadas pelos isolados EM16 (*Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM13 (*Phytophthora* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM95 (*Phytophthora* sp.), EM08 (*Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM91 (*Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp.), EM43 (*Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp.), EM122 (*Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp.), EM96 (*Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.). No ensaio de promoção de crescimento, os isolados EM51 e EM74 contribuíram no desenvolvimento das brotações em 56% e 43,75%, respectivamente, e os isolados EM17, EM51, EM30 e EM74 promoveram o crescimento das brotações de mandioca, com o aumento dos parâmetros biométricos e de biomassa em comparação ao tratamento controle. Em ensaio de enraizamento, os isolados EM61, EM74, EM98, EM51 e EM113 proporcionaram incrementos significativos no comprimento de raízes e na biomassa radicular. Os isolados de bactérias endofíticas foram eficientes no controle biológico e como promotores de crescimento das plantas, podendo ser inserido em um programa de manejo sustentável com potencial para uso na cultura da mandioca.

Palavras chaves: microrganismos endofíticos; biocontrole; bacteriose da mandioca; podridões radiculares; enraizamento.

ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the most important crops in the world. However, fungal and bacterial diseases are among the main causes of reduced production. Endophytic bacteria are recognized as efficient biological control agents and represent a promising alternative for disease control and/or for promoting plant growth. Therefore, the objective of this work was to select isolates of endophytic bacteria with potential for the biological control of bacteriosis and root rot in cassava, as well as the ability to promote plant growth. One hundred and forty-five isolates of endophytic bacteria were obtained from healthy tuberous roots of 40 cassava accessions. The isolates were characterized regarding colony morphology, physiology and enzyme production, and were tested *in vitro* antagonism assays against the phytopathogens *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* - *Xpm* (bacteriosis), *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp. (root rot) and in plant growth promotion trials. Of the total, 50.3% of the isolates were gram-positive, 49.7% gram-negative and 85% showed positive activity for catalase. 72% of the isolates were producers of protease enzymes, 47% amylase, 79% lipase and 28% chitinase. 26.21% produced IAA in medium with added L-tryptophan and 45.52% solubilized inorganic phosphate. In the evaluation of antagonistic activity, 37% inhibited the growth of *Xpm*, 73.8% of *Phytophthium* sp., 80% of *Fusarium* sp. and 77.24% *Lasiodiplodia* sp. Twelve isolates were selected to control bacteriosis and thirteen for root rot in the *in vivo* assay. Isolates EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 and EM21 reduced the severity of bacteriosis by between 36% and 65.26%. In cassava roots from the Nova Timboteua accesses, there was a 100% reduction in root rot lesions provided by isolates EM122 (*Phytophthium* sp. and *Fusarium* sp.), EM16 (*Phytophthium* sp. and *Lasiodiplodia* sp.), EM08 (*Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp., *Neoscytalidium* sp. and *Lasiodiplodia* sp.), EM95 (*Fusarium* sp.), EM91 (*Fusarium* sp. and *Neoscytalidium* sp.) EM13 (*Lasiodiplodia* sp.), EM96 (*Lasiodiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp.), EM43 (*Lasiodiplodia* sp.). In the Chifre de Boi accesses, there was a 100% reduction in lesions caused by isolates EM16 (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp. and *Lasiodiplodia* sp.), EM13 (*Phytophthium* sp. and *Lasiodiplodia* sp.), EM95 (*Phytophthium* sp.), EM08 (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp. and *Lasiodiplodia* sp.), EM91 (*Phytophthium* sp. and *Fusarium* sp.), EM43 (*Phytophthium* sp. and *Fusarium* sp.), EM122 (*Phytophthium* sp. and *Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp.), EM96 (*Lasiodiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp.). In the growth promotion assay, isolates EM51 and EM74 contributed to the development of shoots by 56% and 43.75%, respectively, and isolates EM17, EM51, EM30 and EM74 promoted the growth of cassava shoots, with an increase of biometric and biomass parameters in comparison to the control treatment. In a rooting test, isolates EM61, EM74, EM98, EM51 and EM113 provided significant increases in root length and root biomass. The endophytic bacteria isolates were efficient in biological control and as plant growth promoters and can be inserted into a sustainable management program with potential for use in cassava cultivation.

Keywords: endophytic microorganisms; biocontrol; cassava bacteriosis; root rot; rooting.

INDICADORES DE IMPACTO

Para a agricultura brasileira a mandioca é uma das mais importantes culturas, destacando-se o Estado do Pará como o maior produtor nacional. Com uma produção baseada em pequenas propriedades, com força de trabalho familiar, o cultivo da mandioca gera emprego e renda para os agricultores, contribuindo, dessa forma, para o desenvolvimento socioeconômico do país. A mandioca, destaca-se como a cultura com maior capacidade de atender à alta demanda mundial por alimento e de assegurar a segurança alimentar, contribuindo assim, para minimizar a fome e a pobreza, especialmente em regiões mais carentes. Entretanto, apesar de sua importância econômica e alimentar, os produtores de mandioca enfrentam uma série de desafios em seus esforços para cultivar e comercializar o produto, dentre os principais, a incidência de doenças, que pode afetar negativamente a produção. A bacteriose causada por *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* e as podridões radiculares, cujos agentes etiológicos são representados por um complexo de patógenos do solo, são doenças que representam uma séria ameaça para a cultura e colocam em risco a segurança alimentar de muitos agricultores que dependem da mandioca, além de acarretar perdas econômicas significativas. Contudo, não existem produtos químicos registrados e, as técnicas de manejo utilizadas para o controle são essencialmente preventivas e pouco eficientes sob condições favoráveis. Diante disso, adotar medidas sustentáveis para o manejo de doenças, que sejam acessíveis aos agricultores e menos impactantes ao meio ambiente e ao homem, tem sido cada vez mais almejada no cenário atual. Nesse contexto, o controle biológico, em associação a outras técnicas de manejo, é uma alternativa promissora, pois permite integrar sustentabilidade nos sistemas produtivos. Dentre os microrganismos benéficos, as bactérias endofíticas tem se destacado como agentes de biocontrole e apresentam potencial para melhorar a eficiência dos sistemas de produção agrícola e reduzir os impactos ambientais. Portanto, os resultados obtidos com este trabalho, comprovam que isolados de bactérias endofíticas provenientes do sistema radicular de mandioca, possuem potencial para serem introduzidos ao manejo integrado de doenças da cultura de mandioca, bem como para promoção de crescimento das plantas. Dos cento e quarenta e cinco isolados de bactérias endofíticas obtidos de raízes tuberosas sadias testados, sete apresentaram eficiência no controle da bacteriose (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 e EM21) e nove isolados (EM122, EM16, EM08, EM70, EM95, EM91, EM13, EM96 e EM43) no controle das podridões radiculares dos acessos Nova Timboteua e Chifre de Boi. Para a promoção de crescimento, quatro isolados (EM17, EM51, EM30 e EM74) proporcionaram o crescimento de mudas de mandioca e cinco isolados (EM61, EM74, EM98, EM51 e EM113) foram eficientes na indução de enraizamento dos brotos de mandioca pelo método de multiplicação rápida. Dessa forma, neste estudo, os isolados de bactérias endofíticas associados às raízes tuberosas de mandioca demonstram potencial no manejo das doenças da mandioca e ao aumento da produtividade. Estes isolados poderão ser utilizados na elaboração de métodos alternativos sustentáveis, como produtos biológicos para geração de tecnologia agrícola com baixo custo de produção.

IMPACT INDICATORS

For Brazilian agriculture, cassava is one of the most important crops, with the State of Pará standing out as the largest national producer. With production based on small properties and family labor, cassava cultivation generates employment and income for farmers, thus contributing to the country's socioeconomic development. Cassava stands out as the crop with the greatest capacity to meet the high global demand for food and ensure food security, thus contributing to minimizing hunger and poverty, especially in poorer regions. However, despite its economic and food importance, cassava producers face a series of challenges in their efforts to cultivate and market the product, among the main ones being the incidence of diseases, which can negatively affect production. Bacterial disease caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* and root rot, whose etiological agents are represented by a complex of soil pathogens, are diseases that represent a serious threat to the crop, as they put at risk the food security of many farmers who depend on cassava, in addition to causing significant economic losses. However, there are no registered chemical products and the management techniques used for control are essentially preventive and not very efficient under favorable conditions. In view of this, adopting sustainable measures for disease management, which are accessible to farmers and less impactful to the environment and humans, has been increasingly sought in the current scenario. In this context, biological control, in association with other management techniques, is a promising alternative, as it allows sustainability to be integrated into production systems. Among the beneficial microorganisms, endophytic bacteria have stood out as biocontrol agents and have the potential to improve the efficiency of agricultural production systems and reduce environmental impacts. Therefore, the results obtained in this work prove that isolates of endophytic bacteria from the cassava root system have the potential to be introduced into the integrated management of cassava diseases, as well as to promote plant growth. Of the one hundred and forty-five endophytic bacterial isolates obtained from healthy tuberous roots tested, seven were efficient in controlling bacterial blight (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 and EM21) and nine isolates (EM122, EM16, EM08, EM70, EM95, EM91, EM13, EM96 and EM43) in the control of root rot of the accessions Nova Timboteua and Chifre de Boi. For growth promotion, four isolates (EM17, EM51, EM30 and EM74) provided the growth of cassava seedlings and five isolates (EM61, EM74, EM98, EM51 and EM113) were efficient in inducing rooting of cassava shoots by the rapid multiplication method. Thus, in this study, the endophytic bacteria isolates associated with cassava tuberous roots demonstrate potential in the management of cassava diseases and in increasing productivity. These isolates can be used in the development of sustainable alternative methods, such as biological products for the generation of agricultural technology with low production costs.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
2.1 A cultura da mandioca	18
2.2 A bacteriose da mandioca	19
2.3 As podridões radiculares da mandioca.....	22
2.3.1 Podridão mole (<i>Phytophthium</i> sp.).....	23
2.3.2 Podridão seca (<i>Fusarium</i> sp.)	24
2.3.3 Podridão-negra (<i>Lasioidiplodia</i> sp. e <i>Neoscytalidium</i> sp.)	25
2.4 Bactérias endofíticas.....	26
2.4.1 Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico de doenças de plantas....	28
2.4.2 Bactérias endofíticas como promotores de crescimento de plantas	30
REFERÊNCIAS	33

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1: BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS COM POTENCIAL PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DA BACTERIOSE E PODRIDÕES RADICULARES DA MANDIOCA 46

1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 Coleta do material vegetal	50
2.2 Isolamento das bactérias endofíticas na raiz da mandioca.....	50
2.3 Caracterização dos isolados de bactérias endofíticas da mandioca	50
2.3.1 Morfologia das colônias.....	50
2.3.2 Reação de Gram (Método Ryu).....	51
2.3.3 Catalase	51
2.3.4 Produção de enzimas hidrolíticas.....	51
2.3.4.1 Protease.....	51
2.3.4.2 Amilase.....	51
2.3.4.3 Lipase.....	52
2.3.4.4 Quitinase.....	52
2.4 Seleção das bactérias endofíticas como agentes de controle biológico <i>in vitro</i>	52
2.4.1 Potencial das bactérias endofíticas contra <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i>	52
2.4.2 Potencial das bactérias endofíticas contra <i>Phytophthium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Lasioidiplodia</i> sp. e <i>Neoscytalidium</i> sp.....	53

2.5 Potencial das bactérias endofíticas no controle da bacteriose e podridões radiculares da mandioca <i>in vivo</i>	53
2.5.1 Controle da bacteriose com bactérias endofíticas em casa de vegetação	53
2.5.2 Controle das podridões radiculares da mandioca com bactérias endofíticas em casa de vegetação.....	55
3 RESULTADOS	55
3.1 Coleta e isolamento de bactérias endofíticas de raízes de mandioca	55
3.2 Caracterização das bactérias endofíticas da mandioca	57
3.2.1 Morfologia das colônias.....	57
3.2.2 Reação de Gram e catalase	57
3.2.3 Produção de enzimas hidrolíticas.....	57
3.3 Seleção e avaliação do potencial antagônico das bactérias endofíticas <i>in vitro</i>	58
3.3.1 <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i>	58
3.3.2 <i>Phytophthium</i> sp.	60
3.3.3 <i>Fusarium</i> sp.....	62
3.3.4 <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	64
3.3.5 <i>Neoscytalidium</i> sp.....	66
3.4 Potencial das bactérias endofíticas no controle da bacteriose e podridões radiculares da mandioca <i>in vivo</i>	68
3.4.1 Controle da bacteriose com bactérias endofíticas em casa de vegetação	68
3.4.2 Controle de podridões de raízes da mandioca com bactérias endofíticas em casa de vegetação.....	69
4 DISCUSSÃO	73
5 CONCLUSÕES.....	78
ARTIGO 2: POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO CRESCIMENTO E ENRAIZAMENTO DE MANDIOCA	86
1 INTRODUÇÃO	88
2 MATERIAL E MÉTODOS	89
2.1 Área de estudo.....	89
2.2 Isolados de bactérias endofíticas	89
2.3 Seleção de isolados bactérias endofíticas na promoção de crescimento <i>in vitro</i>	89
2.3.1 Solubilização de fosfato inorgânico.....	89
2.3.2 Produção de ácido indol acético (AIA)	90
2.4 Potencial de isolados de bactérias endofíticas no crescimento e enraizamento de mudas de mandioca em casa de vegetação	90

2.4.1 Efeito de isolados de bactérias endofíticas na brotação e crescimento inicial de mudas de mandioca	91
2.4.2 Efeito de bactérias endofíticas no enraizamento da mandioca.....	91
3 RESULTADOS	92
3.1 Solubilização de fosfato inorgânico.....	92
3.2 Produção de ácido indol acético (AIA)	94
3.3 Efeito de isolados de bactérias endofíticas na brotação e crescimento inicial de mudas de mandioca	96
3.4 Efeito de isolados de bactérias endofíticas no enraizamento dos brotos de mandioca	98
4 DISCUSSÃO	99
5 CONCLUSÕES.....	102
REFERÊNCIAS	103

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) conhecida no Brasil popularmente como aipim ou macaxeira, está difundida em todo o território nacional, com uma produção de 18,03 milhões de toneladas de raiz e produtividade de 15 ton. ha⁻¹ em 2021 (CONAB, 2022). O Pará destaca-se como o maior produtor de mandioca entre os estados brasileiros (EMBRAPA, 2017; CONAB, 2022), seguido pelo Paraná e São Paulo (IBGE, 2020).

De grande importância socioeconômica, a cultura apresenta ampla utilização como matéria-prima para agroindústrias e geradora de emprego e renda entre os agricultores familiares. A raiz é considerada o principal órgão da planta a ser consumido, por ser considerada uma importante fonte de amido e energia (FERREIRA FILHO et al., 2013). As folhas são fontes de proteínas, sendo muito utilizada na culinária paraense para a fabricação de um prato típico, conhecido como maniçoba. A mandioca, segundo a FAO destaca-se como a cultura com maior capacidade de atender à alta demanda mundial por alimento e de assegurar a segurança alimentar, contribuindo dessa forma, para minimizar a fome e a pobreza, especialmente em regiões mais carentes. Ainda, essa planta é utilizada na produção de etanol, plásticos biodegradáveis, madeira compensada e cosméticos, na indústria têxtil e também para a fabricação de ração animal (CARDOSO, 2003; FIALHO et al., 2011; CEBALLOS et al., 2012; CONAB, 2017).

Entretanto, a mandioca enfrenta sérias limitações decorrentes da incidência de doenças, causadas por diferentes patógenos, entre bactérias, fungos, vírus e nematoides, que, ao incidir sobre a cultura, altera consideravelmente o metabolismo bioquímico e fisiológico das plantas, com reflexos marcantes da produtividade e da qualidade do produto. Dentre as principais doenças que acometem a cultura, destacam-se a bacteriose e as podridões radiculares.

A bacteriose (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*) é considerada a doença mais destrutiva e de maior importância para a cultura em diversos países do mundo (MANSFIELD et al., 2012; WONNI et al., 2015; MASSOLA et al., 2016; FANOU et al., 2017; RUBIO et al., 2017; TAYLOR, 2017; LIVOI et al., 2020). A doença pode afetar a mandioca em qualquer estágio de desenvolvimento, causando perdas significativas, principalmente sob altas temperaturas e umidade do solo (MARTIN et al., 2017). A doença caracteriza-se por um complexo de sintomas, como manchas foliares, murcha, queda de folhas, exsudação de látex, necrose do sistema vascular e morte da planta (DRUMMOND; HIPÓLITO, 1941; ISHIDA et

al., 2016). A infecção do patógeno ocorre através de ferimentos e estacas infectadas, podendo ser transmitida entre os ciclos da cultura (LOZANO, 1986; LÓPEZ; BERNAL, 2012).

Em muitos países as podridões de raízes também são consideradas entre as principais doenças dessa cultura (FASSI, 1957; VANDERWEYEN, 1962; ONYEKA et al., 2005; BRITO et al., 2020). É altamente destrutiva e de grande importância econômica por afetar diretamente as raízes tuberosas, o principal produto comercial da mandioca, há relatos de redução de rendimento de até 85%, dependendo do agente etiológico, suscetibilidade das cultivares e das condições favoráveis, como altas temperaturas, pluviosidades, solos com baixa fertilidade e mal drenados (LOPES, 1977; SERRA et al., 2009; NOTARO, 2013; VILAS BOAS et al., 2017). Os agentes etiológicos são representados por um complexo de patógenos e as podridões de raízes são classificadas como mole (*Phytophthora* spp. - *Phytophthora nicotianae*, *P. drechsleri* e *P. meloni*; *Pythium sclerotrichum*; *Phytophthora* sp.), seca (*Fusarium* spp. - *Fusarium solani*, *F. oxysporum* e *F. verticillioides*) e negra (*Lasiodiplodia* spp. - *Lasiodiplodia euphorbicola*, *L. pseudotheobromae* e *Neoscytalidium hyalinum*) (MONTEIRO, 1997; MASSOLA et al., 2016; MIURA; VILAS BOAS et al., 2017; BOARI et al., 2018;). Os sintomas são bastante distintos em função do agente etiológico, principalmente relacionado ao apodrecimento das raízes.

A bacteriose e as podridões de raízes apresentam relativa importância devido à alta frequência que ocorrem nos plantios e, são consideradas doenças de difícil controle, uma vez que, a *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* tem hábito sistêmico e os agentes etiológicos das podridões produzem estruturas de resistência que permitem a sobrevivência no solo por vários anos como saprófitos facultativos em restos de culturas, na ausência de hospedeiros (MIHAJLOVIĆ et al., 2017).

Não existe um método de controle comprovadamente eficiente para essas doenças, as técnicas de manejo são paliativas e têm se restringido por meio de medidas preventivas, como variedades resistentes, rotação de culturas, monitoramento periódico da plantação, utilização de manivas-sementes sadias, erradicação de plantas severamente infectadas (LOZANO, 1986; VILAS BOAS et al., 2016; SILVA et al., 2017; ZÁRATE-CHAVES et al., 2021). Quanto ao tratamento químico, ainda não existem produtos fitossanitários registrados para o tratamento da bacteriose e da podridão radicular na mandioca (MAPA, 2022).

Desta forma, para obter uma produção sustentável da mandioca, são necessárias medidas fitossanitárias que previnam o surgimento de doenças e garantam uma boa produtividade da cultura, contudo, sem causar danos ao homem e ao ambiente. Em função disso, preconizam métodos alternativos de controle de doenças. Sendo assim, o controle biológico por microrganismos benéficos, inserido no manejo integrado de doença, é uma das alternativas

promissoras no controle de doenças em mandioca, além de influenciarem de forma positiva no crescimento das plantas.

Bactérias endofíticas são amplamente estudadas como agentes de controle biológico e têm grande potencial para serem utilizadas no controle de doenças que afetam a cultura e de promover o crescimento de plantas da mandioca (AFZAL et al., 2019; ALKAHTANI et al., 2020; LI et al., 2020; FERREIRA et al., 2021). Estas bactérias colonizam os tecidos internos das plantas e são encontrados em folhas, ramos, raízes e sementes, sem ter qualquer impacto negativo sobre o hospedeiro (HALLMANN et al., 1997; COMPANT et al., 2021).

Este grupo de bactérias é conhecido por sua capacidade de produzir compostos associados ao biocontrole de doenças de plantas e à promoção do crescimento. Podem realizar o controle biológico através da produção de compostos tóxicos aos patógenos, e estes vão atuar inibindo ou retardando o desenvolvimento do agente fitopatogênico, por atividades antagônicas, pela produção de compostos antimicrobianos, como antibióticos, compostos voláteis e enzimas, competição por espaço e nutrientes (AFZAL et al., 2019; COMPANT et al., 2021). Além disso, podem promover diretamente o crescimento das plantas, como, por exemplo, através da fixação biológica de nitrogênio, produção de fitohormônios como o ácido indol-3-acético (AIA), etileno, citocinina e giberelina, síntese de sideróforos e solubilização de fosfato (ALORI et al., 2017; DHOUIB et al., 2019; ALKAHTANI et al., 2020; CIPRIANO et al., 2021; HAMID et al., 2021) e com isso, proporcionar o aumento a altura da planta, número de folhas, área foliar e volume radicular, melhorando a absorção de água, nutrientes e aumentando a fotossíntese e, conseqüentemente, refletindo na produtividade (DHOUIB et al., 2019; KATSENIOS et al., 2022).

Neste sentido, a capacidade destas bactérias em proporcionar tais compostos poderá contribuir para o incremento na utilização de produtos biológicos com maiores benefícios para os agricultores, diminuindo a utilização de resíduos químicos e promovendo o aumento da produção agrícola com redução dos custos e dos impactos ambientais. Além disso há possibilidade de se expandir o uso dessas bactérias em outras culturas, além da mandioca.

Considerando-se essas informações, os objetivos desse trabalho foram selecionar isolados de bactérias endofíticas de raízes tuberosas sadias de mandioca com potencial para o controle biológico da bacteriose e da podridão radicular, bem como, para a promoção do crescimento de plantas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta perene, dicotiledônea, pertencente à família Euphorbiaceae e ao gênero *Manihot*, o qual compreende mais de 98 espécies, entretanto, é a única espécie do gênero cultivada e de valor econômico (ROGERS; APPAN, 1973; CEBALLOS et al, 2012; CORDEIRO et al., 2015).

É uma planta com desenvolvimento arbustivo, caule semi-lenhoso, com ramificações no terço médio e superior. As folhas são pecioladas e dispostas no caule em forma alternada, de coloração púrpura a verde-escuro e podem ser utilizadas na alimentação animal, pois possuem elevado teor de proteína (BORGES et al., 2002; RIBEIRO et al., 2012). Possuem flores masculinas e femininas na mesma inflorescência (DOMÍNGUEZ et al., 1984), e as raízes podem ser de dois tipos, as adventícias, responsáveis pela fixação e absorção de água e nutrientes, e as tuberosas, que armazenam amido (VIÉGAS, 1976). As raízes tuberosas podem apresentar polpa de coloração branca ou amarela (VIÉGAS, 1976; BRENES et al., 2017). É uma espécie alógama de propagação vegetativa por haste, ramas ou manivas, que são estacas cortadas do caule para fins de produção (CEBALLOS et al., 2015). A cultura possui alta adaptabilidade a diferentes ecossistemas com capacidade de crescer em todos os solos, não necessitando ser fértil.

A cultura da mandioca pode ser classificada em dois grupos, a mansa (mesa) e a brava (industrial), entre as quais se distinguem pelo teor do ácido cianídrico (HCN) nas raízes, substância altamente tóxica (PEREIRA; PINTO, 1962). A mandioca mansa ou macaxeira apresenta baixos teores de HCN na polpa crua de raízes frescas, geralmente abaixo de 50 mg/kg de polpa e a mandioca brava tem níveis elevados do ácido, sendo utilizada na indústria para a fabricação de farinha (FIALHO; VIEIRA, 2011).

A mandioca é amplamente produzida em várias regiões tropicais da África, América Latina e Ásia, sendo a principal fonte de energia em muitos países em desenvolvimento, sendo considerada a cultura com maior capacidade de atender à alta demanda mundial por alimento e de assegurar a segurança alimentar, contribuindo dessa forma, para minimizar a fome e a pobreza, especialmente em regiões mais carentes, onde o cultivo ocorre em maior intensidade (FAO, 2022). O continente africano destaca-se como líder na produção mundial, com cerca de 55,2%, seguido pela Ásia (30,2%) e a América (14,5%) (FAO, 2020). A Nigéria é o maior produtor, com aproximadamente 59,4 milhões de toneladas (FAO, 2020), e apresenta cerca de

35% da produção africana de mandioca e cerca de 21% da produção mundial. A Tailândia é o segundo produtor, com produção de aproximadamente 31,7 milhões de toneladas (FAO, 2020).

O Brasil é o quarto maior produtor, com, aproximadamente, 19 milhões de toneladas anuais em uma área plantada de 1,4 milhões de hectares (IBGE, 2022). O seu cultivo se encontra em todo território nacional, sendo mais concentrados nas Regiões Norte e Sul, representado 38% e 24,2% da produção, respectivamente, seguida pelas Regiões Nordeste, com 17,9%, e Centro-Oeste, com 7,7% (DERAL, 2020).

Os Estados do Pará e Paraná destacam-se como os principais produtores nacionais de mandioca (CONAB, 2018). Sendo o Estado do Pará o maior produtor, seguido do Paraná, com produções de aproximadamente 3,83 e 3,38 milhões de toneladas, respectivamente, são responsáveis por mais de 1/3 da produção nacional de mandioca (IBGE, 2022).

As raízes apresentam altos níveis de amido, representando a quarta fonte de calorias mais importante na alimentação (FAO, 2021). A mandioca apresenta grande importância socioeconômica, com ampla utilização como matéria-prima para agroindústrias e geradora de emprego e renda, principalmente para as populações de baixa renda, contribuindo, substancialmente, com a segurança alimentar (FAO; DERAL, 2020). De usos múltiplos, a cultura é totalmente aproveitada na alimentação humana, animal e pelas indústrias na produção de farinha, féculas, plásticos biodegradáveis, produtos têxteis e biocombustível (CARDOSO, 2003; FIALHO et al., 2011; CONAB, 2018).

2.2 A bacteriose da mandioca

A bacteriose ou murcha bacteriana da mandioca (*Cassava bacterial blight* – CBB), cujo agente etiológico é *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Berthet-Bondar, 1915) Vauterin et al. 1995 (= *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*)) (CONSTANTIN et al., 2016), está entre as doenças de maior impacto econômico na mandiocultura em diversos países do mundo (MANSFIELD et al., 2012; WONNI et al., 2015; MASSOLA; BEDENDO, 2016; RUBIO et al., 2017; TAYLOR, 2017; LIVOI et al., 2020).

A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil por Bondar (1912), no Estado de São Paulo e, posteriormente, na Colômbia e Venezuela (LOZANO; SIQUEIRA 1974). Desde então, a doença se espalhou para outros países da América do Sul, África e Ásia (LEU; CHEN, 1972; MARAITE; MEYER, 1975). No Brasil a doença foi registrada em todo território nacional, onde a mandioca é cultivada causando extensivos danos (VIÉGAS, 1976; TAKATSU et al., 1978; CABI, 2022). Em regiões onde as condições climáticas são favoráveis, com variações bruscas

de temperatura entre o período diurno e noturno, considerando-se a amplitude diária superior a 10° C, mantida por um período constante acima de 5 dias, tornam-se ideais para o desenvolvimento da doença, podendo ocasionar perdas de até 100% se as variedades forem suscetíveis (SOUZA; FIALHO, 2003; MOSES et al., 2008; FIALHO; VIEIRA, 2011; MARTIN et al., 2017).

Os danos causados pela bacteriose variam com as condições climáticas, tolerância do genótipo, práticas culturais, épocas de plantio e contaminação do material de plantio (LOZANO, 1986). A temperatura é um fator fundamental para a severidade da doença, em regiões como Sul, sudeste e Centro-Oeste, que apresentam mudança brusca de temperatura entre 20 e 30 °C do período diurna para o noturno, a doença é mais agressiva (ANJOS et al., 2011).

Xanthomonas phaseoli pv. *manihotis* pertence ao filo Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, ordem Xanthomonadales, família Xanthomonadaceae e gênero *Xanthomonas* (VAUTERIN et al., 1995; CABI, 2022). É uma bactéria gram-negativa, com células no formato de bastonete, móveis por um flagelo polar, não possui células encapsuladas e esporos, aeróbia, apresenta rápido crescimento, com colônias brilhantes, viscosas, convexas, circulares, lisas, redondas e de coloração branca, devido à ausência xantomonadinas, pigmentos amarelos em meio de cultura, típicos do gênero *Xanthomonas* (MARAÍTE; MEYER, 1975; IKOTUN, 1981; VAN DEN MOOTER et al., 1987; OGUNJOBI et al., 2010; MASSOLA; BEDENDO, 2016).

