



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

**JOÃO PAULO DA SILVA FÉLIX**

**INOCULAÇÃO DE RAÍZES DESTACADAS DE VARIEDADES  
DE MANDIOCA, COM RESPOSTA DIFERENCIAL DE  
CAMPO À PODRIDÃO DE RAÍZES DE *Fusarium solani***

**Santarém – PA**

**2018**

**JOÃO PAULO DA SILVA FÉLIX**

**INOCULAÇÃO DE RAÍZES DESTACADAS DE VARIEDADES  
DE MANDIOCA, COM RESPOSTA DIFERENCIAL DE  
CAMPO À PODRIDÃO DE RAÍZES DE *Fusarium solani***

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociência, junto ao programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biociências, área de concentração em Biotecnologia.

Orientador Dr. Carlos Ivan Aguilar-Vildoso

**Santarém-PA**

**2018**

JOÃO PAULO DA SILVA FÉLIX

INOCULAÇÃO DE RAÍZES DESTACADAS DE VARIEDADES  
DE MANDIOCA, COM RESPOSTA DIFERENCIAL DE  
CAMPO À PODRIDÃO DE RAÍZES DE *Fusarium solani*

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biociências, área de concentração em Biotecnologia, aprovada em 13 de setembro de 2018.

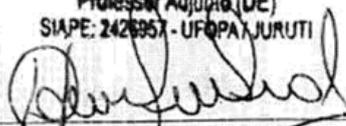
Orientador Dr. Carlos Ivan Aguilar-Vildoso

MARUZANETE PEREIRA DE MELO

Maruzanete Pereira de Melo

(UFOPA - JURUTI)  
Dr. Maruzanete Pereira de Melo

Professor Adjunto (DE)  
SIAPE: 2426957 - UFOPA/JURUTI



Eliandra de Freitas SIA

(UFOPA - SANTO ANTONIO DO TUCURUÍ)

Professora Dra. / UFOPA  
SIAPE: 2138881



Carlos Ivan Aguilar-Vildoso  
(UFOPA - IBEF - Orientador)

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

F316i Félix, João Paulo da Silva

Inoculação de raízes destacadas de variedades de mandioca, com resposta diferencial de campo à podridão de raízes de *Fusarium solani* / João Paulo da Silva Félix. – Santarém, 2018.  
57 f.: il.

Orientador: Carlos Ivan Aguilar-Vildoso.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biociências.

1. *Manihot esculenta*. 2. Seleção varietal. 3. Resistência genética. 4. Teste precoce. I. Aguilar-Vildoso, Carlos Ivan, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 633.682

---

## **DEDICATÓRIA**

A minha família, em especial a meus pais, João de Sousa Félix e Raimunda Pereira da Silva;

A minha falecida avó Maria Pereira da Silva;

A minha namorada Bruna Êgle de Sousa Feitosa;

Aos meus amigos e todos que contribuíram direta ou indiretamente para alcançar esse objetivo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo dom da vida e por toda luz em meu caminho.

Aos meus familiares, em especial a meus pais, meus amigos e todos que de alguma forma me incentivaram e contribuíram para alcançar esse objetivo.

A minha namorada Bruna Êgle por toda ajuda, apoio e confiança.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Ivan Aguilar-Vildoso, pela paciência e todo conhecimento compartilhado.

Ao grupo de pesquisa “Melhoramento e manejo da mandioca na região Amazônica” da Ufopa, em especial aos estagiários Erick Coelho, Vinicius Lima, Shaira Pinto e Izabelle Sena. A coordenação e responsável técnico do laboratório de Sanidade Animal e à coordenação do Laboratório de Bromatologia da UFOPA, por ter compartilhado o espaço durante as atividades.

Aos produtores rurais Eugênia Ribeiro da Silva e José Carlos Barbosa da Silva, por nos fornecer as raízes utilizadas para desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal do Oeste do Pará e ao Banco da Amazônia pelos recursos disponibilizados.

*É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar. É melhor tentar, ainda que em vão que sentar-se, fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me esconder. Prefiro ser feliz embora louco, que em conformidade viver...*

**Martin Luther King**

**RESUMO:** No processo de seleção de fontes de resistência à podridão de raízes de mandioca, é fundamental o estabelecimento de metodologias eficientes. Atualmente, o teste em raízes destacadas é o principal método aplicado pelos programas de melhoramento na busca por genótipos resistentes, entretanto, alguns resultados não correspondem à resistência de campo. Por isso, o objetivo deste trabalho foi validar o método de inoculação em raízes destacadas para diferenciação de variedades de mandioca da região Oeste do Pará, quanto à podridão seca e determinar a variabilidade na patogenicidade de *F. solani*. Para isso, foram realizados quatro experimentos conduzidos em fatorial inteiramente casualizado utilizando as variedades ‘Amarelinha’ (resistente) e ‘Bem-te-vi’ (suscetível), considerando os estádios fenológicos de seis (verão amazônico), quatorze (inverno amazônico) e dezoito meses (verão amazônico) e um experimento avaliando variações no diâmetro da perfuração na inoculação. Inicialmente, as raízes foram tratadas com solução de hipoclorito de sódio (200 ppm) por 2 minutos, enquanto que nas raízes com 14 meses foi realizado tratamento adicional com suspensão de fungicida tiofanato metílico (490 ppm). Como inóculo foram usadas culturas em meio cenoura-ágar de cinco isolados de *F. solani*, obtidos de podridões de raízes de mandioca. As inoculações foram realizadas inserindo discos com estruturas fúngicas em perfurações que retiraram a casca nos terços proximal e distal da raiz, a perfuração central serviu de controle. Em seguida as raízes foram mantidas em câmara úmida sob temperatura ambiente durante 10 dias, quando foram realizados os cortes das raízes e avaliadas a profundidade e a largura das lesões na polpa. As lesões variaram de arredondadas ao formato em “V” e o pré-tratamento com fungicida foi eficiente no controle das infecções ocorridas no campo e não interferiu nem na ocorrência, nem na forma das lesões na avaliação aos 14 meses. A profundidade e a largura das lesões apresentaram resposta contrária às idades das raízes, quanto maior a idade, maior foi a profundidade e menor a largura da lesão, e vice-versa. A época de obtenção das raízes associada aos períodos do verão e inverno Amazônico, não foi significativo no tamanho das lesões. De forma geral, a variedade ‘Bem-te-vi’ apresentou lesões menores que ‘Amarelinha’, o que limitou a detecção de raças do patógeno, para podridão seca. Os isolados tiveram diferentes níveis de agressividade, havendo um grupo independente e outro dependente da idade das raízes. O diâmetro da perfuração para a inoculação interferiu na profundidade das lesões, mas não alterou a resposta das variedades. Assim, a resistência pós-colheita das variedades não correspondeu à resistência de campo em nenhum dos experimentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Manihot esculenta*, seleção varietal, resistência genética, resposta diferencial, teste precoce.

