



## METODOLOGIA AVALIAÇÃO RÁPIDA DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA QUANTO A RESISTÊNCIA À BACTERIOSE, ANTRACNOSE E SUPERALONGAMENTO

Saulo Alves Santos de Oliveira<sup>(1)</sup>, Marco Antônio Sedrez Rangel<sup>(2)</sup>, Marcondes Araujo da Silva<sup>(1)</sup>, Vanderlei da Silva Santos<sup>(1)</sup>, Rudiney Ringenberg<sup>(2)</sup> e Eder Jorge de Oliveira<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Pesquisador, Doutor, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa, s/n, Chapadinha, CEP 44380-000, Cruz das Almas-BA. E-mail: saulo.oliveira@embrapa.br, marcondesagronomo@gmail.com, vanderlei.silva-santos@embrapa.br, eder.oliveira@embrapa.br. <sup>(2)</sup>Pesquisador, Doutor, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Campus Centro-Sul, Rod. Carlos João Strass, Distrito de Warta CEP 86001-970 Londrina-PR. E-mail: marco.rangel@embrapa.br, rudiney.ringenberg@embrapa.br.

### Resumo

A mandioca é o principal alimento básico para os países em desenvolvimento, e fonte de matéria-prima para a indústria de farinha, amido e etanol. Entretanto, existem várias restrições fitossanitárias à produção de mandioca, especialmente as doenças de parte aérea; como a bacteriose (CBB), causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, antracnose (CAD) (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *manihotis*) e superalongamento (SED) (*Sphaceloma manihoticola*). Para a geração de cultivares resistentes é extremamente necessário a utilização de metodologias rápidas para a seleção, desta forma, o objetivo deste trabalho é propor modificações em escalas arbitrárias, comumente utilizadas no *screening* para resistência à CBB, CAD e SED, viabilizando a avaliação de um grande número de genótipos. 50 genótipos foram avaliados com base em escalas de doença propostas em literatura contra as modificadas. Para todas as comparações, correlações positivas entre a média das plantas (MeDN) e a taxa máxima da doença (MaDSN) foram encontradas. Em conclusão, o procedimento de avaliação aqui proposto é eficiente e suporta a seleção de plantas a partir de um grande número de genótipos e em um curto espaço de tempo.

**Palavras Chave:** Epidemiologia, *Manihot esculenta* Crantz, doenças de parte aérea, escalas de notas.

### Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é um dos recursos alimentares mais importantes para países do continente Africano, da América latina e países asiáticos, como a Nigéria, Brasil, Indonésia e Tailândia (FAO, 2013). Esta cultura é o alimento básico para seres humanos e animais, e é utilizado como uma fonte de matéria prima para a produção de amido, farinha e etanol nos países em desenvolvimento (Suppakul et al., 2013). No entanto, a produção de mandioca é fortemente limitada, principalmente, por fatores fitossanitários, tais como insetos e doenças. A bacteriose (CBB), a antracnose (CAD) e o superalongamento (SED) são as doenças mais destrutivas da parte aérea.

O agente causal da CBB é a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Bondar (Vauterin) (Xam), que é um importante patógeno em campos de mandioca em todo o mundo. Os sintomas desta doença são caracterizados pela presença lesões necróticas angulares sobre o limbo foliar, lesões necróticas nos pecíolos e hastes e exsudação de goma (gomose).

CAD, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *manihotis* Henn (Penz) Sacc, é uma doença destrutiva que é caracterizada por cancos nas hastes, ramos e frutos, manchas foliares e morte-descendente dos ponteiros (Makambila, 1987). Em alguns casos, ocorre a morte total da planta.

O fungo *Sphaceloma manihoticola* Bitanc. & Jenkins é o agente causal da SED em mandioca. Os sintomas típicos da doença são alongamento exagerado dos pecíolos e dos entrenós das hastes jovens devido à liberação do ácido giberélico pelo fungo, além da presença de manchas foliares necróticas, hipertrofia e sintomas de verrugose nas hastes, pecíolos e folhas (Alvarez; Molina, 2000).



Diferentes medidas de manejo podem ser utilizadas para evitar as perdas com as doenças da parte aérea, mas o uso de cultivares resistentes a diversos agentes patogênicos é, de longe, a prática de manejo mais eficaz no sistema de produção de mandioca, devido seus custos serem menores do que os utilizados com pesticidas químicos. No entanto, nas condições brasileiras, há pouco conhecimento de cultivares resistentes, uma vez que é necessário incluir em programas de melhoramento genéticos, metodologias para selecionar genótipos com resistência múltipla a diferentes patógenos.

Na avaliação da resistência de plantas, é importante usar métodos corretos de avaliação. Assim, o método utilizado deve ser confiável, consistente e reprodutível, rápido, fácil de usar e aplicável a qualquer estágio da doença. Existem duas maneiras de avaliar o nível de doença foliar: as escalas diagramáticas e as escalas arbitrárias, nessa última, uma nota é atribuída a cada nível de doença. Para avaliação da resistência de mandioca em condições de campo, o método mais comum é o uso da escala arbitrária (Alvarez; Molina, 2000).

