



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FILOGENIA E PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À RAÍZES DE MANDIOCA EM PERNAMBUCO

JOSÉ VITORINO DA SILVA NETO

**Recife – PE
2023**

JOSÉ VITORINO DA SILVA NETO

**FILOGENIA E PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS
ASSOCIADOS À RAÍZES DE MANDIOCA EM PERNAMBUCO**

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador(a): Alexandre Reis Machado

Coorientador(a): André Ângelo Medeiros Gomes

**RECIFE – PE
Fevereiro – 2023**

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

S586f

Neto, José Vitorino da Silva

Filogenia e patogenicidade de fungos endofíticos associados à raízes de mandioca em Pernambuco: Taxonomia e patogenicidade / José Vitorino da Silva Neto. - 2023.
58 f. : il.

Orientador: Alexandre Reis Machado.

Coorientador: Andre Angelo Medeiros Gomes.

Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2023.

1. Manihot esculenta. 2. Patógenos latentes. 3. Pós-colheita. I. Machado, Alexandre Reis, orient. II. Gomes, Andre Angelo Medeiros, coorient. III. Título

CDD 632

FILOGENIA E PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À RAÍZES DE MANDIOCA EM PERNAMBUCO

JOSÉ VITORINO DA SILVA NETO

Dissertação APRESENTADA e APROVADA pela Banca Examinadora em: 27 / 02 / 2023

ORIENTADOR(A): Alexandre Reis Machado

EXAMINADORES:

Alexandre Reis Machado

Diego

Anderson Rocha Silva

RECIFE – PE
Fevereiro – 2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus, por me fornecer ensinamento e forças para seguir minha vida acadêmica, assim, com tantas lutas que tracei durante esse mestrado, com a pandemia, com a morte do meu querido Pai, que fez com que meu coração chorasse durante muito tempo. Mas Deus é poderoso e misericordioso. Me fez levantar a cabeça e seguir.

Ao meu Pai que não se encontra mais aqui conosco, porém do fundo do meu coração dedico esse passo de minha formatura como mestre ao senhor, por tudo o que fez por mim.

À minha mãe, por me dar tanto apoio e sempre torcer para meu sucesso. Como ela diz sempre que volto das férias de casa com toda simplicidade: “tenha uma vida boa e um trabalho bom”. Te amo.

Aos meus familiares, meus irmãos e minha tia Djanira, dos quais sempre tive apoio incondicional, principalmente, nos momentos mais difíceis, que me acolhem e por todos os conselhos.

À Lais Pinheiro (namorada), pelas palavras de apoio e carinho, sempre que precisei. Mesmo a distância, me atura todas as noites. Te amo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Reis, pelos ensinamentos, pelas ajudas a qualquer momento do dia e pela paciência. Suas contribuições foram muito importantes para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao coorientador Prof. Dr. André Ângelo, pela ajuda nas coletas e correções, foram ótimas contribuições para meu trabalho.

Às minhas colegas de laboratório, em especial, Amandinha que desde o início foi praticamente minha coorientadora, me ensinou técnicas para execução no meu trabalho, como também conversas que me impulsionou a um melhor aprendizado. Juliana me ensinou a ser mais organizado, esteve sempre a disposição me ajudando da melhor forma possível. Por fim, conheci no final do mestrado, a Ana Elisa, que demonstrou muito interesse como pesquisadora, tem foco, admirável seu esforço.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e a Micoteca URM, pelo suporte técnico, estrutural. À agência de fomento Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e CNPq pelo apoio financeiro para o desenvolvimento da minha pesquisa. Em especial, ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pelo aprendizado.

Sumário

CAPÍTULO I	1
Introdução Geral	2
1. Mandioca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	2
2. Doenças e as Podridões radiculares.....	3
3. Fungos endofíticos: conceito e interação com o hospedeiro	5
4. Referências bibliográficas	8
CAPÍTULO II.....	15
1. Introdução	17
2. Material e Métodos	19
2.1. Coleta de amostras e isolamento dos fungos endofíticos	19
2.2. Estudo taxonômico (Morfológico)	19
2.3. Extração de DNA, sequenciamento e estudos filogenéticos	20
2.4. Teste de patogenicidade.....	21
3. Resultados	22
3.1. Coleta de amostras e isolamento dos fungos endofíticos	22
3.2. Estudos filogenéticos.....	22
3.3. Teste de patogenicidade.....	23
4. Discussão	24
5. Conclusões	27
6. Agradecimentos	28
7. Referências bibliográficas.....	29
CAPÍTULO III.....	52
Conclusões Gerais.....	53

RESUMO GERAL

Manihot esculenta Crantz é uma espécie da família *Euphorbiaceae*, possui características de planta arbustiva, que exibe um sistema radicular rico em amido e representa uma fonte de carboidratos essenciais para alimentação humana e animal. As doenças radiculares podem ser causadas por diversos agentes etiológicos, dentre estes, os fungos possuem um maior destaque, devido à sua alta incidência e dificuldade de controle. Entre os patógenos já relatados como causadores de podridões radiculares na mandioca, podemos citar em maior destaque: *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Lasiodiplodia* spp., *Neocytalidium dimidiatum* e *Macrophomina pseudophaseolina*. Estudos têm evidenciado que várias espécies conhecidas como patógenos de plantas, também podem sobreviver como endófitos, estando presentes no interior das plantas sem causar prejuízo ou dano aparente. Porém, em condições de estresse do hospedeiro, tais como pressão biológica de pragas, agentes patogênicos e estresses abióticos, alguns fungos endofíticos podem passar a atuar como patógenos oportunistas. Dessa forma, várias culturas de importância agrícola podem estar colonizadas por esses patógenos oportunistas. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a diversidade e avaliar a patogenicidade de espécies de fungos endofíticos associados à raízes de mandioca sadias cultivadas em áreas no estado de Pernambuco. As coletas foram realizadas em 12 áreas cultivadas, nas regiões da Zona da Mata (Chã Grande, Primavera e Condado), no Agreste (São João e Garanhuns) e no Sertão (Araripina) no estado de Pernambuco e foram encaminhadas ao Laboratório de Micologia Ambiental do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram realizados os isolamentos dos fungos endofíticos. As identificações dos fungos foram baseadas em estudos da morfologia das estruturas vegetativas, bem como, em análises moleculares. De acordo com dados encontrados no Fungal Database (<https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>), para seleção dos isolados para análises filogenéticas e teste de patogenicidade, utilizou-se o critério de que os gêneros selecionados já foram relatados associados à raízes de mandioca e frequentemente conhecidos por causarem podridões de pós-colheita. No teste de patogenicidade, os tratamentos foram representados por 12 espécies contidas nos gêneros de *Neocosmospora*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*. As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas com base no tamanho da lesão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR. Foram identificados 78 isolados de fungos endofíticos pertencentes a 21 gêneros. Dentre eles, está o gênero *Neocosmospora* de importância agrônômica, conhecido por causar podridão em raízes de mandioca. Também foram obtidos gêneros associados a podridões pós-colheita como *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*. Dois isolados de uma possível nova espécie de *Aspergillus* foram encontrados (*Aspergillus* sp. 1 ARM 1078 e *Aspergillus* sp. 2 ARM 1082) formando um clado próximo de *Aspergillus iranicus*. No teste de patogenicidade apesar de todos os isolados avaliados formarem lesão, os isolados *Neocosmospora falciforme* ARM 1104, *Talaromyces lentulus* ARM 1083 e *Aspergillus tabacinus* ARM 1094 diferiram do controle quanto ao tamanho de lesão causada, dessa forma foram os isolados mais agressivos. Por fim, de acordo com os resultados obtidos nesse estudo foi possível verificar a relação entre isolados endofíticos e patogênicos em raízes de mandioca em áreas no estado de Pernambuco, e pode-se concluir que espécies já relatadas como fitopatogênicas podem ser encontrados em raízes assintomáticas.

Palavras-chaves: *Manihot esculenta*, patógenos latentes, pós-colheita.

GERAL ABSTRACT

Manihot esculenta Crantz is a species of the *Euphorbiaceae* family, has characteristics of a bushy plant, which exhibits a root system rich in starch and represents a source of essential carbohydrates for human and animal food. Root diseases can be caused by several etiological agents, among which fungi have a greater prominence, due to their high incidence and difficulty of control. Among the pathogens already reported as causing root rot in cassava, we can highlight: *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Lasiodiplodia* spp., *Neocytalidium dimidiatum* and *Macrophomina pseudophaseolina*. Studies have shown that several species known as plant pathogens can also survive as endophytes, being present inside plants without causing harm or apparent damage. However, under conditions of host stress, such as biological pressure from pests, pathogens and abiotic stresses, some endophytic fungi may act as opportunistic pathogens. Thus, several crops of agricultural importance may be colonized by these opportunistic pathogens. Therefore, the objective of the present study was to investigate the diversity and evaluate the pathogenicity of endophytic fungal species associated with healthy cassava roots cultivated in areas in the state of Pernambuco. The collections were carried out in 12 cultivated areas, in the regions of Zona da Mata (Chã Grande, Primavera and Condado), in the Agreste (São João and Garanhuns) and in the Sertão (Araripina) in the state of Pernambuco and were sent to the Laboratório of Micologia Ambiental from the Departamento of Micologia at the Universidade Federal of Pernambuco, where the endophytic fungi were isolated. Fungal identifications were based on studies of the morphology of vegetative structures, as well as molecular analyses. According to data found in the Fungal Database (<https://nt.ars-grin.gov/fungalbases/>), the selection of isolates for phylogenetic analyzes and pathogenicity testing used the criterion that the selected genera had already been reported associated with cassava roots and often known to cause postharvest rot. In the pathogenicity test, the treatments were represented by 12 species contained in the genera of *Neocosmospora*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* and *Talaromyces*. Differences between treatments were assessed based on lesion size. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by Tukey's test at 5% probability using the SISVAR program. A total of 78 endophytic fungal isolates belonging to 21 genera were identified. Among them is the genus *Neocosmospora* of agronomic importance, known to cause rot in cassava roots. Genera associated with postharvest rot such as *Penicillium*, *Aspergillus* and *Talaromyces* were also obtained. Two isolates of a possible new species of *Aspergillus* were found (*Aspergillus* sp. 1 ARM 1078 and *Aspergillus* sp. 2 ARM 1082) forming a clade close to *Aspergillus iranicus*. In the pathogenicity test, although all isolates evaluated formed lesions, the isolates *Neocosmospora falciforme* ARM 1104, *Talaromyces lentulus* ARM 1083 and *Aspergillus tabacinus* ARM 1094 differed from the control in terms of the size of the lesion caused, thus they were the most aggressive isolates. Finally, according to the results obtained in this study, it was possible to verify the relationship between endophytic and pathogenic isolates in cassava roots in areas in the state of Pernambuco, and it can be concluded that species already reported as phytopathogenic can be found in asymptomatic roots.

Keywords: *Manihot esculenta*, latent pathogens, postharvest

CAPÍTULO I**Introdução Geral**

FILOGENIA E PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À RAÍZES DE MANDIOCA EM PERNAMBUCO

Introdução Geral

1. Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

A mandioca também conhecida como aipim ou macaxeira, é uma espécie vegetal perene pertencente à família *Euphorbiaceae*, e nativa da América do Sul (LI et al., 2010). De origem Brasileira, é consumida por mais de 800 milhões de famílias em todo o mundo (SARAVANAN et al., 2016). Essa cultura apresenta importância fundamental no cenário agrícola nacional e internacional, sendo utilizada na alimentação humana e animal. Além disso, gera emprego e renda, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (CARDOSO; SOUZA, 2000).

É uma espécie de elevada variabilidade genética e pode ser cultivada em inúmeras regiões, sendo empregada para diversas finalidades na indústria (FERREIRA et al., 2008). A mandioca encontra-se entre os alimentos ricos em amido mais consumidos do mundo, ficando atrás apenas do arroz e do milho (AJAYI; OLUTUMISE, 2018). Utilizada como matéria-prima, a fécula da mandioca, é incorporada no consumo de inúmeros produtos, na indústria de massas, biscoitos, fermento, fabricação de papéis, colas, tintas e nos frigoríficos para conservas em geral (PONCE; RIBEIRO; TELLES, 2020; TONUKARI, 2004), como também na produção de etanol (FAO, 2015).

A estimativa de produção brasileira de raiz de mandioca para o ano de 2022, de acordo com a última atualização do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE foi de 18,23 milhões de toneladas, colhidas em área de 1,23 milhão de hectares (CONAB, 2022). O Nordeste se destaca com 20 % da produção nacional, chegando à aproximadamente quatro milhões de toneladas e o estado de Pernambuco encontrando-se entre os principais produtores da região (IBGE, 2020).

A cultura da mandioca necessita de temperaturas entre 20°C a 27°C, mas produz bem entre as temperaturas de 16°C e 38° C. A faixa mais adequada de precipitação para o desenvolvimento da mandioca está compreendida entre 1000 mm a 1500 mm por ano (SOUZA; SOUZA, 2000). O plantio da mandioca é realizado por propagação vegetativa por meio de manivas, que são segmentos da haste contendo de 5 a 7 gemas com tamanho e

diâmetro médio de 20 cm e 2,5 cm, respectivamente. Embora possua capacidade de se desenvolver em ambientes com escassez de recursos, expressa ótimo rendimento quando cultivada em solos bem drenados, profundos e friáveis, de textura média ou arenosa e terrenos que não ultrapassem 5% de declividade, com pH do solo de 6,5, ou variando entre 5,5 e 7,0 (MATTOS; CARDOSO, 2003).

A cadeia de produção nacional da mandioca no Brasil conta com uma participação de 76% da agricultura familiar (SOUZA et al., 2012). Porém, em geral, os sistemas de cultivo empregados pela agricultura familiar, ocorrem com baixo nível tecnológico e as variedades utilizadas geralmente não passaram por um processo formal de melhoramento genético, o que acarreta em baixa produtividade, pois, estas apresentam em sua maioria suscetibilidade a insetos-pragas e doenças (VIEIRA et al., 2015).

Portanto, apesar de sua rusticidade, vários fatores relacionados ao estresse biótico e abiótico, limitam o potencial produtivo da mandiocultura no Brasil (OLIVEIRA et al, 2013; VENTURINI et al, 2015; VILAS-BOAS et al, 2016). Com destaque para os danos relacionados as podridões radiculares, que podem ocorrer tanto em pré quanto em pós-colheita e não são devidamente quantificadas.

2. Doenças e as Podridões radiculares

Dentre as principais doenças que acometem a cultura da mandioca estão à bacteriose ou murcha bacteriana, as viroses, superbrotamento, superalongamento, a antracnose e as podridões radiculares, sendo estas causadas por oomicetos e uma ampla gama de fungos fitopatogênicos (BANDYOPADHYAY et al., 2006; FOKUNANG et al., 2000).

Os fungos fitopatogênicos destacam-se como os principais causadores de doença radiculares na cultura da mandioca (MSIKITA et al., 2005), mas não têm recebido a devida atenção quando comparadas aos fitopatógenos de doenças foliares. Isso deve-se, principalmente, pelo fato dos sintomas primários serem de difícil visualização, pois a podridão inicia-se abaixo do nível do solo, dificultando a observação da doença no campo, e à complexidade dos fatores envolvidos na interação hospedeiro-patógeno-ambiente (MATTOS et al., 2002; VIDAL et al, 2009; WHEELER; RUSH, 2001).

Diversas espécies de fungos já foram associadas às podridões radiculares em mandioca no Brasil, destacando-se, *Lasiodiplodia* spp., *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Nectria mauritiicola*, *Rosellinia* sp. e *Athelia rolfsii*

(BRITO et al., 2020; FUKUDA, 1991; MACHADO et al., 2014; MASOLA JR; BEDENDO, 2005; MUNIZ et al., 2006; NOTARO et al., 2013; SERRA et al., 2009).

No geral, as podridões radiculares apresentam, como sintoma primário, o apodrecimento das raízes e, como sintomas secundários, o amarelecimento e a murcha da parte aérea das plantas (MICHEREFF et al. 2005). Essas doenças são altamente destrutivas, de difícil controle e podem ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, no qual ataques severos conduzem as plantas à morte. Em alguns casos, tem-se observado perda de toda a lavoura, com enorme prejuízo econômico, principalmente em plantios conduzidos em solos com má drenagem (TREMACOLDI, 2016).

De acordo com o tipo de fitopatógeno que atua infectando as raízes de mandioca, as podridões podem ser divididas em três grupos, sendo elas a podridão-mole, podridão-seca e podridão-negra (MASSOLA et al., 2016; MIURA; MONTEIRO, 1997; VILAS BOAS et al., 2017). Podridão-mole é caracterizada por apresentar escurecimento dos tecidos afetados com exsudação de líquido, odor fétido resultante da fermentação e alterações na cor, o que pode ser útil para distinguir os patógenos envolvidos. Também podem estar presentes estruturas dos agentes causais como oósporos, esporângios e clamidósporos (BANDYOPADHYAY et al., 2006; SHRESTHA et al., 2013). As principais espécies que causam podridão-mole estão inseridas nos gêneros *Phytophthora*, *Pythium*, e *Phytophthora* sp. (COCK et al., 2015; EMBRAPA, 2019; FIGUEIREDO; ALBUQUERQUE, 1970; POLTRONIERI et al., 1997).