**ABSTRACT:** In the process of selecting sources of resistance to cassava root rot, it is fundamental to establish efficient methodologies. Currently, the test in highlighted roots is the main method applied by breeding programs in the search for resistant genotypes, however, some results do not correspond to field resistance. Therefore, the objective of this work was to validate the method of inoculation in roots for differentiation of varieties of cassava from the western region of Pará, regarding dry rot and to determine the variability in the pathogenicity of *F. solani*. For this, four experiments were conducted in a completely randomized factorial using the 'Amarelinha' (resistant) and 'Bem-te-vi' (susceptible) varieties, considering the phenological stages of six (Amazonian summer), fourteen (Amazonian winter) and Eighteen months (Amazonian summer) and an experiment evaluating variations in the diameter of the drilling at inoculation. Initially, the roots were treated with sodium hypochlorite solution (200 ppm) for 2 minutes, while in the 14-month roots additional treatment with 490 ppm of thiophanate methyl fungicide suspension was carried out. As inoculum cultures were used in carrot-agar medium of five isolates of *F. solani* obtained from cassava root rot. The inoculations were performed by inserting discs with fungal structures into perforations that removed the shell in the proximal and distal thirds of the root, the central perforation served as control. The roots were then kept in a humid chamber at room temperature for 10 days, when the roots were cut and the depth and width of the lesions were evaluated in the pulp. The lesions varied from rounded to "V" shaped and fungicide pretreatment was efficient in controlling field infections and did not interfere either in the occurrence or in the shape of lesions in the evaluation at 14 months. The depth and width of the lesions presented an opposite response to the ages of the roots, the greater the age, the greater the depth and the smaller the width of the lesion, and vice versa. The time of root acquisition associated with the Amazonian summer and winter periods was not significant in the size of the lesions. In general, the 'Bem-te-vi' variety showed smaller lesions than 'Amarelinha', which limited the detection of races of the pathogen, for dry rot. The isolates had different levels of aggressiveness, with one group independent and the other dependent on the age of the roots. The diameter of the perforation for the inoculation interfered in the depth of the lesions, but did not alter the response of the varieties. Thus, the post-harvest resistance of the varieties did not correspond to the field strength in any of the experiments.

**KEY-WORDS:** *Manihot esculenta*, varietal selection, genetic resistance, differential response, early test.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	14
2.1 Mandiocultura .....	14
2.2 Doenças e as podridões radiculares .....	16
2.3 Sintomatologia .....	17
2.4 <i>Fusarium solani</i> .....	18
2.5 Patógeno-hospedeiro.....	19
2.6 Fontes de resistência .....	20
2.7 Resistência vertical e horizontal .....	21
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral .....	23
3.2 Objetivos específicos .....	23
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 Patógeno.....	24
4.2 Material vegetal .....	24
4.3 Pré-tratamento das raízes .....	25
4.4 Inoculação em raízes destacadas.....	25
4.5 Experimentos .....	26
4.6 Características avaliadas .....	27
4.7 Delineamento experimental e estatística.....	27
4.7.1 Experimentos para avaliação dos estádios fenológicos .....	27
4.7.2 Diferentes diâmetros da perfuração de inoculação (fatorial 2x6).....	28
5 RESULTADOS .....	29
5.1 Profundidade da lesão .....	30
5.2 Largura da lesão .....	33
5.3 Concentração pluviométrica e origem dos isolados.....	37
5.4 Diâmetros de inoculação.....	38
6 DISCUSSÃO .....	39
6.1 Padrão de lesão .....	39

6.2 Inoculação em raízes destacadas para diferenciação de variedades .....	40
6.3 Época de colheita, fatores climáticos e diâmetros de inoculação .....	42
6.4 Variabilidade patogênica .....	45
7 CONCLUSÕES .....	47
8 REFERÊNCIAS .....	48

## 1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) tem destaque pelas suas raízes como uma das principais fontes de carboidratos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015), seu valor está associado ao reconhecido potencial como alimento estratégico no combate à fome em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (GROXKO, 2011), aliado à característica de multiuso em diversos setores. Além disso, as folhas são utilizadas na alimentação humana e animal e representam uma rica fonte de proteínas, ao passo que as hastes são usadas na sua propagação (FERNANDES et al., 2016; ANDRÉ; SANTOS, 2012; BORGES et al., 2002).

Entre as principais características para uso pelos agricultores destaca-se sua ampla adaptabilidade às condições edafoclimáticas, o que possibilita seu cultivo em praticamente todas as regiões, desde que respeitadas às temperaturas marginais a seu cultivo. Embora possua boa adaptação, apresenta um acréscimo substancial na produtividade quando administradas práticas de manejo adequadas aliadas às condições de clima favorável e solos com maiores conteúdos de matéria orgânica e nutrientes (OTSUBO et al., 2008), além do seu amplo período de colheita, que permite ser realizada de forma gradual (AGUIAR, 2003).

Para o Brasil, a mandiocultura é de grande representatividade, sua produção foi estimada em 2016 em quase 21 milhões de toneladas classificando o país como o terceiro maior a nível mundial (FAOSTAT, 2018). Nacionalmente a região Norte do país se destaca, por contribuir com 36,1% da área produzida, desse total 57,0% é proveniente do Estado do Pará, sendo o maior produtor do país (IBGE, 2018).

Embora a mandiocultura seja uma atividade de importância econômica, social e cultural, o contraste dessa atividade se dá pela insuficiência de práticas no manejo, assim, tornando a cultura mais vulnerável a fatores ambientais e a ocorrência de doenças (JUNIOR; ALVES, 2016; MORAIS et al., 2014) e pragas que por sua vez comprometem a expressão de seu potencial (NORONHA, 2014). Nesse contexto, entre as doenças de maior ocorrência podem ser citadas: podridão radicular; bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*); superbrotamento (fitoplasma) e doenças de etiologia virótica (MATTOS et al., 2002; NOTARO et al., 2013). Com destaque para a podridão radicular, devido ao comprometimento do principal produto, sua ocorrência está associada à complexos de fungos pertencentes principalmente aos gêneros

*Fusarium*, *Phytophthora*, *Scytalidium*, *Lasiodiplodia* e *Rosellinia* (MACHADO et al., 2014; MASSOLA JUNIOR; BEDENDO, 1997).

Nesse sentido, tem sido observado que a podridão radicular além de comprometer a produção das raízes, com redução de 30% e em alguns casos podendo chegar à perda total, também, inviabiliza a utilização das áreas por longos períodos de tempo através de perdas progressivas (NOTARO et al., 2013; GOMES; LEAL, 2003). Portanto, uma das principais formas de reduzir os impactos da podridão radicular tem se baseado na exploração da variabilidade genética da cultura, em busca de identificar possíveis fontes resistência (FOKUNANG et al., 2000).

Para isso, metodologias de avaliação em condições controladas são utilizadas no sentido de identificar fontes de resistência, as quais se baseiam principalmente na inoculação em tecido destacado. Entretanto, resultados contraditórios ao comportamento de campo vêm sendo observado pelas inoculações em raízes (HOHENFELD, 2016).