O histórico da etiologia do patógeno é complexo e apresentou diversas mudanças na taxonomia, sendo que por vários anos foi denominado como *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (CONSTANTIN et al., 2016). Identificado em 1912, o agente etiológico da bacteriose foi primeiro descrito como *Bacillus manihotis* Arthaud-Berthet por Bondar (BONDAR, 1912). Após a modificação do sistema de classificação das bactérias com a criação do gênero *Xanthomonas* (DOWSON, 1939), foi reclassificado como *Xanthomonas manihotis* (BERTHET; BONDAR 1915) Starr 1946, baseada nas características nutricionais de bactérias através de testes bioquímicos e fisiológicos. Posteriormente, com a revisão das bactérias patogênicas de plantas e a adoção do sistema patovar, Dye (1988) renomeou *X. manihotis* como *X. campestris* pv. *manihotis*. Com base nas características fenotípicas e genotípicas com dados de análise de hibridização de DNA-DNA, Vauterin et al. (1995) separaram grupos distintos dentro da espécie *Xanthomonas campestris* com base em estudos de homologia de DNA e *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* passou a ser classificada como *Xanthomonas*

axonopodis pv. *manihotis* (BERTHET; BONDAR 1915) Vauterin et al. 1995 (YOUNG et al., 1996).

Assim, após estudos das técnicas moleculares, recentemente a espécie foi reclassificada como *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (BERTHET; BONDAR, 1915) Constantin et al. 2016, com base em uma abordagem taxonômica polifásica com sequência de multilocus, de sete genes, como identidade nucleotídeos e análises bioquímicas (CONSTANTIN et al., 2016). Entretanto, apesar deste nome taxonômico ainda não ser validamente publicado sob as regras do Código Internacional de Nomenclatura de Bactérias (Código Bacteriológico), as publicações vêm sendo efetivamente publicadas com a nova nomenclatura.

A disseminação do patógeno no campo de cultivo e áreas de produção de mudas pode ocorrer a longas distâncias através do material de propagação contaminado e a curtas distâncias, por chuvas e ventos, ferimentos, ferramentas contaminadas e insetos (MARAITE; MEYER, 1975; DANIEL; BOHER, 1985; MIURA; MONTEIRO, 1997; ZANDJANAKOU-TACHIN et al., 2007; CEBALLOS, 2012). E sua penetração nas plantas ocorre pelos estômatos, hidatódios e ferimentos (KEMP et al., 2004) e a colonização ocorre na fase epifítica, no entanto, quando encontram condições favoráveis, como a alta umidade, ocorre a multiplicação do patógeno e a infecção (LÓPEZ; BERNAL, 2012; ROMEIRO; FERRAZ, 2012).

Xanthomonas phaseoli pv. *manihotis* é um patógeno foliar e vascular, que afeta toda a parte aérea da planta, principalmente folhas e ápice, podendo ocorrer em qualquer estágio de seu desenvolvimento (MASSOLA JUNIOR; BEDENDO, 1997). Sobrevive no solo em tecidos doentes da planta e em restos culturais contaminados, com período de sobrevivência curta, de até seis meses, sendo favorecida no solo com pH entre 6,0 e 6,5 e com baixo teor de matéria orgânica (SILVA et al., 2008). Fanou et al. (2017) relataram a sobrevivência do patógeno no solo, em até três semanas, onde permanece dormente em restos de culturas no solo ou em hospedeiros alternativos como ervas daninhas e, quando as condições ambientais são favoráveis, ocorrem epidemias no campo.

Os sintomas da bacteriose podem ser descritos como um complexo de lesões que envolvem manchas foliares, murcha, exsudação de látex, necrose do sistema vascular e morte descendente dos ramos (DRUMOND; HIPÓLITO, 1941; MASSOLA; BEDENDO, 2005). Os sintomas nas folhas são caracterizados inicialmente por pequenas lesões encharcadas, poligonais, de aparência translúcida. Essas lesões evoluem para manchas irregulares que podem cobrir grandes extensões da folha, tornando-se amareladas e secas, provocando a murcha e a queda dos pecíolos da planta (FUKUDA; GOMES, 2005; ISHIDA et al., 2016).

2.3 As podridões radiculares da mandioca

A podridão radicular na mandioca é uma das principais doenças que acometem a cultura em várias regiões produtora no mundo (ONYEKA et al., 2005; SERRA et al., 2009; NOTARO, 2013; BRITO et al., 2020). É altamente destrutiva e de grande importância econômica por afetar diretamente as raízes tuberosas, comprometendo a absorção de água, nutrientes, crescimento da planta e consequentemente redução na produtividade (BRITO et al., 2020). Contudo, há relatos de redução de rendimento de até 85%, dependendo do patógeno causador da doença, da suscetibilidade das cultivares e das condições de drenagem da área sob cultivo (BRITO et al., 2020).

A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil por Figueiredo e Albuquerque (1970) no Estado do Pará e posteriormente por Lopes (1977), Melo e Tokeshi (1978), no estado da Paraíba. Desde então a doença tem sido relatada em todas as regiões produtoras e sua incidência têm aumentado de forma considerável nos últimos anos, inviabilizando áreas de plantio ao longo dos ciclos da cultura (LOPES, 1977; SERRA et al., 2009; NOTARO, 2013; VILAS BOAS et al. 2017). Na África (FASSI, 1957) e na América Tropical (VANDERWEYEN, 1962) foi relatada causando perdas de até 80% no rendimento e três espécies do gênero *Phytophthora* (*P. drechsleri*, *P. erythroseptica* e *P. cryptogea*) foram registradas como os agentes etiológicos nesses países. Na Índia, foi registrada em 1995 em plantações de mandioca, sendo identificada *Phytophthora palmivora* var. *palmivora*.

As condições favoráveis para a ocorrência são relacionadas à alta pluviosidade e temperatura, além de solos com baixa fertilidade e mal drenados (MOSES et al., 2008; SILVA et al., 2013).

As podridões radiculares da mandioca constituem um complexo de agentes etiológicos representados por oomicetos e fungos, das espécies dos gêneros *Phytophthora*, *Pythium* e *Phytopyrium* (MACHADO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016; VILAS BOAS et al., 2017; BOARI et al., 2018), *Fusarium* (MASSOLA et al., 2016), *Lasiodiplodia* e *Neoscytalidium* (MACHADO et al., 2014; VILAS BOAS et al., 2017). São patógenos do solo, altamente destrutivos e que se caracterizam por apresentar ampla gama de hospedeiros e produzir estruturas de sobrevivência (SILVA et al., 2013). Esses fatores contribuem para o aumento da doença e podem estarem relacionados com a perpetuação desses patógenos em condições adversas, como as altas temperaturas e pluviosidades, por apresentar estruturas de resistência formadas em condições climáticas desfavoráveis na ausência do hospedeiro. Assim, a doença torna-se de difícil controle, pois esses patógenos que a cometem permanecem viáveis por um

longo período no solo, infectando plantas nativas ou em estágio de dormência (SILVA et al., 2013).

As podridões são classificadas como moles, secas e negras (MIURA; MONTEIRO, 1997; MASSOLA et al., 2016; VILAS BOAS et al., 2017) e os sintomas são distintos em função dos agentes etiológicos, principalmente relacionado ao apodrecimento das raízes. O amarelecimento e a murcha da parte aérea das plantas são sintomas reflexos do apodrecimento das raízes, podendo ocorrer também à queda das folhas e ao ressecamento das pontas dos galhos antes da morte da planta (FIGUEREIDO; ALBUQUERQUE, 1970).

No presente estudo, os principais patógenos associados às podridões mole, seca e negra pertencem, respectivamente, aos gêneros *Phytophthora*, *Fusarium*, *Lasioidiplodia* e *Neoscytalidium*.

2.3.1 Podridão mole (*Phytophthora* sp.)

Os fitopatógenos *Phytophthora* spp. (*Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora drechsleri* e *Phytophthora melonis*), *Pythium sclerotieichum* e *Phytophthora* sp. são descritos como os agentes etiológicos da podridão mole da mandioca (OLIVEIRA et al., 2016; BOARI et al., 2018; ALVES et al., 2020). São responsáveis por ocasionar perdas significativas na produção, por afetarem principalmente as raízes tuberosas e a haste das plantas, comprometendo a absorção de água, nutrientes e interfere no crescimento da planta (MASSOLA; BEDENDO, 2005; BANDYPADHYAY et al., 2006). A doença está presente em áreas de solos argilosos, com alto teor de matéria orgânica e mal drenados.

Os sintomas da podridão mole das raízes são caracterizados inicialmente por pequenas manchas aquosas, de coloração caramelada, seguido de escurecimentos dos tecidos, com exsudação de líquido de mau cheiro (BANDYPADHYAY et al., 2006; VILAS BOAS et al., 2017).

O gênero *Phytophthora* está associado à podridão mole da raiz de mandioca e foi relatado pela primeira vez no Brasil e no mundo em 2018, no Estado do Pará (BOARI et al., 2018). As espécies desse gênero pertencem ao reino Chromista, filo Oomycota, ordem Pythiales, classe Peronosporomycetes e família Pythiaceas (BALA et al., 2010; JANKOWIAK et al., 2015). As colônias em meio de cultura BDA são de coloração branca, achatadas, cotonosas e de crescimento rápido (BOARI et al., 2019). Apresentam micélio cenocítico e hialino, esporângios e ovóides (BOARI et al., 2019). O patógeno pode se reproduzir de forma sexuada e/ou assexuada, onde reprodução sexuada acontece a partir da formação do oósporo e,

em seguida, esporângios, que formaram zoósporos no solo que infecta as plantas (WATERHOUSE, 1967; DE COCK et al., 2015). A reprodução assexuada ocorre com a formação de esporângios globosos a ovóides, onde são produzidos os zoósporos hialinos, lisos e móveis (DE COCK et al., 2015; BOARI et al., 2019).

Phytophthium sp. é considerado um patógeno habitante do solo, que sobrevive por longos períodos em condições ambientais adversas do ambiente, através de estrutura de resistência, os oósporos (DE COCK et al., 2015). Os oósporos são liberados no solo após a decomposição completa das plantas afetadas, e atuam como fonte de inóculo inicial para futuros ciclos da doença (DE COCK et al., 2015). A disseminação ocorre principalmente pelos ventos, água de chuva ou irrigação e insetos. É um patógeno agressivo, causador de sérios danos e grandes perdas econômicas no cultivo de mandioca (LOZANO, 1992).

2.3.2 Podridão seca (*Fusarium* sp.)

O gênero *Fusarium* (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides*), agente etiológico da podridão seca da mandioca (VILAS-BOAS et al., 2017; ALVES et al., 2020), é responsável por perdas elevadas na produção, de 30% a 100% (POLTRONIERI et al., 2002; MOSES et al., 2007).

A doença é favorecida pela ocorrência de condições ambientais favoráveis, como solos ácidos e encharcados, com alto conteúdo de argila e matéria orgânica, se mostram mais propensas para o desenvolvimento da doença (MASSOLA JUNIOR; BEDENDO, 1997; CARDOSO, 2003) e os sintomas podem ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento da planta. A infecção pelo patógeno ocorre na parte interna da haste, causando obstrução dos tecidos vasculares, impedindo a translocação da seiva e, conseqüentemente, ocasionando a podridão de consistência seca (OLIVEIRA et al., 2013).

Os sintomas da podridão seca das raízes são caracterizados por lesões amareladas ou amarronzadas, sem aparente destruição dos tecidos (BANDYOPADHYAY et al., 2006; MASSOLA et al., 2016). Além de estrias escuras nas raízes, queda das folhas, amarelecimento, seca, murcha e morte das plantas (POLTRONIERI et al., 2002; FIALHO; VIEIRA, 2011).

O gênero *Fusarium* está associado à podridão seca das raízes de mandioca e as espécies desse gênero pertencem ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes Euscomycetes, ordem Hypocreales e família Nectriaceae (INDEX FUNGORUM, 2022). Em meio de cultura pode apresentar micélio aéreo e difuso, colônias de coloração que varia do branco ao roxo. As características são definidas pela presença de três tipos de conídios, os macroconídios,

microconídios e clamidósporos (BOOTH, 1971). Os macroconídios, são produzidos em grande quantidade, são septados, hialinos, formados em monofiálides longas sobre hifas, já os microconídios, possuem formato oval a reniforme, com ou sem septo, geralmente, ocorrem, em falsas cabeças, elípticos e os clamidósporos, são hialinos, globosos, lisos a rugoso, observados de forma isolada, em cadeia ou agrupados, possuem paredes celulares engrossadas, o que permite maior sobrevivência do patógeno no solo (SCHIPPERS; VAN ECK, 1981; BURGESS et al., 1994; POLTRONIERI et al., 2002).

Fusarium sp. é considerado é um patógeno habitante do solo, que sobrevive por longos períodos sob condições adversas, pela formação de estruturas chamadas de clamidósporos e apresenta ampla gama de hospedeiro (SCHIPPERS; VAN ECK, 1981; BURGESS et al., 1994). A dispersão do inóculo se dá pela presença de fontes de inóculo na área, como restos culturais e plantas doentes, solo ou ferramentas infestadas (BURGESS et al., 1994). É um patógeno agressivo, causador de sérios danos e grandes perdas econômicas no cultivo da mandioca (BANDYOPADHYAY et al., 2006).

2.3.3 Podridão-negra (*Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.)

As espécies causadoras da podridão negra da mandioca no Brasil pertencem à família Botryosphaeraceae, entre elas, *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. (MACHADO et al., 2014; BRITO et al., 2020). São considerados patógenos oportunistas, pois podem permanecer latentes dentro do hospedeiro sem causar dano, mas quando as condições são favoráveis, tornam-se agressivos. Os sintomas da podridão negra das raízes são lesões escuras ou acinzentada nas raízes e hastes e podem envolver podridão-mole, mas sem exalar o mau cheiro característico (MSIKITA et al., 2005; MACHADO et al., 2014; VILAS BOAS et al., 2017).

As espécies de *Lasiodiplodia* pertencem ao filo Ascomycota, classe Dothideomycetes, ordem Botryosphaerales e família Botryosphaeriaceae (SLIPPERS et al., 2007). É um patógeno polífago, oportunista, que penetra no interior dos tecidos da planta através de ferimentos ou rachaduras. As colônias em meio de cultura BDA são de coloração cinza a negra. Os conídios são asseptados e hialinos quando imaturos, tornando-se marrom escuro, com um septo mediano, ovóides e com parede estriada na maturidade (BRITO et al., 2020). Apresentam picnídios unilocular a multilocular, globoso, separado ou agrupado, castanho-escuro, que pode estar imerso em estroma (MACHADO et al., 2014; BRITO et al., 2020).

O gênero *Neoscytalidium* está associado à podridão negra da raiz de mandioca e foi relatado pela primeira vez no Brasil em 1994, no Estado de Pernambuco (LARANJEIRA et

al.,1994) e, em seguida, nos Estados do Pará e de Alagoas (POLTRONIERI et al.,1998; MUNIZ et al., 1999). Esse gênero pertence ao filo Ascomycota, classe Dotideomicetos, ordem Botryosphaeriales e família Botryosphaeriaceae (CROUS et al., 2006). Em meio de BDA o fungo apresenta colônia inicialmente branca, seguida de cinza- escuro a preto. Apresenta conídios elipsoide a fusiforme, inicialmente hialinos, tornando-se pigmentados e septados na maturidade. Picnídios escuros, de forma irregular a ovoide, de forma isolada ou agregados (CROUS et al., 2006; SERRA et al., 2009; PHILLIPS et al., 2013; BRITO et al., 2020).

Portanto, as espécies que eram identificadas como *Scytalidium* causando podridão negra, tiveram sua nomenclatura alterada para o gênero *Neoscytalidium* (SEIFERT et al., 2011), pois através da caracterização morfológica dos isolados, apresentam características morfológicas idênticas, porém com diferença na presença ou ausência de picnídios e conídios entre os gêneros, além de pertencerem a ordens diferentes de Ascomycota (SEIFERT et al., 2011; PHILLIPS et al., 2013).

2.4 Bactérias endofíticas

O desenvolvimento nas pesquisas em busca de novos produtos naturais tem sido contínuo, principalmente, pelo interesse em obter compostos com potencial biológico que proporcionem uma agricultura sustentável, a fim de manter o equilíbrio ambiental e aumentar a produtividade (LACAVA et al., 2022; MEDISON et al., 2022; SUMAN et al., 2022). Microrganismos endofíticos desempenham um papel importante na agricultura e vêm sendo cada vez mais utilizados na área biotecnológica, pois apresentam grande potencial como agentes de controle biológico e por influenciarem de forma positiva no crescimento de diversas espécies vegetais (AFZAL et al., 2019; ALKAHTANI et al., 2020; HAMID et al., 2021; KIANI et al.,2021).

Os endofíticos foram descritos pela primeira vez por Bary em 1866, como microrganismos que colonizam os tecidos internos das plantas (DE BARY, 1866; PETRINI, 1991). No entanto, em 1991, Petrini definiu que os endofíticos colonizam os tecidos internos das plantas, mas sem causar danos a seus hospedeiros (PETRINI, 1991).

Bactérias endofíticas têm demonstrado diferentes capacidades e benefícios em suas associações com diferentes espécies vegetais, como promoção do crescimento e proteção contra patógenos (ALKAHTANI et al., 2020; KIANI et al.,2021; ABBAS et al., 2024; PRASOM et al. 2017). Tais microrganismos residem no interior dos tecidos vegetais ao menos um períodos de seu ciclo de vida, estabelecendo associações sem causar doenças ou danos aparentes em seus

hospedeiros (HALLMANN et al., 1997; ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006; TAULÉ et al., 2021) e também produzem substâncias, como compostos bioativos e voláteis (WANG et al., 2024).

Bactérias endofíticas estão presentes em quase todas as espécies vegetais, permanecendo em estado de latência ou colonizando ativamente os tecidos de forma local ou sistêmica. Estas bactérias podem ser encontradas em diferentes órgãos ou tecidos vegetais, como raízes, caules, folhas, sementes, frutas, tubérculos e nódulos (ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006; COMPANT et al., 2011).

As bactérias endofíticas podem se originar da rizosfera, filosfera e sementes (COMPANT et al., 2010; TRUYENS et al., 2015). No entanto, ao colonizar os tecidos internos de seus hospedeiros, apresentam vantagens sobre as bactérias epifíticas, por sobreviverem em um ambiente protegido dos meios externos, bem como apresentar efeitos diretos nas plantas, baixa competição e maior quantidades de nutrientes, além da proteção contra o estresse biótico (AFZAL et al., 2019; COMPANT et al., 2021).

Sua penetração nos tecidos das plantas hospedeiras ocorre principalmente pelas raízes, através de fissuras ou ferimentos causados por fitopatógenos (KLUEPFEL, 1993; ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006; COMPANT et al., 2010), podendo ocorrer também pelos estômatos e enzimas hidrolíticas (VERMA et al., 2021).

Ao colonizar o interior das raízes, as endofíticas migram sistematicamente para outras partes da planta através do sistema vascular e apoplasto, pelos espaços inter e intracelulares dos diferentes tecidos do floema, podendo ser local como em tecidos do córtex e xilema (HALLMANN et al., 1997; ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006).

As bactérias endofíticas pertencem a um grupo diversificado de gêneros, variando de gram-positivas a gram-negativas. Em geral, as *Acetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Streptomyces* e *Microbacterium* estão entre os gêneros mais comumente isolados (COMPANT et al., 2011; DUDEJA; GIRI, 2014). As plantas hospedeiras podem ser colonizadas simultaneamente por uma grande variedade de bactérias endofíticas (ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006; WHITE et al., 2019).

No entanto, diversos fatores podem comprometer a diversidade nas plantas hospedeiras, como a planta (genótipo, estágio de crescimento, idade, localização geográfica e tipo de tecido), o solo (tipo e estrutura do solo), espécies endofíticas e fatores ambientais (seca e salinidade) (SINGH et al., 2017; SCOTT et al., 2018; AFZAL et al., 2019; COMPANT et al., 2019; MINA et al., 2020; ZHANG et al., 2022).

Ha et al. (2021) observaram diferenças na estrutura e diversidade das comunidades bacterianas associadas a diferentes genótipos de mandioca, com predominância dos Filos Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria. Singha et al. (2021) relataram a influência do estágio de desenvolvimento de plantas de arroz preto na diversidade microbiana da endosfera. Liu et al. (2022) revelaram uma grande variedade de bactérias endofíticas no arroz selvagem, entre os quais Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes e Actinobacteria foram as dominantes. Fan et al (2022) verificaram que a comunidade endofítica nas raízes de *Panax ginseng* era mais diversa nas raízes do que nos caules e folhas, sendo que o gênero bacteriano endofítico mais abundante nas raízes foi o *Mycobacterium*, enquanto nos caules e folhas o *Ochrobactrum*.

As plantas e as bactérias endofíticas têm uma relação mutualística onde as plantas fornecem nutrientes e proteção aos microrganismos que, por sua vez, produzem antibióticos e outras substâncias que induzem o crescimento da planta e resistência a patógenos (HARDOIM et al., 2015). Bactérias endofíticas podem oferecer diversos benefícios para as plantas hospedeiras como crescimento, resistência a doenças, hormônios promotores de crescimento e tolerância à estresse abiótico (AFZAL et al., 2019). A caracterização de bactérias endofíticas requer isolamento do microrganismo de uma superfície previamente esterilizada, seguida por métodos culturais e moleculares, além de estudos de filogenia (KHAN et al., 2020).

2.4.1 Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico de doenças de plantas

O controle biológico por microrganismos é uma estratégia promissora no manejo integrado de doenças de plantas, além de garantir uma agricultura sustentável, podendo reduzir os danos ao ambiente e ao homem, e com isso atender às demandas agrícolas cada vez maiores

O biocontrole de doenças de plantas ocorre pela supressão de fitopatógenos por microrganismos antagonistas (HEIMPEL; MILLS, 2017). Sua eficácia depende da interação entre o antagonista, o patógeno, a planta e os fatores ambientais. Diversos grupos de microrganismos têm sido selecionados como agentes de biocontrole, dentre eles, as bactérias endofíticas, pois são altamente promissores no controle de doenças de plantas (BETTIOL; MORANDI, 2009; KIANI et al., 2021).

As bactérias endofíticas destacam-se por apresentar várias vantagens no controle de doenças de plantas. Além do contato direto com as células vegetais, podem colonizar o mesmo nicho ecológico que os patógenos e agir direto sobre eles por antagonismo ou competição (HALLMANN et al., 1997; LACAVA, et al., 2018).

Este grupo de bactérias podem atuar através de diversos mecanismos de ação no controle de doenças de plantas, entre os quais destacam-se antibiose, competição e indução de resistência sistêmica (GLICK, 2012; TAULÉ et al., 2021).

Na antibiose, compostos antimicrobianos (voláteis e não voláteis) são produzidos pelo antagonista e têm efeito negativo sobre o patógeno, resultando na redução do crescimento micelial ou germinação de conídios (MEDEIROS; DA SILVA; PASCHOLATI, 2018). Na competição, pode ocorrer por espaço e nutrientes, onde o agente de biocontrole coloniza rapidamente sobre a superfície em que se encontra, limitando o espaço para crescimento do patógeno, além disso, compete por nutrientes, reduzindo a disponibilidade pelo patógeno, impedindo assim a sua sobrevivência, desenvolvimento e reprodução (MEDEIROS; DA SILVA; PASCHOLATI, 2018). E na indução de resistência, as bactérias atuam como indutores, ativando mecanismos latentes de defesa contra fitopatógenos (VAN LOON et al., 1998; GLICK, 2012; MEDEIROS; DA SILVA; PASCHOLATI, 2018).

Bactérias endofíticas têm sido frequentemente estudadas como agentes de biocontrole de doenças de plantas. SINGH et al (2022) mostraram que isolados dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia* e *Lysinibacillus* controlaram o cretamento bacteriano da romã (*Punica granatum* L), causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* (Xap). Yang et al. (2021) verificaram que bactérias endofíticas do gênero *Pantoea* promoveram o biocontrole da estria bacteriana da folha do arroz, cujo agente etiológico, a *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. Nugroho et al. (2022) relataram que os isolados de *Staphylococcus pasteurii* e *S. warneri* foram eficazes no controle do cancro cítrico, causada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Legrifi et al. (2022) revelaram o controle de *Pythium* sp. *in vitro* e da podridão radicular da oliveira (*Olea europaea* L.) *in vivo*. Egamberdieva et al. (2017) demonstraram que o isolado endofítico de *B. subtilis* NUU4 apresentou potencial como agente de controle biológico de *Fusarium solani* *in vitro* e da podridão radicular do grão-de-bico *in vivo*. O isolado N4 de *Bacillus subtilis*. isolado das folhas saudáveis de *Phoebe bournei*, uma árvore endêmica da China, possui um excelente efeito de biocontrole contra o cancro do caule de *P. bournei* causada por *Lasiodiplodia theobromae* (NAGPAL et al., 2020). Machado et al. (2020) identificaram isolados de bactérias endofíticas pertencentes aos gêneros *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Curtobacterium*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Leucobacter*, *Lysinibacillus*, *Microbacteria*, *Rhodococcus* e *Serratia* associadas ao pinhão manso (*Jatropha curcas* L), e estas foram avaliadas *in vitro* contra os fungos fitopatogênicos *Lasiodiplodia subglobosa*, *L. euphorbicola* e *L. pseudotheobromae*, e apresentaram antagonismo aos três fitopatógenos testados, enquanto o gênero *Bacillus* apresentou maior atividade antagônica que os demais isolados. An et al. (2020), demonstraram

que o isolado D19 de *Bacillus amyloliquefaciens*, apresentou efeito antifúngico contra *Neoscytalidium dimidiatum*, agente etiológico da podridão da pitaya.

Bactérias endofíticas de mandioca também têm demonstrado resultados promissores no controle de doenças de plantas. Melo et al. (2009), observaram o efeito de *Bacillus pumilus* MAIIM4a no biocontrole de *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* e *Sclerotium rolfsii*. Dois isolados de *Pseudomonas* sp. foram eficientes no controle de *X. phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), agente etiológico da bacteriose da mandioca (CBB) (PURNAWATI; NIRWANTO, 2013). Ainda, Khucharoenphalsan et al. (2016) estudaram a eficiência do isolado de *Streptomyces malaysiensis* contra *Phytophthora* sp., agente etiológico da podridão de raízes. Saengchan et al. (2022) constataram que o isolado de *Bacillus subtilis* JN2-007 promoveu o controle de *Fusarium solani* *in vitro* e da podridão radicular *in vivo* em plantas de mandioca. Ferreira et al. (2021) notaram que os isolados de *B. aryabhatai* 4W e 23Y foram capazes de inibir o crescimento *in vitro* e *in vivo* de *Phytophthora* sp., agente etiológico da podridão de raízes da mandioca.

2.4.2 Bactérias endofíticas como promotores de crescimento de plantas

Microrganismos promotores de crescimento vegetal é uma alternativa promissora no desenvolvimento de uma agricultura sustentável (ULLAH et al., 2019; ALKAHTANI et al., 2020; HAMID et al., 2021). Bactérias endofíticas atuam positivamente no desenvolvimento da planta por estarem em contato direto e não causar prejuízos ao seu hospedeiro, além de produzir substâncias que estimulam o crescimento e proporcione uma melhor absorção de água e nutrientes às plantas (AFZAL et al., 2019; ALKAHTANI et al., 2020).

As bactérias endofíticas promotoras do crescimento, podem atuar no crescimento da planta direta e indiretamente. Os mecanismos diretos envolvem a produção de sideróforos, fitormônios e o aumento da disponibilidade de nutrientes pela fixação de N_2 e a solubilização de fosfatos (ASLAM et al., 2018; ALKAHTANI et al., 2020; KRISHNAMOORTHY et al., 2020).

Sideróforos são substâncias que quelam o ferro no solo, tornando-o indisponível para outros componentes da microbiota (MEYER et al., 1987). O ferro é um micronutriente essencial para o crescimento das plantas e dos microrganismos (KOBAYASHI; NISHIZAWA, 2012; SAHA et al., 2013). Se encontra em abundância no solo, mas apenas uma pequena fração está disponível para as plantas, devido à baixa solubilidade de óxidos de Fe^{3+} , com isso, torna-se assimilável. Dessa forma, bactérias endofíticas produtoras de sideróforos em associação com

as plantas, podem favorecer o crescimento das plantas, funcionando como bactérias promotoras de crescimento vegetal (SAHA et al., 2016), ainda limitando o ferro para outros micro-organismos fitopatogênicos.

Os fitohormônios atuam como reguladores do crescimento das plantas e promovem alterações morfológicas das raízes, influenciando na absorção de nutrientes e água. Dentre os quais destacam-se as auxinas, citocininas e giberelinas (HALMANN, 1990; PAŘÍZKOVA et al., 2017). As auxinas, especificamente o AIA é o mais estudado e produzido pelas bactérias, tendo uma aplicação prática como promotora de crescimento vegetal, pois essa substância atua no crescimento das raízes e partes aéreas da planta (TAIZ; ZEIGER, 2004; GRAVEL et al., 2007).

No processo de fixação biológica do nitrogênio, as bactérias assimilam o nitrogênio atmosférico (N_2) e o convertem em amônia (NH_3), estas são conhecidas como diazotróficas ou fixadores de nitrogênio (WEZEL et al., 2014). Estas bactérias podem ser rizósferica, endofíticas ou epifíticas. As bactérias endofíticas diazotróficas são aquelas que fixam N_2 atmosférico e podem ser encontradas vivendo nos tecidos vegetais, (DOBEREINER, 1992). Dentre as mais estudadas, destacam-se aquelas pertencentes aos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, sendo as *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Pantoea* envolvidos na fixação de nitrogênio e promoção do crescimento de várias culturas (SINGH et al., 2021).