A podridão-seca é representada tipicamente por estrias nas raízes e uma podridão de consistência seca, sendo representada por espécies de gênero de *Fusarium* (FIALHO; VIEIRA, 2011; OLIVEIRA et al., 2013). Esse tipo de podridão costuma ser notado em áreas menos sujeitas ao encharcamento, com menor precipitação, mas também pode ser observada nos meses de maior intensidade pluviométrica (TREMACOLDI, 2016). Já a podridão-negra tem como característica lesões internas secas e amareladas à acastanhadas que se tornam enegrecidas com o progresso da doença (BRITO et al., 2020). Os patógenos associados à podridão-negra são espécies de *Lasioidiplodia euphorbicola*, *L. hormozganensis*, *L. parva*, *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae* e *Neoscytalidium dimidiatum* (BARROS et al., 2014; BRITO et al., 2020; MACHADO et al., 2014; MUNIZ et al., 2006; SILVA et al., 2017; VILAS BOAS et al., 2017).

Além das podridões, a mandioca pode ser infectada ainda no campo por fungos oportunistas produtores de micotoxinas, que podem causar injúrias no produto durante o

armazenamento. Essa situação também pode ocasionar vários problemas de saúde quando a raiz é consumida (ADJOVI et al., 2015), devido aos metabólitos secundários liberados por esses organismos. Tais metabólitos são: aflatoxinas, fumonisinas, citrinina, patulina, ocratoxina A, entre outros (FRISVAD et al., 2019; MUNAWAR et al., 2019; VASANTHI; BHAT, 1998). Os principais gêneros produtores de micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* e *Fusarium*, (TANIWAKI et al., 2014).

3. Fungos endofíticos: conceito e interação com o hospedeiro

A biodiversidade de fungos no mundo foi estimada no ano de 2017: 2,2 a 3,8 milhões de espécies (HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017). Dentro dessa estimativa aproximadamente um milhão é descrita como fungo endofítico (AZEVEDO, 2018). Segundo Strobel et al (2004) em florestas tropicais e temperadas, existem em torno de 400.000 espécies de plantas, onde cada uma delas pode abrigar pelo menos três a seis espécies de endofíticos.

Os microrganismos que se encontram no hospedeiro como endofíticos englobam, principalmente, fungos e bactérias (AZEVEDO, 2014). No entanto, grande parte dos endofíticos são fungos que penetram no hospedeiro e não causam doença, ou seja, encontram presentes no interior das plantas durante todo ou, pelo menos, uma parte do seu ciclo de vida, sem causar prejuízos ou danos aparentes (DUTTA et al., 2014).

Os mecanismos de colonização dos tecidos vegetais por fungos endofíticos podem ocorrer por penetração direta de esporos, por fissuras ou aberturas naturais, disseminação por sementes e inoculação por insetos diretamente nas plantas, sendo os tipos de colonização caracterizadas por transmissão horizontal e vertical (ALY et al., 2011). Podem estar distribuídos por diferentes órgãos e tecidos das plantas, se associando a folhas, ramos, caules e raízes (FELBER et al., 2016).

Os fungos não apresentam uma distinção exata no que diz respeito à forma de fixação e inferência bioquímica no interior do hospedeiro entre a fase endofítica e patogênica. Entretanto, é sabido que, quando o fungo se encontra na fase endofítica, ao contrário da fase patogênica, não causam doenças aparentes em seus hospedeiros e desempenham as mais diversas relações ecológicas, podendo ser considerados mutualistas, comensalistas e patógenos latentes (BACON; WHITE, 2000; KOGEL et al 2006; SCHULTZ; BOYLE, 2005).

Os patógenos latentes ficam inseridos no interior das plantas podendo causar alterações na fisiologia do hospedeiro, assim desencadeando os sintomas da doença (ROMERO, 2001). Essas mudanças irão depender de alguns fatores ambientais, como estresse hídrico, umidade elevada, deficiência nutricional, interação fungo/hospedeiro, além das propriedades genéticas do hospedeiro (ALY et al., 2011; SAIKKONEN et al., 1998).

Os fungos endofíticos podem produzir metabólitos secundários que se assemelham com compostos produzidos pelas plantas. Tais metabólitos possuem propriedades bioativas, dessa forma, permitem que tenham grande potencial no desenvolvimento de antimicrobianos, que podem atuar no controle de pragas e de fitopatógenos (FERNANDES et al., 2009; MURPHY et al. 2018).

Vários metabólitos com propriedades importantes em fármacos podem ser produzidos por estes endófitos que variam de classes que incluem policetídeos, derivados de chiquimato e de isocumarina, compostos alifáticos, flavonóides, ácidos fenólicos, quinonas, tetralonas, xantonas, lactonas, lignanas, terpenóides, esteróides, alcalóides e peptídeos (BORGES et al., 2009; ZHANG et al., 2005; ZHANG et al., 2006). Além desses compostos produzidos pelos fungos endofíticos com potencial para o uso na agricultura (KAUL et al., 2012), estes fungos também são capazes de auxiliar na fixação de nitrogênio atmosférico, induzir a tolerância aos fatores abióticos, como, extremos de temperatura, deficiência nutricional, presença de metais pesados e elevar a resistência das plantas à seca (AFZAL et al., 2014; GROVER et al., 2011).

Baseado nas diferenças nas relações evolutivas, taxonômicas, interação com a planta hospedeira e funções ecológicas dos fungos endofíticos, Rodriguez et al, (2009), perceberam que os fungos endofíticos poderiam ser classificados em dois grupos de fungos: claviciptaceos (C-endofíticos), os quais são capazes de colonizar apenas algumas espécies de gramíneas; e fungos não claviciptaceos (NC-endofíticos), que são encontrados vivendo de forma assintomática em tecidos de plantas avasculares, vasculares sem sementes, gimnospermas e angiospermas.

Os C-endofíticos pertencem à família *Clavicipitaceae* (*Hypocreales*; *Ascomycota*), dos quais muitas espécies são capazes de produzir moléculas bioativas, principalmente entre os gêneros *Cordyceps*, *Balansia*, *Epichloë*, *Neotyphodium*, *Claviceps* e *Myriogenospora*. Em contraste, os NC-endofíticos formam um grupo maior, na qual, a maioria das espécies pertence aos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota*, representados por diferentes gêneros como *Alternaria*, *Arthrobotrys*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Coprinellus*,

Curvularia, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phoma*, entre outros (RODRIGUEZ et al., 2009).

Os fungos endofíticos estão sendo estudados corriqueiramente, tendo em vista a importância do seu papel no ecossistema. De acordo com Nair e Padmavathy (2014), os endofíticos possuem variados papéis e aplicações, tais como, fitoestimulação na captura de elementos essenciais para a planta hospedeira e produção de pigmentos, como exemplo, *Penicillium purpurogenum*, isolado de *Ginkgo biloba*, capaz de produzir grande quantidade de pigmentos vermelhos solúveis que podem ser usados como fonte natural de corante. Além disso, são importantes na produção de enzimas comerciais (lipases, amilases, proteases, peroxidases e celulases) e na produção de moléculas bioativas utilizadas pelas plantas na defesa contra patógenos. Possuem a habilidade de degradar compostos orgânicos incluindo celulose, lignina e hemicelulose; e atuam como eficientes agentes de controle biológico, estratégia alternativa para o controle químico (NAIR; PADMAVATHY, 2014).

Apesar dos diversos benefícios apresentados pelos fungos endofíticos, essa interação planta-endofítico na natureza vem sendo questionada principalmente quando se trata do equilíbrio antagônico e a relação simbiótica entre os dois (FAETH, 2002; KOGEL et al., 2006; SAIKKONEN et al., 2004; SCHULTZ; BOYLE, 2005; SELOSSE et al., 2004). Kusari et al. (2012) sugere que haja uma especificidade com o hospedeiro, então requer uma estreita adaptação entre a planta e o endófito, sugerindo assim, sugerindo uma influência mútua decorrente de uma coabitação e coevolução desenvolvida durante milhares de anos.

Neste contexto, os mecanismos de defesa da planta hospedeira estariam em equilíbrio com os fatores de virulência do fungo, existindo um balanço antagônico diante da interação. Surgindo, então, a hipótese de que os fungos endofíticos poderiam evitar a ativação do sistema de defesa das plantas, antes de serem inibidos pelos metabólitos secundários do hospedeiro, assim, garantindo sua sobrevivência no interior do hospedeiro sem causar manifestações visíveis de infecção ou doença (SCHULZ; BOYLE, 2005).

Porém, se os mecanismos de defesa da planta se contrapuserem completamente aos fatores de virulência do fungo, o último pode não resistir e morrer; ou ao contrário, se a planta sucumbir à virulência do fungo, a relação planta-endofítico pode levar a planta à doença, e neste caso, o fungo torna-se um fitopatógeno (KUSARI et al., 2012). Entretanto, o mecanismo oposto, pelo qual um fungo fitopatogênico poderia tornar-se endofítico ainda não

está elucidado, dessa forma, sendo importante estudar os fungos endofíticos para melhor compreensão dos seus aspectos biológicos, genéticos e ecológico.

Vários estudos têm demonstrado que os fungos fitopatogênicos podem sobreviver de forma latente nos órgãos do vegetal, ou seja, sem causar doença, entretanto, diante de estresse no hospedeiro, o endofítico pode se tornar patogênico (ALMEIDA et al., 2005; FERNANDES et al., 2015; GONZAGA et al., 2015; LEME et al., 2013; NAIK et al., 2009; VEGA et al., 2010). Dessa forma, esse estudo tem como objetivo verificar a diversidade e patogenicidade de espécies de fungos endofíticos isolados a partir de raízes sadias de mandioca em áreas de Pernambuco e o relacionamento filogenético com espécies relatadas como patógenos nessa cultura.

4. Referências bibliográficas

ADJOVI, Y. et al. Occurrence of mycotoxins in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its products. **International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health**, v. 5, p. 217-247, 2015

AFZAL, M.; KHAN, Q. M.; SESSITSCH, A. Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. **Chemosphere**, v. 17, p. 232-242, 2014.

AJAYI, C. O.; OLUTUMISE, A. I. Determinants of food security and technical efficiency os cassava farmers in Ondo State, Nigéria. **International Food and Agibusiness Management Review**, v. 21, n. 7, p. 915-928. 2018.

ALMEIDA, C.V.; YARA, R.; ALMEIDA, M. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada in vivo e in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 5, p. 467–470, 2005.

ALY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 90, n. 6, p. 1829–1845, 2011.

AZEVEDO, E., BARATA, M. Diversidade no reino Fungi e aplicações à Indústria. **Revista Ciência Elementar**. v. 6, n. 4, p. 077, 2018.

AZEVEDO, J. A. Endophytic Fungi from Brazilian Tropical Hosts and Their Biotechnological Applications. In: KHARWAR, R., UPADHYAY, R., DUBEY, N., RAGHUWANSHI, R. **Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security** (eds.), Springer India, 2014, p. 17-22.

BACON, C. C. W.; WHITE, J. F. Physiological adaptations in the evolution of endophytism in the *Clavicipitaceae*. In: BACON, C. J.; WHITE, J. F. (Ed.). **Microbial endophytes**. New York: Macel Dekker, 2000.

BANDYOPADHYAY, R.; MWANGI, M.; AIGBE, S. O.; LESLIE, J. F. *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. **Phytopathology**, v. 96, p. 673-676, 2006.

- BARROS, J. A.; MEDEIROS, E. V.; NOTARO, K. A.; MORAES, W. S.; SILVA, J. E. M.; NASCIMENTO, T. C.; MOREIRA, K. A. Different cover promote sandy soil suppressiveness to root rot disease of cassava caused by *Fusarium solani*. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v.8, n.10, p.967-973, 2014.
- BORGES, W. S.; BORGES, K. B.; BONATO, P. S.; SAID, S.; PUPOET, M. T. Endophytic Fungi: Natural Products, Enzymes and Biotransformation Reactions. **Current Organic Chemistry**. Vancouver, v. 13, n.12, p. 1137–1163, 2009.
- BRITO, A. G. Q. MELLO, J. F.; CÂMARA, M. P. S.; VIEIRA, J. C. B.; MICHEREFF, S. J.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MACHADO, A. R. 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.
- CARDOSO, C. E. L.; SOUZA, J. S. Aspectos econômicos. Circular Técnica, 37, Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2000.
- COCK, A. W. A. M.; LODHI, A. M.; RINTOUL, T. L.; BALA, K.; ROBIDEAU, G. P.; ABAD, Z. G.; COFFEY, M. D.; SHAHZAD, S.; LÉVESQUE, C. A.. *Phytophthium*: molecular phylogeny and systematics. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 34, p. 25-39, 2015.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Mandioca: análise mensal**. (dezembro, 2022) Brasília, DF. 2022. Acesso em 01 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-mandioca>.
- DUTTA, D.; PUZARI, K. C.; GOGOI, R.; DUTTA, P. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 57, n.5, p 621-629, 2014.
- EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. BOARI, A. J.; QUADROS, A. F. F.; CUNHA, E. F. M. **Podridão-mole da mandioca causada pelo *Phytophthium* sp.** Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. p. 1-5, 2019. (comunicado técnico 310).
- FAETH, S. H. Are endophytic fungi de fensive plant mutualists?. **Oikos**. v. 98, p. 25-36, 2002.
- FAO-Food and Agriculture Organization (2015). **Food outlook: Biannual report on global food markets**. Acesso em 10 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/news/story/en/item/335736/icode/>.
- FELBER, A. C. et al. Bioprospecting foliar endophytic fungi of *Vitis labrusca* Linnaeus, Bordô and Concord cv. **Annals of Microbiology**, v. 66, p.765–775, 2016.
- FERNANDES, E.G.; PEREIRA, O. L.; SILVA, C. C.; BENTO, C. B. P.; QUEIROZ, M. V. Diversity of endophytic fungi in *Glycine max*. **Microbiological Research**, v. 181, p. 84–92, 2015.
- FERNANDES, M. R. V. et al. Biological activities of the fermentation extract of the endophytic fungus: *Alternaria alternata* isolated from *Coffea arabica* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. São Paulo, v. 45, n. 4, p. 677-685, 2009.

- FERREIRA, C. F. et al. Molecular characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with yellow-orange roots for beta-carotene improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 08, n. 01, p. 23-29, 2008.
- FIGUEIREDO, M. M.; ALBUQUERQUE, F. C. de. Podridão mole das raízes da mandioca (*Manihot esculenta*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, n. 3, p. 389-393, 1970.
- FOKUNANG, C. N. AKEM, C.N.; DIXON, A.G.O.; IKOTUN, T. Evaluation of a cassava germplasm collection for reaction to three major diseases and the effect on yield. **Genetic Resources and Crop Evolution**. v. 47, p. 63-71, 2000.
- FRISVAD, J. C. et al. Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. **Studies in Mycology**. v.93, p.1-63, 2019
- FUKUDA, C. **Podridão das Raízes da Mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, Mandioca em Foco, 1991.
- GONZAGA, L. L.; COSTA, L. E.; SANTOS, T. T.; ARAÚJO, E. F.; QUEIROZ, M. V. Endophytic fungi from the genus *Colletotrichum* are abundant in the *Phaseolus vulgaris* and have high genetic diversity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 118, n. 2, p. 485-496, 2015.
- GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLUET, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stress. **World Journal of Microbiology Biotechnology**. v. 27, p. 1231-1240, 2011.
- HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. **Microbiology Spectrum**. v. 5, n. 4, 2017.
- IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. 2020. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Acesso em: 15 de outubro de 2021. Disponível em <https://sidra.bg.gov.br/pesquisa/spa/tabelas>.
- KAUL, S.; GUPTA, S.; AHMED, M.; DHARET, M. K. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n.4, p. 487-505, 2012.
- KOGEL, K. H.; FRANKEN, P.; HÜCKELHOVEN, R. Endophyte or parasite. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 9, p. 358-363, 2006.
- KUSARI, S.; HERTWECK, C.; SPITELLER, M. Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. **Chemistry & Biology**, v.19, n.7, p.792-798, 2012.
- LEME, A. C.; BEVILAQUA, M. R.; RHODEN, S. A.; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. F.; PAMPHILE, J. A. Molecular characterization of endophytes isolated from *Saccharum* spp based on esterase and ribosomal DNA (ITS1-5.8S-ITS2) analyses. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 4095-4105, 2013.
- LI, K. et al. Proteome characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) somatic embryos, plantlets and tuberous roots. **Proteome Science**. v. 8, p. 1-12, 2010.

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

MASOLA JUNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P. Doenças de mandioca. In: KIMAT, H. et al. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. Doenças de plantas cultivadas. Agronômica Ceres. v.2, 2005, p 399-455.

MASSOLA JUNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P.; OLIVEIRA, S. A. S. Doenças da mandioca In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. v. 2, 2016, p. 515-522.

MATTOS, P. L. P.; CARDOSO, E. M. R. **Cultivo da mandioca para o Estado do Pará**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Sistemas de produção, 13).

MATTOS, P. L. P.; GOMES, J. D. C.; FARIAS, A. R. N.; FUKUDA, C. Cultivo da mandioca nas regiões norte e nordeste do Brasil. **Agricultura: tuberosas amiláceas latinoamericanas**. São Paulo: Fundação Cargill, p. 448-504, 2002.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. Importância dos Patógenos e das Doenças Radiculares em Solos Tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T. PERUCH, L. A. M.; MENEZES, M (eds). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE. Imprensa Universitária. 2005, 398 p.

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

MSIKITA, W.; BISSANG, B.; JAMES, B. D.; BAIMEY, H.; WILKINSON, H. T.; AHOUNOU, M.; FAGBEMISSI, R. Prevalence and severity of *Nattrassia mangiferae* root and stem rot pathogen of cassava in Bénin. **Plant Disease**, v. 89, p. 12-16, 2005.

MUNAWAR, H.; KARIM, K.; PILETSKY, S. A. Utilization of synthetic antibody for fumonisin determination in feed and food. **Wartazoa**: v. 29, n. 2, p. 51-60, 2019.

MUNIZ, M. F. S.; ANDRADE, F. W. R.; QUEIROZ, F. M.; MOURA FILHO, G.; MENEZES, M. Caracterização de isolados de *Phytophthora drechsleri*, agente causal da podridão mole de raízes de mandioca. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31, p. 195-198, 2006.