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo validar o teste de inoculação em raízes destacadas, por meio da diferenciação de variedades de mandioca da região Oeste do Pará com resistência e suscetibilidade de campo e simultaneamente determinar a variabilidade na patogenicidade de isolados de *F. solani*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Mandiocultura

A mandioca pertence ao gênero *Manihot*, família Euphorbiaceae, ordem Malpighiales (WURDACK; DAVIS, 2009) e classe Magnoliopsida. Atualmente este gênero é compreendido por 98 espécies, das quais 78 foram identificadas no Brasil, sendo 67 nativas; sendo *M. esculenta* a principal cultivada em nível comercial (CORDEIRO et al., 2015).

A classificação para uso das raízes leva em consideração a quantidade de compostos cianogênicos e o seu potencial de produção de ácido cianídrico (HCN), separando em dois grupos: as denominadas doces ou comestíveis, conhecidas por aipim, macaxeira, mandioca, mandioca mansa ou mandioca de mesa; e as amargas, denominadas mandioca ou mandioca brava (NORMANHA; PEREIRA, 1950; FUKUDA et al., 2006; FAO/WHO, 2005). A variação na denominação está relacionada com a região geográfica em que se trata.

O limite para separação desses dois grupos é alterado em função dos estudos toxicológicos, sendo recomendada pela organização mundial de saúde (OMS) o seu consumo quando o potencial de HCN possui concentrações menores que  $10 \mu\text{g g}^{-1}$ . Por outro lado, no Brasil os programas de melhoramento atualmente usam  $25 \mu\text{g g}^{-1}$ , embora, já tenha sido de  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  anteriormente, e em citações mais antigas apontam até  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  (CHISTÉ et al., 2010; VALLE et al., 2004). A ingestão regular de compostos cianogênicos pode levar ao desenvolvimento de patologias como bócio (SIRITUNGA; SAYRE, 2004) e ocorrência de neuropatias, como o konzo (SREEJA et al., 2003).

No que diz respeito às exigências climáticas para cultivo da mandioca, aponta-se a faixa de temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  à  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  (média anual) como mais favorável, embora tolere temperaturas marginais de  $16 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $38 \text{ }^\circ\text{C}$ , porém, temperaturas próximas ou abaixo  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  prejudicam a germinação, diminuindo ou paralisando a atividade vegetativa (MATTOS; CARDOSO, 2003). A necessidade hídrica está na faixa de 1000 a 1500 mm anuais, com chuvas bem distribuídas, porém, em regiões tropicais desenvolve-se com até 4000 mm anuais, sendo que para esses casos deve ser em solos bem drenados (MATTOS; CARDOSO, 2003).

As características climáticas mais favoráveis permite o cultivo se concentre principalmente na faixa de 20° Norte/Sul do globo, embora se estenda até 30° Norte/Sul, admitindo altitudes que vão desde o nível do mar até 2300 m, sendo mais indicado nos limites de 600 a 800 m. Outro aspecto importante é o regime de luz de 12 horas/dia, sendo que dias mais longos resultam em maior crescimento da parte aérea, conseqüentemente, reduzem o desenvolvimento das raízes de reserva (MATOS; CARDOSO, 2003).

O plantio da mandioca é realizado por propagação vegetativa com manivas-semente, 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).

Por outro lado, em situação de solos mal drenados, situados em área de baixada e sujeitos a encharcamento, há maior ocorrência da podridão de raízes, sendo indesejável, em áreas de solos argilosos pode comprometer o desenvolvimento das raízes. Desta forma, práticas conservacionistas apresentam-se como um fator indispensável para o bom rendimento da cultura (MATTOS; CARDOSO, 2003).

A margem larga de adaptação permitiu a mandioca sua expansão em diferentes perfis edafoclimáticas, no qual é verificada a contribuição dos principais continentes: Oceania (0,1%), Américas (11,3%), Ásia (32,3%) e África (54,3%). Traduzidos em valores foram produzidos no mundo aproximadamente 277,1 milhões de toneladas de raízes em 2016 (FAOSTAT, 2018).

O Brasil está em terceiro lugar, contribuindo com 7,9 %, em resposta a 1,4 milhões de hectare de área plantada (produtividade média de 14,9 t ha<sup>-1</sup>), logo atrás da Nigéria e Tailândia com 18,5% e 11,4%, respectivamente (FAOSTAT, 2018).

Em nível nacional, as regiões fisiográficas Norte e Nordeste representam as principais produtoras e consumidoras, com participação de 34,5% e 24,3%, respectivamente. E entre as unidades federativas, o Pará é o principal produtor, responsável por 61% da produção total na região Norte (IBGE, 2018). Por outro lado, o Estado do Pará apresenta baixa produtividade, 14 t ha<sup>-1</sup>, haja vista que valores

superiores (até 90 t ha<sup>-1</sup>) já foram relatados em outras regiões do Brasil, quando aplicado o manejo adequado (ALVES et al., 2008).

Entre as vantagens da cultura da mandioca destaca-se sua utilização para diversas finalidades incluindo o uso na alimentação humana, animal e como matéria prima e combustível nos setores industriais, com aproveitamento de raízes, hastes e folhas (CONAB, 2013). Na perspectiva de combate a fome representa um dos alimentos estratégicos nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, sendo vital para segurança alimentar e obtenção de renda de pequenos produtores e suas famílias (FAO, 2008), o que a torna um dos principais alimentos da cesta-básica (SEAB, 2015) e destaca sua relevância em cunho social, cultural e econômico.

A despeito dos inúmeros benefícios alguns fatores têm atuado como limitantes à produção de raízes, dentre os quais se destaca doenças como a podridão radicular. Na região Norte, em especial no Estado do Pará, as estimativas de perdas variam de 30% a 50%, podendo atingir perda total da lavoura (TREMACOLDI, 2016).

## **2.2 Doenças e as podridões radiculares**

Na cultura da mandioca vem se observando a ocorrência de algumas doenças de etiologia bióticas. Algumas delas são potencializadas devido à escassez de práticas agrícolas como o uso de variedades resistentes, seleção de material de plantio, calagem e adubação que atendam as necessidades da planta. A ausência destas técnicas favorece a ocorrência de diversas doenças, tendo como agentes etiológicos bactérias, fungos, oomicetos e/ou vírus (MORAIS et al., 2014).

As doenças em geral têm sido um fator limitante na produção e avanço da mandiocultura no Brasil. As doenças da cultura da mandioca bacterioses, superalongamento, superbrotamento, doenças virais e podridões radiculares (PERUCH et al., 2013; JUNIOR; ALVES, 2016). Sendo que as podridões radiculares são responsáveis por apresenta como um expoente na redução de produtividade, pois além das perdas diretas devido afetar as raízes, ao longo do tempo inviabilizam as áreas de cultivo devido a reincidência da doença proveniente dos de estruturas de resistência e esporos de fitopatógenos (NOTARO et al., 2013), o que conduz a perdas progressivas (MOSES et al., 2007) que em geral variam de 30% a 100% (GOMES; LEAL, 2003).

Em função das perdas que a podridão de raízes vem causando à mandiocultura, medidas estão sendo buscadas no sentido de reduzir a ocorrência da doença, todavia, essas tem se baseado no uso de maniva-semente sadia (TREMACOLDI, 2014), rotação de culturas, liberação de micro-organismos antagonistas, manejo do solo (STEFANELLO et al., 2017) e principalmente pelo plantio de variedades resistentes. Este ultimo destacando-se pelas vantagens da eficácia de controle, facilidade na aplicação e baixo custo para o produtor (LUCENA et al., 2015).