A solubilização de fósforo acontece através da síntese de ácidos orgânicos produzidos pelos microrganismos. Na planta, o fósforo está envolvido no processo do desenvolvimento radicular, fortalecimento do caule, flores e sementes formação e promoção da maturidade da cultura (BONONI et al., 2020). As bactérias endofíticas podem aumentar a disponibilidade do fósforo através da solubilização de minerais contendo fósforo, usando mecanismos que incluem a produção de fosfatases, a secreção de ácidos orgânicos e a liberação de complexos ou compostos como ânions de ácidos orgânicos, prótons e sideróforos que quelam Ca^{2+} , Al^{3+} e Fe^{3+} cátions envolvidos na imobilização do fósforo para formar fosfatos insolúveis (SHARON et al., 2016; EMAMI et al., 2020).

Diversos estudos relatam o efeito de promoção de crescimento através das bactérias endofíticas em diversas culturas. Chen et al. (2021) verificaram que as bactérias endofíticas PSBs HRP2, SSP2 e JRP22 quando inoculadas em mudas de *Cunninghamia lanceolata* foram eficientes em promover o crescimento, apresentando aumento na altura da planta, diâmetro do caule e na biomassa de raízes, caules e folhas. Oteino et al. (2015) descreveram que plantas *Pisum sativum* L tratadas com isolados L321 ou L132 de *Pseudomonas fluorescens*

apresentaram efeitos positivos significativos nos parâmetros de crescimento das plantas, em relação ao aumento dos pesos das massas frescas e secas da planta, ainda foram capazes de solubilizar fosfato, na forma de fósforo inorgânico insolúvel, e ácido glucônico (GA). Zucareli et al. (2018) avaliaram a inoculação de estipes de *Bacillus subtilis* no feijão, juntamente com a disponibilização de diferentes fontes de fósforo e observaram que houve aumento na disponibilidade desse nutriente no solo, bem como a sua absorção, a produção de biomassa de raízes e parte aérea da planta, assim como sua produtividade dos grãos.

Bactérias endofíticas de mandioca também têm demonstrado resultados promissores na indução de crescimento de plantas. Ferreira et al. (2021) verificaram que as bactérias endofíticas *B. cereus* 15Y e *B. aryabhattai* 4W, 16Y e 23Y apresentaram habilidades distintas para solubilizar fosfato de cálcio, sintetizar ácido indolacético e siderofóros e, quando as plantas de mandioca foram inoculadas, apresentaram aumento da biomassa de raízes e folhas, concluindo que as bactérias endofíticas de mandioca foram capazes de promover o crescimento das plantas. Leite et al. (2018) constataram que a maioria dos isolados analisados em seu estudo produziram AIA e foram capazes de solubilizar o fosfato, sendo características importantes envolvidas na promoção do crescimento das plantas. Zhang et al. (2022) mostraram que houve o aumento da biomassa de raízes, caules e folhas de plantas de mandioca quando inoculadas com o isolado A02, e observaram também que esses resultados estavam relacionados à produção de auxina (AIA), solubilização do fosfato e fixação biológica de nitrogênio das folhas de mandioca pelo isolado A02.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, M. M. et al. Efficacy of endophytic bacteria as promising inducers for enhancing the immune responses in tomato plants and managing *Rhizoctonia* root-rot disease. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 1331, 2024.
- AFZAL, I. et al. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p.36-49, 2019.
- ALKAHTANI, M. D. F. et al. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1325, 2020.
- ALORI, E. T. et al. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 971, 2017.
- ALVES R. N. B. et al. Podridões em raízes de mandioca: problemas e soluções para seu controle. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, p. 24, Documentos, 455, 2020.
- AN, N. N. et al. Isolation, identification and characterization of bacterial antagonists of the dragon fruit fungal pathogen *Neoscytalidium dimidiatum*. **Journal of Science and Technology-IUH**, v. 44, n. 02, 2020.
- ANJOS, J. R. N. et al. Principais Doenças da Mandioca no Cerrado. In: VIEIRA, E.A; FIALHO, J. F. Mandioca no Cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 118-121, 2011.
- ASLAM, A., et. al. Effect of carbonic anhydrase-containing endophytic bacteria on growth and physiological attributes of wheat under water-deficit conditions. **Plant Production Science**, v. 21, n. 3, p. 244-255, 2018.
- BALA, K. *Phytophythium* Abad, de Cock, Bala, Robideau, Lodhi & Levesque, gen. nov. and *Phytophythium sindhum* Lodhi, Shahzad & Levesque, sp. nov. **Persoonia**, v. 24, p. 136-137, 2010.
- BANDYOPADHYAY, R. et al *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. **Phytopathology**, v. 96, p. 673–676, 2006.
- BETTIOL, W. et al. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, p.183-205, 2009.
- BOARI, A. J. et al. First Report of *Phytophythium* sp. Causing Storage Root Rot and Foliage Blight of Cassava in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1042, 2018.
- BONDAR G. Una nova molestia bacteriana das hastas da mandioca. **Chacaras e Quintaes**, São Paulo, v. 5, p. 15-18, 1912.
- BOOTH, C. **The genus Fusarium**. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute, 1971.

BORGES, M. F. et al. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p.1559- 1565, 2002.

BRENES, E. A. Manual del Cultivo de Yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), **Obtenido de Programa Regional de Investigación e Innovación por Cadenas de Valor Agrícola (UE/IICA)**, 2017.

BRITO, A. C. Q. et al. Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with black root rot and stem cutting dry rot in *Manihot esculenta* in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, p. 583-598, 2020.

BURGESS, L.W. et al. Laboratory Manual for *Fusarium* research. *Fusarium* Research Laboratory. University of Sidney **Crop Sciences**, 3 ed., p. 132, 1994.

CABI. (2022) *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (cassava bacterial blight). In: Invasive species compendium. **Disponível em** <https://www.cabi.org/isc/datasheet/56952>. **Acesso em:** janeiro 2022.

CARDOSO, C. E. L. Competitividade e inovação tecnológica na cadeia agroindustrial de fécula de mandioca no Brasil. p. 188 Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, **Piracicaba/SP**. 2003.

CAWOY, H. et al. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. In: Stoytcheva, M. (Ed.), Pesticides in the Modern World-Pesticides Use and Management 273-302. **InTech, Rijeka, Croatia**, v. 1849, p. 273–302, 2011.

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

CEBALLOS, H. et al. Conventional breeding, marker-assisted selection, genomic selection and inbreeding in clonally propagated crops: a case study for cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, p. 1647-1667, 2015.

CHEN, M. S. et al. *Jiella mangrovi* sp. nov., a novel endophytic bacterium isolated from leaf of *Rhizophora stylosa*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 114, n. 10, p. 1633-1645, 2021.

CIPRIANO, M. A. P. et al. Plant-growth endophytic bacteria improve nutrient use efficiency and modulate foliar n-metabolites in sugarcane seedling. **Microorganisms**,v. 9, n. 3, p. 479, 2021.

COMPANT S. et al. The plant endosphere world–bacterial life within plants. **Environmental Microbiology**, v. 23, n. 4, p. 1812-1829, 2021.

COMPANT, S. et al. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

COMPANT, S. et al. A review on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application. **Journal of Advanced Research**. v. 19, p. 29–37, 2019.

COMPANT, S. et al. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 1685-1693. 2005.

COMPANT, S. et al. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. **Microbial ecology**, v. 62, p. 188-197, 2011.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Análise mensal, 28 fevereiro. Brasília DF, 2018. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=526&t=>>. Acessado em: 5 de janeiro de 2022.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Análise mensal, janeiro de 2022. Brasília DF, 2022. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=526&t=>>. Acesso em: 01 de fevereiro de 2022.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Análise mensal, março de 2017. Brasília DF, 2017. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=526&t=>>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2020.

CONSTANTIN, E. C. et al. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. **Plant Pathology**, v. 65, n. 5, p. 792-806, 2016.

CORDEIRO, I. et al. Manihot in Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB55991>>. Acesso em: 22 junho 2022.

CROUS, P. W. et al. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. **Studies in Mycology, Amsterdã**, v.55, p.235–253, 2006.

DANIEL JF, BOHER B. Epiphytic phase of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* on aerial parts of cassava. **Agronomie**. v. 5, n. 2, p. 111-116, 1985.

DE BARY, A. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten, und Myxomyceten.[Hofmeister's Handbook of Physiological Botany. Vol. 2.]. **W. Engelmann, Leipzig, Germany**, 1866.

DE COCK, A. W. A. M. et al. Phytopythium: molecular phylogeny and systematics. **Persoonia-Molecular phylogeny and evolution of fungi**, v. 34, n. 1, p. 25-39, 2015.

DERAL - Departamento de Economia Rural - Prognóstico Cultura da mandioca novembro de 2020. Disponível em:< http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-12/Mandioca%202020.pdf>. Acesso em: 15 de setembro de 2021.

DHOUB, H. et al. Potential of a novel endophytic *Bacillus velezensis* in tomato growth promotion and protection against *Verticillium* wilt disease. **Biological Control** v. 139, p. 104092, 2019.

DOBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência Cultura**, v.44, p. 310-313, 1992.

DOMÍNGUEZ, E. C. et al. Morfologia de la planta de yuca. In: DOMÍNGUEZ, C.E. (Ed.) Yuca: investigation, production y utilization. Cali: CIAT, p. 29-49. 1984.

DOWSON D. On the systematic position and generic names of the Gram-negative bacterial plant pathogens. Zentralblatt für Bakteriologie, **Parasitenkunde und Infektionskrankheiten**, v.100, p.177-193, 1939.

DRUMOND, O.A., HIPÓLITO O. Nota sobre a bacteriose da mandioca, **Ceres**, Brasil, v.2, p.281-307, 1941.

DYE, D. W.; LELLIOT, R. A. GENUS II. *Xanthomonas* Dowson. In: Buchanan, R. E. et al. eds. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore, The Williams and Wilkins Co., p. 243-249, 1974.

DUDEJA, S. S.; GIRI, R. Beneficial properties, colonization, establishment and molecular diversity of endophytic bacteria in legumes and non legumes. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n.15, p. 1562-1572, 2014.

EGAMBERDIEVA, D. et al. Endophytic Bacteria Improve Plant Growth, Symbiotic Performance of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) and Induce Suppression of Root Rot Caused by *Fusarium solani* under Salt Str **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1887, 2017.

EMAMI, S. et al. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improves phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. **Rhizosphere**, v. 14, p. 100196, 2020.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Mandioca em números, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/congresso-de-mandioca-2018/mandioca-em-numeros>. Acesso em: 09 de janeiro de 2020.

FAN Z. et al. Endophytic bacterial and fungal community compositions in different organs of ginseng (*Panax ginseng*). **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 4, p. 208, 2022.

FANOU, A., et al. Survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in weed species and in cassava debris: implication in the epidemiology of cassava bacterial blight. **International Journal of Advanced Research**, v. 5, n. 4, p. 2098-2112. 2017.

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/pt/>>. Acesso em: 24 de março de 2020.

FASSI, B. Premieres observations sur une pourriture des racines du manioc causée par un **Phytophthora**. INEAC, v. 6, n. 15, p. 313-317, 1957.

FERREIRA FILHO, J. R. et al. Cultivo, processamento e uso da mandioca: instruções práticas. **Embrapa**, Brasília – DF. 2013.

FERREIRA, S. C. **Identificação de bactérias endofíticas isoladas de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com potencial aplicação na agricultura.** Tese(doutorado), Universidade Federal Rural da Amazônia, 2020.

FERREIRA, S. F. et al. Isolation and characterization of cassava root endophytic bacteria with the ability to promote plant growth and control the in vitro and in vivo growth of *Phytophthora* sp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 116, p. 101709, 2021.

FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. Manejo e tratos culturais da mandioca. Mandioca no Cerrado: orientações técnicas, v. 2, p. 61-88, 2013.

FIGUEIREDO. M. M.; ALBUQUERQUE, F. C. Podridão das raízes de mandioca (*Abutilon* Crantz). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, n. 7, p. 389-93, 1970.

FUKUDA, C.; GOMES, J. C. **Bacteriose da mandioca.** Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005.

GAMEZ, R. et al. Screening, plant growth promotion and root colonization pattern of two rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens* Ps006 and *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006) on banana cv. Williams (*Musa acuminata* Colla). **Microbiological Research**, v. 220, p. 12-20, 2019.

HA J. et al. Diversity of the bacterial microbiome associated with the endosphere and rhizosphere of different cassava (*Manihot esculenta* crantz) genotypes. **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 729022, 2021.

HALLMANN J. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, n.10, p. 895-914, 1997.

HALMANN, M. Synthetic plant growth regulators. **Advances in Agronomy**, v. 43, p. 47-105, 1990.

HAMID, B. et al. Bacterial plant biostimulants: A sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops. **Sustainability**, v. 13, n. 5, p. 2856, 2021.

HARDOIM, P. R. et al. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. **Microbiology and Molecular Biology**, v. 79, p. 293-320, 2015.

HEIMPEL, G.E.; MILLS, N. J. **Biological control.** Cambridge University Press, 2017.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema de Recuperação Automática de Dados (SIDRA). **Disponível em:** <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. **Acesso em:** 25 março. 2022.

IKOTUN, T. Some characteristics that distinguish *Xanthomonas* cassava e from *Xanthomonas manihotis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 1-14. 1981.

INDEX FUNGORUM. Disponível em <https://www.indexfungorum.org/>. Acesso em: 13 de março de 2022.

ISHIDA, A. K. N. et al. Incidência da bacteriose da mandioca (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*) no Estado do Pará. **Embrapa Amazônia Oriental-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2016.

JALA, I. M. et al. Seedlings of cassava varieties are responsive to organic fertilization. **Ciências Agrárias**, v. 40, n. 5, p. 2151-2164, 2019.

JANKOWIAK, R. Notes on some *Phytophthora* and *Pythium* species occurring in oak forests in southern Poland. **Acta Mycologica**, v. 50, n. 1, 2015.

KATSENIOS, N. et al. Assessment of plant growth promoting bacteria strains on growth, yield and quality of sweet corn. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 11598, 2022.

KEMP, B.P. et al. *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* gumD gene is essential for EPS production and pathogenicity and enhances epiphytic survival on cassava (*Manihot esculenta*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 64, n. 4, p. 209-218, 2004.

KHAN, S. S. et al. Diversity and the role of endophytic bacteria: a review. **Botanica Serbica**, v. 44, n. 2, p. 103-120, 2020.

KHUCHAROENPHALSAN, K., et al. Exploration on Soil Actinomycetes Against *Phytophthora* sp. Causing Root Rot of Cassava and Plant Growth Promoting Activities. **Journal of Plant Science**, v. 11, p. 38-44, 2016.

KIANI, T. et al. Control of stripe rust of wheat using indigenous endophytic bacteria at seedling and adult plant stage. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 14473, 2021.

KLUEPFEL, D. A. et al. Involvement of root-colonizing bacteria in peach orchard soils suppressive of the nematode *Criconebella xenoplax*. **Phytopathology**, v. 83, p. 1240-1245, 1993.

KOBAYASHI, T.; NISHIZAWA, N. K. Absorção, translocação e regulação de ferro em plantas superiores. **Annual review of plant biology**, v. 63, n. 1, p. 131-152, 2012.

GRAVEL, V. et al. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, n.8, p.1968-1977, 2007.

KRISHNAMOORTHY, A. et al. Impact of seed-transmitted endophytic bacteria on intra-and inter-cultivar plant growth promotion modulated by certain sets of metabolites in rice crop. **Microbiological research**, v. 241, p. 126582, 2020.

LACAVA, P. T. et al. Controle biológico e simbiótico de insetos e pragas e doenças por micro-organismos endofíticos. **Bioteconol Microb Ambiental**, v. 1, p. 83-104, 2018.

LACAVA, P. T. et al. Plant growth promotion and biocontrol by endophytic and rhizospheric microorganisms from the tropics: a review and perspectives. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 6, p. 796113, 2022.

LARANJEIRA, D. et al. Ocorrência da podridão negra da maniva e raiz da mandioca (*Manihot*

esculenta) causada por *Scytalidium lignicola* no estado de Pernambuco, Brasil. Brasília: **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p. 466-469, 1994.

LEGRIFI, I. et al. Potential for Biological Control of *Pythium schmitthenneri* Root Rot Disease of Olive Trees (*Olea europaea* L.) by Antagonistic Bacteria. **Microorganisms**, v. 10, n. 8, p. 1635, 2022.

LEITE M. C, Bioprospection and genetic diversity of endophytic bacteria association with cassava plant. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 2, p.315-325, 2018.

LEU, L. S. Cassava bacterial blight in Taiwan. In: **Proceedings of the Fourth Symposium of the International Society for Tropical Root Crops**. IDRC, Ottawa, ON, CA, 1978.

LI, H. et al. Endophytic bacterial and fungal microbiota in different cultivars of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) **Journal of Microbiology**, v. 58, p. 614-23, 2020.

LIU, L. H. et al. Diversity of endophytic bacteria in wild rice (*Oryza meridionalis*) and potential for promoting plant growth and degrading phthalates. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150310, 2022.

LIVOI, A. et al. Prevalence and Distribution of Cassava Bacterial Blight in the Kenyan Coast. **Agricultural Science**; v. 3, n. 1, 2021.

LOPES, E. B. Controle cultural da podridão radicular da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 13, n. 4, p. 45-50, 1977.

LÓPEZ, C. E.; BERNAL, A. J. Cassava bacterial blight: using genomics for the elucidation and management of an old problem. **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 117-126, 2012.

LOZANO, J. C. Bacterial blight of cassava. **PANS Pest Articles & News Summaries**, v. 21, n. 1, p. 38-43, 1975.

LOZANO, J. C. Cassava bacterial blight: a manageable disease. **Plant Disease**, v. 70, n. 12, p. 1989-1993, 1986.

LOZANO, J. C. Outbreaks of cassava diseases and losses induced. **Fitopatologia Brasileira**, v. 14, n. 1, p.7-11, 1989.

MACHADO, A. R. et al. New occurrences of Botryosphaeriaceae causing black root rot of cassava in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 6, p. 464-470, 2014.

MACHADO, A. R. et al. Podridões fúngicas de raízes tuberosas no Nordeste brasileiro: etiologia e manejo. **Desafios do Manejo de Doenças Radiculares Causadas por Fungos**, p. 95-109, 2018.

MACHADO, P. C. et al. *In vitro* characterization of endophytic bacteria associated with physic nut (*Jatropha curcas* L.) and their potential for plant-growth promotion and biocontrol. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 88572-88589, 2020.

MANSFIELD, J. et al. Plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant**

Pathology, v. 13, n. 6, p. 614-629, 2012.

MAPA – Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. novembro de 2022.

MARAITE, H.; MEYER, J. *Xanthomonas manihotis* (Arthaud-Berthet) Starr, causal agent of bacterial wilt, blight and leaf spots of cassava in Zaire. **International Journal of Pest Management**, v. 21, n. 1, p. 27-37, 1975.

MARTIN, A. A. et al. Assessment of the NECO's Effectiveness against Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* In Côte D'Ivoire. **Agricultural Research**, v. 12, n. 4, p. 190-198, 2017.

MASSOLA JUNIOR, N. S. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. **Agronômica Ceres**, v. 2, 2016.

MASSOLA JUNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P. Doenças da mandioca. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, 1997.

MASSOLA, N.S. Jr.; BEDENDO, I.P. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 2005.

MEDEIROS, F. H. V. et al. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de fitopatologia volume 1: Princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres Ltda. p. 261-274, 2018.

MEDISON, R. G. et al. Use of beneficial bacterial endophytes: A practical strategy to achieve sustainable agriculture. **AIMS microbiology**, v. 8, n. 4, p. 624, 2022.

MELO, F. M. P. et al. Antifungal Compound Produced by the Cassava Endophyte *Bacillus pumilus* MAIIM4A. **Scientia Agricola**, v. 66, p. 583-592, 2009.

MELO, S.A.P.; TOKESHI, H. Podridão de raízes na mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 13, n. 4, p. 45-50, 1978.

MEYER, J. A.; ABDALLAH, M. A. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. **Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 319-328, 1978.

MIHAJLOVIC, M. et al. Methods for management of soilborne plant pathogens. **Pesticidi. I Fitomedicina**, v. 32, n. 1, p. 9-24, 2017.

MINA, D. et al. Epiphytic and endophytic bacteria on olive tree phyllosphere: exploring tissue and cultivar effect. **Microbiology Ecology**, v. 80, p. 145–157, 2020.

MIURA, L.; MONTEIRO, A. J. A. Mandioca (*Manihot esculenta*): controle de doenças. **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, p. 791-820. 1997.

MOSES, E. et al. Characteristics and control of a new basidiomycetous root rot of cassava

(*Manihot esculenta*) in Ghana. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 13, p.307-311, 2007.

MOSES, E. et al. Guide to identification and control of cassava diseases. **CSIR-Crop Research Institute, Kumasi, Ghana**, 2008.

MOSES, L. S.; FIALHO, J. F. Cultivo da Mandioca para a Região do Cerrado. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. **Disponível em:** <sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_cerrados/solos.htm>. **Acesso em:** março de 2022.

MSIKITA, W. et al. Prevalence and severity of *Nattrassia mangiferae* root and stem rot pathogen of cassava in Bénin. **Plant Disease**, v.89, p.12-16, 2005.

MUNIZ, M. F. S. et al. *Scytalidium lignicola*: patógeno da mandioca no estado de Alagoas. **Summa phytopatológica**, v. 25, n. 2, p. 156-158, 1999.

NAGPAL, S. et al. Coordination of *Mesorhizobium* sp. and endophytic bacteria as elicitor of biocontrol against *Fusarium* wilt in chickpea. **European Journal of Plant Pathology**, v. 158, p. 143-161, 2020.

NOTARO, K. A. et al. Prospecting of phytopathogens associated to cassava root rot in the state of Pernambuco, Brazil. **Bioscience Journal**, v. 29, n.5, p. 1832-1839., 2013.

NUGROHO, Y. A. et al. Biological control of citrus canker pathogen *Xanthomonas citri* subsp. *citri* using Rangpur lime endophytic bacteria. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 32, n. 1, p. 63, 2022.

OGUNJOBI, A.A., FAGADE, O.E., AND DIXON, A.G.O..Physiological Studies on *Xanthomonas axnopodis* pv. *manihotis* (Xam) Strains Isolated in Nigeria. **Advances in Biological Research**, v. 2, n. 5-6, p. 90-96, 2008.

OLIVEIRA, E. J. et al. Resistance to *Fusarium* dry root rot disease in cassava accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.10, p.1414-1417, 2013.

OLIVEIRA, S. A. S. et al. First report of *Phytophthora melonis* causing cassava wilt and root rot in Bahia State, Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 107, 2016.

ONYEKA, T. L et al. Field evaluation of root rot disease and relationship between disease severity and yield in cassava. **Experimental Agriculture**, v. 41, n. 3, p. 357-363, 2005.

OTEÍNO, N. et al. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 9, 2015.

PAŘÍZKOVÁ, B. et al. What has been seen cannot be unseen: Detecting auxin in vivo. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 1-26, 2017.

PEREIRA, A. S.; PINTO, M. G. Determinação da toxicidade da mandioca pelo paladar das raízes “in natura”. **Bragantia**, v.21, n. 25, p. CXLV-CL, 1962.

PETRINI, O. Fungal endophytes of tree leaves. In: **Microbial ecology of leaves**. New York, NY: Springer New York, p. 179-197, 1991.

POLTRONIERI, L S. et al. Ocorrência da podridão negra das raízes e do caule da mandioca no estado do Pará, causada por *Scytalidium lignicola*. **Fitopatologia Brasileira** v. 23, p. 411, 1998.

POLTRONIERI, L.S. et al. Incidência de *Fusarium solani* em mandioca no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.5, p.544, 2002.

PRASOM P. et al. *In vitro* study of endophytic bacteria isolated from tomato plant against *Fusarium oxysporum*. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 13, p. 1217-1230, 2017.

PURNAWATI A, NIRWANTO H. Herry. Endophytic bacteria as biocontrol agents of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* on cassava *in vitro*. In: **4th International Conference on Global Resource Conservation & 10th Indonesian Society for Plant Taxonomy Congress Brawijaya University, February**. 2013.

RIBEIRO, M. N. O. et al. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Ciência Agrônoma**, v.43, n.2, p.354-361, 2012.

ROGERS, D. J. E APPAN, S. J. Manihot and Manihotoides (Euphorbiaceae): A computer assisted study. V. 13, p. 1-271, 1973.

ROMEIRO, R. S.; FERRAZ, H. G. M. **O essencial da Fitopatologia**: agentes causais: Volume 2. Bactéria como patógenos de plantas -Viçosa, MG: UFV, DFP, 2012.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 19, n. 8, p. 827-837, 2006.

RUBIO, J. S. R. et al. Physiological behavior of cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) in response to infection by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* under greenhouse conditions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 100, p. 136-141, 2017.

SAENGCHAN, C, et al. Induced resistance against *Fusarium solani* root rot disease in cassava plant (*Manihot esculenta* Crantz) promoted by salicylic acid and *Bacillus subtilis*. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science**, v. 72, n. 1, p. 516-526, 2022.

SAHA, M. et al. Microbial siderophores and their potential applications: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 3984-3999, 2016.

SAHA, R. et al. Microbial siderophores: a mini review. **J. Basic Microbiol.** v. 53, p. 303-317, 2013.

SCHIPPERS, B.; VAN ECK, W. H. Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. (Eds.). **Fusarium**: disease, biology, and taxonomy. University Park: Penn State University Press, p. 250-260. 1981

SCHOCH, C. L. et al. A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. **Mycologia**, v. 98, n. 6, p. 1041-1052, 2006.

SCOTT, M. et al. Endophytes of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars: identification of culturable bacteria and fungi in leaves, petioles, and seeds. **Canadian journal of microbiology**, v. 64, n. 10, p. 664-680, 2018.

SERRA, I. M. R. S. et al. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 327-328, 2009.

SHARON, J. A. et al. Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 525-536, 2016.

SILVA, C. A. D. et al. Interferência da incorporação de matéria orgânica no solo no controle da podridão negra da mandioca, causada por *Scytalidium lignicola*. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 1823-1831, 2013.

SILVA, M. S. et al. **Caracterização de acessos de mandiocas coloridas e açucaradas quanto a resistência à bacteriose na Embrapa Cerrados**. Embrapa Cerrados, 2008.

SINGH, M. et al. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. **3 Biotech**, v. 7, n. 1, p. 14, 2017.

SINGH, N. V. et al. In Vitro and In Planta Antagonistic Effect of Endophytic Bacteria on Blight Causing *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*: A Destructive Pathogen of Pomegranate. **Microorganisms**, v. 11, n. 1, p. 5, 2022.

SINGH, P. et al. Diazotrophic bacteria *pantoea dispersa* and *enterobacter asburiae* promote sugarcane growth by inducing nitrogen uptake and defense-related gene expression. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 60041, 2021.

SINGHA, K. M. et al. Host specific endophytic microbiome diversity and associated functions in three varieties of scented black rice are dependent on growth stage. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 12259, 2021.

SLIPPERS, B. et al. Taxonomy, phylogeny and identification of Botryosphaeriaceae associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. **Plant pathology**, v. 56, n. 1, p. 128-139, 2007.

STARR, M. P. The nutrition of phytopathogenic bacteria. I. Minimal Nutritive requirements of the genus *Xanthomonas*. **Journal of Bacteriology**, v.51, p.131-143, 1946.

SUMAN, J. et al. Microbioma como um ator-chave na agricultura sustentável e na saúde humana. **Frontiers in Soil Science**, v. 2, p. 821589, 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3ª Ed. p.454-460, 2004.

TAKATSU, A. et al. Epidemiological aspects of bacterial blight of cassava in Brazil. In: Diseases of Tropical Food Crops. Proceedings of an International Symposium. Louvain-la-Neuve, Belgium, Université Catholique de Louvain. H. Maraite and J. A. Meyer (eds.). p. 141-150, 1978.