MURPHY, B. R.; DOOHAN, F. M.; HODKINSON, T. R. From Concept to Commerce: Developing a Successful Fungal Endophyte Inoculant for Agricultural Crops. **Journal Fungi**. v. 4, p. 24, 2018.

NAIK, B.S.; SHASHIKALA, J.; KRISHNAMURTHY, Y. L. Study on the diversity of endophytic communities from rice (*Oryza sativa* L.) and their antagonistic activities in vitro. **Microbiological Research**, v. 164, n. 3, p. 290– 296, 2009.

NAIR, D. N.; PADMAVATHY, S. Impact of Endophytic Microorganisms on Plants. Environment and Humans. **The Scientific World Journal**. 2014.

- NOTARO, K. A.; MEDEIROS, E. V.; SILVA, C. A. D.; BARROS, J. A. Prospecção de fitopatógenos associados à podridão radicular da mandioca em pernambuco, Brasil. **Bioscience Journal**. Uberlândia, MG. v. 29, n. 5, p. 1832-1839, 2013.
- OLIVEIRA, E. J.; HOHENFELD, C. S.; SANTOS, V. S.; HADDAD, F. Resistance to *Fusarium* dry root rot disease in cassava accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.10, p.1414-1417, 2013.
- POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SILVA, H. M.; ALBUQUERQUE, F. C. de. Patógenos associados a podridão mole de raízes de mandioca no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 1, p.111. mar. 1997.
- PONCE, T. P.; RIBEIRO, M. R.; TELLES, T. S. Dinâmica espacial da produção de mandioca no Paraná, Brasil. **Revista franco-brasileira de geografia**, n. 48, dez. 2020.
- RODRIGUEZ, R. J.; WHITE JR, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R. S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**. p. 1469-8137, 2009.
- ROMERO, A.; CARRIÓN, G.; RICO-GRAY, V. Fungal latent pathogens and endophytes from leaves of *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae). **Fungal Diversity**. Chiang Mai, v. 7, p. 81-87, 2001.
- SAIKKONEN, K.; FAETH, S. H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T. J. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 29, p. 319-343, 1998.
- SAIKKONEN, K.; WÄLI, P.; HELANDER, M.; FAETH, S. H. Evolution of endophyte-plant symbioses. **Trends Plant Science**. v. 9, n. 6, p. 275-280, 2004.
- SARAVANAN, R.; RAVI, V.; STEPHEN, R.; THAJUDHIN, S.; GEORGE, J. Post-harvest physiological deterioration of cassava (*Manihot esculenta*) – A review. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. v. 86, n. 11, p. 1383 – 1390, 2016.
- SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycological Research**. v. 109, p. 661-686, 2005.
- SELOSSE, M. A.; BAUDOIN, E.; VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes Rendus Biologies**. v. 327, p. 639 648, 2004.
- SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 4, p. 327-328, 2009.
- SHRESTHA, S.K.; ZHOU, Y., LAMOUR, K.H. Oomycetes baited from streams in Tennessee 2010–2012. **Mycologia**. n. 105, v. 6, p.23-1516, 2013.
- SILVA, J. A. T.; MEDEIROS, E. V.; SILVA, J. M.; TENÓRIO, D. D. A.; MOREIRA, K. A.; NASCIMENTO, T. C. E. D. S.; SOUZA-MOTTA, C. Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. Against *Scytalidium lignicola* CMM 1098 and antioxidant enzymatic activity in cassava. **Phytoparasitica**, Rehovotv, v. 45, n. 2, p. 219-225, 2017.

SOUZA, E.; SILVA, M.; SILVA, S. A cadeia produtiva da mandiocultura no vale do Jequitinhonha (MG): Uma análise dos aspectos sócio produtivos, culturais e da geração de renda para a Agricultura familiar. **Revista: ISEGORIA**, Ação Coletiva em Revista. Ano 1, vol. 1, n. 2, set. de 2011/fev. de 2012.

SOUZA, L. D. et al. **O cultivo da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 2000, p. 11-13. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Circular Técnica, 37).

STROBEL, G.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**. v. 67, p. 257-268, 2004.

TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T.; SILVA, N. Fungos Deterioradores de Alimentos: Ocorrência e Detecção. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2014.

TONUKARI, N.J. Cassava and the future of starch. **Biotechnology Issues for Developing Countries**. v. 7, p. 5-8, 2004.

TREMACOLDI, C. R. Manejo das principais doenças da cultura da mandioca no Estado do Pará. In: MODESTO JÚNIOR, M. S.; ALVES, R. N. B. (Ed.). **Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria**. Brasília, DF: Embrapa Amazônia Oriental, 2016. p. 162-170.

VASANTHI, S.; BHAT, R. V. Mycotoxins in foods-occurrence, health and economic significance and food control measures. **Indian Journal of Medical Research**. 108 pp. 212-224. 1998

VEGA, F.E. et al. Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawai'i, Mexico and Puerto Rico. **Fungal ecology**, v. 1, n. 3, p. 122-138, 2010.

VENTURINI, M. T. SANTOS, V. S.; OLIVEIRA, E. J. Procedures for evaluating the tolerance of cassava genotypes to postharvest physiological deterioration. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 7, p. 562-570, 2015.

VIDAL, A. M.; F. V. D. Souza; M. A. P. C. Costa; A. S. Souza. Micropropagação de variedades de mandioca cultivadas no Nordeste. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**. v. 5, n. 1, p. 479-483, 2009.

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

VILAS-BOAS, S.A. HOHENFELD, C. S.; OLIVEIRA, S. A. D.; SANTOS, V. S.; OLIVEIRA, E. J. Sources of resistance to cassava root rot caused by *Fusarium* spp.: a genotypic approach. **Euphytica**. v. 209 p. 237-251, 2016.

WHEELER, T.; RUSH, C. M. Soil inhabitant. In: MALOY, O. C.; MURRAY, T. D. (Eds.) **Encyclopedia of plant pathology**. New York: John Wiley & Sons, 2001. p. 933-934.

ZHANG, H. W.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. Biology and chemistry of endophytes. **Natural Products Reports**. v. 23, n. 5, p. 753-771, 2006.

ZHANG, L. et al. Exploring novel bioactive compounds from marine microbes. **Current Opinion in Microbiology**. New York, v. 8, n. 3, p. 276–281, 2005.

CAPÍTULO II

Filogenia e patogenicidade de fungos endofíticos associados à raízes de mandioca em Pernambuco

FILOGENIA E PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À RAÍZES DE MANDIOCA EM PERNAMBUCO

José Vitorino da Silva Neto¹; Amanda Cupertino de Queiroz Brito², Juliana Ferreira de Mello³, Ana Elisa de Almeida Souza⁴, Cristina Maria de Souza-Motta⁵, André Ângelo Medeiros Gomes⁶, Alexandre Reis Machado⁷.

Universidade Federal Rural de Pernambuco^{1,6}, Universidade Federal de Pernambuco^{2,3,4,5,7}. Recife, Pernambuco, Brasil.

netovitorino07@gmail.com¹, amandabrito522@gmail.com², julianafdemello@hotmail.com³,

anaelisasouza11@gmail.com⁴, cristina.motta@ufpe.br⁵, andreangelomg@gmail.com⁶

alexandrerm.agro@yahoo.com.br⁷.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi investigar a diversidade e avaliar a patogenicidade de espécies de fungos endofíticos associados à raízes sadias de mandioca cultivadas em áreas no estado de Pernambuco. As coletas foram realizadas em 12 áreas e foram encaminhadas ao Laboratório de Micologia Ambiental do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram realizados os isolamentos dos fungos endofíticos. As identificações dos fungos foram baseadas em estudos morfológicos e análises moleculares. Os fungos já relatados como causadores de doenças e podridões pós-colheita foram selecionados para análises filogenéticas e teste de patogenicidade. Foram identificados 78 isolados de fungos endofíticos pertencentes a 21 gêneros. Dentre eles, estão os gêneros *Neocosmospora*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*. Dois isolados de uma possível nova espécie de *Aspergillus* foram encontrados (*Aspergillus* sp. 1 ARM 1078 e *Aspergillus* sp. 2 ARM 1082) formando um clado próximo de *Aspergillus iranicus*. No teste de patogenicidade todos os isolados avaliados, com exceção de *Aspergillus* sp. 2 ARM 1078 e o controle, formaram lesões em raízes de mandioca, porém, apenas os isolados *Neocosmospora falciforme* ARM 1104, *Talaromyces lentulus* ARM 1083 e *Aspergillus tabacinus* ARM 1094 diferiram significativamente do controle quanto ao tamanho de lesão causada. Diante dos resultados obtidos nesse estudo foi possível verificar a relação entre isolados endofíticos e patogênicos em raízes de mandioca em áreas no estado de Pernambuco, podendo assim concluir que espécies já relatadas como fitopatogênicas podem ser encontrados em raízes assintomáticas.

Palavras-chaves: Patógenos latentes, pós-colheita, *Manihot esculenta*.

Abstract:

The objective of the present study was to investigate the diversity and evaluate the pathogenicity of endophytic fungal species associated with healthy cassava roots cultivated in areas in the state of Pernambuco. The collections were carried out in 12 areas and were sent to the Laboratório de Micologia Ambiental of the Departamento of Micologia of the Universidade Federal of Pernambuco, where the endophytic fungi were isolated. Fungal identifications were based on morphological studies and molecular analyses. Fungi already reported to cause disease and postharvest rot were selected for phylogenetic analysis and pathogenicity testing. A total of 78 endophytic fungal isolates belonging to 21 genera were

identified. Among them are the genera *Neocosmospora*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* and *Talaromyces*. Two isolates of a possible new species of *Aspergillus* were found (*Aspergillus* sp. 1 ARM 1078 and *Aspergillus* sp. 2 ARM 1082) forming a clade close to *Aspergillus iranicus*. In the pathogenicity test, all isolates evaluated, with the exception of *Aspergillus* sp. 2 ARM 1078 and the control formed lesions on cassava roots, however, only the isolates *Neocosmospora falciforme* ARM 1104, *Talaromyces lentulus* ARM 1083 and *Aspergillus tabacinus* ARM 1094 differed significantly from the control in terms of the size of the lesion caused. In view of the results obtained in this study, it was possible to verify the relationship between endophytic and pathogenic isolates in cassava roots in areas in the state of Pernambuco, thus being able to conclude that species already reported as phytopathogenic can be found in asymptomatic roots.

Keywords: Latent pathogens, postharvest, *Manihot esculenta*.

1. Introdução

Manihot esculenta Crantz (*Euphorbiaceae*) é uma espécie popularmente conhecida no Brasil como mandioca, macaxeira ou aipim. Tem como característica ser uma planta arbustiva que exibe um sistema radicular rico em amido, representando uma fonte essencial de carboidratos para mais de 800 milhões de pessoas, sobretudo nas regiões mais carentes do mundo (Burns et al. 2010).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), a produção de mandioca no mundo tem apresentado crescimento contínuo. Para o ano de 2019, no mundo foi registrado uma área ocupada com mandioca de 27.520 mil hectares, tendo produção de 303.569 mil toneladas e a produtividade média de 11.030 kg/ha (FAO, 2019). A produção brasileira para produção de raiz de mandioca estimada para 2022, foi de 18,23 milhões de toneladas, colhidas em uma área de 1,23 milhão de hectares (CONAB, 2022). Em termos de produção nacional, a região Nordeste ocupa a vice-liderança com produção de quatro milhões de toneladas de mandioca, com o estado de Pernambuco encontrando-se entre os principais produtores da região (IBGE, 2020).

Existem diversos problemas associados ao cultivo de mandioca, como o emprego de baixo nível tecnológico, as conexões frágeis com o mercado e as perdas sofridas durante a pós-colheita. Entre os desafios no cultivo de mandioca, destacam-se as doenças, que podem provocar a redução ou até a perda total da produção (Oliveira & Fiorine, 2006). Diversas doenças incidem nesta cultura e, embora as podridões de raízes estejam entre as menos

estudadas, estas vêm se tornando, cada vez mais, um fator limitante na produção (Serra et al., 2009).

As podridões radiculares em mandioca podem ser causadas por diferentes agentes etiológicos, principalmente fungos e oomicetos, limitando a produtividade no campo e afetando a qualidade dos produtos após a colheita (Brito et al., 2020; Muniz et al., 2006; Vilas Boas et al., 2017). Dentre esses agentes, podemos destacar os fungos devido à sua alta incidência e dificuldade de controle, uma vez que muitos produzem estruturas de sobrevivência no solo ou sobrevivem por longos períodos como sapróbios facultativos em restos de cultura (Michereff et al., 2005).

Várias espécies de fungos conhecidos como patógenos de plantas, também podem sobreviver como endófitos, pode-se dizer que o fungo “está endofítico”, determinando uma parte de seu ciclo de vida no interior do hospedeiro, mas em condições de estresse do hospedeiro, tais como pressão biológica de pragas, agentes patogênicos e estresses abióticos, estes podem atuar como patógenos oportunistas. Este comportamento representa um grande risco em termos quarentenários, uma vez que possibilita a disseminação de patógenos para outras áreas através do trânsito de material vegetal aparentemente sadio (Gorzynska et al., 2019; Sessa et al., 2018; Slippers & Wingfield, 2007). Além disso, no caso da mandioca, especula-se que as raízes podem ser colhidas aparentemente sadias (sem a presença de sintomas), mas já colonizadas por fungos patogênicos (patógenos latentes), e ocorrer o desenvolvimento de sintomas durante as etapas de pós-colheita. Entretanto, são poucos os estudos publicados até o momento demonstrando que os fungos causadores de podridões radiculares em mandioca podem sobreviver como endofíticos em raízes assintomáticas.

Recentemente, Li et al. (2020) demonstraram em um estudo de diversidade de fungos e bactérias endofíticos em raízes de mandioca na China que o gênero *Lasiodiplodia* foi um dos mais frequentes nas amostras, seguidos de *Fusarium* e *Diaporthe*, porém, não testaram a patogenicidade. Dessa forma, a hipótese levantada neste trabalho é que os fungos isolados como endofíticos nas raízes de mandioca, podem causar podridão radicular na mandioca, principalmente, na pós-colheita.

Considerando a importância da mandioca no Brasil e a ausência de estudos relacionados à ecologia e diversidade de fungos causadores das podridões de raízes nessa cultura, esse estudo tem como objetivo verificar a diversidade de fungos endofíticos de raízes de mandioca

em áreas do estado de Pernambuco, além de investigar o relacionamento filogenético com espécies fitopatogênicas já relatadas nessa cultura.

2. Material e Métodos

2.1. Coleta de amostras e isolamento dos fungos endofíticos

O total de 60 raízes aparentemente sadias de mandioca foram coletadas em 12 áreas cultivadas nas regiões da Zona da Mata (Chã Grande, Primavera e Condado), no Agreste (São João e Garanhuns) e no Sertão (Araripina) no estado de Pernambuco. Em cada área foram coletadas cinco amostras, sendo cada amostra representada por uma raiz. As raízes foram encaminhadas ao Laboratório de Micologia Ambiental do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram realizados os isolamentos dos fungos endofíticos de acordo com Pavlic et al. (2004).

Em cada amostra foram retirados cinco fragmentos de diferentes partes dentro das raízes de mandioca, tais como, extremidade final (EF), extremidade da base (EB), parte interna (PI) e na superfície, logo abaixo da casca (S), totalizando vinte fragmentos por amostra. Cada fragmento possuía 1 cm × 1 cm × 1 cm. Em seguida foram utilizados para os isolamentos. Os fragmentos foram levados para câmara de fluxo para assepsia. Os mesmos foram mergulhados em álcool 70% por 1min, hipoclorito de sódio 1% por 1min, álcool 70% por 30s, água destilada esterilizada por 1min e colocados no papel filtro para secar. Após a secagem dos fragmentos, estes foram colocados em placas de Petri com meio de cultura contendo Batata-Dextrose-Ágar (BDA) + Clorofenicol (0,05g/L). Após o crescimento das colônias dos fungos, estas foram repicadas para placas de Petri contendo meio BDA + Clorofenicol (0,05g/L).

O armazenamento das culturas foi realizado pelo método de Castellani (1967). Os isolados foram armazenados na coleção ARM no Laboratório de Micologia Ambiental do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco.

2.2. Estudo taxonômico (Morfológico)

A identificação dos fungos foi baseada no estudo da morfologia em caracteres macroscópicos (colônia dos fungos) e microscópicos (estruturas vegetativas e reprodutivas), posteriormente com as análises filogenéticas de sequências de DNA. Inicialmente os isolados foram purificados em ponta de hifa, em seguida, selecionou-se morfotipos de colônia para montagem de lâminas. As lâminas foram montadas em lactoglicerol para visualização em microscópio de luz. Com o auxílio de chaves dicotômicas (Seifert et al., 2011) foram feitas as

142 identificações dos fungos a nível de gênero, assim sendo confirmado os resultados nas
143 análises moleculares.

144 Realizando pesquisas no Fungal Database, selecionaram-se os isolados endofíticos dos
145 gêneros fúngicos conhecidos por causarem podridões radiculares ou já relatados associados à
146 mandioca para os estudos filogenéticos e testes de patogenicidade, tais gêneros foram
147 *Neocosmospora*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*.

148 **2.3. Extração de DNA, sequenciamento e estudos filogenéticos**

149 Para análise molecular os isolados foram cultivados em BDA (25 °C; 7 dias). Os
150 procedimentos para isolamento do DNA genômico foram realizados utilizando o Kit de
151 purificação de DNA genômico da Promega (Wizard Genomic DNA Purification Kit)
152 conforme o protocolo descrito pelo fabricante para extração de DNA de plantas.