O objetivo deste trabalho foi propor uma nova metodologia para seleção de resistência à CBB, CAD e SED, permitindo uma avaliação de grande número de genótipos com base em uma única nota da severidade máxima da doença no campo, ou 'MaDSN'.

## Material e Métodos

Este estudo foi realizado em campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, (22°16'42,5"S, 54°49'12,7"W, 452 msnm) em Dourados (MS), Brasil. O solo é caracterizado como Latossolo Vermelho, sendo o clima da região classificado como Cwa (sistema de Köppen) com uma precipitação média anual de 1.400 mm e temperatura de 22 °C.

No experimento de campo em 2013 foram usados 50 genótipos. Os genótipos foram plantados em esquema de blocos aumentados sob condições naturais de infecção das doenças avaliadas (CBB, CAD e SED). Para avaliar a severidade das três doenças, cinco manivas de 20 cm por genótipo, foram plantadas em sulcos de 4 m de comprimento com espaçamento de 0,90 m entre linhas e 0,80 m entre plantas. A avaliação da severidade para a CBB, CAD e SED foi realizada oito meses após o plantio, coincidindo com momento de maior incidência e severidade das doenças.

As medições da severidade da doença foram determinadas por escalas arbitrárias descritas em literatura e com base nas modificações propostas, com se segue:

CBB por Muyolo (1984), em que 1 = sem sintomas; 2 = apenas manchas angulares nas folhas; 3 = queima das folhas, murcha, desfolha e gomose nos caules e pecíolos; 4 = queima das folhas, murcha, desfolha e morte descendente; e 5 = desfolhamento completo e morte descendente de brotos laterais.

CAD por Muimba (1982), em que 1 = sem sintomas; 2 = cancras rasos nas hastes da parte inferior da planta; 3 = cancras novos na parte superior da planta e cancras mais velhos nas hastes tornando-se maior e mais profundo; 4 = desenvolvimento de lesões marrom-escuro sobre os brotos verdes, pecíolos e folhas e colapso dos ponteiros; e 5 = murcha, secamento dos brotos e folhas jovens com morte de parte ou de toda a planta.

SED por Alvarez & Molina (2000), onde 1 = sem sintomas; 2 = algumas manchas ou cancras nas folhas ou pecíolos; 3 = cancras nos pecíolos e caules e deformação grave das folhas; 4 = alongamento, cancras nas folhas, pecíolos e caules e deformação severa nas folhas com escaldadura; e 5 = morte descendente após severo alongamento.

Para avaliar CBB e SED com base na nota máxima da doença (MaDSN), a escala modificada proposta variou de 1-5 para SED e 1-6 para CBB, sendo:

CBB, onde 1 = sem sintomas; 2 = manchas angulares nas folhas da parte inferior das plantas; 3 = extensa mancha foliar na parte superior da planta; 4 = lesões necróticas nas hastes e/ou pecíolos com exsudação de goma; 5 = murcha, desfolha e morte descendente de brotos laterais; e 6 = a morte de parte da planta ou de toda a planta.

SED, onde 1 = sem sintomas; 2 = presença de sintomas apenas nas folhas (mancha foliar); 3 = sintomas de mancha foliar com cancras nos pecíolos e/ou hastes; 4 = cancras nas



folhas, pecíolos e hastes com sinal claro de alongamento; e 5 = alongamento grave, canchros nas hastes, folhas e pecíolos e haste com diâmetro muito grosso ou morte descendente.

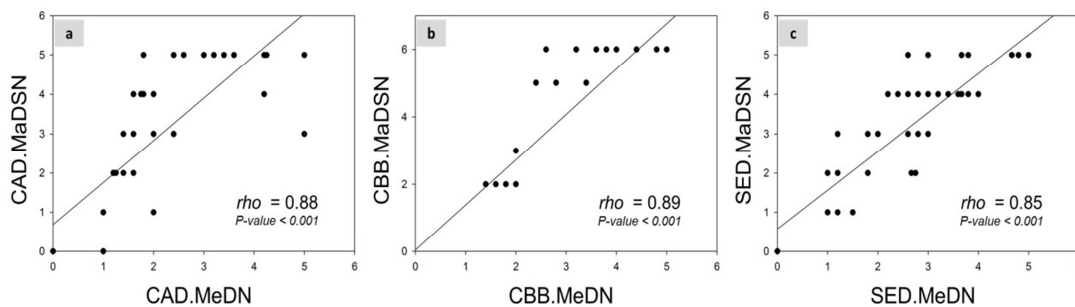
Visando garantir a imparcialidade dos resultados, pelo menos dois avaliadores independentes foram utilizados para cada escala. Para a comparação das escalas da literatura e propostas, os valores médios para a avaliação de cada parcela foram comparados com a nota máxima da severidade da doença (MaDSN). As notas obtidas com as escalas descritas em literatura também foram transformadas para o índice de doença (ID) com base em McKinney (1923) e comparadas com os valores estimados da MaDSN, para cada uma das doenças.