- TAULÉ, C. et al. Insights into the early stages of plant–endophytic bacteria interaction. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 37, 1-9, 2021.
- TAYLOR, R. K. et al. First record of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Solomon Islands. **Plant Disease**, v. 12, p. 49, 2017.
- TRUYENS, S. et al. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. **Environmental Microbiology Reports**, v. 7, n. 1, p. 40-50, 2015.
- ULLAH, A. et al. Drought tolerance improvement in plants: An endophytic bacterial approach. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7385-7397, 2019.
- VAN DEN MOOTER, M. et al. Comparison between *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* (ISPP List 1980) and *X. campestris* pv. *cassavae* (ISPP List 1980) by means of phenotypic, protein electrophoretic, DNA hybridization and phytopathological techniques. **Microbiology**, v. 133, n. 1, p. 57–71, 1987.
- VAN LOON, L. C. et al. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v. 36, p. 453-483, 1998.
- VANDERWEYEN, A. Maladies et insects nuisibles du manioc. Maladies Cryptogamique L'INEAC 1 :471-480. 5. WHOLEY, D. E. and J. H. COCK. 1973. A rapid method for the propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz), 1962.
- VAUTERIN, L. et al. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, n.3. p. 472-489, 1995.
- VERMA, H. et al. The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants. **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 8, p. 1729, 2021.
- VIÉGAS, A. P. **Estudos sobre a mandioca**. Instituto Agronômico do Estado de São Paulo, 1976.
- VILAS BOAS, S. A. et al. Sources of resistance to cassava root rot caused by *Fusarium* spp.: a genotypic approach. **Euphytica**, v.9, p.237-251, 2016.
- VILAS BOAS, S. A. et al. Survey of fungi associated with cassava root rot from different producing regions in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 1, p. 60-67, 2017.
- WANG, K. et al. *Pseudomonas fluorescens* endofítica promove mudanças no fenótipo e no perfil do metabólito secundário de *Houttuynia cordata* Thunb. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 1710, 2024.
- WATERHOUSE, G. M. Key to *Pythium* Pringsheim. **Mycological Papers**, v.109, p.1-15, 1967.
- WEZEL, A. et al. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. **Agronomy for sustainable development**, v. 34, n. 1, p. 1-20, 2014.
- WONNI, I. et al. First Report of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv.*manihotis* in Burkina Faso. **Plant Disease**, v. 99, n. 4, p. 551-551, 2015.

YANG, J. et al. Insights into the relevance between bacterial endophytic communities and resistance of rice cultivars infected by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. **3 Biotech**, v. 11, p. 1-12, 2021.

YOUNG, J. M. et al. Review of Plant Pathology. **Names of plant pathogenic bacteria**, v. 1995, n. 75, p. 9, 1996.

ZANDJANAKOU T. M. et al. Detection, survival and transmission of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* and *X. axonopodis* pv. *vignicola*, causal agents of cassava and cowpea bacterial blight, respectively, in/by Insect Vectors. **Journal of phytopathology**, v. 155, n. 3, p. 159-169, 2007.

ZÁRATE-CHAVES, C. A. et al. Cassava diseases caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* and *Xanthomonas cassavae*. **Molecular plant pathology**, v. 22, n. 12, p. 1520-1537, 2021.

ZHANG X. et al. Isolation, identification and characterization of nitrogen fixing endophytic bacteria and their effects on cassava production. **Peer J**, v. 10, p. e12677, 2022.

ZHANG, L. et al. A highly conserved core bacterial microbiota with nitrogen-fixation capacity inhabits the xylem sap in maize plants. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 3361, 2022.

ZUCARELI, C. et al. Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**. v. 65, n.2, p.189-195, 2018.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1: BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS COM POTENCIAL PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DA BACTERIOSE E PODRIDÕES RADICULARES DA MANDIOCA

Silvia Mara Coelho do Nascimento¹; Alessandra Keiko Nakasone²; Ricardos Magela de Souza¹

¹ Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras 37200-900, Brasil

² Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas Pinheiro s/n, Belém 66095-903, Brasil

RESUMO

Bactérias endofíticas representam uma alternativa promissora para o manejo integrado de doenças de plantas e desenvolvimento de uma agricultura sustentável. A mandioca tem grande importância para a agricultura brasileira e mundial, entretanto, o seu cultivo vem enfrentando graves problemas com doenças, como a bacteriose (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*) e as podridões mole (*Phytophthium* sp.), seca (*Fusarium* sp.) e negra (*Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.). Os objetivos com o presente trabalho foram isolar, caracterizar e selecionar bactérias endofíticas para o controle biológico da bacteriose e das podridões radiculares da mandioca. Para isso, realizou-se o isolamento de 145 isolados de bactérias endofíticas a partir de raízes tuberosas sadias de 40 acessos de mandioca. A caracterização dos isolados foi baseada na morfologia de colônia, teste de Gram, catalase e produção de enzimas hidrolíticas. Para o potencial dos isolados no controle de doenças da mandioca, realizou-se seleção *in vitro* e *in vivo* contra *X. phaseoli* pv. *manihotis*, *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. Na caracterização dos isolados endofíticos, os resultados evidenciaram uma grande diversidade quanto à morfologia, com colônias de coloração creme, branca, amarelo e rosa, bordas, forma e superfície predominando as inteiras, circulares, opacas e lisas. Do total, 73 (50,3%) isolados foram gram-positivos e 72 (49,7%) gram-negativos. Quanto ao teste de catalase, 85% dos isolados apresentaram atividade positiva. Nos ensaios de produção de enzimas hidrolíticas, foram determinados produtores de protease 72%, amilase 47%, lipase 79% e quitinase 28%. Doze isolados foram selecionados para o controle da bacteriose em mudas de mandioca e sete (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 e EM21) reduziram entre 36% e 65,26% a severidade doença em casa de vegetação, com destaque para os isolados EM01, EM07, EM24 e EM73, os quais proporcionaram controle acima de 45%, em relação ao tratamento controle. Foram selecionados treze isolados (EM73, EM91, EM43, EM122, EM96, EM95, EM15, EM70, EM08, EM16, EM13, EM76 e EM63) que apresentaram os melhores resultados *in vitro*, no controle de três a quatro dos patógenos, para o controle *in vivo* das podridões radiculares nos acessos Nova Timboteua e Chifre de boi. No acesso Nova Timboteua, verificou-se redução de 100% das lesões das podridões radiculares proporcionada pelos isolados EM122 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM16 (*Phytophthium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM08 (*Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp., *Neoscytalidium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM95 (*Fusarium* sp.), EM91 (*Fusarium* sp. e *Neoscytalidium* sp.) EM13 (*Lasioidiplodia* sp.), EM96 (*Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.), EM43 (*Lasioidiplodia* sp.). No acesso Chifre de boi, houve a redução de 100% das lesões proporcionadas pelos isolados EM16 (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM13 (*Phytophthium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM95 (*Phytophthium* sp.), EM08 (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp. e *Lasioidiplodia* sp.), EM91 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM43 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM122 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp.), EM96 (*Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.). Considerando-se a bacteriose e a podridão radicular importantes doenças da mandioca, as bactérias endofíticas selecionadas neste estudo

representam um componente importante no manejo integrado de doenças, contribuindo para sustentabilidade na cultura da mandioca.

Palavras-chave: microrganismos endofíticos; biocontrole; antagonismo; enzimas hidrolíticas.

ABSTRACT

Endophytic bacteria represent a promising alternative for the integrated management of plant diseases and the development of sustainable agriculture. Cassava is of great importance for Brazilian and global agriculture, however, its cultivation has been facing serious problems with diseases, such as bacteriosis (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*) and soft rot (*Phytophthora* sp.), drought (*Fusarium* sp.) and black (*Lasioidiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp.). The objectives of this work were to isolate, characterize and select endophytic bacteria for the biological control of bacteriosis and root rot in cassava. To this end, 145 isolates of endophytic bacteria were isolated from healthy tuberous roots of 40 cassava accessions. The characterization of the isolates was based on colony morphology, Gram test, catalase and production of hydrolytic enzymes. For the potential of the isolates in controlling cassava diseases, in vitro and in vivo selection was carried out against *X. phaseoli* pv. *manihotis*, *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Lasioidiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp. In the characterization of endophytic isolates, the results showed a great diversity in terms of morphology, with colonies of cream, white, yellow and pink color, edges, shape and surface predominantly intact, circular, opaque and smooth. Of the total, 73 (50.3%) isolates were gram-positive and 72 (49.7%) gram-negative. As for the catalase test, 85% of the isolates showed positive activity. In hydrolytic enzyme production tests, 72% protease, 47% amylase, 79% lipase and 28% chitinase were determined. Twelve isolates were selected to control bacteriosis in cassava seedlings and seven (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 and EM21) reduced disease severity between 36% and 65.26% in a greenhouse, with emphasis on isolates EM01, EM07, EM24 and EM73, which provided control above 45%, in relation to the control treatment. Thirteen isolates were selected (EM73, EM91, EM43, EM122, EM96, EM95, EM15, EM70, EM8, EM16, EM13, EM76 and EM63) that presented the best in vitro results, in controlling three to four of the pathogens, for the in vivo control of root rot in Nova Timboteua and Chifre de Boi accessions. In the Nova Timboteua accessions, there was a 100% reduction in root rot lesions provided by isolates EM122 (*Phytophthora* sp. and *Fusarium* sp.), EM16 (*Phytophthora* sp. and *Lasioidiplodia* sp.), EM08 (*Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp., *Neoscytalidium* sp. and *Lasioidiplodia* sp.), EM95 (*Fusarium* sp.), EM91 (*Fusarium* sp. and *Neoscytalidium* sp.) EM13 *Lasioidiplodia* sp.), EM96 *Lasioidiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp.), EM43 (*Lasioidiplodia* sp.). In the Chifre de Boi accessions, there was a 100% reduction in lesions caused by isolates EM16 (*Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. and *Lasioidiplodia* sp.), EM13 (*Phytophthora* sp. and *Lasioidiplodia* sp.), EM95 (*Phytophthora* sp.), EM08 (*Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. and *Lasioidiplodia* sp.), EM91 (*Phytophthora* sp. and *Fusarium* sp.), EM43 (*Phytophthora* sp. and *Fusarium* sp.), EM122 (*Phytophthora* sp. and *Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp.), EM96 (*Lasioidiplodia* sp. and *Neoscytalidium* sp.). Considering bacteriosis and root rot as important diseases of cassava, the endophytic bacteria selected in this study represent an important component in integrated disease management, contributing to the sustainability of cassava cultivation.

Keywords: endophytic microorganisms; biocontrol; antagonism; hydrolytic enzymes.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) apresenta grande importância socioeconômica mundial, tendo sua produção distribuída principalmente entre África (55,2%), Ásia (30,2%) e América Latina (14,5%) (FAO, 2020). O Brasil é o quarto maior produtor de mandioca no mundo, com uma produção de 18,03 milhões de toneladas colhidas em uma área total de 1,24 milhão de hectares (IBGE, 2020; CONAB, 2020). No entanto, a produtividade de mandioca pode ser limitada por várias doenças, dentre as quais destacam-se a bacteriose, cujo agente etiológico é *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (Berthet-Bondar 1915) Vauterin et al. 1995 (= *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*)) (CONSTANTIN et al., 2016) e as podridões radiculares, cujos agentes etiológicos são representados por um complexo de oomicetos e fungos, como *Phytophthora* spp. (*Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora drechsleri* e *Phytophthora melonis*), *Pythium sclerotrichum*, *Phytophythium* sp., *Fusarium* spp. (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides*), *Lasiodiplodia* spp. (*Lasiodiplodia eumorhizicola*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*) e *Neoscytalidium hyalinum* (MASSOLA et al., 2016; VILAS BOAS et al., 2017; BOARI et al., 2018).

A bacteriose ou mancha bacteriana da mandioca está entre as doenças de maior impacto econômico em diversos países do mundo (MANSFIELD et al., 2012; WONNI et al., 2015; MASSOLA et al., 2016; RUBIO et al., 2017; TAYLOR, 2017; LIVOI et al., 2020). A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil por Bondar (1912) e posteriormente em outros países (VIÉGAS, 1976; TAKATSU et al., 1978; MASSOLA et al., 2016). A bacteriose pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento da cultura, com potencial para afetar severamente toda a parte aérea da planta como folhas, pecíolo e caule. De modo geral, os sintomas variam em função das condições de temperatura, umidade e resistência do hospedeiro (MARTIN et al., 2017) e caracterizam-se por manchas foliares, murcha, queda de folhas, exsudação de látex, necrose do sistema vascular e morte da planta (DRUMMOND; HIPÓLITO, 1941). A disseminação do patógeno ocorre através de ferimentos e estacas infectadas, podendo ser transmitida entre os ciclos da cultura (LOZANO, 1986; LÓPEZ; BERNAL, 2012; ROMEIRO; FERRAZ, 2012).

Assim como a bacteriose, a podridão radicular, também representa uma das mais importantes e severas doenças da mandioca (FASSI, 1957; VANDERWEYEN, 1962; ONYEKA et al., 2005; BRITO et al., 2020). A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil por Figueiredo e Albuquerque (1970) e posteriormente em outras regiões produtoras (LOPES, 1977; SERRA et al., 2009; NOTARO, 2013; VILAS BOAS et al., 2017). O desenvolvimento

da doença é favorecido por altas pluviosidades e temperaturas, além de solos com baixa fertilidade e mal drenados. Os agentes etiológicos são representados por um complexo de patógenos e as podridões de raízes são classificadas como mole (*Phytophthora nicotianae*, *P. drechsleri*, *P. meloni*, *Pythium sclerotrichum* e *Phytophthora* sp.), seca (*Fusarium solani*, *F. oxysporum* e *F. verticillioides*) e negra (*Lasiodiplodia euphorbicola*, *L. pseudotheobromae* e *Neoscytalidium hyalinum*) (MIURA; MONTEIRO, 1997; MASSOLA et al., 2016; VILAS BOAS et al., 2017; BOARI et al., 2018). Os sintomas são bastante distintos em função do agente etiológico, principalmente relacionado ao apodrecimento das raízes. No geral, na parte aérea, o amarelecimento e as murchas são sintomas reflexos da podridão das raízes. As podridões radiculares são de difícil controle, uma vez que os patógenos produzem estruturas de resistência e sobrevivem por longos períodos como saprófitos facultativos em restos de culturas (SILVA et al., 2013).

A rápida disseminação e o elevado potencial destrutivo caracterizam a bacteriose e as podridões radiculares como as doenças mais importantes e agressivas da cultura da mandioca. Quando as medidas de controle não são adotadas corretamente, epidemias podem destruir grandes áreas de produção em pouco tempo. Até o momento, não existe um método de controle comprovadamente eficiente para a bacteriose e as podridões radiculares em mandioca. As técnicas de manejo, de um modo geral, têm se restringido a medidas preventivas, como o monitoramento periódico da plantação, variedades resistentes, utilização de manivas-sementes sadias, rotação de cultura e erradicação de plantas severamente infectadas. Quanto ao tratamento químico, ainda não existem produtos fitossanitários registrados para o tratamento dessas doenças na mandioca (MAPA, 2022).

Desta forma, para se obter uma produção sustentável da mandioca, são necessárias medidas fitossanitárias que previnam o surgimento de doenças e garantam uma boa produtividade da cultura, contudo, sem causar danos ao homem e ao ambiente. Sendo assim, o controle biológico por bactérias pode ser uma alternativa adicional e promissora para o controle de doenças da mandioca. Estudos com bactérias endofíticas como agentes de controle biológico vem sendo realizados e têm grande potencial para serem utilizadas no controle de doenças que afetam a cultura da mandioca (JIANG et al., 2019; ULLAH et al., 2019; DEGRASSI; CARPENTIERI PIPOLO, 2020; LI et al., 2020; HAMID et al., 2021; FERREIRA et al., 2021; MARKOVIĆ et al., 2023).

Dentro deste contexto, os objetivos do presente trabalho foram isolar, caracterizar e selecionar bactérias endofíticas com potencial para o controle biológico da bacteriose e das podridões radiculares da mandioca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal

As amostras de raízes tuberosas sadias de mandioca foram obtidas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA (01° 24' 46, 14" S e 01° 28' 4,11" O), a partir de 40 acessos com 12 meses de idade.

2.2 Isolamento das bactérias endofíticas

As amostras foram lavadas em água corrente e submetidas à desinfestação superficial com etanol a 70% por 1 minuto, seguido de solução de hipoclorito de sódio a 2% por 6 minutos, seguida de cinco lavagens sequenciais em água destilada estéril por 1 min, conforme metodologia de Nascimento et al. (2015), adaptada por Ferreira (2020), com modificações. Após a desinfestação do material, foram retiradas as extremidades das raízes, sendo este posteriormente cortado assepticamente em pequenos fragmentos e macerados com pistilo em cadinho estéreis. Em seguida, o material macerado foi inserido em tubos de centrifuga contendo 4 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) e, posteriormente, incubado sob agitação de 70 rpm a 28 °C durante 1 hora, para a difusão das bactérias endofíticas. O controle foi verificado por meio do plaqueamento de 100 µL da água da última lavagem em meio de cultura TSA (Trypticase Soy Agar medium). Foram plaqueados 100 µL das suspensões bacterianas em placas de Petri contendo meio de cultura TSA e incubadas em BOD, a 28 °C por 24 h. As colônias puras foram repicadas e preservadas para estudos futuros.

2.3 Caracterização dos isolados de bactérias endofíticas da mandioca

2.3.1 Morfologia das colônias

Os isolados bacterianos foram crescidos em meio de cultura TSA a 28°C por 24 h e as colônias foram analisadas quanto a cor (creme, branca amarela e rosa), forma (circular ou irregular), elevação (plana, convexa e umbilicada), superfície (lisa ou rugosa), borda (ondulada, lobada e denteada) consistência (seca, rugosa ou gomosa), produção de muco (seca, escassa, moderada e abundantes) e detalhe ótico (transparente, translúcido, brilhante e opaco) (HUNGRIA; ARAUJO, 1994).

2.3.2 Reação de Gram (Método Ryu)

O teste de Gram foi realizado através do método de Ryu (1940). Em uma lâmina de microscopia foi adicionada uma gota de KOH 3% e, em seguida foi adicionado uma porção do crescimento bacteriano sobre a gota. Após a homogeneização foi observado a formação da viscosidade para bactérias Gram-negativas e ausências para Gram-positivas (SCHAAD, JONES; CHUN, 2001).

2.3.3 Catalase

Em uma lâmina de microscopia contendo uma gota de solução aquosa de peróxido de hidrogênio 3% foram colocadas porções de crescimento bacteriano com 48 horas de crescimento a 28 °C. O resultado do teste é considerado positivo quando as bactérias em contato com a solução produzem efervescência devido a liberação de oxigênio e negativo quando não há efervescência (SCHAAD; JONES; CHUN, 2001).

2.3.4 Produção de enzimas hidrolíticas

As atividades enzimáticas dos isolados bacterianos foram avaliadas qualitativamente. Inicialmente, os isolados foram crescidos em meio 523 (KADO; HESKETT, 1970) a 28 °C por 24 h. Posteriormente 5 µL do cultivo de cada bactéria em meio líquido foram depositados em quatro pontos equidistantes nas placas contendo os meios de cultura específicos para cada enzima.

2.3.4.1 Protease

Para a determinação de produção das proteases, foi usada a metodologia de Mariano e Souza (2016) com meio de cultura Ágar-Gelatina, suplementado com leite comercial desnatado 1%. As colônias foram incubadas a 28 °C em câmara de crescimento BOD por 48h. A presença de halo claro ao redor da colônia foi indicativa de positividade.

2.3.4.2 Amilase

Para a produção de amilase, seguiu-se a metodologia utilizando-se o meio Ágar-Amido (MARIANO; SOUZA, 2016). As colônias foram mantidas em placas em câmara de crescimento BOD a 28 °C, por 72 h. Após a incubação, foi adicionada solução lugol nas placas. A positividade para a produção dessa enzima foi visualizada pela presença de halo claro ao

redor da colônia.

2.3.4.3 Lipase

Para a produção de lipase, foi utilizado o meio de cultura descrito por Sierra (1957), sendo adicionado 1% de Tween 80 estéril. As colônias foram incubadas a 28 °C por 48 h. A positividade para a produção dessa enzima foi visualizada pela presença de halo claro ao redor da colônia.

2.3.4.4 Quitinase

A produção de quitinase foi avaliada em meio mineral, utilizando-se quitina coloidal (Sigma) 0,08% como única fonte de carbono Renwick (PELZER et al., 2011). As colônias foram incubadas a 28 °C durante 10 dias. Após o período de incubação, foi analisada a produção de quitinase constatada pela observação de um halo transparente ao redor da colônia.

2.4 Seleção das bactérias endofíticas como agentes de controle biológico *in vitro*

Para a seleção das bactérias potencialmente antagonistas, os 145 isolados de bactérias endofíticas foram confrontados com *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (bacteriose) e com os fungos *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. (podridão radicular).

2.4.1 Potencial das bactérias endofíticas contra *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

O método utilizado foi de dupla camada de meio de cultura em placas de Petri. Os isolados endofíticos foram cultivados em meio 523 líquido e mantidos sob agitação constante em Shaker durante 24 h, a 38 rpm e 28 °C. Em seguida, foram repicados em pontos equidistantes, em meio 523, 0,5 µL da suspensão de cada isolado por placa de Petri, e incubados por 24 h a 28 °C. O tratamento controle foi água destilada e esterilizada. Decorrido o tempo de incubação, as colônias foram mortas pela exposição a vapores de clorofórmio durante uma hora. Após a volatilização, cada placa contendo colônias inativadas de bactérias endofíticas recebeu uma sobre-camada de 10 mL meio de cultura 523 semi-sólido fundente, ao qual foram incorporados 100 µL de suspensão da bactéria *X. phaseoli* pv. *manihotis*. Após a solidificação da sobre camada de meio, as colônias foram incubadas a 28 °C por 48 h. A avaliação consistiu na medição do halo de inibição do crescimento da bactéria fitopatogênica. O delineamento

experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições para cada isolado endofítico. Os dados foram analisados estatisticamente no software SISVAR (FERREIRA, 2011), submetidos à análise de variância e, quando significativos pelo teste F, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0.05$).

2.4.2 Potencial das bactérias endofíticas contra *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.

As bactérias foram testadas, *in vitro*, quanto à capacidade para inibir o crescimento micelial de *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. usando placas de Petri contendo o meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA). Discos de 8 mm de diâmetro, contendo o micélio de cada patógeno foram colocados no centro das placas contendo BDA e as colônias bacterianas foram riscadas formando-se um quadrado de 2 cm ao redor do disco do patógeno. Como controle, foram usadas placas de BDA contendo apenas o disco com o micélio de cada patógeno, sem a bactéria. As placas foram mantidas em câmara de crescimento tipo BOD à temperatura de 28 ± 2 °C e fotoperíodo de 12h. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com quatro repetições. A avaliação consistiu na medição do crescimento micelial do patógeno e com os valores obtidos foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) (OLIVEIRA, 1991). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada em relação ao tratamento controle.

2.5 Potencial das bactérias endofíticas no controle da bacteriose e podridões radiculares da mandioca *in vivo*

2.5.1 Controle da bacteriose com bactérias endofíticas em casa de vegetação

As mudas de mandioca foram obtidas a partir de estacas sadias do acesso Pau velho, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental. As manivas foram plantadas em vasos de três litros de capacidade contendo substrato de fibra de coco estéril.

As bactérias endofíticas selecionadas foram inoculadas através da pulverização das suspensões bacterianas na parte aérea até o ponto de escoamento, 7 dias antes da inoculação do fitopatógeno. As colônias bacterianas foram diluídas em solução salina a 0,8% e a

concentração ajustada para 540 nm (A_{540}) = 0,2 (MARIANO et al., 2016). Para a inoculação de *X. phaseoli* pv. *manihotis*, as colônias crescidas em meio de cultura 523 por 48 h, a 28 °C, foram diluídas em solução salina a 0,8% e a concentração ajustada para 600 nm (A_{600}) = 0,3. A inoculação das mudas foi por pulverização da face abaxial das folhas, até o ponto de escorrimento. O tratamento controle foi inoculada apenas com o fitopatógeno.

As avaliações foram realizadas com 2, 4, 7, 9, 11 e 14, dias após a inoculação com o fitopatógeno, através da determinação da severidade da doença, utilizando-se uma escala de notas de Kublik et al. (2021), com notas variando de 1 a 32%, conforme a figura 1. A severidade da doença foi calculada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), usando a fórmula: $AACPD = \sum ((Y_i + Y_{i+1}) / 2) (t_{i+1} - t_i)$, onde: Y é a intensidade da doença (nota atribuída de acordo com a escala diagramática usada); t é o tempo (intervalo entre as avaliações, em dias); e i representa o número de avaliações no tempo. O experimento foi inteiramente casualizado, com dez repetições. Os dados do ensaio foram submetidos à análise da variância, com uso do programa SISVAR (FERREIRA, 2011). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

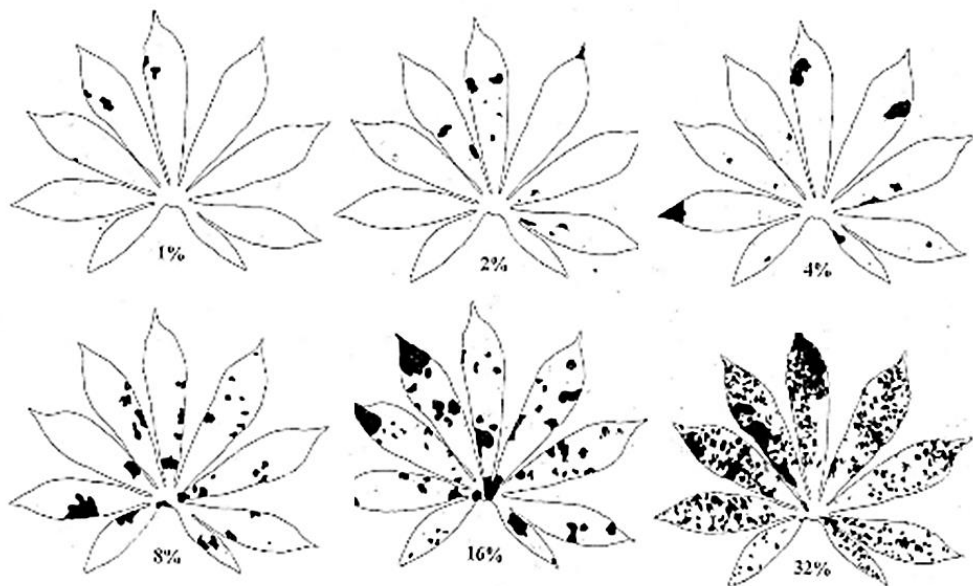


Figura 1. Escala diagramática para quantificação da severidade da bacteriose (*X. phaseoli* pv. *manihotis*) em plantas de mandioca. Fonte: Kublik et al. (2021).

2.5.2 Controle das podridões radiculares da mandioca com bactérias endofíticas em casa de vegetação

Os patógenos *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. foram cultivados em meio de cultura BDA a 28 ± 2 °C por 7 dias. Os isolados de bactérias selecionados foram cultivados em meio de MB1 a 28 °C por 24 h e, em seguida, as colônias bacterianas foram diluídas em solução salina a 0,8% e a concentração ajustada para 540 nm (A_{540}) = 0,2 (MARIANO et al., 2016). Raízes de mandioca dos acessos Nova Timboteua e Chifre de boi com 12 meses de idade, foram lavadas com água corrente e desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2% por 5 minutos, em seguida secas em temperaturas ambientes. Posteriormente, as raízes foram perfuradas, com diâmetro e profundidade de 3mm a 4 mm, em seguida uma amostra contendo 20 µL da suspensão bacteriana foi inoculada, sendo incubada por 24h. Após o período de incubação, discos contendo micélio e conídios de cada patógeno foram colocados sob o ferimento. Como controle, as raízes foram inoculadas com discos de meio BDA contendo cada patógeno, sem as bactérias endofíticas. Os locais de inoculação foram cobertos com parafilme para manter a câmara úmida e as raízes foram mantidas em bandejas em casa-de-vegetação com temperatura média de 28 °C e umidade relativa do ar média de 94%, por sete dias. As raízes foram irrigadas diariamente com água destilada e autoclavada. As avaliações consistiram em cortes transversais nos locais de inoculação e as lesões da doença foram mensuradas com paquímetro digital. O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 2, com seis repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância no Programa SISVAR e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância.

3 RESULTADOS

3.1 Coleta e isolamento de bactérias endofíticas de raízes de mandioca

Foram obtidos 145 isolados de bactérias endofíticas a partir de raízes sadias de 40 acessos de mandioca, apresentados na tabela 1. Para cada isolado foi definido um código numérico (EM01 a EM145), sendo este definido na ordem de isolamento. Antecedendo o código foi colocada a sigla EM para endofítica da mandioca.

Tabela 1. Bactérias endofíticas obtidas de raízes tuberosas sadias de quarenta acessos de mandioca.