153 A seleção dos primers e as reações de PCR foram realizadas de acordo com os trabalhos
154 mais recentes sobre os gêneros fúngicos encontrados. Para amplificação das regiões
155 espaçadores transcritos internos (ITS), amplificação de grande subunidade rDNA (LSU), fator
156 de alongamento de tradução 1- α região do gene (TEF 1- α), segunda maior subunidade da
157 RNA polimerase (RPB2) e beta-tubulina (BenA), foram usados os seguintes primers, ITS1 e
158 ITS4 (White et al., 1990), LR0R e LR5 (Vilgalys & Hester, 1990), Ef1 e Ef2 (O'donnell et
159 al., 1998), 5F2 e 7cR (O'donnell et al., 2008), e Bt2a e Bt2b (Glass & Donaldson, 1995),
160 respectivamente. Em seguida, realizou-se alguns passos para as condições do ciclo para
161 amplificação das regiões gênicas específicas, que consistiram na desnaturação inicial, ciclos
162 de desnaturação, anelamento e alongamento, em seguida extensão final, tendo variação de
163 temperatura a depender da região gênica e do gênero (Tabela 1).

164 Os produtos da PCR foram analisados em eletroforese em gel de agarose a 2% corado
165 com GelRed TM em tampão Tris-acetato EDTA (TAE 1%) e visualizados sob luz UV para
166 verificar a pureza e o tamanho dos fragmentos amplificados. Em seguida, tais produtos foram
167 purificados utilizando a enzima Exo Sap (Cellco) e sequenciados na Plataforma de
168 Sequenciamento do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (Recife,
169 Brasil).

170 As sequências de nucleotídeos foram analisadas e editadas com o software Mega 7
171 (Kumar et al., 2015). Para as análises filogenéticas as novas sequências foram adicionadas ao
172 conjunto de sequências obtidas no GenBank e alinhadas usando o MUSCLE® (Edgar, 2004)

no programa MEGA v. 7 (Kumar et al., 2015). As análises de Inferência Bayesiana (IB) foram efetuadas aplicando o método da cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC). Os modelos de substituição de nucleotídeos foram selecionados através do MrMODELTEST 2.3 (Posada & Buckley, 2004), sendo estimados separadamente para cada região gênica de acordo com Akaike Information Criterion (AIC) (Tabela 2).

As análises de IB foram concluídas no Cipres (Miller et al., 2010), adicionando no sistema o modelo de substituição e 10000000 de gerações com uma árvore amostrada a cada 1000 gerações, resultando em 10000 árvores. As primeiras 2500 árvores com menores valores de probabilidade foram descartadas da análise e os valores de probabilidade posterior (Rannala & Yang, 1996) foram determinados da árvore consenso através das 7500 árvores remanescentes. Para as filogenias concatenadas, um conjunto de dados particionado das regiões foi utilizado para cada grupo de fungos encontrados. Para o gênero *Neocosmospora* foram concatenadas as regiões TEF- α e RPB2. Para *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces* foram concatenadas com as regiões ITS e BenA. Assim como, para *Acremonium* foram concatenadas as regiões ITS e LSU. As árvores filogenéticas resultantes foram visualizadas no software FigTree (Rambaut, 2009).

2.4. Teste de patogenicidade

Para o teste de patogenicidade foram utilizadas quatro raízes sadias de mandioca, variedade Santo Estevão, para cada tratamento. As raízes tinham aproximadamente 15 cm de comprimento e foram previamente desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por 5 min, em seguida, imersão em água destilada esterilizada por 5 min. Após secar, as mesmas foram levemente feridas na região central, onde foi depositado um grão de arroz com micélio (inóculo), obtidos a partir de 15 dias de crescimento em frasco de Erlenmeyer com 50g de arroz e água destilada devidamente autoclavado (Claudino & Soares, 2014).

Pelo menos um isolado representativo de cada espécie encontrada, conhecidas por causarem podridões radiculares em mandioca e aqueles produtores de micotoxinas, foram utilizados no teste. Após esse período, foi avaliada a presença ou ausência de sintomas e estes foram mensurados (medição do comprimento e largura da lesão) para comparação de agressividade. A medição do comprimento foi realizada na maior porção da lesão, apresentada do ponto de inoculação em direção da parte interna da raiz. Já a medição da largura foi realizada na maior porção da lesão, apresentada em paralelo as pontas da raiz.

As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa R.

3. Resultados

3.1. Coleta de amostras e isolamento dos fungos endofíticos

No total foram obtidos 78 isolados endofíticos pertencentes a 21 gêneros (Fig. 1). Os isolados foram separados com base no gênero definido pela pesquisa BLAST no banco de dados Gen-Bank e análises filogenéticas. Os gêneros com maior número de isolados nas três regiões analisadas foram *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*. A Zona da Mata foi a região com maior número de isolados obtidos, e os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* relatados com maior frequência, chegando a 20 e 11 isolados, respectivamente, representando quase 40% dos isolados obtidos no estudo. Na região do Sertão, os fungos com maior número de isolados foi o do grupo *Coniochaeta*, onde foram obtidos quatro isolados desse gênero. A região do Agreste foi a que apresentou o menor número de isolados por gênero, apenas quatro isolados no total (Fig. 2).

3.2. Estudos filogenéticos

Os isolados obtidos foram comparados com sequências disponíveis no GenBank (Tabela 3) por meio da análise de Inferência Bayesiana. As regiões gênicas escolhidas para inferências filogenéticas foram ITS e BenA, para os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*. ITS e LSU para o gênero de *Acremonium*, e TEF 1- α e RPB2 para *Neocosmospora*. A seleção dos gêneros para as análises filogenéticas foi baseada no Fungal Database com o critério de seleção de gêneros que já foram relatados associados a podridões radiculares na mandioca e aqueles com potencial produtores de micotoxinas.

Com base nas análises filogenéticas para identificação de isolado pertencente ao gênero *Neocosmospora*, o isolado ARM 1104 se agrupou com *N. falciformis* com alto suporte de probabilidade posterior (pp=0.98) e tem relação filogenética com *N. ampla* (fig. 3). No complexo de *Acremonium* o isolado ARM 1136 se agrupou com *A. pinkertoniae* (pp=1), no qual formou-se um clado bem suportado com *A. borodinense* (pp=1) (figura 4).

Na análise filogenética do gênero *Talaromyces*, na seção *Talaromyces* observa-se que os isolados ARM 1122, ARM 1126 e ARM 1130 formaram um clado separado da espécie

mais próxima, *T. pinophilus*, com 100% de probabilidade posterior (fig. 5). O isolado ARM 1083 agrupou com *T. lentulus* com suporte alto (pp=1). Ainda na mesma seção, o isolado ARM 1115 foi identificado como *T. rapidus* devido ao alto suporte no ramo (pp=1). Na seção *Trachyspermi*, os isolados ARM 1095, ARM 1080, ARM 1142 e ARM 1143 formam um clado bem suportado (pp=1) com a espécie *T. trachyspermus*.

Na identificação dos isolados pertencentes ao gênero *Penicillium*, as duas seções foram analisadas separadamente, pois estavam formando clados com ramos muito distantes, assim, para melhor visualização e organização do alinhamento, as árvores foram geradas separadas. Na seção *Sclerotiorum*, o isolado ARM 1187 se agrupou com *P. limae* (pp=0.98) e formou clado com alto valor de suporte com *A. restingae* (fig. 6). Na seção *Lanata-divaricata* (fig. 7), observa-se clados com alto suporte próximo a espécie *P. raperi*, formados pelos isolados ARM 1103, ARM1088, ARM1105, e outro clado com ARM1111 e ARM1112.

Na análise filogenética do gênero *Aspergillus*, na seção *Aspergillus* os isolados ARM 1098 e ARM 1107 se agruparam com a espécie *A. chevalieri* com alto suporte (pp=1) (fig. 8). Já na seção *Terrei*, os isolados ARM 1078 e 1082 separaram com alto valor de suporte das espécies próximas no clado (pp=1), sugerindo possivelmente uma espécie nova nessa seção. Na seção *Usti*, o isolado ARM 1185 formou um clado com alto suporte com a espécie *A. germanicus* (pp=0.94). Na seção *Nidulantes*, o isolado ARM 1094 agrupou com a espécie *A. tabacinus* e separou com alto suporte da espécie *A. griseoaurantiacus* (pp=0.96).

3.3. Teste de patogenicidade

No teste de patogenicidade, sete dias após inoculação, observou-se que todos os isolados testados com exceção do *Aspergillus* sp. ARM 1078 e a testemunha, produziram lesões nas raízes. Entretanto, diante das análises estatísticas, com relação ao comprimento da lesão, apenas os isolados *Neocosmospora falciformis* ARM 1104, *Talaromyces pinophilus* ARM 1122, *T. trachyspermus* ARM 1143, *T. lentulus* ARM 1083, *Aspergillus chevalieri* ARM 1107, *A. tabacinus* ARM 1094, *Penicillium raperi* ARM 1088 e *P. limae* ARM 1187 diferiram da testemunha (Tabela 4). Assim como, quando se avaliou a largura da lesão, os isolados *N. falciforme* ARM 1104, *T. trachyspermus* ARM 1143, *T. lentulus* ARM 1083, *P. raperi* ARM 1088, *P. limae* ARM 1187, *A. chevalieri* ARM 1107 e *A. tabacinus* ARM 1094 diferiram estatisticamente quando comparados com a testemunha.

No isolado de *N. falciforme* ARM 1104 a colonização do tecido na polpa apresentou crescimento uniforme nos sentidos laterais e em profundidade, resultando em lesões de forma arredondada e com coloração acastanhadas desenvolvidas a partir do ponto de inoculação observado neste trabalho (fig. 9b). Já o *Acremonium* formou lesões em forma de “V”, com coloração esbranquiçada e com bordas enegrecidas (fig. 9c).

Os isolados *N. falciforme* ARM 1104, *T. lentulus* ARM 1083 e *A. tabacinus* ARM 1094, apresentaram maiores valores de lesão (comprimento e largura), sendo superiores a 0,80 cm em ambas as variáveis avaliadas, se mostrando isolados mais agressivos.

4. Discussão

A cultura da mandioca tem enfrentado problemas com podridões radiculares causadas por patógenos importantes como *Fusarium solani* (*Neocosmospora solani*), *Macrophomina phaseolina*, *Neoscytalidium dimidiatum* entre outros. Apesar de causar danos significativos na produção, as podridões radiculares não têm recebido a devida atenção, pelo fato dos sintomas primários estarem confinados abaixo do solo, assim dificultando a visualização e controle da doença. Além disso, é notório que muitos desses fitopatógenos conhecidos por causar podridões, podem sobreviver como endófitos em diversos hospedeiros (Fernandes et al., 2015; Leme et al., 2013), inclusive na mandioca (Hartanti et al., 2021).

A depender de alguns fatores ambientais ou genéticos, esses fitopatógenos na fase endofítica podem desencadear uma pressão de sobrevivência e, assim, podem lançar de estratégias para vencer as barreiras de defesa do hospedeiro, com isso, podem se tornar patogênicos (Aly et al., 2011; Kusari et al., 2012). Assim como relatado nesse estudo, foram isolados em raízes sadias de mandioca, fungos previamente conhecidos como patógenos ou que já foram relatados associados a raízes de mandioca causando podridões e doenças pós-colheita.

Entre os isolados identificados a nível de espécie nesse trabalho, observou-se a presença de espécies fúngicas que já foram relacionados a podridões radiculares, doenças de pós-colheita e associados a raízes de mandioca, e estão agrupados nos gêneros de *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces*, *Neocosmospora* e *Acremonium*. Ono et al., (2023), avaliando a comunidade fúngica em raízes de mandioca no estado de São Paulo, no qual, os gêneros predominantes foram *Fusarium* spp. (55,56%), *Trichoderma* spp. (51,82%) e *Penicillium* spp. (48,15%). Outros grupos frequentes foram *Geotrichum* spp. (29,63 %), *Mucor* spp. (22,22%)

e *Aspergillus* spp. (22,22%). Destacando alguns gêneros que obtivemos nesse estudo como *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*. O gênero *Fusarium* spp. têm sido relatado como o principal grupo responsável por causar podridões radiculares na mandioca (Bandyopadhyay et al., 2006).

O complexo de espécies antes chamado de *Fusarium solani*, recentemente, foi revisado e separado formando um novo gênero de *Neocosmospora* (Crous et al., 2021). As análises moleculares para *Neocosmospora* no presente estudo foram baseados nas regiões TEF 1- α e RPB2, e o isolado ARM 1104 foi identificado como *N. falciformes*, pareados a observações morfológicas. Kim et al. (2017) obtiveram um isolado endofítico do gênero *Neocosmospora*, obtido de raízes saudáveis de alcaçuz chinês (*Glycyrrhiza uralensis*). na Ásia. Assim como, Hartanti et al. (2021) avaliaram a diversidade de fungos endofíticos de raízes de mandioca na Indonésia, observaram isolados de *Neocosmospora falciformis* e *Fusarium oxysporum*, porém no estudo foram identificados apenas os gêneros pela região ITS e não foi avaliada a patogenicidade.

Em contrapartida é evidente a ocorrência de *N. falciformis* causando podridões em vários hospedeiros como em mudas de tomatillo (*Physalis ixocarpa*) no México (Ayala-Armenta et al., 2020), podridão de raiz e caule em mamão na Índia (Gupta et al., 2019), podridão em porta-enxertos de Pistachio na Califórnia (Crespo et al., 2019), e podridão de cactáceas no Irã (Kamali-Sarvestani et al., 2022). Inclusive na cultura da mandioca no Brasil (Mendes et al., 1998). No estudo de Vilas Boas et al., (2017), verificando fungos associados a podridões radiculares na mandioca em diferentes regiões do Brasil (Bahia, Sergipe, Paraíba, Maranhão, Tocantins e Paraná), os autores observaram que as espécies mais frequentes foram do gênero *Fusarium* (56), seguido por *Lasiodyplodia* (8), *Neoscytalidium* (6) e Complexo *Diaporthe* (2), *Phytophthora* e *Corallomycetella* (1). Dos 56 isolados de *Fusarium* encontrados 24 eram do complexo *Fusarium solani* (*Neocosmospora*).

Penicillium, *Aspergillus* e *Talaromyces* foram os gêneros mais frequentemente isolados, isso pode ser explicado pelo fato de que esses gêneros se encontram com abundância no solo (Barbosa et al., 2020; Silva, 2020; Silva et al., 2021), e os mesmos têm diversas relações com o hospedeiro, como estimular produção de hormônios vegetativos, solubilização de fosfato inorgânico, onde mesmo em condições de estresse, favorece a assimilação de nutrientes (Bilal et al., 2018; Gómez-Muñoz et al., 2018; Lubna et al., 2018). Além disso, são conhecidos por serem fungos produtores de metabólitos secundários, neste caso como isolados endofíticos,

podem atuar na defesa da planta contra fitopatógenos (Frisvad, 2008; Rojas et al., 2020). Por outro lado, por produzirem micotoxinas, são importantes causadores de doenças e podridões de pós-colheita, e perdas de qualidade durante o armazenamento ou comercialização (Gagiú et al., 2018; Ono et al., 2021). Como observado nesse estudo, mesmo não tendo diferença significativa dos isolados quando comparados com a testemunha, os isolados desses gêneros formaram lesões em raízes de mandioca, sugerindo então que podem se comportar como patógenos oportunistas e causarem doenças de pós-colheita nessa cultura.

Em nossos estudos, encontramos dois isolados de uma possível espécie nova no gênero *Aspergillus*, seção *Terrei*, são *Aspergillus* sp. 1 ARM 1078 e *Aspergillus* sp. 2 ARM 1082. Estes isolados encontrados são filogeneticamente basais para *A. carneus*, *A. niveus*, *A. allahabadii*, *A. neoindicus* e *A. iranicus*. Tendo como ancestral o *A. iranicus* que tem micélio de coloração branca e a cor conidial em massa é em tons de amarelo (Arzanlou et al., 2016). A *A. iranicus* foi descrita como nova espécie nesta seção de solos hipersalinos da bacia do Lago Urmia. Assim, faz-se necessário mais investigações para a proposição desses isolados como uma nova espécie.

O gênero *Acremonium* é comumente encontrado como endofítico em diversos hospedeiros (Bezerra et al., 2012; Khan et al., 2021; Parsa et al., 2016; Potshangbam et al., 2017; Romão-Dumaresq et al., 2016), inclusive na mandioca, como relatado no presente estudo. A maioria das espécies desse gênero são encontradas como micoparasitas (Choi et al., 2009; Kim et al., 2002; Rivera-Varas et al., 2007; Singh et al. 2017). Porém, não sendo frequente observado como patógeno, Xu et al (2015) observaram *Acremonium cucurbitacearum* causando colapso do melão, doença, na qual, foi observado que as raízes primárias e secundárias tinham poucas raízes fibrosas finas, exibiam muitas lesões necróticas marrom-claras e as junções de raízes e caules eram cortiças e necróticas. Em pesquisas no *Fungal Database* encontramos o relato da espécie de *Acremonium roseolum* associada a plantas de mandioca (Mendes, 1998). Assim como observado nesse estudo, o isolado de *Acremonium* formou lesões em raízes de mandioca, podendo configurar um problema na pós-colheita.

No teste de patogenicidade observou-se uma grande variação nos resultados expressos nas lesões, visto que, foram avaliados vários gêneros, e consequentemente, obtiveram a ausência de um padrão de sintomas, entretanto, observou-se que com exceção da *Aspergillus* sp. ARM 1078, todas as espécies avaliadas causaram lesão em raízes de mandioca. Quando

avaliamos a patogenicidade de *Neocosmospora* percebe-se as lesões formadas são características no início da doença da podridão seca na mandioca causada pelo complexo *Neocosmospora*, lesões arredondadas de coloração acastanhada. Os demais isolados apesar de ter causado lesões na mandioca, ainda não foram relatados frequentemente como causadores de doenças na cultura. Porém, alguns isolados testados nesse estudo tem como características serem produtores de micotoxina, com isso, são encontrados causando danos na pós-colheita os principais são *Penicillium*, *Aspergillus* e *Talaromyces* (Taniwaki et al., 2014).