Nessas circunstâncias, os estudos com foco na podridão radicular demonstram que os agentes etiológicos são representados por um complexo de fungos que se distinguem em três principais grupos em função dos sintomas provocados nas raízes, representado (i) podridão mole: associada a *Phytophthora* spp. e *Pythium* spp. (POLTRONIERI et al., 1997); (ii) podridão seca, causada por *Fusarium* spp., *Corallomyces repens* (sinonímia de *Nectria mauritiicola* e *Sphaerostilbe repens*), *Armillaria mellea* e *Sclerotium rolfsii*; e (iii) podridão negra associado a espécies da família Botryosphaeriaceae; *Neoscytalidium hyalinum*, *Lasiodiplodia* spp. e *Neofusicoccum mangiferae* (OLIVEIRA et al., 2017; MACHADO et al., 2014).

Embora ocorra em alguns casos a predominância de determinadas espécies conforme relatado em outros trabalhos (NOTARO et al., 2013), é comum a ocorrência de mais de uma espécie causando sintomas de podridão, considerando a mesma área (BOAS et al., 2016), sendo a identificação correta um fator essencial para a elaboração das medidas de controle mais adequadas, assim como a seleção de variedades resistentes.

Para o caso da podridão de raízes de mandioca em Santarém-PA, os primeiros relatos datam o ano 2001, causando inicialmente a morte de plântulas da variedade “olho de boto” em associação á *F. solani* (POLTRONIERI et al., 2002), a partir de então tem sido detectada a ocorrência dessa espécie nos casos de podridão radicular na região.

### **2.3 Sintomatologia**

A podridão de raízes pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (GOMES; LEAL, 2003), porém, na região de Santarém-PA, geralmente, tem sido observado à ocorrência em dois principais estádios: (i) no desenvolvimento inicial da planta, expressando sintomas de apodrecimento do coleto, amarelecimento e murcha,

resultando na morte das plântulas e/ou plantas jovens (POLTRONIERI et al., 2002); ou (ii) na fase final do ciclo da cultura, causando o apodrecimento das raízes, expressando sintomas com coloração marrom do tecido e exsudação de líquido fétido, e na parte aérea ocasionam sintomas que são refletidos pela queda de folhas e murcha ou morte descendente dos ramos. Em alguns casos é possível que o patógeno ocorra de forma assintomática na planta (BANDYOPADHYAY et al., 2006).

A patogenicidade de *F. solani* ocorre por meio da colonização dos vasos condutores da planta, interrompendo o fluxo de seiva que podem apresentar murcha descendente dos ramos conduzindo rapidamente ao declínio total da planta (SILVA, 2017), ou ocorrer de forma assintomática na planta (BANDYOPADHYAY et al., 2006).

Os sintomas ocorrem com maior severidade no período de maior precipitação, embora possa ocorrer em qualquer período do ano (SILVA; ANDRADE, 2011). Outros fatores que podem influenciar são as características físico-químicas do solo, sendo notoriamente favorecido por solos ácidos, adensados e com alto conteúdo de argila e matéria orgânica. Áreas com períodos de alagamento também se mostram mais propensas para o desenvolvimento da doença, a exemplo da várzea e áreas de baixada com drenagem insuficiente (GOMES; LEAL, 2003; MATOS; CARDOSO, 2003; MASSOLA JUNIOR; BEDENDO, 1997).

A distribuição da doença no campo ocorre de maneira desuniforme, cujos sintomas se apresentam em reboleira, a partir de uma fonte de inóculo que podem ser restos culturais e/ou materiais de propagação contaminados (FUKUDA; OUTSUBO, 2010), ou através de esporos disseminado através da água, ferramentas, implementos e trânsito de veículos, pessoas e animais (AMORIM et al., 2011).

#### **2.4 *Fusarium solani***

*Fusarium solani* é um fungo habitante do solo, sendo considerada uma espécie cosmopolita com ampla gama de hospedeiro, incluindo diversas espécies de interesse agrônômico. Esta espécie assim como outras do gênero *Fusarium*, podem produzir substâncias tóxicas a humanos e animais (SUMMERELL et al., 2003); denominadas de micotoxinas, como tricotocenos, fumoniosinas, zearalenona, monilioformina e o ácido fusárico (SANTIN et al., 2000).

Este fungo pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Nectriaceae (INDEX FUNGORUM, 2017). A identificação

tradicional das espécies pertencentes ao gênero *Fusarium* é realizada com base na avaliação dos marcadores morfológicos, sendo avaliados os descritores como: coloração e pigmentação da cultura, taxa de crescimento micelial, perfil metabólico e especificidade de hospedeiros (LESLIE et al., 2001). No caso de *F. solani* são consideradas, principalmente, as características do tipo de conídios, conidióforos e ocorrência de clamidósporos que são estruturas de paredes espessas, duplas e rugosas, podendo ocorrer isoladamente na extremidade dos conidióforos, entre as hifas ou nos macroconídios (NELSON et al., 1983).

As características de *F. solani* são definidas pela presença de microconídios, geralmente, em grande quantidade, uni até tricululares, ovalados formado na extremidade de microconidióforos; Enquanto, os macroconídios são fusiformes, multiseptados, formados em monofiálides longas sobre hifas, apresentam paredes espessas e, geralmente, cilíndricas nas superfícies dorsal e ventral (BEDENDO, 2011). Presença de conidióforos em monofiálide longas, ramificados e não ramificados (NELSON et al., 1983). Embora existam pequenas variações na dimensão das estruturas fúngicas, a literatura relata a ocorrência de macroconídios falciformes alguns quase retos formados em monofiálides longas sobre hifas, medindo aproximadamente 39,7  $\mu\text{m}$  – 50,0  $\mu\text{m}$  x 4,41  $\mu\text{m}$  – 7,35  $\mu\text{m}$ , com 3 a 7 septos, pouco numerosos. Produz abundantes microconídios em falsas cabeças, elípticos, medindo 7,35  $\mu\text{m}$  – 22,05  $\mu\text{m}$  x 2,2  $\mu\text{m}$  – 5,88  $\mu\text{m}$  (LESLIE; SAMMURELL, 2006).

Em meio de cultura BDA apresenta bom desenvolvimento, em alguns casos com a presença abundante de micélio aéreo. A coloração da superfície vai de branca-creme, azul esverdeado ou azul, porém, nunca laranja (NELSON et al., 1983).

## **2.5 Patógeno-hospedeiro**

De modo geral, o conhecimento detalhado dos micro-organismos envolvidos em um patossistema é essencial para melhor compreensão de como ocorre à dinâmica de interação entre eles, e de que forma os fatores externos podem estar atuando (AMORIM et al., 2011).

A doença em plantas deve ser vista como exceção, isto é, as plantas em geral apresentam resistência natural ao ataque dos patógenos. O determinante para que ocorra uma interação positiva entre patógeno e hospedeiro se dá a partir de uma luta entre os

dois organismos envolvidos, no qual a planta busca evitar a penetração/colonização do patógeno através de mecanismos estruturais e/ou bioquímicos (PASCHOLATTI; LEITE, 1995).