Acessos	Nº de isolados obtidos	Códigos de isolados de bactérias endofítica
1. ALTAMIRA	5	EM01, EM05, EM13, EM14, EM52
2. M13 ULIANOPOLIS	7	EM02, EM04, EM08, EM35, EM41, EM42, EM44
3. M. MANTEIGA 57	4	EM03, EM06, EM45, EM47
4. PRETINHA 24	3	EM07, EM23, EM29
5. M21	9	EM09, EM10, EM19, EM20, EM38, EM40, EM49, EM50, EM53
6. UIARIPIXUNA	5	EM11, EM12, EM32, EM39, EM56
7. CAXIUANÃ	6	EM15, EM24, EM25, EM26, EM27, EM28
8. MARANHENSE	11	EM16, EM17, EM18, EM22, EM34, EM43, EM46, EM48, EM51, EM54, EM55
9. M. BAHIA	5	EM21, EM30, EM31, EM33, EM36
10. M. MANTEIGUINHA	1	EM37
11. SEM NOME ACARÁ	4	EM57, EM74, EM98, EM108
12. BRANGATINA	3	EM58, EM111, EM112
13. BGM 92 287/57	6	EM59, EM69, EM70, EM71, EM72, EM96
14. M. PARAGUAIA	3	EM60, EM61, EM62
15. M. BAIA	3	EM63, EM66, EM75
16. CPM 2438	3	EM64, EM76, EM78
17. ORICURÍ 37	4	EM79, EM80, EM97, EM109
18. M. ENGANA LADRÃO	2	EM81, EM82
19. INHA. T	3	EM83, EM100, EM106
20. NOVA TIMBOTEUA	3	EM68, EM84, EM90
21. EL KLAINAISCK	2	EM77, EM85
22. S. PEDRO IG AÇU	1	EM86
23. M. MAMIA EAAQ	4	EM65, EM67, EM87, EM105
24. BRS MARI	6	EM88, EM92, EM99, EM113, EM116, EM139
25. CPATU O3	1	EM91
26. BGM O37	3	EM89, EM93, EM10
27. PRELÃO SAT	3	EM73, EM94, EM103
28. 10M BRANCA	2	EM95, EM104
29. PROVA D'ÁGUA	2	EM101, 102
30. WITADEMESIK	1	EM107
31. M ABAITE	4	EM114, EM121, EM141, EM142
32. PAU VELHO	4	EM115, EM122, EM123, EM124
33. IM 186	4	EM117, EM119, EM128, EM131
34. AMARELA GALHENTA	1	EM120
35. ITAÚBA.	4	EM125, EM129, EM132, 1M137
36. CPATU 10	3	EM126, EM134, EM140
37. M MANTEIGA PA	3	EM127, EM135, EM138
38. BGM 844/2	2	EM118, EM136
39. VIAPIXUNA	1	EM143
40. AÇAÍ ACARÁ	4	EM130, EM133, EM144, EM145

3.2 Caracterização das bactérias endofíticas da mandioca

3.2.1 Morfologia das colônias

Observou-se uma variação na morfologia das colônias entre os 145 isolados, com predominância de colônias de coloração creme, com 77% (112) dos isolados, seguido de 13% (19) branca, além de colônias amarela e vermelho-rosada, representando cerca de 10%. Quanto às demais características, as colônias apresentaram 59% (86) da forma irregular e 41% (59) da circular; 54% (78) de borda lisa e 46% (67) de ondulada; 51% (74) com superfície enrugada e 49% lisa; 79% (115) sem produção de muco, 12% (17) muito muco e 9% (13) com pouco muco. Com consistência de 60% (87) aquosa, seca 25% (36) e 15% (22) gomosa. A elevação dos isolados representa 74% (107) do tipo elevada, convexa 16% (23) e plana 10% (15); com brilho 53% (77) opaco e 47% (68) brilhosa. O detalhe ótico é representado em 40% (58) translúcido, 37% (54) opaco, 22% (33) brilhante e transparente. Todos os isolados apresentaram crescimento rápido (até 48h).

3.2.2 Reação de Gram e catalase

Dos 145 isolados de bactérias endofíticas, 50,3% (73) foram caracterizados como Gram-positivos e 49,7% (72) Gram-negativos. Quanto ao teste de catalase, 85% (123) apresentaram atividade positiva e 15% (22) negativa.

3.2.3 Produção de enzimas hidrolíticas

As atividades enzimáticas dos isolados de bactérias endofíticas foram positivas mediante ao surgimento de zonas claras ao redor da colônia, conforme apresentado na figura 2, indicando a liberação de enzimas extracelulares e degradação das fontes de carbono utilizadas. Dos 145 isolados endofíticos, 72% foram positivos para atividade das enzimas protease, 47% amilase, 79% esterase e 28% quitinase.

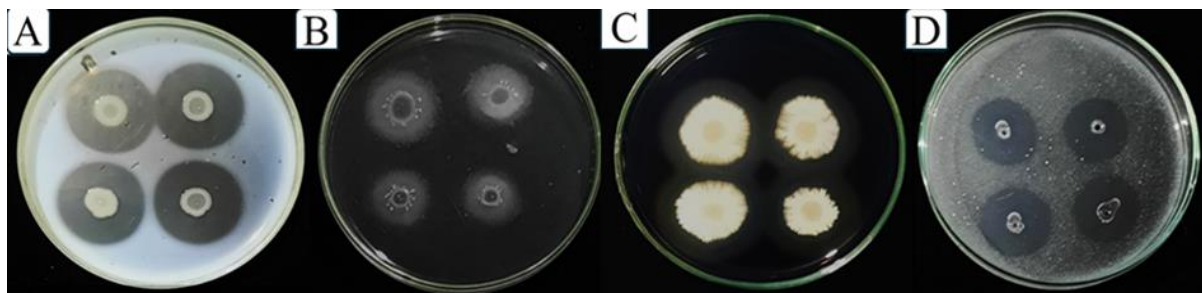


Figura 2. Produção enzimática pelos isolados de bactérias endofíticas. (A) Protease, (B) Lipase, (C) Amilase e (D) Quitinase. A formação do halo indica a produção enzimática *in vitro*.

3.3 Seleção e avaliação do potencial antagonístico das bactérias endofíticas *in vitro*

3.3.1 *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

Houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas quanto a atividade antimicrobiana. Dos 145 isolados, 37% (53) apresentaram capacidade para inibir o crescimento de *Xpm in vitro*, diferindo estatisticamente do controle, conforme a tabela 2. Dez grupos foram formados com diferente capacidade de inibição do patógeno. O isolado EM48, foi o que apresentou maior halo de inibição de 28,81 mm (Figura 3). O isolado EM08 produziu o segundo maior halo de inibição de 25,90 mm, seguido dos grupos de isolados EM15 e EM22, que produziram 20,75 e 19,42 mm de inibição, respectivamente. Os isolados do grupo EM07 e EM50 foram capazes de inibir *Xpm* em 19,42mm e 18,02mm, respectivamente. Com os grupos formados pelos isolados EM21, EM94, EM73, EM01, EM31 e EM24 houve inibição de 14,12, 13,21, 13,02, 12,82, 12,79 e 12,22 mm, respectivamente. Os demais tratamentos inibiram o crescimento do patógeno e diferiram do controle, porém 06 isolados que produziram maiores médias e mais 06 isolados que apresentavam atividade de todas as enzimas foram selecionados para os testes *in vivo*.

Tabela 2. Médias dos halos de inibição formada pelos isolados de bactérias endofíticas de mandioca *in vitro* à *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

Grupo	Isolados de bactérias endofíticas	Médias dos halos de inibição (mm)	
1	EM48	28,81	a*
2	EM08	25,90	b
3	EM15, EM22	20,75 – 19,42	c
4	EM07, EM50	18,02 – 17,18	d
5	EM21, EM94, EM73, EM01, EM31, EM24	12,22- 14,12	e
6	EM71, EM72, EM37, EM83	10,98 - 11,57	f
7	EM120, EM92, EM96, EM40, EM53, EM32, EM68, EM123, EM75	8,18 - 10,31	g
8	EM134, EM55, EM14, EM06, EM106, EM136, EM64, EM60, EM121, EM41, EM143	4,77 - 7,14	h
9	EM122, EM63, EM66, EM39, EM115, EM114, EM65, EM142, EM70, EM98, EM124, EM118	2,32 - 4,42	i
10	EM116, EM113, EM112, EM10	0,74 - 2,14	j
10	EM02, EM03, EM04, EM05, EM09, EM100, EM101, EM102, EM103, EM104, EM105, EM107, EM108, EM109, EM11, EM110, EM111, EM117, EM12, EM125, EM126, EM127, EM128, EM129, EM130, EM131, EM132, EM133, EM135, EM137, EM139, EM140, EM141, EM144, EM145, EM16, EM17, EM18, EM20, EM23, EM25, EM26, EM27, EM28, EM29, EM30, EM33, EM34, EM35, EM36, EM42, EM43, EM44, EM45, EM46, EM47, EM49, EM51, EM52, EM54, EM56, EM57, EM58, EM59, EM61, EM62, EM67, EM69, EM74, EM76, EM77, EM78, EM79, EM80, EM81, EM82, EM84, EM85, EM86, EM87, EM88, EM89, EM90, EM91 EM93, EM95, EM97, EM99	0,00	j
10	Controle	0,00	j

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

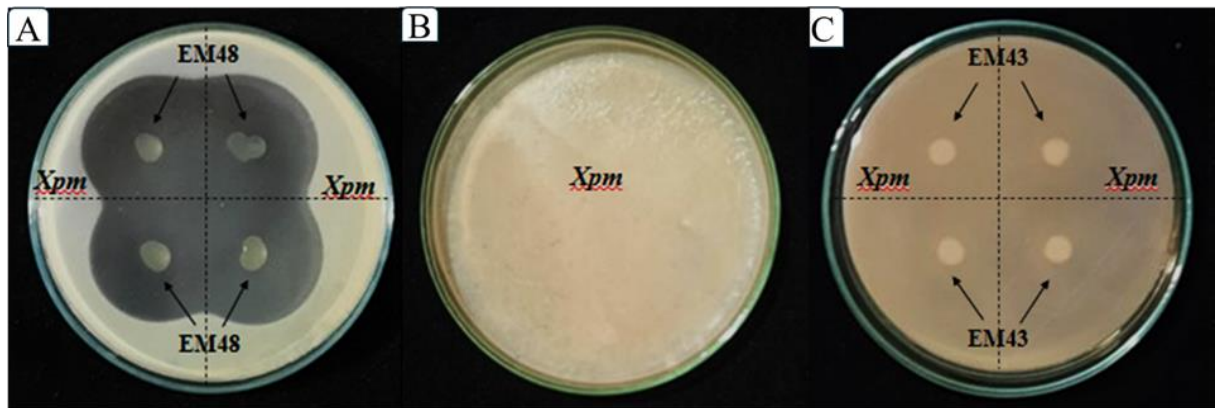


Figura 3. Efeito dos isolados de bactérias endofíticas sobre o crescimento *in vitro* de *X. phaseoli* pv. *manihotis*. (A) Isolado de bactéria endofítica EM48 inibindo o crescimento de *Xpm*; (B) Controle; (C) Isolado de bactéria endofítica EM43 não inibindo o crescimento de *Xpm*.

3.3.2 *Phytophthium* sp.

Houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas de mandioca no antagonismo *in vitro* a *Phytophthium* sp. Do total, 106 isolados inibiram o crescimento micelial do *Phytophthium* sp., diferindo estatisticamente do controle (Tabela 3). Foram formados sete grupos, com potencial de inibição diversificados frente ao patógeno, sendo que o grupo 1 apresentou os melhores resultados. Trinta e seis isolados do grupo 1 (EM13, EM122, EM83, EM16, EM73, EM95, EM08, EM58, EM60, EM76, EM91, EM96, EM86, EM85, EM29, EM19, EM52, EM89, EM32, EM50, EM57, EM63, EM15, EM18, EM66, EM40, EM43, EM46, EM45, EM36, EM37, EM77, EM20, EM31, EM30, EM17) apresentaram maiores reduções do crescimento micelial do patógeno de 97,68% a 88,25% (Figura 4).

Tabela 3. Inibição do crescimento micelial de *Phytophthium* sp. *in vitro* pelos isolados de bactérias endofíticas de mandioca.

Grupo	Isolados	IVCM**		% de inibição do crescimento micelial
1	EM13, EM122, EM83, EM16, EM73, EM95, EM08, EM58, EM60, EM76, EM91, EM96, EM86, EM85, EM29, EM19, EM52, EM89, EM32, EM50, EM57, EM63, EM15, EM18, EM66, EM40, EM43, EM46, EM45, EM36, EM37, EM77, EM20, EM31, EM30, EM17	1,14 – 5,78	a*	97,68 – 88,25
2	EM60, EM48, EM26, EM82, EM53, EM06, EM39, EM47, EM137, EM88, EM07	12,06 – 17,41	b	75,48 – 64,59
3	EM07, EM74, EM21, EM11, EM01, EM55, EM23, EM129	17,42 – 23,18	c	64,59- 52,88
4	EM56, EM113, EM12, EM51, EM02, EM04, EM24, EM33, EM05, EM81, EM108, EM93	24,42 – 34,43	d	27,52 – 18,07
5	EM61, EM75, EM22, EM71, EM90, EM72, EM70, EM132, EM97, EM59, EM69, EM99, EM09, EM68, EM41, EM62	35,65 – 40,30	e	62,02 – 50,91
6	EM118, EM28, EM25, EM112, EM49, EM107, EM105, EM100, EM94, EM106, EM144, EM64, EM101, EM120, EM42, EM65, EM79, EM115, EM117, EM136, EM116, EM143, EM98, EM114, EM92	41,53 – 46,31	f	15,57 – 5,86
7	EM123, EM145, EM84, EM127, EM78, EM126, EM125, EM67, EM35, EM34, EM135, EM124 EM14, CONTROLE, EM138, EM131, EM111, EM141, EM102, EM104, EM87, EM134, EM140, EM133, EM139, EM38, EM128, EM142, EM03, EM110, EM130, EM44, EM27, EM109, EM119, EM121, EM10, EM54	46,95 – 48,91	g	4,55 – 0,57

**IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

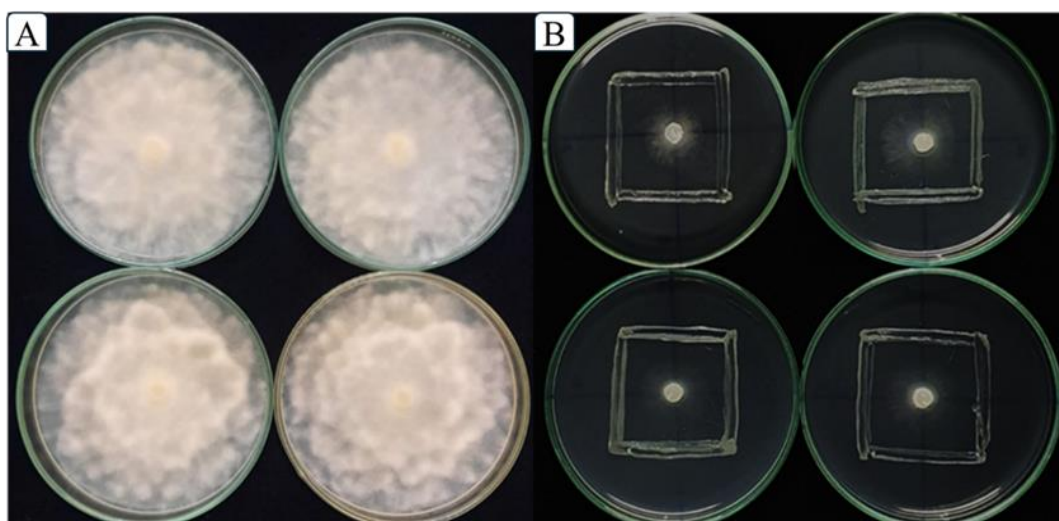


Figura 4. Inibição do crescimento micelial de *Phytophthora* sp. por bactérias endofíticas de raízes de mandioca em testes de antagonismo *in vitro*. (A) Controle (B) Isolado de bactéria endofítica EM83 inibindo o crescimento micelial de *Phytophthora* sp.

3.3.3 *Fusarium* sp.

Houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas de mandioca no antagonismo *in vitro* ao patógeno *Fusarium* sp. Do total, 29 isolados não diferiram estatisticamente do controle e, 116 isolados inibiram o crescimento micelial do patógeno (Tabela 4). Foram formados 12 grupos, com potencial de inibição diversificadas frente ao patógeno, sendo que trinta e sete isolados do grupo 1 (EM70, EM04, EM08, EM13, EM03, EM21, EM12, EM07, EM110, EM137, EM15, EM52, EM30, EM02, EM23, EM01, EM16, EM43, EM76, EM92, EM118, EM36, EM95, EM37, EM63, EM129, EM122, EM72, EM108, EM91, EM113, EM107, EM116, EM88, EM39, EM96, EM106) apresentaram reduções de 97,04% a 92,70% no crescimento do patógeno (Figura 5).

Tabela 4. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. *in vitro* pelos isolados de bactérias endofíticas de mandioca.

Grupo	Isolados	IVCM**		% de inibição do crescimento micelial
1	EM70, EM04, EM08, EM13, EM03, EM21, EM12, EM07, EM110, EM137, EM15, EM52, EM30, EM02, EM23, EM01, EM16, EM43, EM76, EM92, EM118, EM36, EM95, EM37, EM63, EM129, EM122, EM72, EM108, EM91, EM113, EM107, EM116, EM88, EM39, EM96, EM106	0,59 – 1,91	a*	97,04 – 92,70
2	EM87, EM28, EM29, EM57, EM59, EM24, EM31, EM53, EM50, EM45	2,42 – 4,29	b	91,44 – 83,61
3	EM06, EM85, EM18, EM22, EM40, EM26, EM17, EM105	5,35 – 7,78	c	79,57 – 70,29
4	EM103, EM09, EM80	8,99 – 9,85	d	65,67 – 62,39
5	EM73, EM82	11,73 – 12,29	e	55,21 – 53,07
6	EM19, EM77, EM99, EM25, EM14, EM30	13,48 – 14,71	f	48,64 – 43,83
7	EM48, EM68, EM69	15,61 – 16,18	g	40,38 – 38,19
8	EM34, EM84, EM100, EM145, EM86, EM35, EM49	16,42 – 18,20	h	37,29 – 30,48
9	EM55, EM42, EM78, EM94	18,89 – 19,81	i	27,86 – 24,34
10	EM44, EM38, EM65, EM79, EM67, EM140, EM54, EM141, EM115, EM46, EM83, EM41, EM101	20,44 – 21,98	j	21,94 – 16,07
11	EM66, EM136, EM90, EM124, EM135, EM62, EM101, EM130, EM56, EM131, EM139, EM121, EM138, EM134, EM126, EM61, EM144, EM93, EM109, EM71, EM143, EM111, EM81	22,50 – 23,97	k	14,08 – 8,46
12	EM98, EM97, EM74, EM102, EM133, EM60, EM132, EM112, EM89, EM104, EM127, EM51, EM27, EM47, EM58, EM32, EM05, EM128, EM123, EM114, EM120, CONTROLE, EM75, EM64, EM119, EM33, EM125, EM11, EM117	24,41 – 26,10	l	6,76 – 0,33

**IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

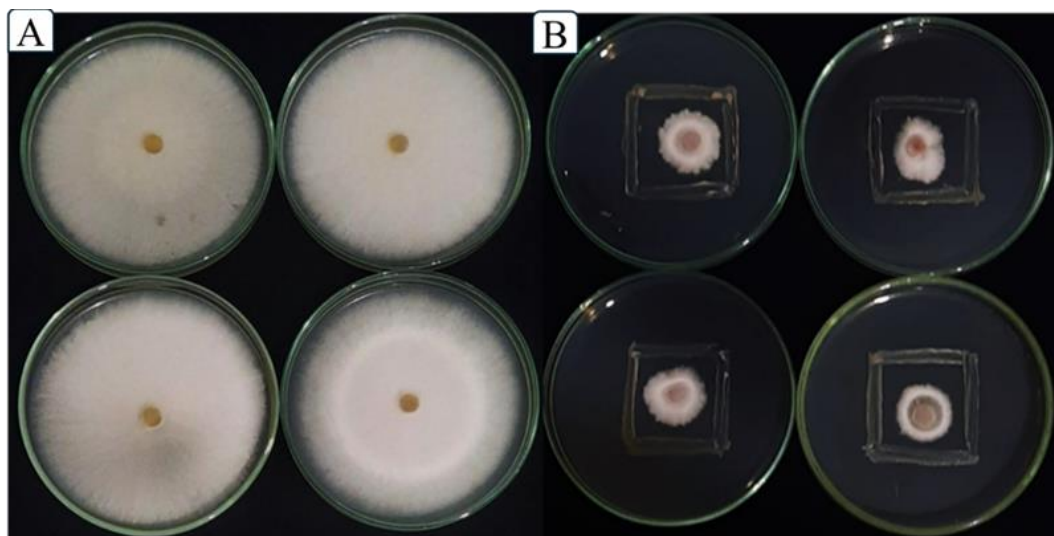


Figura 5. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. por bactérias endofíticas de raízes de mandioca em testes de antagonismo *in vitro*. (A) Controle (B) Isolado de bactéria endofítica EM07 inibindo o crescimento micelial de *Fusarium* sp.

3.3.4 *Lasiodiplodia* sp.

Com base nos resultados obtidos pode-se afirmar que ocorreu diferença significativa entre os antagonistas testados quanto à capacidade de inibir o crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp. Do total, 112 isolados inibiram o crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp., diferindo estatisticamente do controle (Tabela 5). Foram formados 7 grupos, com potencial de inibição diversificados frente ao patógeno, sendo que trinta e sete isolados do grupo 1 (EM08, EM12, EM02, EM06, EM134, EM01, EM129, EM16, EM13, EM69, EM68, EM84, EM70, EM71, EM76, EM73, EM136, EM75, EM45, EM82, EM83, EM74, EM80, EM127, EM77, EM132, EM43, EM61, EM72, EM66, EM122, EM131, EM21, EM39, EM91, EM63 e EM81) apresentaram os melhores resultados, com índices de inibição de 84,89% e 66,76% (Figura 6), não diferindo significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Inibição do crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp. *in vitro* pelos isolados de bactérias endofíticas de mandioca.

Grupo	Isolados	IVCM**		% de inibição do crescimento micelial
1	EMO8, EM12, EM02, EM06, EM134, EM01, EM129, EM16, EM13, EM69, EM68, EM84, EM70, EM71, EM76, EM73, EM136, EM75, EM45, EM82, EM83, EM74, EM80, EM127, EM77, EM132, EM43, EM61, EM72, EM66, EM122, EM131, EM21, EM39, EM91, EM63, EM81	24,20 - 53,23	a*	84,89 - 66,76
2	EM88, EM59, EM95, EM143, EM103, EM49, EM92, EM38, EM96, EM85	57,53 - 73,45	b	64,08 - 54,14
3	EM116, EM 144, EM86, EM65, EM51, EM22, EM57	77,98 - 87,85	c	51,31 - 45, 15
4	EM62, EM138, EM32, EM40, EM93, EM67, EM133, EM78, EM14, EM128, EM55, EM145, EM142, EM126, EM135, EM79, EM109, EM137, EM09, EM90, EM141, EM140, EM94, EM139, EM10, EM130, EM07, EM120	89,66 - 106,52	d	44,02 – 33,49
5	EM52, EM114, EM117, EM60, EM98, EM17, EM41, EM30, EM46, EM08, EM36	111,39 - 120,89	e	30,45 - 24,52
6	EM118, EM107, EM89, EM106, EM97, EM58, EM29, EM110, EM113, EM87, EM56, EM102, EM115, EM50, EM121, EM20, EM18, EM119	125,75 - 143,62	f	21,48 - 11,55
7	EM53, EM101, EM111, EM104, EM31, EM105, EM99, EM24, EM37, EM44, EM112, EM125, EM15, EM100, EM23, EM11, EM124, EM123, EM05, EM48, EM19, EM03, EM64, EM54, EM42, EM47, EM34, EM35, EM26, EM28, EM27, EM25, EM33	142,26 - 160,07	g	11,18 – 0,06
7	Controle	160,16	g	-

**IVCM: Índice de Velocidade de Crescimento Micelial. **Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

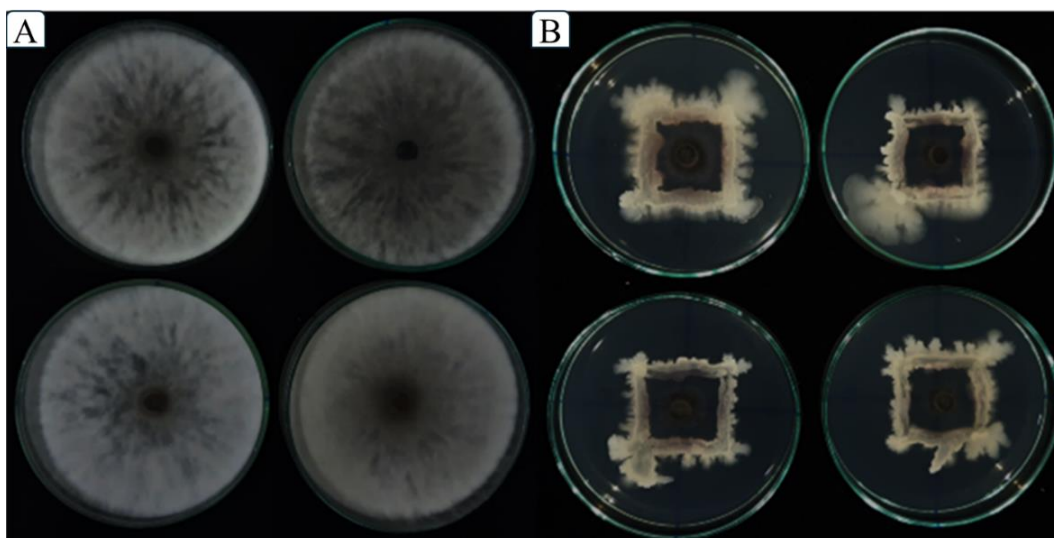


Figura 6. Inibição do crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp. por bactérias endofíticas de raízes de mandioca em testes de antagonismo *in vitro*. (A) Controle (B) Isolado de bactéria endofítica EM08 inibindo o crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp.

3.3.5 *Neoscytalidium* sp.

Houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas de mandioca na inibição de *Neoscytalidium* sp. Formaram-se 7 grupos, do total 112 isolados de 6 grupos apresentaram alguma forma de inibição do patógeno, diferindo-se estatisticamente do controle (Tabela 6). Vinte isolados do grupo 1 (EM73, EM88, EM43, EM59, EM26, EM65, EM15, EM87, EM40, EM23, EM122, EM70, EM68, EM71, EM02, EM120, EM84, EM118, EM91 e EM92) apresentaram os melhores resultados na redução do crescimento do patógeno, com índice de inibição de 86,36% a 70,63% (Figura 7).

Tabela 6. Inibição do crescimento micelial de *Neoscytalidium* sp. *in vitro* pelos isolados de bactérias endofíticas de mandioca.

Grupo	Código dos isolados	IVCM**		% de inibição do crescimento micelial
1	EM73, EM88, EM43, EM59, EM26, EM65, EM15, EM87, EM40, EM23, EM122, EM70, EM68, EM71, EM02, EM120, EM84, EM118, EM91, EM92	12,99 – 27,9	a*	86,36 - 70,63
2	EM04, EM106, EM103, EM03, EM107, EM07, EM50, EM82, EM08, EM53, EM01, EM49, EM06, EM83, EM62, EM81, EM76, EM116, EM45, EM11, EM58, EM39, EM63, EM36, EM51, EM114, EM129, EM80, EM30, EM111, EM117, EM60, EM96	24,68-35,62	b	69,66 - 59,27
3	EM46, EM108, EM77 EM12, EM29, EM47, EM 37, EM09, EM20, EM113, EM115, EM32, EM121, EM56, EM110, EM10, EM41, EM74	39,50 - 48,96	c	58, 52 - 48,58
4	EM57, EM52, EM16, EM44, EM31, EM21, EM24, EM85, EM75, EM78, EM86, EM90, EM93, EM94	50,58 - 57,23	d	46,88-39,90
5	EM66, EM13, EM64, EM132, EM141, EM61. EM67, EM105 EM38, EM72, EM136, EM42	58,92 - 66,56	e	38,12 – 30.10
6	EM119, EM139, EM79, EM89, EM25, EM123, EM33, EM17, EM104, EM127, EM143, EM05, EM48, EM144	69,11- 79,16	f	27,42- 16,87
7	EM135, EM69, EM22, EM54, EM102, EM34, EM35, EM95, EM101, EM138, EM134, EM112, EM145, EM18, EM97, EM109, EM133, EM98, EM126, EM128, EM131, EM27, EM14, EM125, EM100, EM140, EM19, EM130	82,65 - 95,08	g	13,20 – 0, 15-
7	Controle	95,22	g	-
7	EM137, EM142, EM99, EM124, EM55	94,4 – 98,28	g	

**IVCM: Índice de Velocidade de Crescimento Micelial. **Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

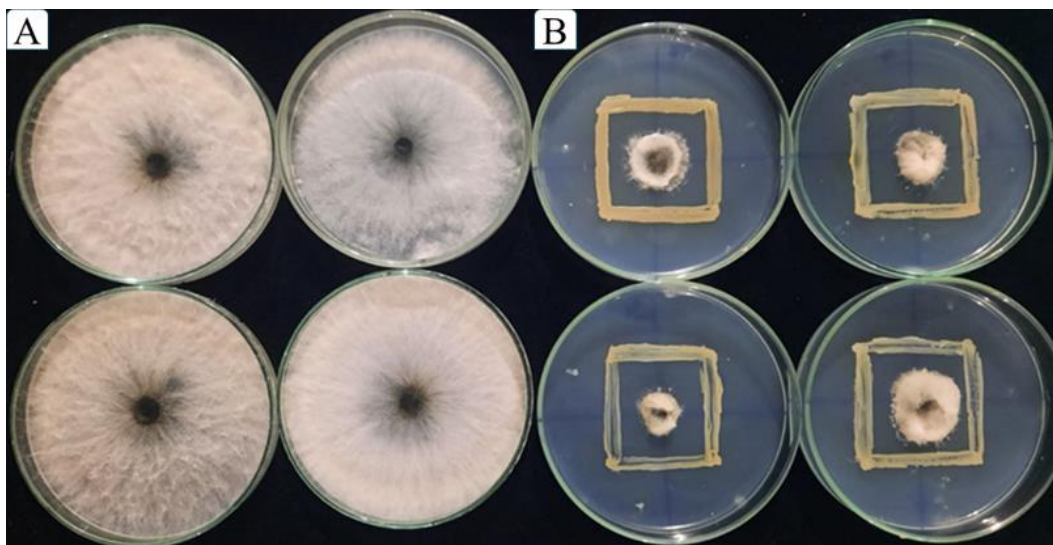


Figura 7. Inibição do crescimento micelial de *Neoscytalidium* sp. por bactérias endofíticas de raízes de mandioca em testes de antagonismo *in vitro*. (A) Controle (B) Isolado de bactéria endofítica EM122 inibindo o crescimento micelial de *Neoscytalidium* sp.