Além dos gêneros apresentados acima, outros gêneros encontrados nesse estudo já foram relatados como fungos endofíticos, entre eles estão, *Coniochaeta* (Gonçalves et al., 2013), *Arcopilus* (Dwibedi & Saxena, 2018), *Chaetomium* (Arumugam et al., 2022), *Xylaria* (Richardson et al., 2014), *Preussia* (Thomas et al., 2016), *Microascus* (Jalili et al., 2020), *Purpureocillium* (Herrera et al., 2022), *Acrocalymma* (He et al., 2019), *Dichotomopilus* (Gu et al., 2018), *Didymosphaeria* (Costa et al., 2012), e *Thielavia* (Li et al., 2007), sendo associados com plantas, solo e humanos. Entretanto, nas nossas pesquisas esses gêneros nunca foram associados a cultura da mandioca, portanto, não foram selecionados para os testes.

Assim como o presente estudo, trabalhos com fungos endofíticos são importantes para ter como base a avaliação da relação desses fungos endofíticos com espécies fitopatogênicas, nas quais, se faz necessário devido ao balanço que existe entre essas espécies presentes no interior da raiz, podendo ser influenciado por vários fatores, porém, o fato, é que devemos nos atentar que algumas dessas espécies podem causar danos na pós-colheita, como foi observado nesse estudo, ou até mesmo causar doenças na cultura em campo.

5. Conclusões

Todas as espécies testadas formaram lesões em raízes na mandioca da variedade Santo Estevão, porém os isolados *Neocosmospora falciformis* ARM 1104, *Talaromyces lentulus* ARM 1083 e *Aspergillus tabacinus* ARM 1094 foram mais agressivos.

Existe uma relação filogenética entre algumas espécies endofíticas e patogênicas, onde o isolado de *Neocosmospora falciformis* ARM 1104 encontrado como endofítico em raízes de mandioca, pode ser patogênico quando inoculado em material sadio.

No estudo foi obtido uma possível espécie nova do gênero *Aspergillus*, seção *Terrei*, tais isolados são: *Aspergillus* sp. ARM 1078 e *Aspergillus* sp. ARM 1082, na qual, será descrita em estudos futuros.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem a agência de fomento Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa. À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e Micoteca URM da UFPE por todo suporte técnico e estrutural para que pudéssemos desenvolver essa pesquisa.

7. Referências bibliográficas

- Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied microbiology and biotechnology*, 90(6) 1829–1845. DOI: 10.1007/s00253-011-3270-y.
- Arumugam N., Shanmugam M. K., & Thangavelu P. (2022). Purification and anticancer activity of glutaminase and urease-free l-asparaginase from novel endophyte *Chaetomium* sp. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(5), 2161-2175. DOI: 10.1002/bab.2276.
- Arzanlou, M., Samadi, R., Frisvad, J. C., Houbraken, J., & Ghosta, Y. (2016). Two novel *Aspergillus* species from hypersaline soils of The National Park of Lake Urmia, Iran. *Mycol Progress*, 15, 1081–1092. DOI 10.1007/s11557-016-1230-8.
- Ayala-Armenta, Q. A., Tovar-Pedraza, J. M., Apodaca-Sánchez, M. A., Correia, K. C., Saucedo-Acosta, C. P., Camacho-Tapia, M. & Beltrán-Peña, H. (2020). Phylogeny and pathogenicity of soilborne fungi associated with wilt disease complex of tomatillo (*Physalis ixocarpa*) in northern Sinaloa, Mexico. *European Journal of Plant Pathology*, 157(4), 733–749. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02030-9>
- Bandyopadhyay, R., Mwangi, M., Aigbe, S. O., & Leslie, J. F. (2006). *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. *Phytopathology*, 96(6), 673-676. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0673.
- Barbosa, R. N., Bezerra, J. D. P., Santos, A. C. S., Melo, R. F. R., Houbraken, J., Oliveira, N. T. & Souza-Motta, C. M. (2020). Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. vascosobrinhou* sp. nov. *Acta Botanica Brasilica*, 34(2), 409-429. <https://doi.org/10.1590/0102-33062019abb0411>.
- Bezerra, J. D. P., Santos, M. G. S., Svedese, V. M., Lima, D. M. M., Fernandes, M. J. S., Paiva, L. M., & Souza-Motta, C. M. (2012). Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (*Cactaceae*) and preliminar screening for enzyme production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(5), 1989- 1995. DOI: 10.1007/s11274-011-1001-2.
- Bilal, L., Asaf, S., Hamayun, M., Gul, H., Iqbal, A., Ullah, I., Lee, I., & Hussain, A. (2018). Plant growth promoting endophytic fungi *Asprgillus fumigatus* TS1 and *Fusarium proliferatum* BRL1 produce gibberellins and regulates plant endogenous hormones. *Symbiosis*, 76(2), 117-127. DOI:10.1007/s13199-018-0545-4.
- Brito. A. G. Q. Mello, J. F.; Câmara, M. P. S.; Vieira, J. C. B.; Michereff, S. J.; Souza-Motta, C. M.; & Machado, A. R. (2020). 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*, 157(3), 583-598. DOI : 10.1007/s10658-020-02024-7.
- Burns, A., Gleadow, R., Cliff, J., Zacarias, A., & Cavagnaro, T. (2010.). Cassava: the drought, war and famine crop in a changing world. *Sustainability*. 2(11), 3572-3807. <https://doi.org/10.3390/su2113572>.

- Choi, G. J., Kim, J. C., Jang, K. S., Nam, M. H., Lee, S. W., & Kim, H. T. (2009). Biocontrol Activity of *Acremonium strictum* BCP Against *Botrytis* Diseases. *The Plant Pathology Journal*, 25(2), 165–171. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2009.25.2.165>.
- Claudino, M. R., & Soares, D. J. (2014). Pathogenicity and aggressiveness of *Macrophomina phaseolina* isolates to castor (*Ricinus communis*). *Tropical Plant Pathology*, Brasília, 39(6), 453–456. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000600006>.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. *Mandioca: análise mensal*. (dezembro, 2022) Brasília, DF. 2022. Acesso em 01 de janeiro de 2023, em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-mandioca>.
- Costa, I. P. M. W., Maia, L. C. C., & Cavalcanti, M. A. (2012). Diversity of leaf endophytic fungi in mangrove plants of Northeast Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(3), 1165–1173. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000300044>.
- Crespo, M., Lawrence, D. P., Nouri, M. T., Doll, D. A., & Trouillas, F. P. (2019). Characterization of *Fusarium* and *Neocosmospora* species associated with crown rot and stem canker of pistachio rootstocks in California. *Plant Disease*, 103(8), 1931–1939. DOI: 10.1094/PDIS-11-18-2012-RE.
- Crous, P. W., et al. (2021). *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98, 100106 <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>.
- Dwibedi, V., & Saxena, S. (2018). *Arcopilus aureus*, a Resveratrol-Producing Endophyte from *Vitis vinifera*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 186(2), 476–495. DOI: 10.1007/s12010-018-2755-x.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. DOI: 10.1093/nar/gkh340.
- FAO – Food and Agriculture Organization. (2019). *Food and agriculture data*. Acesso em 11 de outubro de 2022. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Fernandes, E. G., Pereira, O. L., Silva, C. C., Bento, C. B. P., & Queiroz, M. V. (2015). Diversity of endophytic fungi in *Glycine max*. *Microbiological Research*, 181, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.010>.
- Ferreira, D. F. (2019). SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *revista brasileira de biometria*, 37(4), 529–535. DOI: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.
- Frisvad, J. C., Andersen, B., & Thrane, U. (2008). The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. *Mycological research*, 112(2), 231–240. DOI: 10.1016/j.mycres.2007.08.018.
- Gagiu, V., Mateescu, E., Armeanu, I., Dobre, A. A., Smeu, I., Cucu, M. E., Oprea, O. A., Iorga, E., & Belc, N. (2018). Post-Harvest Contamination with Mycotoxins in the Context of the Geographic and Agroclimatic Conditions in Romania. *Toxins*, 10(12), 533. <https://doi.org/10.3390/toxins10120533>

- Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(4), 1323-1330. doi: 10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995.
- Gómez-Muñoz, B., Jensen, L. S., Neergaard, A., Richardson, A. E., & Magid, J. (2018). Effects of *Penicillium bilaii* on maize growth are mediated by available phosphorus. *Plant and Soil*, 431(1), 159-173. DOI:10.1007/s11104-018-3756-9.
- Gonçalves, F. J. T., Freire, F. C. O., & Lima, J. S. (2013). Fungos endofíticos e seu potencial como produtores de compostos bioativos. *Ciências Agrárias*, 15(1), 71-92.
- Gorzynska, K., Węgrzyn, E., Sandecki, R., & Lembicz, M. (2019). Endophytic fungi and latent pathogens in the sedge *Carex secalina* (Cyperaceae), a critically endangered species in Europe. *Plant Protection Science*. 55(2), 102–108. <https://doi.org/10.17221/120/2018-PPS>.
- Gu, C. B., Ma, H., Ning, W. J., Niu, L. L., Han, H. Y., Yuan, X. H., & Fu, Y. J. (2018). Characterization, culture medium optimization and antioxidant activity of an endophytic vitexin-producing fungus *Dichotomopilus funicola* Y3 from pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. *Journal of applied microbiology*, 125(4), 1054–1065. doi: 10.1111/jam.13928. Epub 2018 Jul 17.
- Gupta, A. K., Choudhary, R., Bashyal, B. M., Rawat, K., Singh, D., & Solanki, I. S. (2019). First report of root and stem rot disease on papaya caused by *Fusarium falciforme* in India. *Plant Disease*, 103(10), 2676. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2118-PDN>.
- Hartanti1, A. T., Susanti1, F. N., Prasasty1, V. D., & Radiastuti, N. (2021). Culturable endophytic fungal diversity in cassava tubers of Indonesia. *Biodiversitas*, 22(3), 1250-1260. DOI: 10.13057/biodiv/d220322.
- He, C., Wang, W., & Hou, J. (2019). Plant Growth and Soil Microbial Impacts of Enhancing Licorice With Inoculating Dark Septate Endophytes Under Drought Stress. *Frontiers in microbiology*, 10, 2277. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02277>.
- Herrera, H., Fuentes, A., Ortiz, J., Soto, J., Valadares, R. B. S., Salas-Eljatib, C., & C. Arriagada (2022). Root-associated endophytes isolated from juvenile *Ulex europaeus* L. (Fabaceae) plants colonizing rural areas in South-Central Chile. *Plant and soil*, 474(1-2), 181–193. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05324-5>.
- IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. (2020). *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Acesso em: 15 de outubro de 2021, em <https://sidra.bg.gov.br/pesquisa/spa/tabelas>.
- Jalili, B., Bagheri, H., Azadi, S., & Soltani, J. (2020). Identification and salt tolerance evaluation of endophyte fungi isolates from halophyte plants. *International journal of environmental science and technology*, 17(7), 3459–3466. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02626-y>.
- Kamali-Sarvestani, S., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., Salmaninezhad, F., & Cacciola, S. O. (2022). *Fusarium* and *Neocosmospora* Species Associated with Rot of *Cactaceae* and Other Succulent Plants. *Journal of Fungi*, 8(4), 364. <https://doi.org/10.3390/jof8040364>.

- 515 Khan, M. S., Gao, J., Munir, I., Zhang, M., Liu, Y., Moe, T. S., Xue, J., & Zhang, X. (2021).
 516 Characterization of Endophytic Fungi, *Acremonium* sp., from *Lilium davidii* and Analysis of
 517 Its Antifungal and Plant Growth-Promoting Effects. *BioMed Research International*, 2021,
 518 9930210. doi: 10.1155/2021/9930210.
- 519 Kim, J. C., Park, G. J., Kim, H. J., Kim, H. T., Ahn, J. W., & Cho, K. Y. (2002). Verlamelin,
 520 an Antifungal Compound Produced by a Mycoparasite, *Acremonium strictum*. *The Plant*
 521 *Pathology Journal*, 18(2), 102–105. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2002.18.2.102>.
- 522 Kim, J. H., Kim, D. Y., Park, H., Cho, J. H., & Eom, A., (2017). *Neocosmospora rubicula*, a
 523 nun recorded endophytic fungus isolated from roots *Glycyrrhiza uralensis* in Korea. *The*
 524 *Korean Journal of Mycology*. 45(1), 63–67. <https://doi.org/10.4489/KJM.20170007>.
- 525 Kumar S., Stecher, G., & Tamura, K. (2015). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics
 526 Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolutkin*, 33(7), 1870-1874. DOI:
 527 10.1093/molbev/msw054.
- 528 Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical Ecology of Endophytic Fungi:
 529 Origins of Secondary Metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792-798.
 530 <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>.
- 531 Leme, A. C., Bevilaqua, M. R., Rhoden, S. A., Mangolin, C. A., Machado, M. F., &
 532 Pamphile, J. A. (2013). Molecular characterization of endophytes isolated from *Saccharum*
 533 spp based on esterase and ribosomal DNA (ITS1-5.8S-ITS2) analyses. *Genetics and*
 534 *Molecular Research*, 12(3), 4095–4105. DOI <http://dx.doi.org/10.4238/2013>.
- 535 Li, H., Yan, C., Tang, Y., Ma, X., Chen, Y., Chen, S., Lin, M., & Liu, Z. (2020). Endophytic
 536 bacterial and fungal microbiota in different cultivars of cassava (*Manihot esculenta* Crantz).
 537 *Jornal of Microbiology*, 58(7):614-623. doi: 10.1007/s12275-020-9565-x.
- 538 Li, W., Zhou, J., Guo, S., & Guo, L. (2007). Endophytic fungi associated with lichens in
 539 Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity*, 25, 69-80.
- 540 Lubna, Asaf, S., Hamayun, M., Gul, H., Lee, I. J., & Hussain, A. (2018). *Aspergillus niger*
 541 CSR3 regulates plant endogenous hormones and secondary metabolites by producing
 542 gibberellins and indoleacetic acid. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 100-111.
 543 <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1436199>.
- 544 MENDES, M. A. S., SILVA, V. L., & DIANESE, J. C. (1998). *Fungos em Plants no Brasil*.
 545 Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasilia, (pp. 555).
- 546 Michereff, S. J., Andrade, D. E. G. T., & Menezes, M. (2005). Importância dos Patógenos e
 547 das Doenças Radiculares em Solos Tropicais. In: Michereff, S. J.; Andrade, D. E. G. T.
 548 Peruch, L. A. M.; & Menezes, M (eds)., *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em*
 549 *solos tropicais*. Recife: UFRPE. Imprensa Universitária. (pp. 1-18).
- 550 Miller, A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for
 551 inference of large phylogenetic trees. *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 1-
 552 8. DOI:10.1109/GCE.2010.5676129.
- 553 Muniz, M. F. S., Andrade, F. W. R., Queiroz, F. M., Moura Filho, G., & Menezes, M. (2006).
 554 Caracterização de isolados de *Phytophthora drechsleri*, agente causal da podridão mole de

- 555 raizes de mandioca. *Fitopatologia Brasileira*. 31, 105-108. [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000200013)
556 41582006000200013.
- 557 O'Donnell, K., Cigelnik, E., & Nirenberg, H. (1998). Molecular systematics and
558 phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3), 465– 493.
559 <https://doi.org/10.2307/3761407>.
- 560 O'donnell, K., Sutton, D. A., Fothergill, A., Mccarthy, D., Rinaldi, M. G., & Brandt, M. E.
561 (2008). Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro
562 antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. *Journal of Clinical*
563 *Microbiology*, 46(8), 2477-2490.
- 564 Oliveira, M. A., & Fiorine, R. A. (2006). Análise de crescimento em mudas de mandioca
565 (*Manihot esculenta* Crantz) provenientes de estacas em diferentes recipientes para cultivo.
566 *Revista Raízes e Amidos Tropicais*, Botucatu, 2, 12-26.
- 567 Ono, L. T., Silva, J. J., Doná, S., Martins, L. M., Iamanaka, B. T., Fungaro, M. H. P., Pitt, J.
568 I., & Taniwaki, M. H. (2021). *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in Brazilian cassava
569 (*Manihot esculenta* Crantz) and products. *Mycotoxin Research*, 37(3):221-228. doi:
570 10.1007/s12550-021-00430-2.
- 571 Ono, L. T., Silva, J. J., Soto, T. S., Doná, S., Iamanaka, B. T., Fungaro, M. H. P., & Taniwaki,
572 M. H. (2023). Fungal communities in Brazilian cassava tubers and food products.
573 *International Journal of Food Microbiology*, 384, 109909.
574 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109909.
- 575 PARSA, S., García-Lemos, A. M., Castillo, K., Ortiz, V., López-Lavalle, L. A., Braun, J., &
576 Vega, F. E. (2016). Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus*
577 *vulgaris*. *Fungal biology*, 120(5), 783-790. doi: 10.1016/j.funbio.2016.01.017.
- 578 PAVLIC, D., Slippers, B., Coutinho, T. A., Gryzenhout, M., & Wingfield, M. J. (2004).
579 *Lasiodiplodia gonubiensis* sp. nov. a new *Botryosphaeria* anamorph from native *Syzygium*
580 *cordatum* in South Africa. *Studies in Mycology*, 50, 313-322.
- 581 Posada, D., & Buckley, T. R. (2004). Model selection and model averaging in phylogenetics:
582 advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio
583 tests. *Systematic Biology*, 53(5), 793-808. <https://doi.org/10.1080/10635150490522304>.
- 584 Potshangbam, M., Devi, S. I., Sahoo, D., & Strobel, G. A. (2017). Functional characterization
585 of endophytic fungal community associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. *Frontiers*
586 *in microbiology*, 8, 325. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00325>.
- 587 Rambaut, A. (2009). *FigTree 1.2.2*. Acesso em 12 abril de 2022, em:
588 <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- 589 Rannala, B., & Yang, Z. (1996). Probability distribution of molecular evolutionary trees: a
590 new method of phylogenetic inference. *Journal of Molecular Evolution*, 43(3), 304-311. DOI:
591 10.1007/BF02338839.
- 592 Richardson, S. N., Walker, A. K., Nsiam, T. K., McFarlane, J., Sumarah, M. W., Ibrahim,
593 A., & Miller, J. D. (2014). Griseofulvin-producing *Xylaria* endophytes of *Pinus strobus* and