Portanto, as armas de defesa das plantas ocorrem devido à combinação de características estruturais, representadas por barreiras físicas que atuantes na inibição da entrada e disseminação do patógeno, e reações bioquímicas que ocorrem nas células constituintes dos diferentes tecidos da planta e por sua vez produzem substâncias tóxicas para o patógeno criando condições inapropriadas a seu desenvolvimento no tecido vegetal (AGRIOS, 2004).

Dessa maneira, a ocorrência de doenças em plantas está condicionada a coexistência simultânea de três fatores: hospedeiro suscetível, um patógeno em potencial e condições ambientais favoráveis, principalmente no que diz respeito à temperatura e umidade (AMORIM et al., 2011). Em casos de sucesso na ocorrência da doença, podem ser verificados efeitos caracterizados pelo desenvolvimento anormal das plantas podendo resultar na morte, portanto, quanto mais favorável o ambiente e quanto maior o nível de suscetibilidade do hospedeiro, em maior grau e em menor tempo serão os danos causados pela moléstia (VIDA et al., 2004).

Na dinâmica da interação patógeno-hospedeiro a teoria gene-a-gene tem sido uma forma prática de explicar o processo, a qual determina que para cada gene de avirulência (V) do patógeno deve coexistir um gene respectivo de resistência (R) na planta, dessa forma, a resistência ocorre apenas quando o patógeno possui o gene V e a planta o gene correspondente R, sendo qualquer outra situação resultante em interação positiva ou o que se chama de susceptibilidade do hospedeiro (CAMARGO, 2011; VALOIS, 2016).

## **2.6 Fontes de resistência**

Em vista dos prejuízos acometidos pela podridão radicular na cultura da mandioca, os programas de melhoramento tem buscado identificar materiais com múltipla resistência aos patógenos causadores dessa doença (ONYEKA et al., 2005a), aliando práticas conservacionistas que fortaleçam o manejo da doença, afim de manter a eficácia do controle varietal por mais tempo (BOAS et al., 2016).

Para identificação de fontes de resistência, inicialmente, é necessário submeter às variedades à presença do patógeno, considerando a ação de fatores climáticos e outros que possam interferir na interação patógeno-hospedeiro (LIMA et al., 2005). Para isso é fundamental dispor de uma metodologia que possibilite a diferenciação das variedades de maneira rápida, com baixo custo e, principalmente, que apontem resultados representativos.

Portanto, a busca por fontes de resistência faz uso da grande variabilidade genética da cultura que vem sendo mantida e explorada por instituições nacionais e internacionais em bancos ativos de germoplasma (OLIVEIRA et al., 2014). Sobretudo, a maior parte dos estudos para melhoramento genético da mandioca tem se concentrado na busca por materiais produtivos e que apresentem resistência às principais pragas e doenças (BOAS et al., 2016).

Nesse contexto, algumas instituições desempenham um papel fundamental na manutenção e conservação da variabilidade genética da mandioca: Em nível internacional o CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) é considerado o de maior importância, em função de deter um grande número de germoplasma do gênero *Manihot*, com acessos provenientes de diversas regiões geográficas. Em nível nacional a EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) situada em Cruz das Almas/BA é a instituição de maior relevância nesse campo de pesquisa, em função do maior número de acessos que somados chegam a aproximadamente 1500 acessos, além de 300 mantidos *in vitro* e outros 600 distribuídos entre espécies silvestres (EMBRAPA/ALELO, 2015/2017).

Como fontes de resistência a podridão de raízes já identificadas, destacam-se as variedades Kiriris e Aramaris lançadas pela Embrapa (FUKUDA et al., 2002), porém, há relatos da quebra de resistência da variedade Aramaris no litoral de Sergipe e na região de Belém, Estado do Pará (Comunicado pessoal, Prof. Dr. Carlos I. Aguilar-Vildoso).

## **2.7 Resistência vertical e horizontal**

Os conceitos dos diferentes tipos de resistência genética levam em consideração ao pressuposto da possibilidade de ocorrência de “raças fisiológicas” do patógeno. Esse termo é usado para designar aqueles patógenos pertencentes à mesma espécie, que são morfologicamente semelhantes, porém, com virulência diferente. Em

outras palavras, o termo “raça fisiológica” indica a interação diferencial que ocorre entre raças do patógeno e as variedades hospedeiras (BESPALHOK et al., 2007). Logo, as raças fisiológicas podem ser diferenciadas pela reação que causam a um determinado grupo do hospedeiro, que nesses casos passam a ser chamadas de variedades diferenciadoras (BUENO et al., 2001).

No que diz respeito ao tipo de resistências em plantas, considera-se que existem aquelas que são efetivas contra algumas raças do patógeno e as que são efetivas contra todas as raças (VANDERPLANK, 1984). Portanto, para determinação do tipo de resistência do hospedeiro deve-se então considerar a existência ou não de interação diferencial entre o patógeno e os possíveis grupos do hospedeiro (VALOIS, 2016).

Desse modo, a resistência genética das plantas pode ser classificada em: Resistência vertical: quando existe interação diferencial entre as raças virulentas do patógeno e os grupos do hospedeiro, em geral é controlada por poucos genes, nesse caso o patógeno é chamado de virulento; e Resistência horizontal: determinada pela interação não diferencial entre patógeno e hospedeiro, sendo controlada por vários genes, por sua vez o patógeno é chamado de agressivo, com níveis diferenciados entre eles (CAMARGO, 2011; VALOIS, 2016).

Além da resistência vertical e horizontal, outros termos também são usados para designar formas de resistência em plantas, sendo eles: a) resistência completa - caracterizada por não permitir nenhum nível de reprodução do patógeno; b) imunidade – determinada como resistência completa permanente; c) tolerância – definida pela quantidade da doença e o efeito no rendimento da planta e f) hipersensibilidade – relacionada à reações químicas manifestadas em partes da planta atacada pelo patógeno, impedindo assim que ele se alastre (VALOIS, 2016).

Dessa forma, no estudo dos patossistemas é de grande interesse do pesquisador fazer a identificação do tipo de resistência associada na interação patógeno-hospedeiro, realizando previamente a validação do método com a resposta de campo, de genótipos resistentes e suscetíveis. Por outro lado, é fundamental que o método usado para esta avaliação possa detectar os mecanismos que conferem resistência ao hospedeiro, assim como determinar o tipo da variabilidade no patógeno.