As plantas foram caracterizadas como resistentes (R), quando os valores foram menor ou igual a dois ( $\text{MaDSN} \leq 2$ ); moderadamente resistente (MR), quando os valores médios foram entre 2 e 3 ( $2 < \text{MaDSN} < 3$ ); susceptíveis (S) quando os valores médio foram igual ou maior que 3 e menor que 4 ( $3 \leq \text{MaDSN} < 4$ ); e extremamente susceptível (ES) quando o valor MaDSN foi igual ou superior a 4 ( $\geq 4$ ).

Testes de correlação de Spearman foram realizados a fim de verificar a associação entre a média da nota da doença (MeDN) da avaliação de cinco plantas e a nota máxima da severidade da doença (MaDSN) e entre o ID e MaDSN. Todas as análises estatísticas foram conduzidas com auxílio do software R (R Development Core Team, 2013)

## Resultados e Discussão

Para todas as comparações, uma correlação positiva entre a média de cinco plantas por linhas e a severidade máxima de doença foi encontrada. Quando os valores médios das notas atribuídas à CBB (MeDN) e nota máxima da severidade da doença (MaDSN) foram comparadas (Figura 1A), uma forte correlação positiva foi observada ( $\rho = 0,89$ ,  $P < 0,001$ ). Com demais comparações entre as médias das notas atribuídas (MeDN) e MaDSN para CAD e SED também foram obtidos os mesmos resultados, e correlações positivas foram encontradas para CAD ( $\rho = 0,88$ ,  $P < 0,001$ ) e SED ( $\rho = 0,85$ ,  $P < 0,001$ ) (Figura 1B e 2C).



**Figura 1.** Correlação entre a média das notas da doença (MeDN) e o método de avaliação proposto pela nota máxima da severidade da doença (MaDSN) para (A) a antracnose (CAD), (B) bacteriose (CBB) e (C) superalongamento (SED) com base no teste de correlação de Spearman. Os valores de correlação ( $\rho$ ) e a significância ( $P$ -value) entre os dois parâmetros.

A comparação das diferentes metodologias para a avaliação da resistência à CBB, CAD e SED mostra que o MaDSN é um método rápido e confiável para estimar o índice de doença para acessos com diferentes origens genéticas. A super-estimativa da severidade da doença não é um problema para a seleção da resistência na mandioca; uma vez que esta cultura é de propagação vegetativa (manivas), todas as plantas são clonadas a partir da planta mãe, e a mesma reação para a doença é esperada. Portanto, a severidade máxima da doença reflete o grau de susceptibilidade de um genótipo específico. Este tipo de propagação garante uniformidade genética e a manutenção das características da planta mãe. Portanto, se um genótipo mostrar uma nota perto do limite (por exemplo, "6" para CBB e "5" para CAD e



SED), provavelmente com uma pressão de inóculo e condições ambientais favoráveis, todas as plantas do mesmo acesso tendem a exibir a susceptibilidade máxima da doença.

As vantagens obtidas usando a técnica de seleção proposta (com base no MaDSN) serão particularmente importantes nas fases iniciais de seleção, quando um grande número de genótipos requerem avaliação. Os resultados destes estudos serão utilizados para desenvolver técnicas rápidas de seleção de resistência à CBB, CAD e SED, no campo e em casa de vegetação, em germoplasma e em futuras cultivares de mandioca.

### Conclusão

A metodologia de avaliação aqui proposta (com base no MaDSN) permite a avaliação de um grande número de genótipo de mandioca quanto a resistência à CBB, CAD e SED, de forma confiável e rápida.

### Agradecimentos

A Embrapa pelo auxílio financeiro para a pesquisa, e à CAPES/Embrapa pela concessão da bolsa de Silva M.A.

### Bibliografia

ALVAREZ, E.; MOLINA, M. L. Characterizing the *Sphaceloma* fungus, causal agent of superelongation disease in cassava. **Pant Disease**, v. 84, n. 4, p. 423-428, 2000.

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (2013). Disponível em: <<http://faostat3.fao.org>>. Acesso em: 05 jun. 2015.

MAKAMBILA, K. A.; ADENIYI, M. O.; TERRY, E. R. Inoculation artificielle de tiges manioc avec *Colletotrichum manihotis*. **Henn. Agronomie Tropicale**, v. 37, n. 2, p. 172-175, 1982.

MCKINNEY, R. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, n. 5, p. 195-218, 1923.

MUIMBA, K. A. **Predisposition of cassava plants to infection by *Colletotrichum manihotis* Henn, and some factors involved in the initiation of anthracnose disease**. 1982. 241 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Dept of Agric. Biology, University of Ibadan, Nigeria. 1982.

MUYOLO, G. **Studies on the interaction between *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* Berthet and Bondar and *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *manihotis* Chev, on cassava and its effects on yield**. 1984. 255 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Dept of Agric. Biology, University of Ibadan, Nigeria. 1982.

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, 2013. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 05 jun. 2015.

SUPPAKUL, P.; CHALERNSOOK, B.; RATISUTHAWAT, B.; PRAPASITTHI, S.; MUNCHUKANGWAN, N. Empirical modeling of moisture sorption characteristics and mechanical and barrier properties of cassava flour film and their relation to plasticizing-antiplasticizing effects. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 290-297, 2013.