3.4 Potencial das bactérias endofíticas no controle da bacteriose e podridões radiculares da mandioca *in vivo*

3.4.1 Controle da bacteriose com bactérias endofíticas em casa de vegetação

Para este experimento, foram testados 12 isolados de bactérias endofíticas (EM48, EM08, EM15, EM22, EM07, EM50, EM21, EM94, EM73, EM01, EM31 e EM24) que apresentaram os melhores resultados na inibição de *X. phaseoli* pv. *manihotis* e propriedades enzimáticas.

Houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas no controle da bacteriose no acesso Pau velho. Sete isolados (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 e EM21) reduziram em 65,26% e 36% a severidade da bacteriose da mandioca (Tabela 7, Figura 8), diferindo significativamente do tratamento controle.

Tabela 7. Efeito de bactérias endofíticas de raízes de mandioca no controle da bacteriose, em casa de vegetação.

Tratamentos	AACPD*		
	Médias		% de controle
EM01	38,70	a**	65,26
EM07	50,50	a	54,67
EM73	58,90	a	47,13
EM24	60,21	a	45,95
EM50	67,20	a	39,68
EM22	70,80	a	36,45
EM21	71,30	a	36,00
EM08	84,50	b	24,15
EM15	89,20	b	19,93
EM48	92,90	b	16,61
EM94	100,50	b	9,78
EM31	106,42	b	4,47
Controle	111,40	b	0,00

*AACPD - Área abaixo da curva do progresso da doença. **Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



Figura 8 Controle biológico da bacteriose por isolados de bactérias endofíticas de raízes de mandioca, em casa de vegetação. (A) Controle (B) Controle biológico pelo isolado EM01 da bacteriose.

3.4.2 Controle das podridões radiculares da mandioca com bactérias endofíticas em casa de vegetação

Para este experimento, foram testados 13 isolados (EM73, EM91, EM43, EM122, EM96, EM95, EM15, EM70, EM08, EM16, EM13, EM76 e EM63) que apresentaram os melhores resultados na inibição do crescimento micelial *in vitro* de quatro a três patógenos das

podridões (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.) e produção de enzimas líticas.

Houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas no controle das podridões mole, seca e negra nas raízes dos acessos Nova Timboteua e Chifre de boi. As bactérias endofíticas formaram grupos com potencial redução de lesões diversificadas das podridões, quando inoculadas com os patógenos *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.

Em raízes de mandioca do acesso Nova Timboteua, para o controle da podridão mole, foram formados cinco grupos, sendo que em quatro grupos todos os isolados reduziram o tamanho da lesão ocasionada pelo *Phytophthium* sp., diferindo-se estatisticamente do controle conforme a tabela 8. Os isolados do grupo 1 (EM122 e EM16) foram os mais eficientes, reduzindo o diâmetro médio da lesão em 100% (Figura 9), seguido pelo grupo 2 (EM73) em 83,52%, grupo 3 (EM63, EM08, EM96 EM43, EM15 e EM70) em 82,52% e 52,12% e grupo 4 (EM91, EM96, EM76 e EM13) em 38,18% e 30,16%. Para o controle da podridão seca (*Fusarium* sp.), dois grupos apresentaram os melhores resultados comparados ao controle, o grupo 1 (EM122, EM08, EM70 EM95 e EM91), reduziu o tamanho da lesão de 100% e o grupo 2 (EM63, EM73, EM16 e EM43) em 37,71% a 13,43%. Para o controle da podridão negra os melhores resultados foram dos grupos 1, sendo os isolados mais promissores EM16, EM13, EM96, EM70 e EM43 para *Lasioidiplodia* sp. e os isolados EM91, EM70 e EM96 para *Neoscytalidium* sp. com redução de 100% do tamanho da lesão.

Em raízes de mandioca do acesso Chifre de boi, para o controle da podridão mole (*Phytophthium* sp.), três grupos apresentaram os melhores resultados comparados ao controle (Tabela 9). Os isolados do grupo 1 (EM16, EM13, EM95, EM08, EM91, EM43 e EM122) com 100% de redução da lesão, seguidos pelo grupo 2 (EM63), com 82,20% e o grupo 3 (EM73, EM96, EM15 e EM70) de 51, 71% a 42,98%. Para o controle da podridão seca (*Fusarium* sp.), dois grupos apresentaram os melhores resultados, diferindo do controle, o grupo 1 (EM16, EM70, EM08, EM122, EM91 e EM43) reduziu em 100% o tamanho da lesão e os isolados do grupo 2 (EM73, EM96, EM76 e EM63) em 45,82% a 25,58%. Para o controle da podridão negra (*Lasioidiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.) os melhores resultados foram dos grupos 1 e 2, sendo os isolados EM16, EM13, EM96 e EM08 mais promissores no controle da podridão por *Lasioidiplodia* sp. com 100% de redução da lesão, seguido pelo isolados EM15, EM122, EM91, EM43, EM63 e EM76, com 84,02% a 53,69%. No controle da podridão pelo *Neoscytalidium* sp., o isolado EM96 foi mais eficiente, com redução da lesão de 100%, seguidos pelo isolados do segundo grupo EM95 e EM122, com 80,97% e 69,28% e do grupo 3 EM76, EM91, EM43,

EM70, EM16, EM08 e EM63, com redução de 54,92% a 37,42%.

Tabela 8. Efeito de isolados de bactérias endofíticas no controle das podridões de raízes, no acesso Nova Timboteua, em casa de vegetação.

Acesso Nova Timboteua			
Grupo	<i>Phytophthium</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM122, EM16	0,00 a*	100
2	EM73	17,33 b	82,52
3	EM63, EM08, EM96, EM43, EM15, EM70	27,96 - 47,76 c	71,79 - 52,12
4	EM91, EM96, EM76, EM13	61,28 - 69,23 d	38,18 - 30,16
5	Controle	99,15 e	-
Grupo	<i>Fusarium</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM122, EM08, EM70, EM95, EM91	0,00 - 13,16 a	100
2	EM63, EM73, EM16, EM43	27,92 - 38,8 b	37,71 - 13,43
3	Controle, EM76, EM13, EM15, EM96	44,82 - 60,65 c	-
Grupo	<i>Lasiodiplodia</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM16, EM13, EM96, EM70, EM43	0,00 a	100
2	EM15, EM08, EM122, EM76	65,44 - 69,86 b	59,28 - 6,83
3	Controle, EM73, EM91, EM63, EM95	77,98 - 83,63 c	-
Grupo	<i>Neoscytalidium</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM91, EM70, EM96	0,00 a	100
2	EM08, EM122, EM122, EM95, EM63, EM76, EM15	35,46 - 49,57 b	47,77 - 26,57
3	EM73, EM16, EM43, Controle, EM13	62,48 - 71,16 c	-

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

Tabela 9. Efeito de isolados de bactérias endofíticas no controle das podridões de raízes, no acesso Chifre de boi, em casa de vegetação.

Acesso Chifre de Boi			
Grupo	<i>Phytophthium</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM16, EM13, EM95, EM08, EM91, EM43, EM122	0,00 a*	100
2	EM63	13,11 b	82,29
3	EM73, EM96, EM15, EM70	31,15 - 42,00 c	57,71 - 42,98
4	Controle, EM76	73,67 - 77,79 d	-
Grupo	<i>Fusarium</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM16, EM70, EM08, EM122, EM91, EM43	0,00 a	100
2	EM73, EM96, EM76, EM63	32,34 - 44,50 b	45,92 - 25,59
3	EM15, Controle, EM13	56,64 - 68,83 c	-
4	EM95	82,09 d	
Grupo	<i>Lasiodiplodia</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM16, EM13, EM96, EM08	0,00 a	100
2	EM15, M122, EM91, EM43, EM63, EM76	12,41 - 35,97 b	84,02 - 53,69
3	EM96, EM95, Controle, EM70	68,03 - 81,33 c	-
Grupo	<i>Neoscytalidium</i> sp. Tratamentos	Diâmetro médio da lesão (mm)	% de redução da lesão
1	EM96	0,00 a	100
2	EM95, EM122	16,1 - 25,99 b	80,97 - 69,26
3	EM76, EM91, EM43, EM70, EM16, EM08, EM63	38,14 - 52,95 c	54,92 - 37,42
4	EM15, EM73	61,14 - 63,45 d	27,74 - 25,02
5	EM13, Controle	77,17 - 84,61 e	-

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de significância.

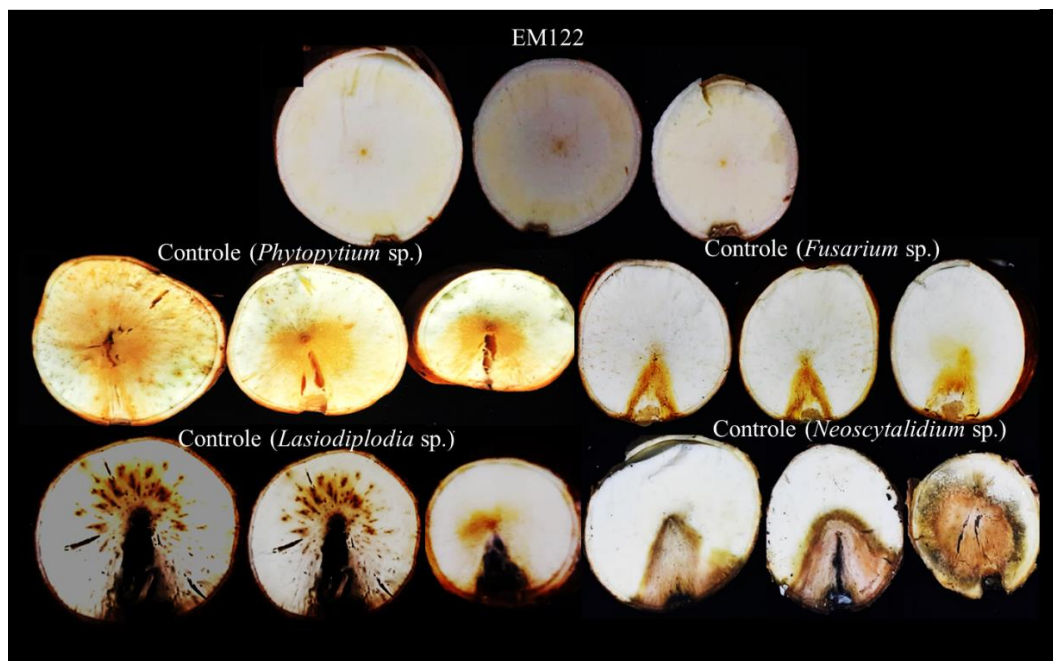


Figura 9. Controle biológico das podridões radiculares da mandioca pelo isolado de bactéria endofítica EM122, em relação ao controle da podridão mole (*Phytophthora* sp.), seca (*Fusarium* sp.) e negra (*Lasiodiplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.).

4 DISCUSSÃO

O papel dos agentes biológicos no controle de doenças de plantas e na produtividade vegetal vêm ganhando cada mais importância na agricultura, por serem considerados sustentáveis e mais seguros ao meio ambiente (O'BRIEN, 2017; BARRATT et al., 2018).

Neste estudo foram obtidos 145 isolados de bactérias endofíticas de raízes tuberosas de mandioca. Bactérias endofíticas em raízes de mandioca já foram registrados por Li et al. (2020), que obtiveram 24 isolados de 4 cultivares, por Leite et al. (2018), que obtiveram 28 isolados e Ferreira et al. (2021), com 21 isolados de seis acessos de mandioca.

A diversidade de isolados endofíticos colonizando as raízes tuberosas de mandioca, provavelmente se deve à morfologia da própria planta, cujas raízes possuem exsudados (HA et al., 2021), o que podem favorecer o crescimento, abundância e seleção desses microrganismos (SASSE et al., 2018; ZHALNINA et al., 2018; SUGIYAMA, 2019). Além de exsudados radiculares, outros fatores podem influenciar a comunidade bacteriana, como o genótipo do vegetal, competitividade entre os microrganismos, clima e o tipo de solo (BUSBY et al., 2017; NAYLO et al., 2017; CORREA-GALEOTE et al., 2018).

Neste estudo, observou-se que a quantidade de isolados variou em função dos acessos de mandioca, sendo que o acesso Maranhense apresentou o maior número de isolados obtidos. Segundo Lareen et al (2016), diferentes genótipos dentro da mesma espécie de planta podem

influenciar na variação qualitativa e quantitativa desses microrganismos. Zhang et al. (2020) obtiveram diferentes isolados de bactérias endofíticas em um único genótipo de mandioca.

A colonização e abundância de espécies de bactérias endofíticas podem ser fatores cruciais para determinar a resistência de cultivares de plantas. Uma característica importante das plantas de mandioca é que elas são adaptadas às mudanças climáticas adversas, como baixa fertilidade do solo, longos períodos de seca e regime irregulares de chuvas (JARVIS et al., 2012). Sugere-se que a existência de uma ampla diversidade de bactérias endofíticas associada às raízes pode favorecer a adaptação dessa cultura a esses ambientes, já que estes endofíticos podem desenvolver associações com as plantas, auxiliando no crescimento, desenvolvimento e permitindo-lhes resistências contra estresses bióticos e abióticos (LIU et al., 2017; SANDHYA et al., 2017; AFZAL et al., 2019).

Os isolados endofíticos obtidos neste estudo foram morfologicamente distintos, com colônia de coloração creme, branca, amarelo e rosa, bordas, forma, opacidade e superfície predominando as inteiras, circulares, opacas e lisas. Essas variações morfológicas indicam a possibilidade de que essas bactérias não estão limitadas apenas a uma única espécie, mas a diferentes gêneros ou espécies interagindo nas raízes da mandioca (ROSENBLUETH; MARTINEZ-ROMERO, 2006). Espécies dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas* e *Escherichia*, são as mais frequentemente encontradas em raízes de mandioca (MELO et al., 2009; LEITE et al., 2018; ZHANG et al., 2020; HA et al., 2021).

Neste estudo, 50,34% dos isolados foram Gram-positivos e 49,66% Gram-negativos. Plantas de mandioca podem apresentar diferentes características fisiológicas e podem ser colonizadas simultaneamente por uma vasta gama de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (LEITE et al., 2018; ZHANG et al., 2020). Os mesmos autores isolaram tanto bactérias endofíticas Gram-negativas quanto Gram-positivas presentes em raízes de mandioca. Oitenta e cinco por cento dos isolados expressaram atividade positiva para catalase e 15% negativa. A catalase atua sobre o peróxido de hidrogênio desdobrando em oxigênio e água. Bactérias que apresentam esta enzima podem resistir à oxidação causada pelos metabólitos tóxicos do oxigênio (espécies reativas de oxigênio), o que relaciona esse fato a possíveis mecanismos envolvidos na proteção do microrganismo. Assim, pode-se inferir que isolados bacterianos que produzem catalase, apresentam vantagem adaptativa, podendo proteger as plantas do estresse oxidativo e toxicidade celular dos estresses bióticos e abióticos, tornando-as promissoras (JOHNSON; HUG, 2019; YUAN et al., 2021).

Do total de bactérias endofíticas, 125 isolados produziram pelo menos uma das enzimas, tais como protease, amilase, lipase e quitinase. No controle biológico, as enzimas

líticas estão envolvidas na degradação dos componentes da parede celular do patógeno (SHAFI et al., 2017; CAULIER et al., 2019; HONG et al., 2022), além de garantir proteção, sobrevivência e vantagens competitivas em relação a outros organismos dentro de um mesmo nicho ecológico (COMPANT et al., 2011). Ainda, a produção de enzimas líticas é um dos mecanismos pelos quais as bactérias endofíticas penetram na planta hospedeira (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2014). Os gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, e *Burkholderia*, são conhecidos como produtoras de uma diversidade de enzimas líticas extracelulares, como amilase, proteinase e quitinase (GORAI et al., 2021).

Os isolados de bactérias endofíticas foram eficientes no controle da bacteriose da mandioca. Doze isolados (EM48, EM08, EM15, EM22, EM07, EM50, EM21, EM94, EM73, EM01, EM31 e EM24) apresentaram as maiores atividades inibitórias no crescimento de *X. phaseoli* pv. *manihotis* e, o potencial desses isolados no controle *in vitro* foi confirmado na planta. Onze isolados foram capazes de produzir até três enzimas líticas, sendo um dos mecanismos de antibiose usados pelos antagonistas para impedir ou inibir o crescimento de fitopatógenos. A produção de compostos antimicrobianos, tais como antibióticos e enzimas extracelulares, pode estar relacionada com a inibição de *X. phaseoli* pv. *manihotis*, entretanto o principal composto ativo, contra diferentes espécies de *Xanthomonas* tem sido identificado como metabólitos secundários (MOREIRA et al., 2013). Dos isolados selecionados apenas o EM48 não produziu nenhuma das enzimas como a protease, lipase, amilase e quitinase, e não apresentou diferença significativa do tratamento controle na redução na severidade da bacteriose.

No experimento *in vivo*, sete isolados (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 e EM21) reduziram a severidade da doença entre 36% e 65,26%, diferindo significativamente do tratamento controle, além de serem produtores de enzimas líticas, o que pode ter sido determinante para a sua eficiência na redução da bacteriose. Os isolados EM01, EM07, EM24 e EM73 se destacaram no mesmo grupo, os quais proporcionaram controle acima de 45%, em relação ao tratamento controle.

Em estudo relatado por Ferreira et al. (2020), resultados semelhantes foram produzidos por bactérias endofíticas capazes de inibir o crescimento *in vitro* e *in vivo* de *X. phaseoli* pv. *manihotis*, incluindo uma redução de 40% da bacteriose, quando utilizado o método de inoculação por pulverização da parte aérea da planta. Em outros patossistemas, isolados de bactérias endofíticas *Pseudomonas brassicacearum* (Psb101), *P. brassicacearum* (Ps169), *Paenibacillus peoriae* (Pa86), *Pseudomonas putida* (Ps52) e *Bacillus licheniformis* (Bl17), apresentaram atividade antibacteriana com zonas de inibição 17,6 mm, 17,4 mm, 17,3

mm, 15,5mm e 15,2 mm, respectivamente, contra *Ralstonia solanacearum*, e reduziram entre 27% a 55% a murcha da batata. AGHDAM et al. (2023) demonstraram o potencial da utilização da bactéria endofítica de *Pseudomonas brassicacearum* (EnPb), isolado de tubérculos de batata, no controle *in vitro* de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* (Pcc), e *in vivo*, com redução de 62,2% no desenvolvimento de podridão mole em batata.

Neste estudo, uma porcentagem considerável de isolados de bactérias endofíticas mostraram efeito antagônico aos patógenos *Phytophthium* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodyplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp. Treze isolados (EM73, EM91, EM43, EM122, EM96, EM95, EM15, EM70, EM8, EM16, EM13, EM76 e EM63) foram selecionados para o controle *in vivo* das podridões mole, seca e negra da mandioca, nos acessos Nova Timboteua e Chifre de boi. A seleção dos isolados foi baseada nos melhores resultados de inibição de quatro a três patógenos, causadores das podridões, bem como pela produção de enzimas líticas.

De acordo com a análise dos dados, verificou-se que o acesso Chifre de boi, apresentou melhor desempenho no controle das podridões secas e mole, com as bactérias endofíticas, quando comparado com o acesso Nova Timboteua, isso pode estar relacionado às diferenças genéticas entre os acessos de mandioca, que podem influenciar na variação qualitativa e quantitativa desses microrganismos (LAREEN et al., 2016).

Os resultados demonstraram o potencial dos isolados de bactérias endofíticas no controle das podridões mole, seca e negra nas raízes de mandioca dos acessos estudados. Em raízes de mandioca do acesso Nova Timboteua verificou-se redução de 100% das lesões das podridões radiculares proporcionada pelos isolados EM122 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM16 (*Phytophthium* sp. e *Lasiodyplodia* sp.), EM08 (*Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp., *Neoscytalidium* sp. e *Lasiodyplodia* sp.), EM95 (*Fusarium* sp.), EM91 (*Fusarium* sp. e *Neoscytalidium* sp.) EM13 (*Lasiodyplodia* sp.), EM96 (*Lasiodyplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.) e EM43 (*Lasiodyplodia* sp.). Em raízes de mandioca do acesso chifre de boi, houve a redução de 100% das lesões proporcionadas pelos isolados EM16 (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp. e *Lasiodyplodia* sp.), EM13 (*Phytophthium* sp. e *Lasiodyplodia* sp.), EM95 (*Phytophthium* sp.), EM08 (*Phytophthium* sp., *Fusarium* sp. e *Lasiodyplodia* sp.), EM91 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM43 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM122 (*Phytophthium* sp. e *Fusarium* sp.), EM70 (*Fusarium* sp.) e EM96 (*Lasiodyplodia* sp. e *Neoscytalidium* sp.).

No presente estudo as bactérias antagonistas foram capazes de produzir enzimas degradadoras de parede celular, tais como quitinase, protease, lipase e amilase, o que pode ter favorecido o controle *in vitro* e *in vivo* das podridões radiculares da mandioca. Essas enzimas têm impacto direto sobre os fitopatógenos, quebrando os componentes estruturais de suas

paredes celulares (AJUNA et al., 2023) e os principais efeitos incluem a inibição do crescimento micelial e germinação de esporos, perda de outras funções celulares, como formação de apressórios e infecção do hospedeiro (CAULIER et al., 2019; HONG et al., 2022). As espécies do gênero *Bacillus* são conhecidas por produzir enzimas hidrolíticas, como quitinase, protease, lipase e amilase e, controlar eficazmente as doenças das plantas (BRZEZINSKA, 2020; AJUNA et al., 2023; BEKTAS et al., 2024). Myo et al. (2019) demonstraram que os patógenos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Fulvia fulvae* e *Ustilagoideia virens* foram suprimidos pelo isolado NKG-2 de *Bacillus velezensis* por meio de enzimas e metabólitos.

São poucos os estudos envolvendo bactérias endofíticas no biocontrole de podridões radiculares da mandioca. Em ensaios *in vivo*, Ferreira et al. (2021) demonstraram que isolados de bactérias endofíticas 21Y de *B. velezensis*, 4W e 23Y de *B. aryabhattai* foram capazes de inibir o crescimento *in vitro* *Phytophthora* sp. e de reduzir as lesões *in vivo* da podridão mole da mandioca. Isolados de *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) e *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) inibiram o crescimento micelial de *Fusarium* sp. e reduziram a podridão seca da mandioca (FREITAS et al., 2019). Resultados semelhantes foram registrados em outros patossistemas, isolados de bactérias endofíticas RO-18, RO-20, RO-21 e SO-13 do gênero *Pantoea*, de raízes de batata-doce, apresentaram atividade antifúngica contra *Ceratocystis fimbriata*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sendo que o isolado RO-21 reduziu o tamanho da lesão da podridão negra em raízes de batata doce, que haviam sido tratadas preventivamente por 1 d antes da inoculação de *Ceratocystis fimbriata*. *Bacillus* sp. KL5 apresentou potencial no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum* e *Verticillium dahliae*, com inibição de 61,53% e 100%, produziu proteases e reduziu a severidade da podridão da batata a partir de 50% (NTEMAFACK et al., 2022).

Os resultados apresentados demonstram que os isolados de bactérias endofíticas de raízes tuberosas de mandioca mostraram-se eficientes no controle da bacteriose e das podridões radiculares, sugerindo que esses antagonistas têm potencial para serem introduzidos no manejo integrado de doenças, contribuindo para sustentabilidade na cultura da mandioca.

5 CONCLUSÕES

Cento e quarenta e cinco isolados de bactérias endofíticas foram obtidos de raízes tuberosas sadias de 40 acessos de mandioca e apresentam uma grande diversidade morfológica e enzimática (protease, lipase, amilase e quitinase) entre os isolados.

Do total, 53 isolados de bactérias endofíticas inibiram o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* agente etiológico da bacteriose da mandioca e 12 isolados (EM48, EM08, EM15, EM22, EM07, EM50, EM21, EM94, EM73, EM01, EM31 e EM24) foram selecionados para o controle *in vivo*. Destes, sete isolados (EM01, EM07, EM73, EM24, EM50, EM22 e EM21) foram eficientes no controle da bacteriose, por reduzir a severidade da doença de 36% a 65,26%, com destaque para os isolados EM01, EM07, EM24 e EM73, os quais proporcionaram controle acima de 45%.

Os isolados de bactérias endofíticas inibiram o crescimento micelial *in vitro* dos patógenos *Phytophthium* sp. (73,8%), *Fusarium* sp. (80 %), *Lasiodiplodia* sp. (77,24%) e *Neoscytalidium* sp. (77,24%). Treze isolados (EM73, EM91, EM43, EM122, EM96, EM95, EM15, EM70, EM8, EM16, EM13, EM76 e EM63) foram selecionados para o controle *in vivo* das podridões mole, seca e negra. Destes, nove isolados (EM122, EM16, EM08, EM70, EM95, EM91, EM13, EM96 e EM43) apresentaram redução de 100% das lesões das podridões radiculares nos acessos Nova Timboteua e Chifre de Boi.

Os isolados de bactérias endofíticas associados a raízes tuberosas de mandioca apresentam potencial como agentes de biocontrole da bacteriose e podridões radiculares da mandioca. Os resultados iniciais obtidos neste trabalho podem ser vistos como altamente promissores. Assim, estudos posteriores, como a identificação das espécies e caracterização dos mecanismos de ação na endosfera das plantas cultivadas no campo, contribuirão para desenvolver agentes biológicos que podem ser alternativas viáveis e ecologicamente corretas no manejo integrado de doenças que afetam a cultura da mandioca.

REFERÊNCIAS

- ABDELSHAFY MOHAMAD, O. A. Beneficial endophytic bacterial populations associated with medicinal plant *Thymus vulgaris* alleviate salt stress and confer resistance to *Fusarium oxysporum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 47, 2020.
- AFZAL, I. et al. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- AGHDAM, N. M. N. Antimicrobial capacity of *Pseudomonas brassicacearum* strain EnPb against potato soft rot agent. **European Journal of Plant Pathology**, v. 165, n. 2, p. 215-231, 2023.
- AGROFIT. Busca por produtos formulados. **Disponível em:** <<http://agrofit.agricultura.gov.br/>>
- AJUNA, H. B. et al. The prospect of hydrolytic enzymes from *Bacillus* species in the biological control of pests and diseases in forest and fruit tree production. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16889, 2023.
- BAHMANI, K. et al. Isolation and identification of endophytic bacteria from potato tissues and their effects as biological control agents against bacterial wilt. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 116, p. 101692, 2021.
- BARRATT, B. I. P. et al. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. **Biological Control**, v. 63, p. 155-167, 2018.
- BEKTAS, I. et al. Molecular characterization of apple endophytic bacteria and biological effect on *Alternaria* rot on apple. **Journal of Phytopathology**, v. 172, n. 3, p. e13323, 2024.
- BOARI, A. J. et al. First Report of *Phytophthora* sp. Causing Storage Root Rot and Foliage Blight of Cassava in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1042, 2018.
- BONDAR G. Una nova molestia bacteriana das hastas da mandioca. **Chacaras e Quintaes**, São Paulo, v. 5, p. 15-18, 1912.
- BRITO, A. C. et al. Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with black root rot and stem cutting dry rot in *Manihot esculenta* in Brazil **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, p. 583-598, 2020.
- BRZEZINSKA, M. S. et al. Exploring the properties of chitinolytic *Bacillus* isolates for the pathogens biological control.. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, p. 104462, 2020.
- BUSBY, P. E. et al. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. **Plos Biology**, v. 15, n. 3, p. 1-14, 2017.
- CAULIER, S. et al. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 302, 2019.

COMPANT, S. et al. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. **Microbial ecology**, v. 62, p. 188-197, 2011.

COMPANT S, SAMAD A, FAIST H, SESSITSCH A. A review on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application. **Journal of Advanced Research**, 19:29–37, 2019.

COMPANT, S. et al. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Análise mensal, 2020.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Análise mensal, Janeiro de 2022. Brasília DF, 2022. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=526&t=>>. Acesso em: 01 de fevereiro de 2022.

CONSTANTIN, E. C. et al. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. **Plant Pathology**, v. 65, n. 5, p. 792-806, 2016.

CORREA-GALEOTE, D. et al. Maize endophytic bacterial diversity as affected by soil cultivation history. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 484, 2018.

DEGRASSI, G.; CARPENTIERI-PIPOLO, V. Bacterial endophytes associated to crops: Novel practices for sustainable agriculture. **Advances in Biochemistry and Biotechnology**, v. 5, p. 1-12. 2020.