### 3.0 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Validar o método de inoculação em raízes destacadas para diferenciação de variedades de mandioca da região Oeste do Pará, quanto à podridão seca de raízes e determinar a variabilidade na patogenicidade de *F. solani*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar o efeito da fenologia das raízes na diferenciação das variedades de mandioca;
- b) Validar o método para estudo da ocorrência de raças fisiológicas do patógeno;
- c) Determinar a ocorrência de grupos de agressividade para os isolados de *F. solani* estudados;
- d) Relacionar a época do verão e inverno amazônico no patossistema *Fusarium*-mandioca a partir do teste em raízes destacadas;
- e) Avaliar o efeito de diferentes diâmetros de inoculação no comportamento das variedades;

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Patógeno

Para a execução dos experimentos foram utilizados cinco isolados do fungo *F. solani*, patógenos obtidos de raízes de mandioca com podridão seca, dos quais o isolado “BGM360” foi cedido da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo pesquisador Saulo Alves Santos de Oliveira. Os outros isolados foram cedidos pelo grupo de pesquisa do CNPq “Melhoramento e manejo da mandioca na região Amazônica” da UFOPA, os quais foram obtidos no plano de trabalho de iniciação científica dos acadêmicos Vinicius Sousa Lima e Shaira Pinto de Castro, três isolados provenientes do município de Santarém e um de Mojuí dos Campos (Tabela 1).

Tabela 1 – Código dos isolados, municípios de coleta e coordenadas geográficas dos isolados de *F. solani* da região Oeste do Pará.

Código do isolado	Região de coleta do isolado	Comunidade	Coordenada geográfica dos pontos de coleta
STM01	Santarém	Boa Esperança	02°39'37,38" S 054°29'33,98" O
STM02	Santarém	Império	02°40'50,1" S 054°31'33,96" O
STM03	Santarém	Boa Esperança	02°44'47,76" S 054°31'55,08" O
MOJ01	Mojuí dos Campos	Tracoá	02°40'26,04" S 054°49'7,08" O

### 4.2 Material vegetal

As raízes foram obtidas na comunidade Boa Esperança localizada às margens da Rodovia Estadual PA-370 (Curuá-Una), km 45, na região de Santarém-PA. As variedades utilizadas possuem comportamento de campo resistente e susceptível à podridão causada por *Fusarium solani*, as quais foram:

1. Amarelinha (AMR): resistente em condição de campo. Apresentando polpa de coloração amarelo intenso. As raízes foram selecionadas de área situada nas coordenadas geográficas 02°42'31'31,68" S 054°30'30,36" O

2. Bem-te-vi (BTV): suscetível à podridão radicular em condição de campo. Com raízes com polpa de coloração creme a ligeiramente amarelo. Colhidas na propriedade de Eugênia Ribeiro da Silva e de José Gesualdo Costa, situada nas coordenadas 02°44'25,2" S 054°31'32,58" O.

#### **4.3 Pré-tratamento das raízes**

Após a colheita, as raízes foram lavadas para retirada do excesso de solo, em seguida foi realizada a desinfestação superficial imergindo as raízes em solução de hipoclorito de sódio (200 ppm ou ug/mL) durante dois minutos, e depois espalhadas para secar. No experimento na época da chuva, houve necessidade de tratamento adicional às raízes após a desinfecção superficial, com tiofanato-metílico (Cercobim 700 WP) a 490 ug do IA/mL, por imersão durante 2 minutos. Este fungicida atuou como protetor nos primeiros milímetros da casca, por não haver estômatos funcionais, desta forma ao ser retirada a casca na inoculação, não deve ocorrer efeito do fungicida sobre o patógeno inoculado (comunicado pessoal, Carlos I. Aguilar-Vildoso).

#### **4.4 Inoculação em raízes destacadas**

A metodologia utilizada na inoculação em raízes foi adaptada de Onyeka et al., (2005a), assim como da utilizada nos programas de melhoramento de mandioca da Embrapa para seleção de fontes de resistência a patógenos associados à podridão radicular.

As inoculações foram realizadas através de ferimentos com auxílio de um perfurador de metal (diâmetro de 12 mm), onde retirou-se a casca, em pontos equidistantes da raiz, nas regiões proximal, mediana e distal (Figura 1). Nas perfurações foram adicionados 30 µl de água destilada e autoclavada, com objetivo de favorecer o desenvolvimento do fungo, em seguida foram depositados discos (com diâmetro de 5 mm) contendo meio de cultura com estruturas vegetativas de *F. solani* com 10 dias de cultivo.

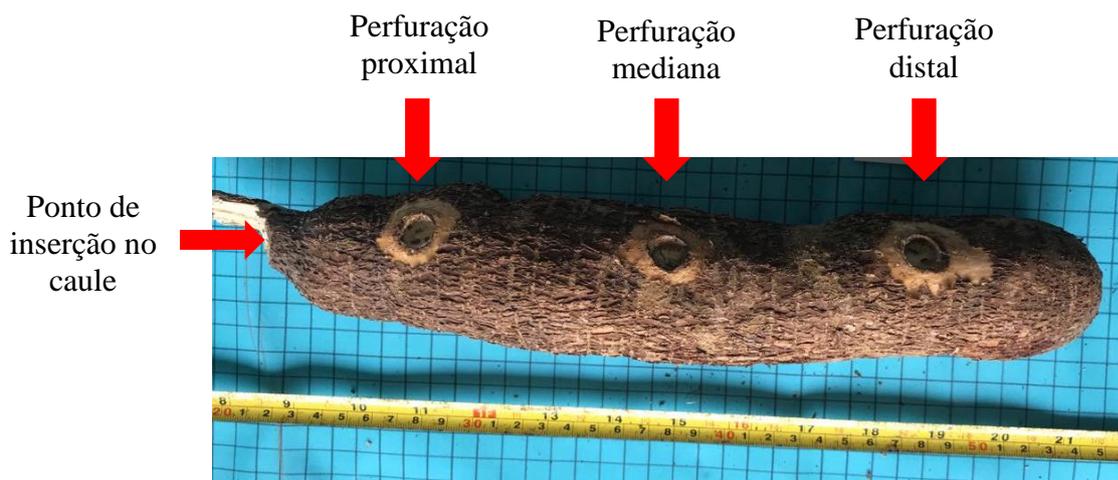


Figura 1 – Visão das perfurações equidistantes para inoculação em raiz de mandioca da variedade ‘Bem-te-vi’.

Após a inoculação, as raízes foram mantidas em câmara úmida em bandejas plásticas fechadas com sacos plásticos (0,06  $\mu\text{m}$ ) durante 10 dias sob temperatura ambiente em uma sala não climatizada. Para criar a câmara úmida no interior das bandejas, foram mantidos copos plásticos descartáveis de 50 ml com água até metade da sua capacidade.

#### 4.5 Experimentos

Os experimentos foram divididos em quatro fases:

- I) Raízes inoculadas aos seis meses de idade, durante o verão Amazônico.
- II) Raízes inoculadas aos quatorze meses de idade no período do inverno Amazônico com maior precipitação pluviométrica (maio de 2018).
- III) Raízes inoculadas aos dezoito meses de idade, no período do verão Amazônico (outubro de 2017).
- IV) Diferentes diâmetros da perfuração na inoculação: Nesta fase avaliou-se o efeito da variação dos diâmetros de inoculação em raízes destacadas, obtidas na época do verão Amazônico (mês de novembro de 2017).

O experimento na época de maior concentração pluviométrica (fase II) foi realizado duas vezes, devido no primeiro o elevado percentual de contaminação de campo ter comprometido os resultados dos tratamentos. Visto que a desinfestação superficial em hipoclorito de sódio (2%) não foi eficiente para controlar os fungos havendo a necessidade de um pré-tratamento das raízes com o fungicida tiofanato-metílico.