- 594 *Vaccinium angustifolium*: evidence for a conifer-understory species endophyte ecology.
595 *Fungal ecology*, 11, 107–113. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.05.004>.
- 596 Rivera-Varas, V. V., Freeman, T. A., Gudmestad, N. C., & Secor, G. A. (2007).
597 Mycoparasitism of *Helminthosporium solani* by *Acremonium strictum*. *Phytopathology*,
598 97(10), 1331-1337. doi: 10.1094/PHYTO-97-10-1331.
- 599 Rojas, E. C., Jensen, B., Jorgensen, H. J. L., Latz, M. A. C., Esteban, P., Ding, Y., &
600 Collinge, D. B. (2020). Selection of fungal endophytes with biocontrol potential against
601 *Fusarium* head blight in wheat. *Biological Control*, 144(6), 104222. DOI:
602 10.1016/j.biocontrol.2020.104222.
- 603 Romão-Dumaresq, A.S., Dourado, M. N., Fávaro, L. C. L., Mendes, R., Ferreira, A., &
604 Araújo, W. L. (2016). Diversity of cultivated fungi associated with conventional and
605 transgenic sugarcane and the interaction between endophytic *Trichoderma virens* and the host
606 plant. *Plos One*, 11(7), 0158974. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158974>.
- 607 Seifert, K., Morgan-Jones, G., Gams, W., & Kendrick, B. (2011). *The Genera of Hyfomycetes*.
608 CBS Biodiversity. Utrecht, The Netherlands. 9, 997.
- 609 Serra, I. M. R. S., Silva, G. S., Nascimento, FS., & Lima, L. K. F. (2009). *Scytalidium*
610 *lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao
611 patógeno. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 35(4), 327-328.
612 <https://doi.org/10.1590/S0100-54052009000400013>.
- 613 Sessa, L., Abreo, E., & Lupo, S. (2018). Diversity of fungal latent pathogens and true
614 endophytes associated with fruit trees in Uruguay. *Journal of Phytopathology*, 166(9), 633–
615 647. <https://doi.org/10.1111/jph.12726>.
- 616 Silva, C., Viana, I., Souza, D., Silva, D., Portella, A., & Giongo, M. (2021). Efeito do fogo na
617 abundância e diversidade fúngica no solo do Cerrado. *Ciência Florestal*, 31 (4), 1910-1929.
618 <https://doi.org/10.5902/1980509854717>.
- 619 Silva, G. F. *Diversidade de fungos em solo contaminado com atrazina: dinâmica da*
620 *comunidade fúngica em microcosmos*. 2020. 96 f. Dissertação - Universidade Federal da
621 Integração Latino-Americana, Centro Interdisciplinar de Ciências da Vidas, Programa de Pós-
622 Graduação Biodiversidade Neotropical, Foz do Iguaçu.
- 623 Singh, P. N., Singh, S. K., Tetali, S. P., & Lagashetti, A. C. (2017). Biocontrol of powdery
624 mildew of grapes using culture filtrate and biomass of fungal isolates. *Plant Pathology and*
625 *Quarantine*, 7(2), 181–189.
- 626 Slippers, B., & Wingfield, M. J. (2007). *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent
627 pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews*. 21(3),
628 90-106. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.06.002>.
- 629 Taniwaki, M. H., Iamanaka, B. T., & Silva, N. (2014). Fungos Deterioradores de Alimentos:
630 Ocorrência e Detecção. *Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas.
- 631 Thomas, D.C., Vandegrift, R., Ludden, A., Carroll, G. C., & Roy, B. A. (2016). Spatial
632 Ecology of the Fungal Genus *Xylaria* in a Tropical Cloud Forest. *Biotropica*, 48(3), 381–393.
633 <https://doi.org/10.1111/btp.12273>.

- 634 Vilas Boas, S. A., Oliveira, S. A. S., Bragança, C. A. D., Ramos, J. B., & Oliveira, E. J.
635 (2017). Survey of fungi associated with cassava root rot from different producing regions in
636 Brazil. *Scientia Agricola*, 74(1), 60-67. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0366>.
- 637 Vilgalys, R. & Hester, M. (1990). Rapid genetic identification and mapping of enzymatically
638 amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*,
639 172(8), 172: 4238–4246. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>.
- 640 White, T. J.; Bruns, T., Lee, S. B., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing
641 of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky,
642 J. J., & White, T. J. (org.). *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. California:
643 Academic Press, (pp. 315– 322).
- 644 Xu, J., Qin, P. W., Xu, X. D., Hu, L., Wang, L. J., Jiang, Y., & Cao, Y. Y. (2015). First
645 Report of Melon Collapse Caused by *Acremonium cucurbitacearum* in China. *Plant Disease*,
646 99(8), 1184-1185. Doi: 10.1094/PDIS-01-15-0080-PDN.

Tabela 1. Primers e condições de PCR utilizados para amplificação das regiões gênicas.

Região Gênica	Primers	Ciclo de PCR
ITS	TS1 - ITS4 (WHITE et al., 1990)	94°C - 5 min; 30 ciclos: 94°C – 30 s, 52°C – 40 s e 72°C – 40 s, e 72°C - 5 min.
LSU	LR0R - LR5 (VILGALYS & HESTER, 1990)	94°C - 3 min; 35 ciclos: 95°C – 30 s, 55°C – 50 s e 72°C – 90 s, e 72°C - 10 min
TEF 1- α	Ef1 - Ef2 (O'DONNELL et al., 1998)	94°C - 60s; 35 ciclos: 94°C – 30 s, 53°C – 45 s e 72°C – 60 s, e 72°C - 5 min
RPB2	5F2 - 7cR (O'DONNELL et al., 2008)	94°C - 90 s; 40 ciclos: 94°C – 30 s, 55°C – 90 s e 68°C – 2 min, e 68°C - 5 min
BenA	Bt2a e Bt2b (GLASS & DONALDSON, 1995)	95°C - 5 min; 40 ciclos: 94°C – 45 s, 55°C – 45 s e 72°C – 45 s, e 72°C - 5 min

ITS= espaçadores transcritos internos; LSU= amplificação de grande subunidade rDNA; TEF 1- α = fator de alongamento de tradução 1- α região do gene; RPB2= segunda maior subunidade da RNA polimerase; BenA= beta-tubulina.

Tabela 2. Melhores modelos de substituição usados na construção das árvores filogenéticas.

	ITS	LSU	TEF 1- α	RPB2	BenA
<i>Penicillium</i>	GTR+I+G	-	-	-	SYM+I+G
<i>Aspergillus</i>	GTR+I+G	-	-	-	SYM+I+G
<i>Talaromyces</i>	GTR+I+G	-	-	-	HKY+I+G
<i>Neocosmospora</i>	-	-	K80+G	SYM+G	-
<i>Acremonium</i>	GTR+I+G	GTR+I+G	-	-	-

ITS= espaçadores transcritos internos; LSU= amplificação de grande subunidade rDNA; TEF 1- α = fator de alongamento de tradução 1- α região do gene; RPB2= segunda maior subunidade da RNA polimerase; BenA= beta-tubulina.

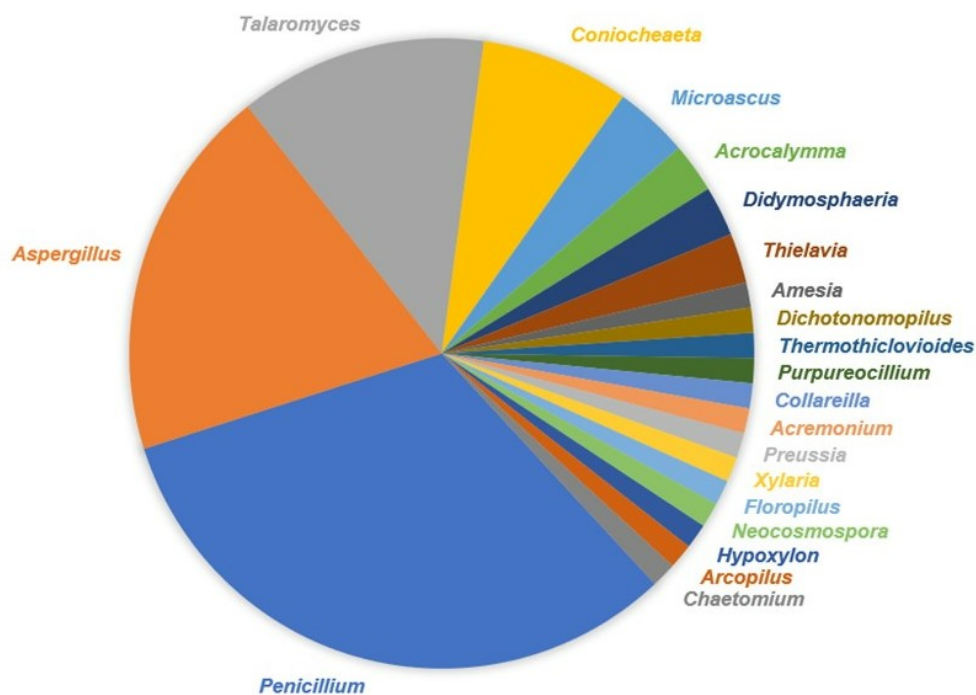


Fig 1. Gêneros obtidos associados à raízes sadias de mandioca em áreas de Pernambuco.

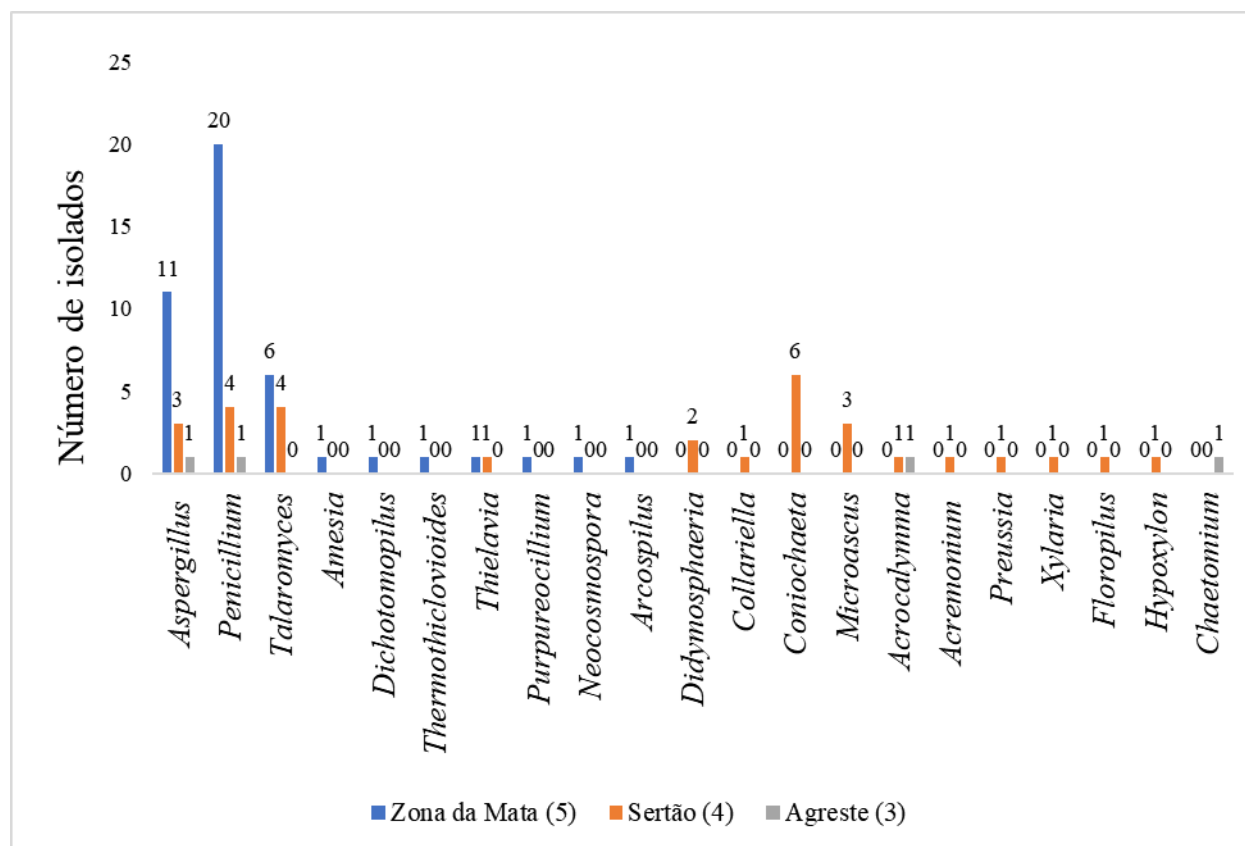


Fig 2. Distribuição de fungos endofíticos associados à mandioca em três regiões no estado de Pernambuco.

Tabela 3. Isolados utilizados para as análises filogenéticas nesse estudo.

Espécies	Isolados	Acesso GenBank				
		ITS	BenA	LSU	TEF1- α	RPB2
<i>Acremonium alternatum</i>	CBS 407.66 T*	HE798150	-	HQ231988	-	-
<i>A. behniae</i>	CBS 146824 T	MW175360	-	MW175400	-	-
<i>A. blochii</i>	CBS 993.69	HE608636	-	HQ232002	-	-
<i>A. borodinense</i>	CBS 101148 T	HE608635	-	HQ232003	-	-
<i>A. brachypenium</i>	CBS 866.73 T	AB540570	-	HQ232004	-	-
<i>A. chrysogenum</i>	CBS 144.62 T	-	-	HQ232017	-	-
<i>A. citrinum</i>	CBS 384.96 T	HF680236	-	HF680217	-	-
<i>A. exuviarum</i>	UAMH 9995 T	AY882946	-	HQ232036	-	-
<i>A. flavum</i>	CBS 596.70 T	-	-	HQ232037	-	-
<i>A. fusidioides</i>	CBS 840.68 T	FN706542	-	HQ232039	-	-
<i>A. hansfordii</i>	CBS 390.73	AB540578	-	HQ232043	-	-
<i>A. hennebertii</i>	CBS 768.69 T	HF680238	-	HQ232044	-	-
<i>A. mali</i>	ACCC 39305 T	MF987658	-	MF993114	-	-
<i>A. persicinum</i>	CBS 310.59 T	MH857868.1	-	HQ232077	-	-
<i>A. pinkertoniae</i>	CBS 157.70 T	MH859534.1	-	HQ232089	-	-
<i>A. potronii</i>	CBS 189.70	-	-	HQ232094	-	-
<i>A. sclerotigenum</i>	CBS 124.42 T	FN706552	-	HQ232126	-	-
<i>A. varicolor</i>	CBS 130360 T	HE608647	-	HE608651	-	-
<i>Bulbithecium hyalosporum</i>	CBS 318.91 T	HE608634	-	AF096187	-	-
<i>Emericellopsis alkalina</i>	CBS 127350 T	KC987171	-	KC987247	-	-
<i>E. terricola</i>	CBS 120.40 T	U57676	-	U57082	-	-
<i>Hapsidospora irregularis</i>	ATCC 22087 T	-	-	AF096192	-	-
<i>Leucosphaerina arxii</i>	CBS 737.84 T	HE608640	-	HE608662	-	-
<i>Nigrosabulum globosum</i>	ATCC 22102 T	-	-	AF096195	-	-
<i>Aspergillus alabamensis</i>	UAB 20 T	FJ531193	FJ491731	-	-	-
<i>A. allahabadii</i>	CBS 164.63 T	NR135399	EF669531	-	-	-