DRUMOND, O. A; HIPÓLITO O. Nota sobre a bacteriose da mandioca, **Ceres, Brasil**, v.2, p.281-307, 1941.

DUONG, B, et al. Identification and characterization of Vietnamese coffee bacterial endophytes displaying in vitro antifungal and nematicidal activities. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126613, 2021.

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

FASSI, B. **Premieres observations sur une pourriture des racines du manioc causée par un Phytophthora**. INEAC, v. 6, n. 15, p. 313-317, 1957.

FERREIRA, D.F. SISVAR, **Sistema de análise de variância**, Versao ~ 5.3, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brazil, 2011.

FERREIRA, S. C. Identificação de bactérias endofíticas isoladas de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com potencial aplicação na agricultura. Tese(doutorado), Universidade Federal Rural da Amazônia, 2020.

FERREIRA, S. F. et al. Isolation and characterization of cassava root endophytic bacteria with the ability to promote plant growth and control the in vitro and in vivo growth of *Phytophthium* sp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 116, p. 101709, 2021.

FIGUEIREDO, M. M.; ALBUQUERQUE, F. C. Podridão das raízes de mandioca (*Abniliot escidenta* Crantz). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, n. 7, p. 389-93, 1970.

FREITAS, M. A. et al. Stem inoculation with bacterial strains *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) mitigates *Fusarium* root rot in cassava. **Phytoparasitica**, v. 47, p. 135-142, 2019.

GORAI, P. S. Biological control of early blight disease of potato caused by *Alternaria alternata* EBP3 by an endophytic bacterial strain *Bacillus velezensis* SEB1. **Biological Control**, v. 156, p. 104551, 2021.

HA, J. et al. Diversity of the Bacterial Microbiome Associated With the Endosphere and Rhizosphere of Different Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Genotypes. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 729022, 2021.

HAMID, B. et al. Bacterial plant biostimulants: A sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops. **Sustainability**, v. 13, n. 5, p. 2856, 2021.

HONG, S. et al. Control of fungal diseases and fruit yield improvement of strawberry using *Bacillus velezensis* CE 100. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 365, 2022.

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

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema de Recuperação Automática de Dados (SIDRA). **Disponível em:** <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Acesso em: 25 março. 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário. Pesquisa Agrícola. **Disponível em:** <http://www.ibge.gov.br/homeestatistica/indicadores/agropecuaria>. Acesso em 12 Jan 2022.

JARVIS, A. et al. Is cassava the answer to African climate change adaptation? **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 9-29, 2012.

JIANG, L. et al. Potential of *Pantoea dispersa* as an effective biocontrol agent for black rot in sweet potato. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 16354, 2019.

JOHNSON, L. A.; UG, L. A. Distribution of reactive oxygen species defense mechanisms across domain bacteria. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 140, p. 93-102, 2019.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, n. 6, p. 969-976, 1970.

- KUBLIK, G. et al. Desenvolvimento e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da bacteriose em mandioca. **Revista De Ciências Agroambientais**, v. 18, n. 2, p. 75-81, 2021.
- LAREEN, A. et al. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. **Plant Molecular Biology**, v. 90, n. 6, p. 575-587, 2016.
- LEITE, M. et al. Bioprospection and genetic diversity of endophytic bacteria associated with cassava plant. **Revista Caatinga**, v.31, n. 2, p. 315-325, 2018.
- LI, H. et al. Endophytic bacterial and fungal microbiota in different cultivars of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Microbiology**, v. 58, p. 614-623, 2020.
- LIU, H. et al. Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2552, 2017.
- LIVOI, A. et al. Prevalence and Distribution of Cassava Bacterial Blight in the Kenyan Coast. **Agricultural Science**; v. 3, n. 1, 2021.
- LOPES, E. B. Controle cultural da podridão radicular da mandioca. **Prelo**. 1977.
- LÓPEZ, C. E.; BERNAL, A. J. Cassava bacterial blight: using genomics for the elucidation and management of an old problem. **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 117-126, 2012.
- LOZANO, J. C. Cassava bacterial blight: a manageable disease. **Plant Disease**, v. 70, n. 12, p. 1989-1993, 1986.
- MANSFIELD, J. et al. Plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 6, p. 614-629, 2012.
- MARIANO, R.D.L.R; SOUZA, E.B. **Manual de Práticas em Fitobacteriologia**, Recife: UFRPE, 2016.
- MARKOVIĆ, S. et al. Biological control of the main pathogenic bacteria of potatoes by strains of *Bacillus amyloliquefaciens* SS-12.6 and SS-38.4. **Biological Control**, v.182, p. 105238, 2023.
- MARTIN, A. A. et al. Assessment of the NECO's Effectiveness against Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* In Côte D'Ivoire. **Agricultural Research**, v. 12, n. 4, p. 190-198, 2017.
- MASSOLA, N. S. Jr, Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. **Agronômica Ceres**, v. 2, p. 515-522, 2016.
- MELO, F. M. P. D. et al. Antifungal compound produced by the cassava endophyte *Bacillus pumilus* MAIIM4A. **The Journal of Agricultural Science**, v. 66, n. 5, p. 583-92, 2009.
- MIURA, L.; MONTEIRO, A. J. A. Mandioca (*Manihot esculenta*): controle de doenças. **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, p. 791-820. 1997.

- MOREIRA, A. F. et al. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 63, p. 94-104, 2013.
- MYO, M. et al. Evaluation of *Bacillus velezensis* NKG-2 for bio-control activities against fungal diseases and potential plant growth promotion, **Biological Control**, v.134, p. 23-31, 2019.
- NASCIMENTO, S. B. et al. Endophytic bacteria from *Piper tuberculatum* Jacq.: isolation, molecular characterization, and in vitro screening for the control of *Fusarium solani* f. sp *piperis*, the causal agent of root rot disease in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Genetics and Molecular Research**, v.14, p. 7567-7577, 2015.
- NAYLOR, D. et al. Drought and host selection influence bacterial community dynamics in the grass root microbiome. **The ISME Journal**, v. 11, p. 2691-2704, 2017.
- NOTARO, K. A. et al. Prospecting of phytopathogens associated to cassava root rot in the state of Pernambuco, Brazil. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, p. 1832-1839., 2013.
- NTEMAFACK, A. et al. Protective effect of *Bacillus* species associated with *Rumex dentatus* against postharvest soil borne disease in potato tubers and GC-MS metabolite profile. **Archives of Microbiology**. v. 204, n. 9, p. 583, 2022.
- O'BRIEN, P.A. Biological control of plant diseases. **Australasian Plant Pathology**, v. 46, p. 293-304. 2017.
- OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). 1991. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.
- ONYEKA, T. L et al. Field evaluation of root rot disease and relationship between disease severity and yield in cassava. **Experimental Agriculture**, v. 41, n. 3, p. 357-363, 2005.
- PELZER, G. Q. et al. Mecanismos de controle da murcha-de-esclerócio e promoção de crescimento em tomateiro mediados por rizobactérias. **Tropical Plant Pathology**, v.36, p.95-103, 2011.
- ROMEIRO, R. S.; FERRAZ, H. G. M. **O essencial da Fitopatologia**: agentes causais: Volume 2. Bactéria como patógenos de plantas – Viçosa, MG: UFV, DFP, 2012.
- ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.19, p. 827-837, 2006.
- RUBIO, J. S. R. et al. Physiological behavior of cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) in response to infection by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* under greenhouse conditions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 100, p. 136-141, 2017.
- RYU, E. A simple method for differentiation between Gram-positive and Gram-negative organisms without staining. **Kitazato Archives of Experimental Medicine**, Tokyo, v. 17, p. 58-63, 1940.

SANDHYA, V. et al. Endophytes from maize with plant growth promotion and biocontrol activity under drought stress. **Russian Agricultural Sciences**, v. 43, n.1, p.:22-34, 2017.

SASSE, J. et al. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 1, p. 25-41. 2018.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. Plant pathogen bacterias. 3. ed. Saint Paul: **APS Press**, 2001.

SERRA, I. M. R. S. et al. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 327-328, 2009.

SHAFI, J. et al. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 31, n. 3, p. 446-459, 2017.

SIERRA, G. A. Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 23, n. 1, p. 15-22, 1957.

SILVA, C. A. D. et al. Interferência da incorporação de matéria orgânica no solo no controle da podridão negra da mandioca, causada por *Scytalidium lignicola*. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 1823-1831, 2013.

SUGIYAMA, A. The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond - A review. **Journal of Advanced Research**, v.19, p. 67-73, 2019.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J. et al. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. **Amb Express**, v. 4, p. 1-9, 2014.

TAKATSU, A. et al. Epidemiological aspects of Bacterial Blight of Cassava in Brazil **Diseases of Tropical Food Crops**, p.141-150, 1978.

TAYLOR, R. K. et al. First record of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Solomon Islands. **Plant Disease**, v. 12, p. 49, 2017.

ULLAH, A. et al. Drought tolerance improvement in plants: An endophytic bacterial approach. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7385-7397, 2019.

VANDERWEYEN, A. Maladies et insects nuisibles du manioc. Maladies Cryptogamique L'INEAC 1 :471-480. 5. WHOLEY, D. E. and J. H. COCK. 1973. A rapid method for the propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz), 1962.

VAUTERIN, L. et al. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, n.3. p. 472-489, 1995.

VIÉGAS, A. P. **Estudos sobre a mandioca**. Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, 1976.

VILAS BOAS, S. A. et al. Survey of fungi associated with cassava root rot from different producing regions in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 1, p. 60-67, 2017.

WHITE, J. F. et al. Endophytic microbes and their potential applications in crop management. **Pest management science**, v. 75, n. 10, p. 2558-2565, 2019.

WONNI, I. et al. First Report of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Burkina Faso. **Plant Disease**, v. 99, n. 4, p. 551-551, 2015.

YUAN, F. The Richness and Diversity of Catalases in Bacteria. **Frontier Microbiology**. v. 12, p. 645477, 2021.

ZHALNINA, K. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. **Nature microbiology**, v. 3, n. 4, p. 470-480, 2018.

ZHANG, J. et al. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice. **Nature biotechnology**, v. 37, n. 6, p. 676-684, 2019.

ZHANG, L et al. Microbiome-wide association studies reveal correlations between the structure and metabolism of the rhizosphere microbiome and disease resistance in cassava. **Plant Biotechnology Journal**, v. 19, n. 4, p. 689-701, 2020.

ZHANG, X. et al. Isolation, identification and characterization of nitrogen fixing endophytic bacteria and their effects on cassava production. **PeerJ**, v. 10, p. e12677, 2022.

ARTIGO 2 - POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO CRESCIMENTO E ENRAIZAMENTO DE MANDIOCA

Silvia Mara Coelho do Nascimento¹; Alessandra Keiko Nakasone²; Ricardos Magela de Souza¹

¹ Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras 37200-900, Brasil

² Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas Pinheiro s/n, Belém 66095-903, Brasil

RESUMO

A produção de mandioca é uma atividade agrícola de alta relevância no Brasil por sua importância econômica e social. Entretanto, a baixa taxa de multiplicação associada a fatores biológicos, torna-se um dos entraves para o sucesso da exploração desse cultivo. Dessa forma, produtos e inovações que facilitem e otimizem sua produção são sempre necessários. Sendo assim, bactérias endofíticas promotoras de crescimento de plantas apresenta-se como uma alternativa sustentável para o aumento da produtividade. Neste contexto, o objetivo com esse trabalho foi selecionar isolados de bactérias endofíticas obtidas de raízes tuberosas de mandioca sadias quanto à promoção de crescimento e enraizamento de plantas de mandioca, por meio da técnica da propagação rápida. Neste estudo, 145 isolados de bactérias endofíticas foram avaliados quanto ao seu potencial para produzir ácido indol-3-acético (AIA) e solubilização de fosfato. Do total, 26,21% (38) dos isolados produziram AIA na presença do precursor L-triptofano e 45,52% (66) apresentaram capacidade de solubilizar fosfato. 17 isolados foram selecionados para os testes *in vivo*, sobre o crescimento e enraizamento de plantas de mandioca em casa de vegetação. Foram avaliados a brotação e os parâmetros de crescimento: altura de planta, comprimento de raiz, número de folhas, diâmetro do coleto, massa fresca e seca da folha e raiz. No ensaio de enraizamento, foram avaliados o comprimento e a biomassa da raiz. No ensaio de promoção de crescimento, a inoculação dos isolados apresentou incrementos significativos em todos os índices avaliados. Quatro isolados (EM17, EM51, EM30 e EM74) apresentaram os melhores resultados em todas as variáveis, estimulando o crescimento e aumento da biomassa da parte aérea e raiz das brotações da mandioca. No ensaio de enraizamento, sete isolados (EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 e EM101) estimularam o comprimento das raízes adventícias dos brotos e sete isolados EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 e EM101 proporcionaram o aumento da massa seca de raízes. Os melhores resultados foram obtidos com os isolados EM61, EM74, EM98, EM51 e EM113. Os isolados de bactérias endofíticas possuem potencial para promover o crescimento e enraizamento em mudas de mandioca e, portanto, pode contribuir para o manejo sustentável da produção no cultivo da mandioca.

Palavras-chave: microrganismos endofíticos; ácido indol acético; solubilização de fosfato; bactérias promotoras de crescimento; mudas de mandioca.

ABSTRACT

Cassava production is a highly relevant agricultural activity in Brazil due to its economic and social importance. However, the low multiplication rate associated with biological factors becomes one of the obstacles to the successful exploitation of this crop. Therefore, products and innovations that facilitate and optimize production are always necessary. Therefore, endophytic bacteria that promote plant growth present themselves as a sustainable alternative for increasing productivity. In this context, the objective of this work was to select isolates of endophytic bacteria obtained from healthy tuberous cassava roots to promote growth and rooting of cassava plants, using the rapid propagation technique. In this study, 145 endophytic bacterial isolates were evaluated for their potential to produce indole-3-acetic acid (IAA) and phosphate solubilization. Of the total, 26.21% (38) of the isolates produced AIA in the presence of the precursor L-tryptophan and 45.52% (66) showed the ability to solubilize phosphate. 17 isolates were selected for in vivo tests on the growth and rooting of cassava plants in a greenhouse. The sprouting and growth parameters were evaluated: plant height, root length, number of leaves, stem diameter, fresh and dry mass of the leaf and root. In the rooting test, root length and biomass were evaluated. In the growth promotion assay, the inoculation of the isolates showed significant increases in all indices evaluated. Four isolates (EM17, EM51, EM30 and EM74) showed the best results in all variables, stimulating the growth and increase in biomass of the shoot and root of cassava shoots. In the rooting test, seven isolates (EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 and EM101) stimulated the length of the shoots' adventitious roots and seven isolates EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 and EM101 provided an increase in dry mass of roots. The best results were obtained with isolates EM61, EM74, EM98, EM51 and EM113. Endophytic bacteria isolates have the potential to promote growth and rooting in cassava seedlings and, therefore, can contribute to sustainable production management in cassava cultivation.

Keywords: endophytic microorganisms; indole acetic acid; phosphate solubilization; growth promoting bacteria; cassava seedlings.

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura de grande importância social e econômica, utilizada na alimentação humana, animal e como matéria-prima na indústria. É uma planta cultivada em todo território brasileiro, que se destaca como uma fonte energética e nutricional para grande parte da população em diversas regiões do país, além disso, apresenta amplo potencial para a produção de etanol (SALLA; CABELLO, 2010; FIALHO et al., 2011; CEBALLOS et al., 2012; KRAJANG et al., 2021).

A planta de mandioca possui ampla capacidade de adaptação às condições climáticas, como a baixa fertilidade do solo, altas temperaturas e tolerância à seca, nas quais poucas espécies conseguem se estabelecer. Entretanto, essa importante cultura apresenta limitações, que dificultam a sua propagação em larga escala num curto intervalo de tempo, principalmente por ser propagada vegetativamente a partir de estacas de hastes (manivas semente). Entre os fatores considerados desfavoráveis à sua propagação destacam-se a baixa taxa de multiplicação e a proliferação de doenças (SILVA et al., 2002; FUKUDA; CARVALHO, 2006; FIALHO; VIEIRA, 2013).

Diante disso, para atenuar tais problemas, o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) localizado em Cali na Colômbia, desenvolveu o sistema de propagação rápida, que é um método que consiste na indução de enraizamento de estacas caulinares de duas gemas (minimanivas) para produção de brotos, e posterior enraizamento dos mesmos. A técnica tem como objetivo aumentar a taxa de multiplicação rápida, para obtenção de materiais propagativos com qualidade genética e fitossanitária (FUKUDA; CARVALHO, 2006; SILVA et al., 2002).

Entretanto, são poucos os estudos envolvendo microrganismos benéficos na multiplicação rápida que permitam a disponibilização de mudas em quantidade e com alta qualidade para plantio.

A qualidade das mudas afeta diretamente a capacidade de brotação, o enraizamento e a resistência a doenças nos plantios de mandioca. Sendo assim, bactérias promotoras de crescimento têm grande potencial para otimizar o uso das mudas de mandioca no plantio e melhorar a eficiência do estabelecimento das plantas em campo, além de contribuir para o manejo sustentável da produção da mandioca (ULLAH et al., 2019; ALKAHTANI et al., 2020; HAMID et al., 2021).

Bactérias endofíticas são microrganismos que vivem nos tecidos internos dos vegetais, sem causar doenças, os quais estabelecem relações mutualísticas com seus hospedeiros,

beneficiando-os de inúmeras maneiras, principalmente otimizando o seu potencial de promoção de crescimento (COMPANT, et al., 2010; LIU et al., 2022; SRIWATI et al., 2023). Este grupo de bactérias estimula o crescimento das plantas de forma direta, fornecendo nutrientes (ferro, fósforo e nitrogênio) e hormônios (ácido indol-3-acético e etileno), bem como indiretamente, controlando o desenvolvimento de fitopatógenos e pela indução de resistência sistêmica (ASLAM et al., 2018; AFZAL et al., 2019; KRISHNAMOORTHY et al., 2020).

Considerando-se a importância da cultura da mandioca no Brasil e a expansão dos cultivos pelos produtores, o uso de bactérias endofíticas promotoras de crescimento vegetal, pode ser uma alternativa viável, sustentável e de baixo custo para produzir material de plantio de alta qualidade.

Desse modo, o objetivo com este trabalho foi selecionar isolados de bactérias endofíticas obtidas de raízes tuberosas sadias quanto à promoção de crescimento e enraizamento da mandioca, por meio da técnica de propagação rápida.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

Os experimentos foram realizados no laboratório e casa de vegetação de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, localizada na região de Belém, no Estado de Pará, região caracterizada por umidade e temperatura elevadas durante todo o ano (OLIVEIRA et al., 2016).

2.2 Isolados de bactérias endofíticas

Foram utilizados 145 isolados de bactérias endofíticas de raízes tuberosas de mandioca. Cada isolado recebeu um código de EM01 a EM145, de acordo com a ordem de isolamento.

2.3 Seleção de isolados bactérias endofíticas na promoção de crescimento *in vitro*

2.3.1 Solubilização de fosfato inorgânico

Para selecionar bactérias capazes de solubilizar fosfato, os isolados foram cultivados em meio de cultura 523 (KADO; HESKETT, 1970), incubados em BOD a 28 °C, por 48 h. Após o período de incubação, 10 µL da suspensão foram colocados em quatro pontos equidistantes em placas de Petri contendo meio de cultura NBRIP (10,0 g L⁻¹ de Glicose; 5,0

g L⁻¹ de NH₄Cl; 1,0 g L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O; 4,0 g L⁻¹ de CaHPO₄; 15,0 g L⁻¹ de ágar bacteriológico e 1000 mL de água destilada) com pH ajustado para 7,0 (NAUTIYAL, 1999) e incubadas em BOD a 28°C por 5 dias. A avaliação da solubilização de P foi realizada pela medição do diâmetro do halo translúcido que se formou em torno da colônia bacteriana. O resultado obtido foi expresso pelo Índice de Solubilização (IS) proposta por Berraquero et al. (1976), que consiste na relação entre a média do diâmetro do halo de solubilização dividido pelo diâmetro da colônia, ou seja, $IS = \frac{\text{Ø halo de solubilização}}{\text{Ø colônia}}$. O índice de solubilização de fosfato (ISF) foi classificado como: baixa ($IS < 2$), média ($2 \leq IS < 4$) e alta solubilização ($IS > 4$) (CHAGAS JUNIOR et al., 2010).

2.3.2 Produção de ácido indol acético (AIA)

Para a avaliação da produção de AIA, os isolados foram previamente cultivados em placa de Petri em meio NA, por 48h a 28°C. Posteriormente, foram transferidos para frascos (250 ml) contendo 50 ml com meio de cultura líquido NA suplementado com 5mM de L-triptofano (1,021g L⁻¹) e incubados novamente a 28°C, sob agitação constante (150 rpm), por 72 h no escuro. Após o crescimento, a cultura foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos e 1mL do sobrenadante foi misturado com 1mL do Reagente de Salkowski (2% de FeCl₃ 0,5M em 35% de ácido perclórico). As amostras foram incubadas em BOD a 28°C, por 30 minutos no escuro e, posteriormente, a concentração de AIA foi determinada a 530 nm em espectrofotômetro e, comparadas com uma curva padrão de AIA (10 - 100 µg/ml). Foram utilizadas três repetições para cada tratamento e, a coloração rosa-avermelhada das amostras indicou a produção de auxina.

2.4 Potencial de isolados de bactérias endofíticas no crescimento e enraizamento de mudas de mandioca em casa de vegetação

Os ensaios consistiram na seleção de bactérias endofíticas com potencial no crescimento, brotações e enraizamentos no processo de multiplicação rápida de mudas de mandioca. Para isso, foi utilizado o acesso Chifre de Boi, com 12 meses de idade, do Banco Ativo de Germoplasma, por representar importância aos produtores da região para a produção de raízes, caracterizada como mandioca tipo mesa.

Dos 145 isolados de bactérias endofíticas, dezessete isolados (EM17, EM20, EM23, EM27, EM30, EM48, EM51, EM48, EM61, EM74, EM82, EM89, EM98, EM107, EM101, EM110 e EM113), foram selecionados para os ensaios de crescimento, brotações e

enraizamentos de mandioca. A seleção foi a partir dos resultados com as maiores atividades de produção de AIA e solubilização de fosfato, e aqueles que apresentaram as duas atividades.

2.4.1 Efeito de isolados de bactérias endofíticas na brotação e crescimento inicial de mudas de mandioca

Para a obtenção dos inoculantes, os isolados endofíticos foram cultivados em meio de cultura sólido 523 (KADO; HESKETT 1970) durante 48 h, a 28 °C. As suspensões bacterianas foram preparadas com água da torneira esterilizada, com concentração ajustada em espectrofotômetro para $A_{540} = 0,2$ (10^8 UFC).

Após o processo de diluição das culturas bacterianas, estacas de mandioca com duas gemas, foram imersas, por aproximadamente 20 minutos, sob agitação a cada 5 minutos. Posteriormente as estacas foram plantadas em vasos de 3L contendo substrato composto por fibra de coco triturado, com as gemas voltadas para cima. Após o plantio, o substrato foi irrigado com 50 mL das suspensões utilizadas na inoculação das estacas. No tratamento controle, as estacas foram imersas em água de torneira esterilizada. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, por um período de 20 dias, sendo irrigadas diariamente. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, cada vaso com duas estacas e duas gemas.

Aos 20 dias após a inoculação dos isolados, avaliou-se o número e comprimento das brotações, o comprimento das raízes, número de folhas (NF), diâmetro do coleto (DC), massa fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR). As amostras de parte aérea e raiz foram acondicionadas em sacos de papel, levados à estufa de secagem com circulação forçada a 60 °C durante 72 horas e em seguida pesados em balança analítica, para avaliação da massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSSR). Foi utilizada uma régua graduada para medir a altura da planta e comprimento da raiz e, para determinar o diâmetro do caule foi utilizado um paquímetro digital. As plantas foram separadas em parte aérea e sistema radicular para determinação da massa seca.

2.4.2 Efeito de bactérias endofíticas no enraizamento da mandioca

Estacas de aproximadamente 10 cm com duas gemas foram plantadas em bandejas contendo fibra de coco, com as gemas voltadas para cima, sendo umedecidas sempre que necessário. Para a obtenção do inóculo bacteriano, os isolados endofíticos foram cultivados em meio sólido 523 (KADO; HESKETT 1970) durante 48 h, a 28 °C. As suspensões bacterianas foram preparadas com água da torneira esterilizada, e a concentração ajustada em

espectrofotômetro para $A_{540} = 0,2$. Quando os brotos atingiram aproximadamente 8 cm a 10 cm foram cortados com estilete esterilizado com álcool etílico 70%, abaixo de uma gema e, posteriormente, foram retiradas o excesso de folhas presente nos brotos, deixando-se de duas a três folhas na parte superior. Os brotos cortados foram colocados em copos plásticos (capacidade de 300 mL) contendo 100 mL de cada suspensão bacteriana, com troca de suspensão bacteriana a cada três dias. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, cada copo com dois brotos. As amostras de parte aérea e raiz foram acondicionadas em sacos de papel, levados à estufa de secagem com circulação forçada a 60 °C durante 72 horas e em seguida pesados em balança analítica, para avaliação da massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSSR). Foi utilizada uma régua graduada para medir a altura da planta e comprimento da raiz. Aos 15 dias avaliou-se o comprimento da raiz dos brotos enraizados. As amostras de raízes foram acondicionadas em sacos de papel, levados à estufa de secagem com circulação forçada a 60 °C durante 72 horas e em seguida pesados em balança analítica, para avaliação da massa seca das raízes (MSR).

3 RESULTADOS

3.1 Solubilização de fosfato inorgânico

Houve diferenças significativas entre os isolados endofíticos na capacidade para solubilizar fosfato. Foram consideradas positivas ao teste as bactérias que ao crescerem formaram um halo de solubilização ao redor da colônia (Figura 1). Do total, 45,52% (66) dos isolados testados, demonstraram capacidade de solubilizar fosfato (Tabela 1). Destes, 15,17% obtiveram um alto índice solubilização (IS), destacando-se o isolado EM30 do grupo G1 com valor máximo de IS 6,8, seguidas pelos isolados do grupo G2 (EM113, EM23, EM18 e EM89) que apresentaram IS entre 5,64 e 6,03, do grupo G3 (EM46, EM25, EM20, EM31, EM17 e EM82) que exibiram o IS de 4,88 a 5,28 e do grupo G4 (EM70, EM99, EM144 EM107, EM32, EM26, EM28, EM60, EM29, EM66 e EM36) com IS de 4,00 a 4,76.

O índice médio de solubilização foi obtido por 19,31% (28) dos isolados. Os isolados dos grupos G5 (EM52, EM74, EM50, EM61, EM88, EM81, EM120, EM45 EM110, EM137, EM64, EM85, EM07, EM73, EM48 e EM40) apresentaram o IS 3,28 a 3,68, do grupo G6 (EM69, EM103, EM05, EM04, EM75, EM118 e EM56) com IS de 2,69 a 3,10 e do grupo G7 (EM95, EM108, EM98 e EM27) com IS de 2,20 a 2,40. Os 11,03% (16) dos isolados do grupo G8 (EM135, EM122, EM37, EM14, EM117, EM13, EM77, EM112, EM51, EM111, EM131,

EM79, EM93, EM57, EM10, EM84 e EM76) apresentaram baixa solubilização, com IS variando de 1,51 a 1,98. Os isolados do grupo G9 não apresentaram solubilização.

Tabela 1. Índice de solubilização formado pelos isolados de bactérias endofíticas de mandioca, em meio NBRIP.