#### 4.6 Características avaliadas

As avaliações foram realizadas a partir do fatiamento das raízes no centro das perfurações, considerando a largura e profundidade da lesão (medidas com régua em escala milimétrica) formada na polpa (Figura 2).

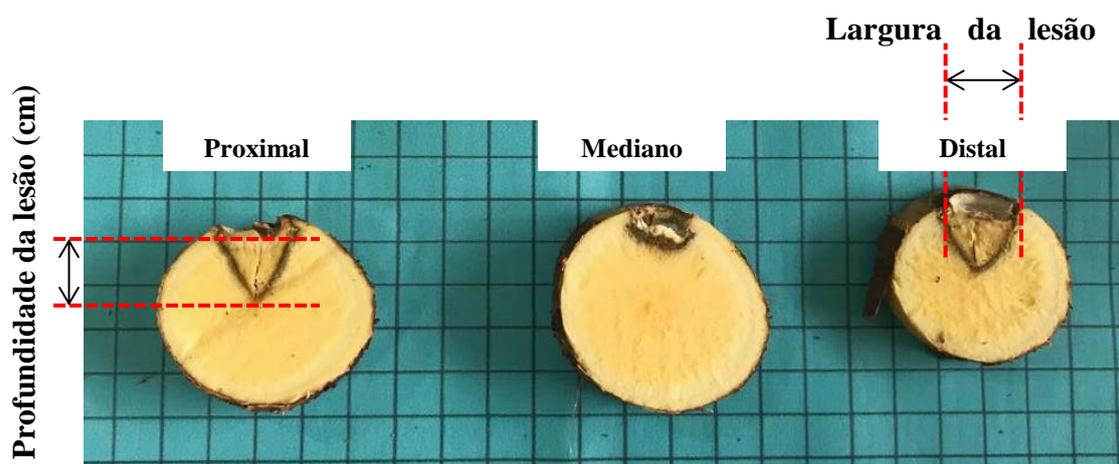


Figura 2 – Cortes transversais nas raízes da mandioca ‘Amarelinha’ para visualização das lesões provocadas pela inoculação com *F.solani* nas perfurações proximal e distal após dez dias.

#### 4.7 Delineamento experimental e estatística

Os experimentos foram conduzidos em fatorial inteiramente casualizado com dez repetições (raiz) por tratamento. A combinação dos fatores foi feita considerando as diferentes fases experimentais, da seguinte forma:

##### 4.7.1 Experimentos para avaliação dos estádios fenológicos

Os experimentos foram individualmente fatoriais 2x5, mas foram agrupados por uma análise combinada dos três experimentos (2x5x3), com 10 repetições.

Fator 1- variedades de mandioca (2 tratamentos): Amarelinha (AMR) e Bem-te-vi (BTV).

Fator 2 – Isolados de *F. solani* (5 tratamentos): STM01; STM02; STM03; MOJ01; e BGM360.

Fator 3 – Idade das raízes/ época da inoculação (3 tratamentos)

Como controle negativo, raízes das duas variedades foram perfuradas e em seguida discos do meio de cultura (sem patógeno) foram depositados nas perfurações proximal e distal.

#### **4.7.2 Diferentes diâmetros da perfuração de inoculação (fatorial 2x6)**

Fator 1- variedades de mandioca (2 tratamentos): Amarelinha (AMR) e Bem-te-vi (BTV).

Fator 2 – Diâmetro de inoculação (6 tratamentos): 3 mm, 4 mm, 5 mm, 6 mm, 8 mm e 12 mm.

Como controle negativo considerou-se o diâmetro de 12 mm por ser o padrão utilizado nos procedimentos de inoculação na UFOPA. Para este experimento utilizou-se o isolado BGM360.

Os parâmetros estatísticos utilizados foram a “média” e “variância”. Os dados foram transformados por  $\sqrt{(x+1)}$ . Os mesmos foram processados em planilha Excel®, pacote da Microsoft Office® 2010 e submetidos à análise de variância fatorial sendo as médias agrupadas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa estatístico ©Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

## 5 RESULTADOS

Ao avaliar as lesões das inoculações observou-se que para todos os isolados as lesões apresentaram aspecto semelhante nas variedades locais Amarelinha e Bem-te-vi, das áreas de produção da comunidade de Boa Esperança, município de Santarém-Pará (Figura 3).

Em comparação ao constatado por Boas et al. (2016), para as lesões provocadas por inoculação com diferentes espécies de *Fusarium* em raízes de mandioca, foram observadas as lesões denominadas para genótipos resistentes, moderadamente resistente, moderadamente suscetível (Figuras 3-1C-D e 3-2C-D) e altamente suscetível; mas não as lesões para suscetíveis. Desta forma, dentre os padrões de lesão pré-determinados por Boas e colaboradores (2006), neste trabalho somente foram consideradas as lesões do tipo moderadamente resistente e moderadamente suscetíveis, enquanto as lesões para os genótipos resistentes foram consideradas escapes ou possíveis falhas na inoculação, assemelhando-se a testemunha (Figuras 3-1B e 3-2B), ao passo que o padrão de lesão altamente suscetível foi considerado provocado por outras podridões vindas do campo (Figura 3-1A e 3-2A).

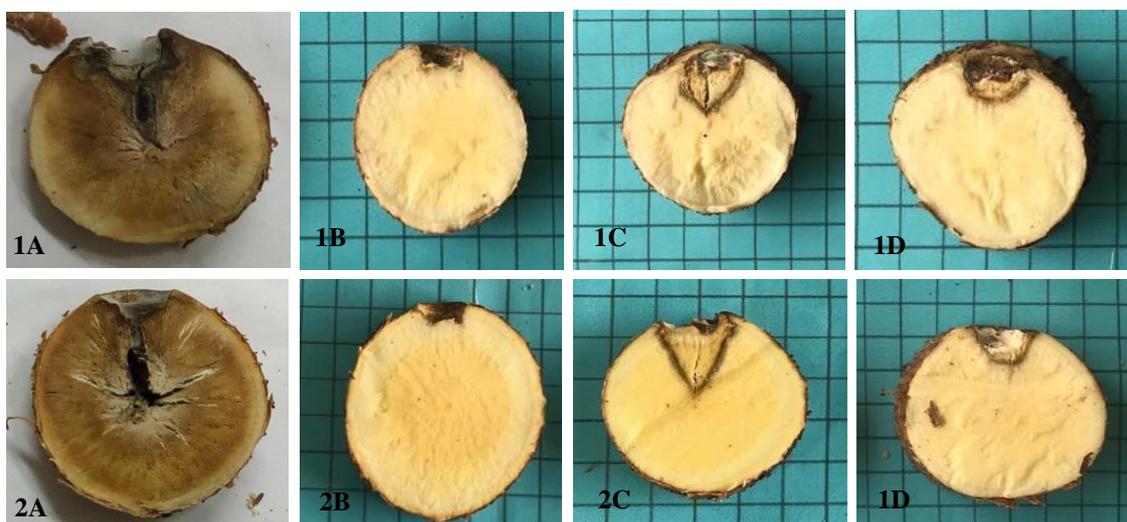


Figura 3 - Variações dos aspectos nas regiões inoculadas (letras A, C e D) e testemunha (letras B), em raízes das variedades 1) 'Bem-te-vi' e 2) 'Amarelinha'. A – lesão provocada por outros patógenos provenientes do campo; B – não ocorrência de lesão; C – lesão em “V” e D – lesão arredondada.