<i>A. aureoterreus</i>	CBS 503.65 T	EF669580	EF669524	-	-	-
<i>A. carneus</i>	CBS 494.65 T	NR135402	EF669529	-	-	-
<i>A. citrinoterreus</i>	GM 228 T	KP175260	LN680657	-	-	-
<i>A. neoindicus</i>	CBS 444.75 T	NR131296	EF669532			
<i>A. niveus</i>	CBS 115.27 T	NR137476	EF669528	-	-	-
<i>A. pseudoterreus</i>	CBS 123890 T	NR137472	EF669523	-	-	-
<i>A. terreus</i>	CBS 601.65 T	EF669586	EF669519	-	-	-
<i>A. iranicus</i>	CBS139561 T	KP987077	KP987045	-	-	-
<i>A. brunneus</i>	CBS 112.26 T	EF652060	EF651907	-	-	-
<i>A. chevalieri</i>	CBS 522.65 T	EF652068	EF651911	-	-	-
<i>A. cibarius</i>	KACC 46346 T	JQ918177	JQ918180	-	-	-
<i>A. costiformis</i>	CBS 101749 T	HE615136	HE801338	-	-	-
<i>A. cristatus</i>	CBS 123.53 T	EF652078	EF651914	-	-	-
<i>A. glaucus</i>	CBS 516.65 T	EF652052	EF651887	-	-	-
<i>A. intermedius</i>	CBS 523.65 T	EF652074	EF651892	-	-	-
<i>A. megasporus</i>	DAOMC 250799 T	KX450910	KX450892	-	-	-
<i>A. montevidensis</i>	CBS 491.65 T	EF652077	EF651898	-	-	-
<i>A. neocarnoyi</i>	CBS 471.65 T	EF652057	EF651903	-	-	-
<i>A. niveoglaucus</i>	CBS 114.27 T	EF652058	EF651905	-	-	-
<i>A. proliferans</i>	CBS 121.45 T	EF652064	EF651891	-	-	-
<i>A. creber</i>	NRRL 58592 T	JQ301889	JN853980	-	-	-
<i>A. cvjetkovicii</i>	NRRL 227 T	EF652440	EF652264	-	-	-
<i>A. griseoaurantiacus</i>	CBS 138191 T	KJ775553	KJ775086	-	-	-
<i>A. hongkongensis</i>	HKU49 T	AB987907	LC000552	-	-	-
<i>A. jensenii</i>	NRRL 58600 T	JQ301892	JN854007	-	-	-
<i>A. protuberus</i>	CBS 602.74 T	EF652460	EF652284	-	-	-
<i>A. puulaauensis</i>	NRRL 35641 T	JQ301893	JN853979	-	-	-
<i>A. sydowii</i>	CBS 593.65 T	EF652450	EF652274	-	-	-
<i>A. tabacinus</i>	CBS 122718 T	EF652478	EF652302	-	-	-
<i>A. versicolor</i>	CBS 583.65 T	EF652442	EF652266	-	-	-

<i>A. asper</i>	CBS 140842 T	KT698840	KT698838	-	-	-
<i>A. baeticus</i>	NRRL 62501 T	HE615086	HE615092	-	-	-
<i>A. calidoustus</i>	CBS 121601 T	HE616558	FJ624456	-	-	-
<i>A. carlsbadensis</i>	CBS 123894 T	FJ531151	FJ531179	-	-	-
<i>A. germanicus</i>	CBS 123887 T	FJ531146	FJ531172	-	-	-
<i>A. insuetus</i>	CBS 107.25 T	EF652457	EF652281	-	-	-
<i>A. keveii</i>	CBS 209.92 T	EU076354	EU076376	-	-	-
<i>A. pseudodeflectus</i>	CBS 756.74 T	EF652507	EF652331	-	-	-
<i>Aspergillus sp.</i>	DTO 244-F1	ON156399.1	ON164543.1			
<i>A. thesauricus</i>	CMF ISB 2155 T	HE615088	HE615095	-	-	-
<i>A. ochraceoroseus</i>	CBS 550.77 T	EF661224	EF652322	-	-	-
<i>Neocosmospora ampla</i>	CBS 202.32 T	-	-	-	LR583594	LR583815
<i>N. batatas</i>	CBS 144398 T	-	-	-	AF178344	FJ240381
<i>N. brevicona</i>	CBS 203.31	-	-	-	LR583599	LR583820
<i>N. crassa</i>	CBS 144386 T	-	-	-	LR583604	LR583823
<i>N. elegans</i>	CBS 144396 ET	-	-	-	AF178336	FJ240380
<i>N. euwallaceae</i>	CBS 135854 T	-	-	-	JQ038007	JQ038028
<i>N. falciformis</i>	CBS 475.67 T	-	-	-	LT906669	LT960558
<i>N. falciformis</i>	CBS 121450	-	-	-	JX435161	JX435261
<i>N. gamtoosensis</i>	CBS 146502	-	-	-	MW248762	MW446611
<i>N. ipomoeae</i>	CBS 353.87	-	-	-	DQ247639	LR583831
<i>N. keratoplastica</i>	CBS 490.63 T	-	-	-	LT906670	LT960562
<i>N. kuroshium</i>	CBS 142642 T	-	-	-	KX262216	LR583837
<i>N. lithocarp</i>	LC13831	-	-	-	MW620173.1	MW474698.1
<i>N. martii</i>	CBS 115659	-	-	-	JX435156	JX435256
<i>N. merckxiana</i>	CBS 146625	-	-	-	MW834288	MW834025
<i>N. noneumartii</i>	CBS 115658	-	-	-	JX435163	JX435263
<i>N. oligoseptata</i>	NRRL 62579	-	-	-	KC691538	KC691656
<i>N. solani</i>	CBS 140079 T	-	-	-	KT313611	KT313623
<i>N. suttoniana</i>	CBS 143214 T	-	-	-	DQ247163	EU329630

<i>N. tuaranense</i>	NRRL 22231	-	-	-	DQ247552	KC691660
<i>N. vasinfecta</i>	CBS 325.54I T	-	-	-	LR583664	KM232370
<i>Geejayessia celtidicola</i>	CBS 1255552	-	-	-	HM626644	HQ728153
<i>Penicillium adametzii</i>	CBS 209.28 T	JN714929	JN625957	-	-	-
<i>P. adametzioides</i>	CBS 313.59 T	JN686433	JN799642	-	-	-
<i>P. amaliae</i>	CBS 134209 T	JX091443	JX091563	-	-	-
<i>P. angulare</i>	CBS 130293 T	AF125937	KC773779	-	-	-
<i>P. arianae</i>	CBS 134559 T	KC773833	KC773784	-	-	-
<i>P. alexiae</i>	CBS 134558 T	KC790400	KC773778	-	-	-
<i>P. bilaiae</i>	CBS 221.66 T	JN714937	JN625966	-	-	-
<i>P. brocae</i>	CBS 116113 T	AF484398	KC773787	-	-	-
<i>P. jugoslavicum</i>	CBS 192.87 T	KC773836	KC773789	-	-	-
<i>P. lilacinoechinulatum</i>	CBS 454.93 T	AY157489	KC773790	-	-	-
<i>P. limae</i>	URM 7706 T	MW191493	MG452820	-	-	-
<i>P. mellis</i>	URM 7605 T	MN431398	MN969417	-	-	-
<i>P. restingae</i>	URM 7075 T	KF803355	KF803349	-	-	-
<i>P. brefeldianum</i>	CBS 235.81 T	AF033435	GU981623	-	-	-
<i>P. cremeogriseum</i>	CBS 223.66 T	GU981586	GU981624	-	-	-
<i>P. curticaule</i>	CBS 135127 T	FJ231021	JX091526	-	-	-
<i>P. glaucoroseum</i>	CBS 138908 T	MN431390	MN969383	-	-	-
<i>P. janthinellum</i>	CBS 340.48 T	GU981585	GU981625	-	-	-
<i>P. javanicum</i>	CBS 341.48 T	GU981613	GU981657	-	-	-
<i>P. koreense</i>	KACC 47721 T	KJ801939	KM000846	-	-	-
<i>P. limosum</i>	CBS 339.97 T	GU981568	GU981621	-	-	-
<i>P. lineolatum</i>	CBS 188.77 T	GU981579	GU981620	-	-	-
<i>P. ludwigii</i>	CBS 417.68 T	KF296409	KF296468	-	-	-
<i>P. ortum</i>	CBS 135669 T	JX091427	JX091520	-	-	-
<i>P. raperi</i>	CBS 281.58 T	AF033433	GU981622	-	-	-
<i>Talaromyces aculeatus</i>	CBS 289.48 T	KF741995	KF741929	-	-	-
<i>T. adpressus</i>	CGMCC 3.18211 T	KU866657	KU866844	-	-	-

<i>T. angelicae</i>	KACC 46611 T	KF183638	KF183640	-	-	-
<i>T. annesophieae</i>	CBS 142939 T	MF574592	MF590098	-	-	-
<i>T. apiculatus</i>	CBS 312.59 T	JN899375	KF741916	-	-	-
<i>T. beijingensis</i>	CGMCC 3.18200 T	KU866649	KU866837	-	-	-
<i>T. brevis</i>	CBS 141833 T	MN864269	MN863338	-	-	-
<i>T. californicus</i>	NRRL 58168 T	MH793056	MH792928	-	-	-
<i>T. cnidii</i>	KACC 46617 T	KF183639	KF183641	-	-	-
<i>T. dimorphus</i>	CGMCC 3.15692 T	KY007095	KY007111	-	-	-
<i>T. domesticus</i>	NRRL 58121 T	MH793055	MH792927	-	-	-
<i>T. flavovirens</i>	CBS 102801 T	JN899392	JX091376	-	-	-
<i>T. fuscoviridis</i>	CBS 193.69 T	KF741979	KF741912	-	-	-
<i>T. lentulus</i>	CGMCC 3.15689 T	KY007088	KY007104	-	-	-
<i>T. liani</i>	CBS 225.66 T	JN899395	JX091380	-	-	-
<i>T. louisianensis</i>	NRRL 35823 T	MH793052	MH792924	-	-	-
<i>T. macrosporus</i>	CBS 317.63 T	JN899333	JX091382	-	-	-
<i>T. mae</i>	CGMCC 3.15690 T	KY007090	KY007106	-	-	-
<i>T. malicola</i>	NRRL 3724 T	MH909513	MH909406	-	-	-
<i>T. nanjingensis</i>	CCTCC M 2012167 T	MW130720	MW147759	-	-	-
<i>T. oumae-annae</i>	CBS 138208 T	KJ775720	KJ775213	-	-	-
<i>T. panamensis</i>	CBS 128.89 T	JN899362	HQ156948	-	-	-
<i>T. pinophilus</i>	CBS 631.66 T	JN899382	JX091381	-	-	-
<i>T. pratensis</i>	NRRL 62170 T	MH793075	MH792948	-	-	-
<i>T. purgamentorum</i>	CBS 113145 T	KX011504	KX011487	-	-	-
<i>T. purpureogenus</i>	CBS 286.36 T	JN899372	JX315639	-	-	-
<i>T. rapidus</i>	CBS 142382 T	LT558970	LT559087	-	-	-
<i>T. rufus</i>	CBS 141834 T	MN864272	MN863341	-	-	-
<i>T. sayulitensis</i>	CBS 138204 T	KJ775713	KJ775206	-	-	-
<i>T. siamensis</i>	CBS 475.88 T	JN899385	JX091379	-	-	-
<i>T. soli</i>	NRRL 62165 T	MH793074	MH792947	-	-	-
<i>T. sparsus</i>	CGMCC 3.16003 T	MT077182	MT083924	-	-	-

<i>T. affinitatimellis</i>	CBS 143840 T	LT906543	LT906552	-	-	-
<i>T. africanus</i>	CBS 147340 T	OK339610	OK338782	-	-	-
<i>T. assiutensis</i>	CBS 147.78 T	JN899323	KJ865720	-	-	-
<i>T. atroroseus</i>	CBS 133442 T	KF114747	KF114789	-	-	-
<i>T. basipetosporus</i>	CBS 143836 T	LT906542	LT906563	-	-	-
<i>T. calidominioluteus</i>	CBS 147313 T	OK339612	OK338786	-	-	-
<i>T. chongqingensis</i>	CS26-67 T	MZ358001	MZ361343	-	-	-
<i>T. gaditanus</i>	CBS 169.81 T	MH861318	OK338775	-	-	-
<i>T. germanicus</i>	CBS 147314 T	OK339619	OK338799	-	-	-
<i>T. guatemalensis</i>	CCF 6215 T	MN322789	MN329687	-	-	-
<i>T. minioluteus</i>	CBS 642.68 T	JN899346	MN969409	-	-	-
<i>T. minnesotensis</i>	CBS 142381 T	LT558966	LT559083	-	-	-
<i>T. samsonii</i>	CBS 137.84 T	MH861709	OK338798	-	-	-
<i>T. speluncarum</i>	CBS 143844 T	LT985890	LT985901	-	-	-
<i>T. systylus</i>	BAFCcult 3419 T	KP026917	KR233838	-	-	-
<i>T. trachyspermus</i>	CBS 373.48 T	JN899354	KF114803	-	-	-
<i>T. ucrainicus</i>	CBS 162.67 T	JN899394	KF114771	-	-	-
<i>T. udagawae</i>	CBS 579.72 T	JN899350	KF114796	-	-	-

*T=espécie tipo.

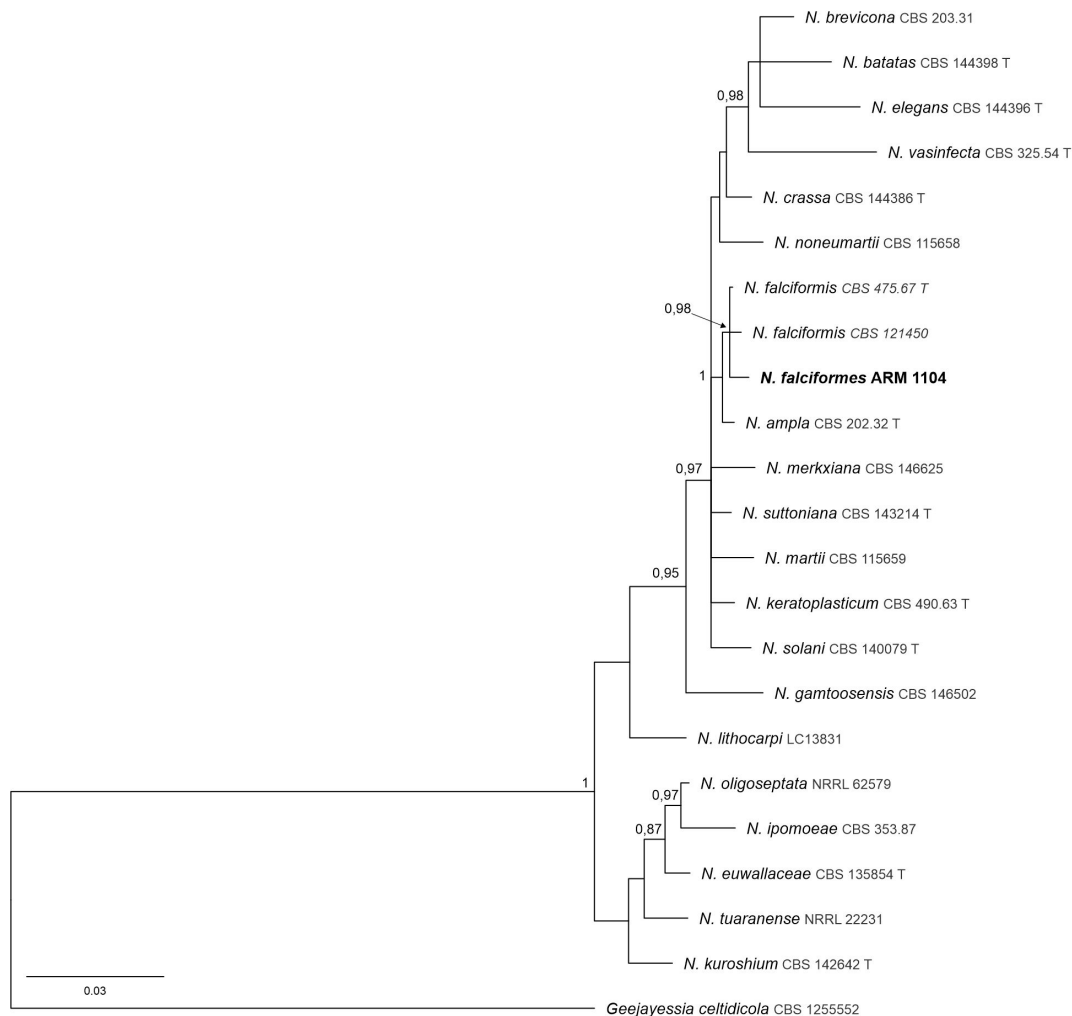


Fig. 3. Árvore filogenética obtida por inferência bayesiana baseada nas regiões gênicas TEF- α e RPB2 combinadas, incluindo espécies do complexo *Neocosmospora*. Probabilidades posteriores são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Geejayessia celtidicola*. O isolado obtido nesse estudo está destacado em negrito.