Grupo	Isolados de bactérias endofíticas	Índice de solubilização(IS) (mm)		Capacidade de solubilização
G1	EM30	6,82	i*	Alta
G2	EM113, EM23, EM18, EM89	5,64 – 6,03	h	Alta
G3	EM46, EM25, EM20, EM31, EM17, EM82	4,88 – 5,28	g	Alta
G4	EM70, EM99, EM144 EM107, EM32, EM26, EM28, EM60, EM29, EM66, EM36	4,00 – 4,76	f	Alta
G5	EM52, EM74, EM50, EM61, EM88, EM81, EM120, EM45 EM110, EM137, EM64, EM85, EM07, EM73, EM48, EM40	3,28 – 3,68	e	Média
G6	EM69, EM103, EM05, EM04, EM75, EM118, EM56	2,69 – 3,10	d	Média
G7	EM95, EM108, EM98, EM27	2,20 – 2,40	c	Média
G8	EM135, EM122, EM37, EM14, EM117, EM13, EM77, EM112, EM51, EM111, EM131, EM79, EM93, EM57, EM10, EM84, EM76	1,52 – 1,98	b	Baixa
G9	EM16, EM83, EM15, EM86, EM145, EM19, EM24, EM78, EM22, EM80, EM21, EM136, EM87, EM134, EM132, EM133, EM138, EM142, EM143, EM141, EM139, EM140, EM44, EM59, EM43, EM41, EM42, EM58, EM54, EM53, EM55, EM47, EM49, EM67, EM65, EM68, EM72, EM71, EM33, EM38, EM39, EM63, EM34, EM35, EM06, EM97, EM08, EM96, EM03, EM114, EM115, EM02, EM92, EM11, EM102, EM104, EM100, EM101, EM105, EM09, EM109, EM106, EM94, EM116, EM126, EM127, EM124, EM125, EM130, CONTROLE, EM128, EM129, EM12, EM119, EM91, EM90, EM01, EM121, EM62	0,00	a	-

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

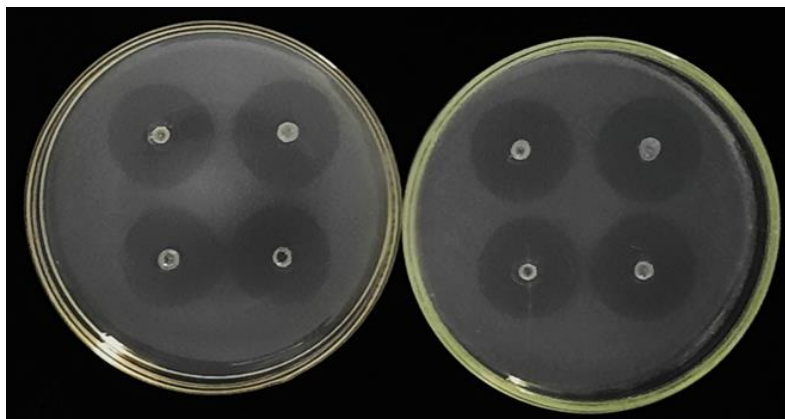


Figura 1. Halo de solubilização de fosfato formado pelo isolado de bactéria endofítica EM30 em meio NBRIP-ágar, após 3 dias de incubação.

3.2 Produção de ácido indol acético (AIA)

Os resultados da produção de AIA mostraram variação nos isolados bacterianos. Formaram-se oito grupos com capacidades variáveis de produzir compostos indólicos, diferindo do tratamento controle. A presença do AIA foi evidenciada pela formação de uma coloração rosa-avermelhada (Figura 2). Do total, 26,21% (38) dos isolados produziram AIA na presença do precursor L-triptofano, com concentrações no meio de cultivo variando entre 2,48 e 36,62 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 2). O isolado EM48 pertencente ao grupo G1 foi o que apresentou maior quantidade de AIA, com 36,62 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, seguido pelos isolados do grupo G2 EM110 (25,99 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), grupo G3 EM75 (20,35 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), grupo G4, EM511 (7,35 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), grupo G5 EM107, EM89, EM98 (13,78 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ a 15,08 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e grupo G6 EM93, EM03, EM61, EM27, EM17, EM74 e EM101 (7,10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ a 12,21 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), sendo estes isolados superiores aos demais e ao tratamento controle ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Produção de ácido indolacético (AIA) *in vitro* por bactérias endofíticas na presença de L-triptofano.

Grupo	Isolados de bactérias endofíticas	AIA($\mu\text{g/mL}^1$)	
G1	EM48	36,62	i*
G2	EM110	25,99	h
G3	EM75	20,35	g
G4	EM51	17,35	f
G5	EM107, EM89, EM98	13,78 – 15,08	e
G6	EM93, EM03, EM61, EM27, EM17, EM74, EM101	7,10 – 12,21	d
G7	EM28, EM84, EM113, EM30, EM66, EM112	4,17 – 6,20	c
G8	EM76, EM111, EM81, EM145, EM23, EM64, EM15, EM96, EM54, EM79, EM60, EM91, EM137, EM20, EM32, EM68, EM82, EM142	2,48 – 4,14	b
G9	Controle, EM31, EM36, EM44, EM13, EM06, EM125, EM132, EM37, EM117, EM65, EM105, EM59, EM21, EM26, EM86, EM07, EM108, EM08, EM05, EM138, EM120, EM123, EM42, EM78, EM40, EM116, EM114, EM70, EM94, EM100, EM63, EM139, EM144, EM39, EM38, EM134, EM126, EM62, EM95, EM97, EM122, EM14, EM18, EM50, EM49, EM87, EM53, EM119, EM35, EM72, EM136, EM83, EM85, EM52, EM103, EM41, EM19, EM109, EM46, EM67, EM135, EM104, EM131, EM33, EM130, EM121, EM77, EM92, EM102, EM09, EM80, EM24, EM115, EM140, EM25, EM34, EM45, EM29, EM12, EM57, EM22, EM58, EM141, EM47, EM127, EM71, EM16, EM43, EM04, EM133, EM01, EM143, EM55, EM124, EM118, EM69, EM88, EM90, EM10, EM73, EM11, EM99, EM106, EM129, EM56, EM02, EM128	0,00	a

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



Figura 2. Representação do ensaio colorimétrico de produção de AIA por bactérias endofíticas. Coloração mais intensa, maior concentração de AIA e coloração mais transparente, baixa concentração de AIA.

3.3 Efeito de isolados de bactérias endofíticas na brotação e crescimento inicial de mudas de mandioca

As bactérias endofíticas contribuíram no desenvolvimento inicial das brotações de mandioca e, proporcionaram o aumento dos parâmetros biométricos e de biomassa avaliados em relação ao controle. Para o número de brotação não houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofítica ($p < 0,05$). No entanto, os isolados EM51 e EM74, se destacaram ao promover brotações de 56% e 43,75%, respectivamente, apesar de não diferirem do controle (Tabela 3).

Nas variáveis número de folhas, diâmetro do coleto, comprimento da parte aérea e raiz, MFPA, MFR, MSPA e MSR houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas, quando comparado com o controle. Oito isolados (EM17, EM51, EM107, EM30, EM74, EM61, EM101 e EM48) proporcionaram aumento no número de folhas, variando de 6,25 a 8,75, com média de 7,8 folhas por planta. Em relação ao diâmetro do coleto, os melhores resultados foram observados em seis isolados (EM17, EM51, EM107, EM30, EM74 e EM61), que apresentaram diâmetro variando de 3,50 mm a 5,25 mm (Tabela 3).

Quanto ao comprimento da parte aérea, os isolados EM17, EM51, EM107, EM30, EM74 e EM61 apresentaram valores estatisticamente superiores aos demais isolados e ao controle não inoculado, com aumento de 29,50cm, 27,50cm, 24,25cm, 23,75cm, 22cm e 20,00cm, respectivamente, na altura dos brotos de mandioca (Tabela 3). Para o comprimento das raízes, as maiores médias foram observadas com os isolados EM51(16,00cm), EM30 (15,50cm), EM17 (15,25cm), EM107 (12,75cm) e EM74 (12,50cm) (Tabela 3). Os isolados de bactérias endofíticas EM17, EM51, EM30 e EM74 se destacaram por apresentar os melhores resultados em todos os parâmetros (Figura 3).

Tabela 3. Efeito de bactérias endofíticas na promoção de crescimento de mudas de mandioca, em casa de vegetação.

Tratamento	Brotação (%)	NF	DC (mm)	Comprimento da parte aérea (cm)	Comprimento da raiz (cm)	MFPA (mg)	MFR (mg)	MFT (mg)	MSPA (mg)	MSR (mg)	MST (mg)
EM17	37,50 ^{NS}	8,75 a*	5,25 a*	29,50 a*	15,25 a*	9,44 a*	0,92 a*	10,46 a*	1,27 a*	0,12 a*	1,38 a*
EM51	56,25	8,50 a	4,50 a	27,50 a	16,00 a	8,04 a	1,01 a	9,05 a	1,06 a	0,17 a	1,24 a
EM107	25,00	8,75 a	3,50 a	24,25 a	12,75 a	5,48 b	0,31 b	5,79 a	0,61 b	0,06 b	0,67 b
EM30	25,00	7,75 a	4,50 a	23,75 a	15,50 a	7,89 a	0,64 a	8,54 a	0,92 a	0,10 a	1,03 a
EM74	43,75	8,50 a	4,50 a	22,00 a	12,50 a	8,01 a	0,82 a	8,83 a	1,02 a	0,12 a	1,15 a
EM61	25,00	6,25 a	3,50 a	20,00 a	10,25 b	5,92 b	0,35 b	6,27 a	0,73 a	0,05 b	0,79 a
EM101	31,25	6,25 a	2,50 b	19,75 b	9,25 b	3,35 b	0,19 b	3,54 b	0,38 b	0,02 b	0,41 b
EM48	37,50	7,75 a	3,75 b	17,25 b	5,25 b	4,20 b	0,09 b	4,29 b	0,37 b	0,01 b	0,39 b
EM27	25,00	4,75 b	2,50 b	14,75 b	6,00 b	2,87 b	0,19 b	3,06 b	0,33 b	0,01 b	0,27 b
EM98	12,50	5,00 b	2,00 b	14,50 b	8,75 b	4,59 b	0,82 a	5,11 b	0,53 b	0,08 a	0,62 b
EM20	18,75	4,75 b	2,25 b	14,00 b	7,00 b	1,93 b	0,15 a	2,08 b	0,19 b	0,02 b	0,21 b
EM110	25,00	6,00 b	2,75 b	13,75 b	6,75 b	4,45 b	0,33 b	4,78 b	0,45 b	0,04 b	0,49 b
EM89	18,75	5,75 b	2,50 b	13,75 b	7,25 b	5,95 b	0,22 b	6,17 a	0,58 b	0,02 b	0,60 c
EM23	18,75	4,25 b	2,75 b	11,00 b	6,50 b	4,99 b	0,81 a	3,81 b	0,26 b	0,11 a	0,38 b
EM113	25,00	4,75 b	2,25 b	10,50 b	7,00 a	2,85 b	0,19 b	3,05 b	0,33 b	0,02 b	0,36 b
EM82	18,75	2,25 b	1,25 b	5,75 b	2,25 b	1,56 b	0,06 b	1,64 b	0,16 b	0,01 b	0,17 b
Controle	12,50	2,75 b	1,25 b	5,50 b	4,25 b	0,63 b	0,06 b	0,69 b	0,06 b	0,01 b	0,07 b

Número de folha (NF); Diâmetro do coleto (DC); Matéria fresca da parte aérea (MFPA); Matéria fresca da raiz (MFR); Matéria fresca total (MFT); Matéria seca da parte aérea (MSPA); Matéria seca da raiz (MSR) e Matéria seca total (MST). *As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ** Não significativo.

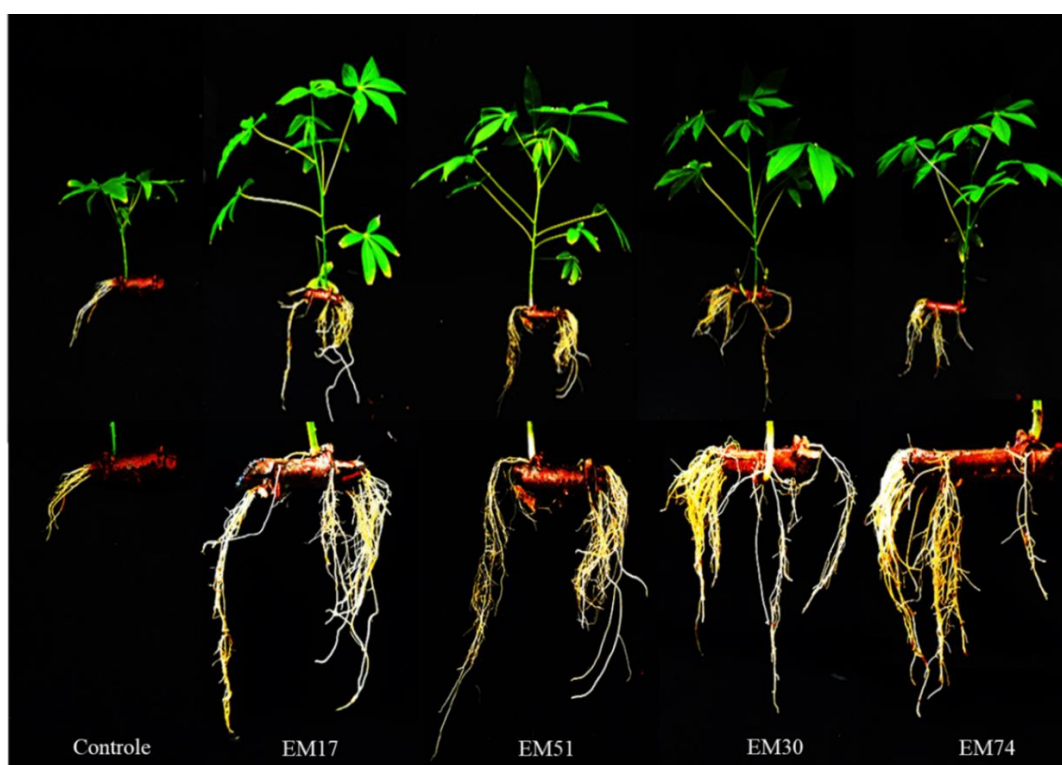


Figura 3. Efeito da inoculação de estacas de mandioca com isolados de bactérias endofíticas EM17, EM51, EM30 e EM74 em relação ao tratamento controle.

3.4 Efeito de isolados de bactérias endofíticas no enraizamento dos brotos de mandioca

Houve diferenças significativas entre os isolados de bactérias endofíticas no enraizamento de brotos de mandioca (Tabela 4). Na avaliação do comprimento das raízes, os isolados EM61, EM98, EM74, EM20, EM30, EM51 e EM113 obtiveram incremento significativo de 201% a 511%, quando comparado com o tratamento controle. Para o peso seco das raízes (MSR), os melhores resultados foram obtidos pelos isolados EM61, EM98, EM101, EM74, EM51, EM113 e EM110, que obtiveram médias de 0,73mg, 0,28mg, 0,26mg, 0,24mg, 0,23mg e 0,15mg, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito da inoculação com isolados de bactérias endofíticas no enraizamento de brotos de mandioca.

Tratamentos	Comprimento da raiz	MSR
EM61	9,10 a	0,73 a
EM74	6,58 a	0,26 b
EM98	5,50 a	0,28 b
EM20	5,26 a	0,11 c
EM30	4,87 a	0,08 c
EM51	4,56 a	0,20 b
EM113	4,48 a	0,23 b
EM107	3,93 b	0,04 c
EM110	3,36 b	0,15 b
EM48	3,31 b	0,07 c
EM89	2,94 b	0,00 c
EM27	2,93 b	0,02 c
EM101	2,45 b	0,26 b
EM82	2,37 b	0,01 c
EM75	2,16 b	0,03 c
Controle	1,49 b	0,01 c
EM23	1,09 b	0,01 c
EM17	0,44 b	0,00 c

Matéria seca da raiz (MSR). *As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



Figura 4. Efeito da inoculação dos brotos de mandioca com isolados de bactérias endofíticas EM61, EM74, EM98, EM51 e EM113 em relação ao tratamento controle.

4 DISCUSSÃO

Os efeitos benéficos de bactérias endofíticas em promover crescimento de plantas é descrito por diversos autores (AFZAL et al., 2019; CHEN et al., 2021; OROZCO-MOSQUEDA et al., 2021; BHAKAT et al., 2023). Na produção de mandioca, objetiva-se acelerar o crescimento e diminuir o tempo para obtenção das mudas, contribuindo para aumentar a taxa de multiplicação em larga escala, com plantas vigorosas e livres de doenças. No presente estudo, a ação das bactérias endofíticas influenciou positivamente no crescimento e enraizamento de plantas de mandioca, evidenciado pelos maiores acúmulos de matéria seca de parte aérea e em altura de plantas.

O potencial dos isolados para promover o crescimento das plantas foi avaliado *in vitro*. Dos 145 isolados de bactérias endofíticas de raízes tuberosas de mandioca, dezessete isolados (EM17, EM20, EM23, EM27, EM30, EM48, EM51, EM61, EM74, EM75, EM82, EM89, EM98, EM101, EM107, EM110 e EM113) apresentaram a capacidade de produzir o hormônio AIA e de solubilizar fosfato. O desempenho dos isolados foi promissor, uma vez que o conhecimento dos mecanismos de ação *in vitro* é considerado uma ferramenta eficaz na seleção de microrganismos com melhor potencial para promover crescimento em plantas (SZILAGYI; ZECCHIN et al., 2016).

No presente estudo, tanto o crescimento da parte aérea quanto o desenvolvimento de raízes dos brotos de mandioca foram estimulados pela inoculação dos isolados endofíticos. A altura das plantas foi superior, quando estas foram inoculadas com os isolados EM17, EM51, EM107, EM30, EM74, EM61, EM48 e EM101 e comparada com o tratamento controle. Em relação ao número de folhas e diâmetro do coleto, os isolados EM17, EM51, EM107, EM30, EM74 e EM61 foram superiores aos demais, sendo esta uma resposta importante, devido ao

aumento expressivo na área fotossintética da planta, o que resulta em maior disposição de carboidratos e crescimento da planta, o que pode ser observado nos parâmetros de diâmetro, altura e número de folhas como pela ação desses microrganismos. Para o comprimento de raízes e MFR, nove isolados (EM17, EM51, EM107, EM30, EM74, EM61, EM101, EM98 e EM23) foram superiores ao controle.

A inoculação com as bactérias endofíticas proporcionou um aumento nos parâmetros de crescimento das plantas de mandioca. Os isolados EM17, EM51, EM30 e EM74 apresentaram os melhores resultados em todas as características (Figura 3). O aumento de massa seca se devem primordialmente a maior altura da planta, uma vez que os parâmetros de massa seca e altura estão fortemente relacionados. No geral, os resultados *in vitro* de produção de AIA e solubilização de fósforo, correlacionaram as variáveis altura, comprimento radicular e massa seca da parte aérea e raiz. Os mecanismos envolvidos na promoção do crescimento, induzidos por bactérias endofíticas, ocorrem tanto pela transferência de moléculas sintetizadas pela bactéria para a planta, como pelo aumento da disponibilidade nutrientes ou produção de fitormônios reguladores do crescimento (OLANREWAJU et al., 2017; CHEN et al., 2021). O AIA tem acentuado efeito no crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo atuar no alongamento, divisão e diferenciação celular (GLICK, 2012; TAIZ et al., 2013). A produção de auxina também leva a uma maior proliferação de raízes laterais e aumento da formação de pelos radiculares, resultando em maior superfície total da raiz, favorecendo uma maior absorção de nutrientes e água pela planta (GLICK, 2012; TAIZ et al., 2017; MILLAN et al., 2020).

Bactérias endofíticas são capazes de melhorar a produtividade das plantas, quando potencializam a fertilidade dos solos por meio de processos que aumentam a disponibilidade de nutrientes. O fósforo é um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo atuar na divisão celular vegetal, transferência de energia, transdução de sinal, síntese de ácidos nucleicos e fotossíntese (ZHANG et al., 2017). Deste modo, bactérias solubilizadoras de fosfato são capazes de solubilizar formas insolúveis de fósforo, tornando-o disponível para o crescimento das plantas (KALAYU, 2019; RANA et al., 2020).

Estudos têm mostrado que bactérias endofíticas produtoras de AIA e solubilizadoras de fosfato podem aumentar o crescimento e contribuir no desenvolvimento de plantas. A inoculação em arroz com *Enterobacter asburiae* (VWB1), *Pantoea dispersa* (VWB2) e *Pseudomonas putida* (VWB3) afetou a arquitetura do sistema radicular, aumentando a formação de raízes laterais e o crescimento de pelos radiculares, sendo essas alterações correlacionadas com a produção de AIA e solubilização de fosfato (VERMA et al., 2017). Resultados semelhantes foram obtidos em algodão, quando *Bacillus amyloliquefaciens*

promoveu o crescimento e alterou a arquitetura radicular e formação de pelos (IRIZARRY et., 2017). Ferreira et al. (2021) mostraram que plantas de mandioca e feijão-caupi, inoculadas com os isolados 23Y e 4W de *B. aryabhatai* apresentaram maior biomassa radicular, o qual foi associado ao AIA e fosfato de cálcio. Freitas et al. (2019) mostraram que a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) e *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) promoveram o crescimento da parte aérea e radicular de mudas de mandioca. O incremento no crescimento vegetal também foi observado por Kaur et al. (2022), que testaram a inoculação do isolado JAS1 de *Agrobacterium pusense*, solubilizador de fosfato, em mudas de trigo e grão-de-bico e verificaram efeito positivo das plantas inoculadas, com influência considerável no comprimento de raiz e parte aérea em comparação ao controle não inoculado, além de aumento significativo na biomassa dessa raiz e parte aérea, bem como o aumento de raízes laterais e pelos radiculares.

No ensaio de enraizamento, houve diferença significativa entre os isolados de bactérias endofíticas. Sete isolados (EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 e EM101) estimularam o comprimento das raízes adventícias dos brotos e sete isolados EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 e EM101 proporcionaram o aumento da massa seca de raízes. Entretanto, os melhores resultados foram obtidos pelos isolados EM61, EM74, EM98, EM51 e EM113, que proporcionaram maior comprimento e biomassa nas brotações de mandioca (Figura 4).

O desenvolvimento radicular é uma característica importante para planta, pois compreender o seu funcionamento e a distribuição de raízes são fundamentais para o entendimento fisiológico da planta, uma vez que está diretamente ligada à sobrevivência e crescimento inicial, devido à sua função na absorção de água e nutrientes (FARIA et al., 2021). O sistema radicular da mandioca é do tipo tuberosa e adventícias (nodais) e, as plantas na fase de formação do sistema radicular apresentam, em função do lugar de origem, dois tipos de raízes adventícias, sendo aquelas oriundas a partir do calo cicatricial classificadas como raízes basais e, aquelas oriundas a partir das gemas presentes nos nós classificadas como raízes nodais (LOWE et al., 1982). Raízes com maior área de superfície absorvem mais água e nutrientes dos solos e os translocam para a parte aérea das plantas, resultando em um maior crescimento e aumento de produção de biomassa (GLICK, 2012).

Os efeitos benéficos da inoculação de brotos de mandioca que resultaram nas alterações do sistema radicular podem estar associados ao crescimento direto da planta, pela ação de fitohormônios. Todos os isolados demonstraram produzir AIA, que é frequentemente observada em bactérias endofíticas (FUKAMI et al., 2017) como reguladores de crescimento, que podem acelerar a formação de raízes, aumentar o percentual de enraizamento e promover

melhoria da qualidade das mudas (FARIA et al., 2021).

Os resultados apresentados mostram a eficácia de bactérias endofíticas em promover o crescimento e estimular o enraizamento das brotações de mandioca, tornando assim, uma alternativa promissora para aplicação biotecnológica agrícola, visando ao aumento da produtividade sustentável e economicamente viável para a cultura da mandioca.

5 CONCLUSÕES

Dos cento e quarenta e cinco isolados de bactérias endofítica de raízes tuberosas de mandioca testados, 66 foram capazes de solubilizar fosfato inorgânico e 38 de produzir ácido-indol-acético.

Dezessete isolados (EM17, EM20, EM23, EM27, EM30, EM48, EM51, EM61, EM74, EM75, EM82, EM89, EM98, EM101, EM107, EM110 e EM113) foram selecionados para os testes de crescimento e enraizamento de plantas de mandioca em casa de vegetação e, destes, quatro isolados (EM17, EM51, EM30 e EM74) proporcionaram os melhores resultados nos parâmetros de crescimento como altura de planta, comprimento de raiz, número de folhas, diâmetro do coleto, massa fresca e seca da folha e raiz.

Na avaliação do enraizamento, sete isolados (EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 e EM101) estimularam o comprimento das raízes adventícias dos brotos e sete isolados EM61, EM98, EM74, EM51, EM113, EM110 e EM101 proporcionaram o aumento da massa seca de raízes, sendo que cinco isolados (EM61, EM74, EM98, EM51 e EM113) se destacaram com os melhores resultados.

Os isolados de bactérias endofíticas foram eficientes na indução do crescimento de mudas e no enraizamento dos brotos de mandioca pelo método de multiplicação rápida, indicando o potencial de uso dessas bactérias na agricultura.

REFERÊNCIAS

- AFZAL, I. et al. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- ALKAHTANI, M. D. F. et al. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1325, 2020.
- ASLAM, A., et. al. Effect of carbonic anhydrase-containing endophytic bacteria on growth and physiological attributes of wheat under water-deficit conditions. **Plant Production Science**, v. 21, n. 3, p. 244-255, 2018.
- BERRAQUERO, F. R. et al. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica**, v.17, p.399-406, 1976.
- BHAKAT, A. S. et al. Plant growth promotion and lipopeptide-mediated biological control of chilli pathogen *Colletotrichum siamense* by endophytic *Bacillus* sp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 125, p. 102026, 2023.
- CEBALLOS, H. et al. Cassava Breeding:Current Status, Bottlenecks and the Potential of Biotechnology Tools. **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 73-87, 2012.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.
- CHEN, J. et al. Isolation and screening of multifunctional phosphate solubilizing bacteria and its growth-promoting effect on Chinese fir seedlings. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 9081, 2021.
- COMPANT, S. et al. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.
- FARIA, P. S. A. et al. Multifunctional potential of endophytic bacteria from *Anacardium othonianum* Rizzini in promoting *in vitro* and *ex vitro* plant growth. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126600, 2021.
- FERREIRA, S. F. et al. Isolation and characterization of cassava root endophytic bacteria with the ability to promote plant growth and control the *in vitro* and *in vivo* growth of *Phytophthora* sp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 116, p. 101709, 2021.
- FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. Manejo e tratos culturais da mandioca. Mandioca no Cerrado: orientações técnicas, v. 2, p. 61-88, 2013.
- FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. **Manejo e tratos culturais da mandioca**. In: FIALHO, J.F.; VIEIRA, E.A. (Eds.). Mandioca no Cerrado: orientações técnicas. 2. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados p.208, 2011.

FREITAS, M. A. et al. Stem inoculation with bacterial strains *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) mitigates Fusarium root rot in cassava. **Phytoparasitica**, v. 47, p. 135-142, 2019.

FUKAMI, J. et al. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB express**, v. 7, p. 1-13, 2017.

FUKUDA, W. M. G.; CARVALHO, H. W. L. Propagação rápida de mandioca no nordeste brasileiro, 2007.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012, n. 1, p. 963401, 2012.

HAMID, B. et al. Bacterial plant biostimulants: A sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops. **Sustainability**, v. 13, n. 5, p. 2856, 2021.

IRIZARRY, I.; BRANCO, J. F. Application of bacteria from non-cultivated plants to promote growth, alter root architecture and alleviate salt stress of cotton. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 4, p. 1110-1120, 2017.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, n. 6, p. 969-976, 1970.

KALAYU, G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal Of Agronomy**, v. 2019, p. 1-7, 2019.

KAUR, J. et al. An exopolysaccharide-producing novel *Agrobacterium* pusense strain JAS1 isolated from snake plant enhances plant growth and soil water retention. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 21330, 2022.

KRAJANG, M. et al. Single-step ethanol production from raw cassava starch using a combination of raw starch hydrolysis and fermentation, scale-up from 5-L laboratory and 200-L pilot plant to 3000-L industrial fermenters. **Biotechnology for Biofuels**, v. 14, p. 1-15, 2021.

KRISHNAMOORTHY, A. et al. Impact of seed-transmitted endophytic bacteria on intra-and inter-cultivar plant growth promotion modulated by certain sets of metabolites in rice crop. **Microbiological research**, v. 241, p. 126582, 2020.

LIU, L. H. et al. Diversity of endophytic bacteria in wild rice (*Oryza meridionalis*) and potential for promoting plant growth and degrading phthalates. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150310, 2022.

LOWE, S. B. et al. Early development of cassava (*Manihot esculenta*). **Canadian Journal of Botany**, v. 60, n. 12, p. 3040-3048, 1982.

MILLAN, A. F. S. et al. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: benefits for seedling development. **Microbiological Research**, v. 237, p. 126480, 2020.

NAUTIYAL, C. S. An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v. 170, p. 265-270, 1999.

OLANREWAJU, O. S. et al. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 1-16, 2017.

OLIVEIRA, M. C. F. et al. Climatologia urbana da cidade de Belém-Pará, através das precipitações e temperaturas do ar, das normais climatológicas de 1941 a 1970, 1971 a 2000 e da normal provisória de 2001 a 2015. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.09, p.803-819, 2016.

OROZCO-MOSQUEDA, M. et al. Plant growth-promoting bacteria as bioinoculants: attributes and challenges for sustainable crop improvement. **Agronomy**, v. 11, n. 6, p. 1167, 2021.

RANA, K. L. et al. Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 113, p. 1075-1107, 2020.

SALLA, D. A.; CABELLO, C. Análise energética de sistemas de produção de etanol de mandioca, cana-de-açúcar e milho. **Energia na agricultura**, v. 25, n. 2, p. 32-53, 2010.

SILVA, M. N. et al. Multiplicação rápida de mandioca. **Agricultura**, v. 2. p. 187-197, 2002.

SRIWATI, R. et al. Endophytic bacteria as biological agents to control fusarium wilt disease and promote tomato plant growth. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 125, p. 101994, 2023.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

ULLAH, A. et al. Drought tolerance improvement in plants: An endophytic bacterial approach. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7385-7397, 2019.

VERMA, S. et al. Seed-vectored endophytic bacteria modulate development of rice seedlings. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 6, p. 1680-1691, 2017.

ZHANG, J. et al. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from mushroom residues and their effect on tomato plant growth promotion. **Polish Journal of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 57-65, 2017.