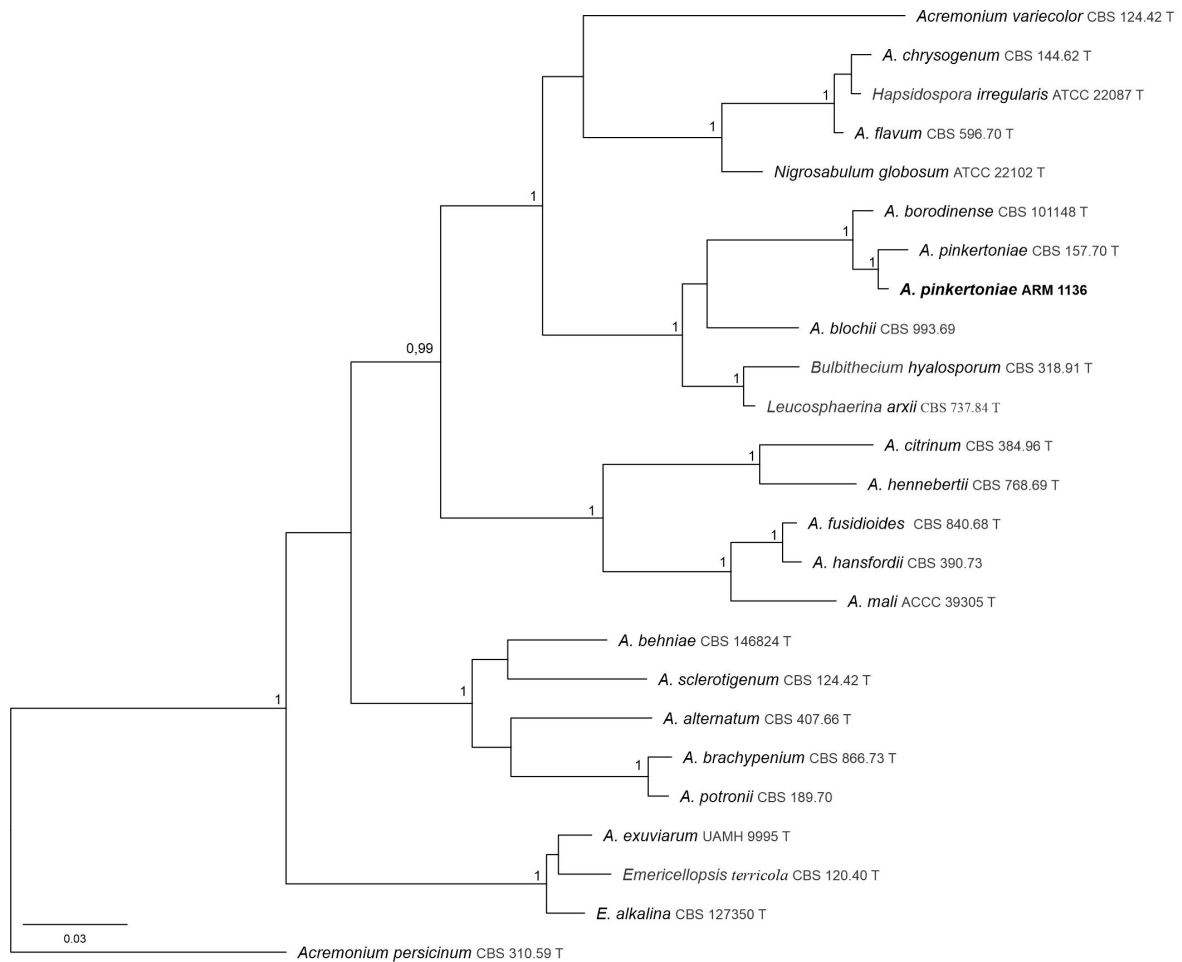


Fig. 4. Árvore filogenética obtida por inferência bayesiana baseada nas regiões gênicas ITS e LSU combinadas, incluindo espécies do complexo *Acremonium*. Probabilidades posteriores são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Acremonium persicinum*. O isolado obtido nesse estudo está destacado em negrito.

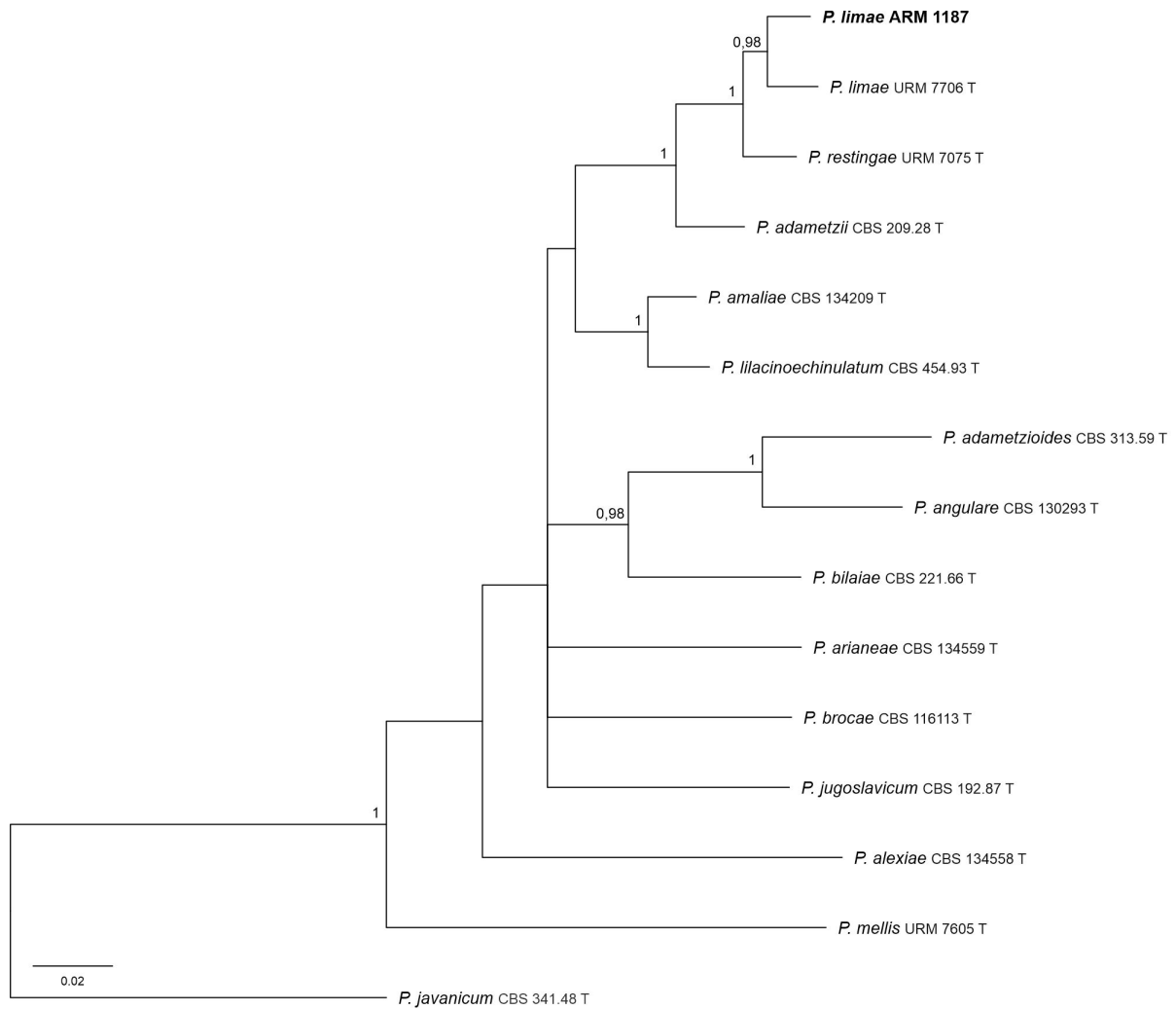


Fig. 6. Árvore filogenética obtida por inferência bayesiana baseada nas regiões gênicas ITS e BenA combinadas, incluindo espécies do gênero *Penicillium* da seção *Sclerotiorum*. Probabilidades posteriores são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Penicillium javanicum*. O isolado obtido nesse estudo está destacado em negrito.

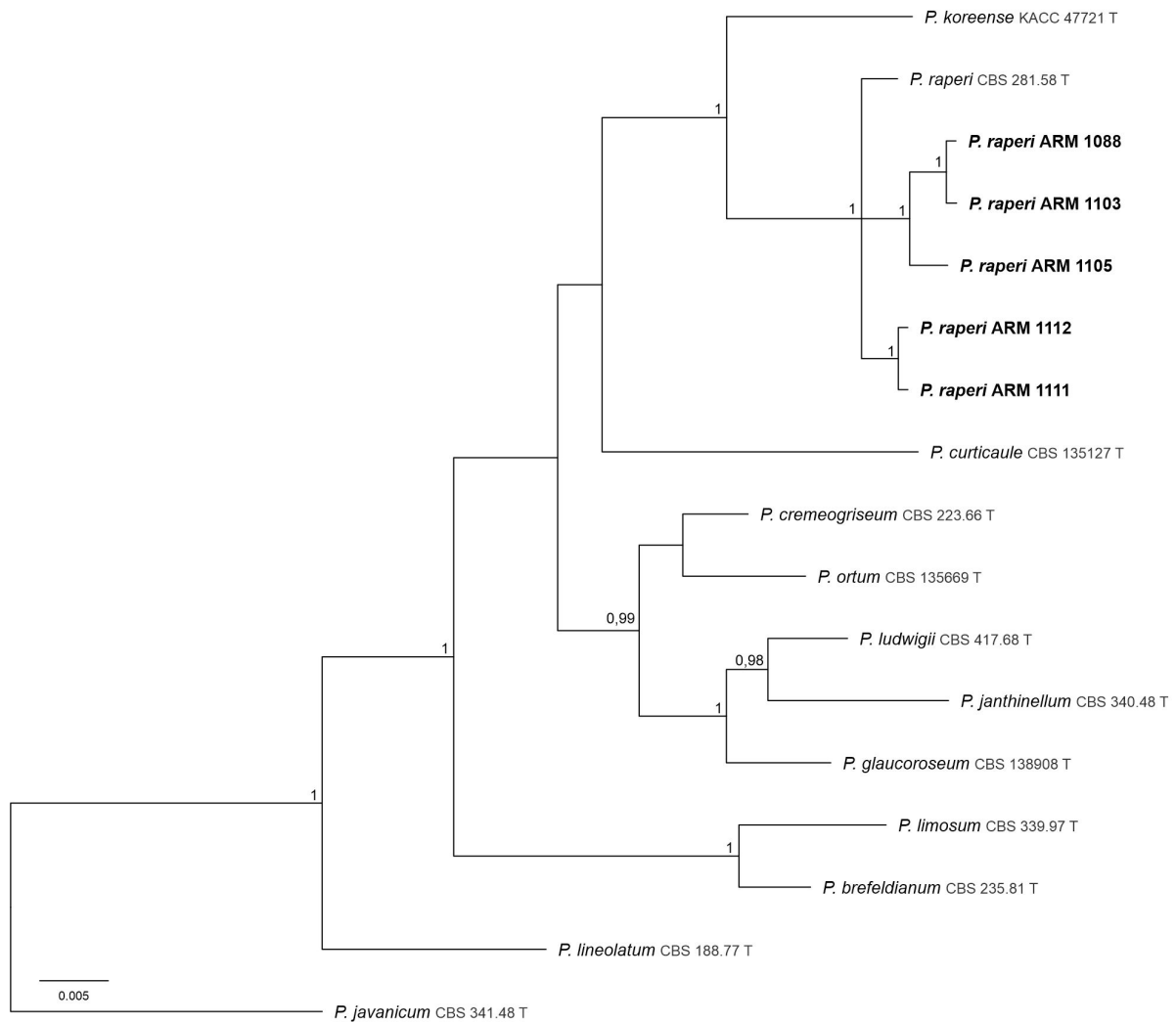


Fig. 7. Árvore filogenética obtida por inferência bayesiana baseada nas regiões gênicas ITS e BenA combinadas, incluindo espécies do gênero *Penicillium* da seção *Lanata-divaricata*. Probabilidades posteriores são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Penicillium javanicum*. O isolado obtido nesse estudo está destacado em negrito.

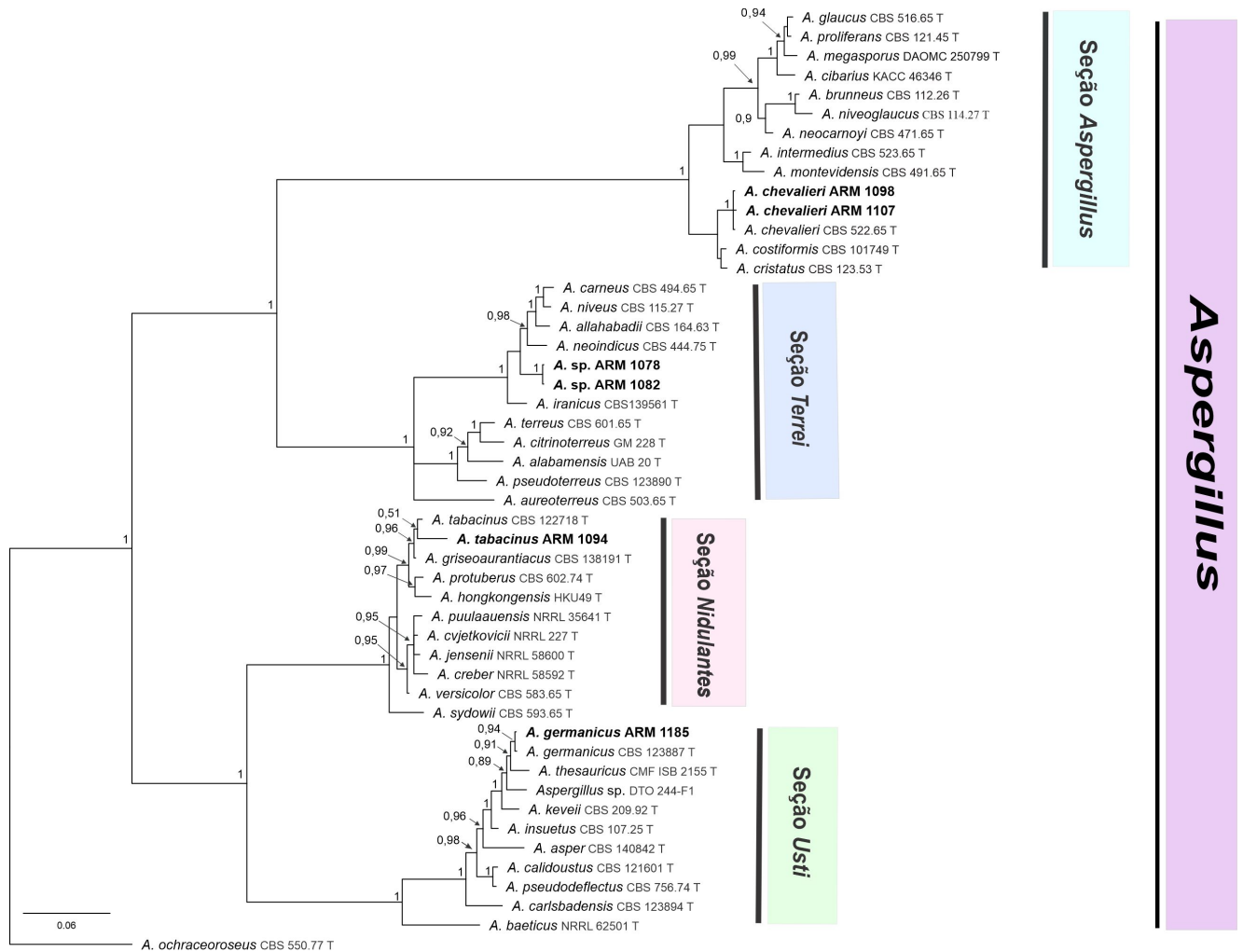


Fig. 8. Árvore filogenética obtida por inferência bayesiana baseada nas regiões gênicas ITS e BenA combinadas, incluindo espécies do gênero *Aspergillus* das seções *Terrei*, *Aspergillus*, *Usti* e *Nidulantes*. Probabilidades posteriores são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Aspergillus ochraceoroseus*. O isolado obtido nesse estudo está destacado em negrito.

Tabela 4. Resultado do teste de patogenicidade de fungos endofíticos associados a raízes de mandioca em áreas de Pernambuco.

Isolados	Tamanho da Lesão (cm)	
	Comprimento	Largura
<i>Neocosmospora falciformes</i> ARM 1104	0.97 a	0.87 a
<i>Acremonium pinkertoniae</i> ARM 1136	0.45 b	0.40 ab
<i>Talaromyces rapidus</i> ARM 1115	0.42 b	0.52 ab
<i>Talaromyces pinophilus</i> ARM 1122	0.65 ab	0.32 b
<i>Talaromyces trachyspermus</i> ARM 1143	0.82 ab	0.60 ab
<i>Talaromyces lentulus</i> ARM 1083	1.10 a	0.82 a
<i>Penicillium raperi</i> ARM 1088	0.60 ab	0.47 ab
<i>Aspergillus</i> sp. ARM 1078	0.02 b	0.20 b
<i>Aspergillus chevalieri</i> ARM 1107	0.80 ab	0.65 ab
<i>Aspergillus tabacinus</i> ARM 1094	0.85 ab	0.80 a
<i>Penicillium limae</i> ARM 1187	0.90 ab	0.52 ab
<i>Aspergillus germanicus</i> ARM 1185	0.45 b	0.65 ab
Controle	0.00 b	0.00 b

*Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-knott.



Fig. 9. Teste de patogenicidade de fungos endofíticos associados a raízes de mandioca em áreas de Pernambuco. a= controle; b= *Neocosmospora falciformes* ARM 1104; c= *Acremonium pinkertoniae* ARM 1136; d= *Talaromyces rapidus* ARM 1115; e= *Talaromyces pinophilus* ARM 1122; f= *Talaromyces trachyspermus* ARM 1143; g= *Talaromyces lentulus* ARM 1083; h= *Penicillium raperi* ARM 1088; i= *Aspergillus* sp. ARM 1078; j= *Aspergillus chevalieri* ARM 1107; k= *Aspergillus tabacinus* ARM 1194; l= *Penicillium limae* ARM 1187; m= *Aspergillus germanicus* ARM 1185.

CAPÍTULO III

Conclusões Gerais

Conclusões Gerais

Todas as espécies testadas formaram lesões em raízes na mandioca da variedade Santo Estevão, porém os isolados *Neocosmospora falciformis* ARM 1104, *Talaromyces lentulus* ARM 1083 e *Aspergillus tabacinus* ARM 1094 foram mais agressivos.

Existe uma relação filogenética entre algumas espécies endofíticas e patogênicas, onde o isolado de *Neocosmospora falciformis* ARM 1104 encontrado como endofítico em raízes de mandioca, pode ser patogênico quando inoculado em material sadio.

No estudo foi obtido uma possível espécie nova do gênero *Aspergillus*, seção *Terrei*, tais isolados são: *Aspergillus* sp. ARM 1078 e *Aspergillus* sp. ARM 1082, na qual, será descrita em estudos futuros.

Nesse estudo foram obtidas informações de isolados endofíticos que podem infectar e colonizar as raízes de mandioca sadia e causar podridões na pós-colheita, dessa forma, podemos realizar estudos para que passamos traçar estratégias de medida de controle mais eficiente.