Houve necessidade de ajuste na metodologia para as inoculações feitas no período de maior intensidade pluviométrica, que se constituiu na utilização do fungicida cujo ingrediente ativo foi o tiofanato metílico durante a etapa de pré-tratamento das

raízes, sendo esse eficiente no controle de fungos de podridão pós-colheita e sem efeito evidente no aspecto das lesões produzidas por *F. solani*, como pôde ser observado ao comparar às raízes que sofreram pré-tratamento com as que não sofreram (Figura 4).

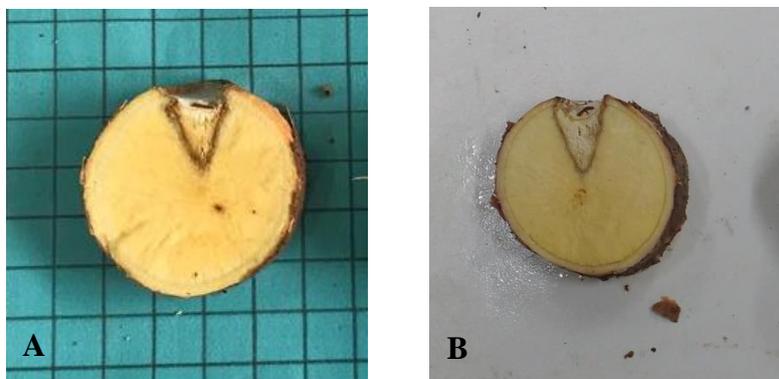


Figura 4 - Aspecto das lesões nas raízes de mandioca inoculadas com *F. solani*, comparando as que sofreram pré-tratamento com tiofanato metílico (A) e as que não sofreram (B).

As lesões apresentaram padrão na forma de crescimento predominantemente em “V” (ou em cunha). Entretanto, esperava-se que a colonização do tecido na polpa apresentasse crescimento uniforme nos sentidos laterais e em profundidade, resultando em lesões de forma arredondada desenvolvidas a partir do ponto de inoculação, uma vez que os diâmetros das perfurações foram constantes nos experimentos dos estádios fenológicos, no entanto, houve restrição no crescimento lateral das lesões.

De modo geral, as lesões obtidas na polpa da raiz apresentaram-se típicas de *F. solani* nos três estádios fenológicos analisados, possibilitando a recuperação do patógeno e permitindo que os postulados de Koch fossem confirmados.

### 5.1 Profundidade da lesão

Nos experimentos, a profundidade da lesão era esperada ser maior, quanto maior a facilidade para o patógeno colonizar a polpa da raiz nos diferentes fatores em estudo. As dimensões das lesões variaram significativamente em função dos tratamentos segundo os dados apresentados na Tabela 2, não sendo significativas as variações das médias para as interações “variedade versus idade” e para “variedade versus idade versus isolado”.

Tabela 02: Efeito da variedade, isolado e estágio fenológico na profundidade das lesões provocadas por *Fusarium solani* em raízes destacadas de mandioca aos 10 dias após inoculação.

Isolado	Variedades		Estádio fenológico (meses pós-plantio)			Média geral
	AMR	BTV	Seis meses	Quatorze Meses	Dezoito meses	
STM02	1,202 Aa	0,978 Ab	0,885 Ab	1,025 Ab	1,360 Aa	1,090 A
MOJ01	1,042 ABa	0,882 Aa	0,798 Ab	0,803 ABb	1,285 Aa	0,962 A
BGM360	0,875 Ba	0,598 Bb	0,438 BCc	0,668 Bb	1,105 Aa	0,737 B
STM01	0,873 Ba	0,445 BCb	0,653 ABa	0,673 Ba	0,653 Ba	0,659 B
STM03	0,403 Ca	0,368 Ca	0,373 Ca	0,400 Ca	0,385 Ca	0,386 C
Média geral	0,879 a	0,654 b	0,629 b	0,714 b	0,958 a	–

\*AMR= variedade ‘Amarelinha’; BTV=variedade ‘Bem-te-vi’

\*\*Médias com letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

As variedades apresentaram variação significativa nas médias de profundidade da lesão na análise conjunta dos três estádios fenológicos ( $p < 0,001$ ), entretanto, o comportamento das variedades em pós-colheita não correspondeu à resistência de campo, sabida para as duas variedades da região Oeste do Pará. Ao fazer a inoculação diretamente na polpa da raiz ocorreu uma inversão nos comportamentos esperados para a profundidade das lesões, sendo maior na variedade ‘Amarelinha’ (0,879 cm) do que na ‘Bem-te-vi’ (0,654 cm) como apresentado na Tabela 2. Em pós-colheita, o patógeno encontrou um substrato que proporcionou maior facilidade para seu crescimento nas raízes da variedade ‘Amarelinha’, diferindo das condições de campo na interação *F. solani* – *M. esculenta*; isto é, as interações pós-colheita foram diferentes da podridão de raízes em campo ou a resposta diferencial de campo depende da manutenção das raízes ligadas à planta.

Os isolados apresentaram comportamento geral diferente entre eles ( $p < 0,001$ ), podendo considerar como níveis distintos de agressividade à podridão pós-colheita, permitindo separação em três grupos. Os isolados STM02 e MOJ01 apresentaram maior nível de agressividade (1,090 e 0,962 cm, respectivamente), BGM360 e STM01 agressividade intermediária (0,737 e 0,659 cm, respectivamente) e STM03 menor agressividade (0,386 cm). Essa diferença de comportamento provavelmente esteja relacionada com a produção de enzimas utilizadas na degradação de substâncias

presentes na raiz para obtenção de nutrientes pelo fungo, havendo resposta diferencial na produção dessas enzimas entre os isolados, o que refletiu em diferenças de agressividade (Tabela 2).

Houve comportamento diferencial para o fator época de colheita, sendo que a média geral da profundidade de colonização foi maior nas raízes inoculadas aos dezoito meses (0,958 cm), em relação às raízes com seis e quatorze meses, que não diferiram entre si (médias 0,629 e 0,714, respectivamente) (Tabela 2). Embora a profundidade média não tenha apresentado variação entre os valores dos períodos mais precoces, observou-se que as dimensões das lesões foram mais profundas com a maior idade das raízes.

A interação “variedades versus isolados” foi significativa ( $p=0,001$ ), portanto, demonstrou comportamento de virulência para o grupo de isolados STM02, STM01 e BGM360, enquanto, para STM03 e MOJ01 não ocorreram variações entre as médias obtidas nas variedades (Tabela 2). Por outro lado, para as lesões obtidas com os isolados que apresentaram interação diferencial, todas foram mais profundas em ‘Amarelinha’ do que em ‘Bem-te-vi’. No comportamento dos isolados dentro de variedades, observou-se que não ocorreram inversões no padrão de agressividade em relação ao observado no agrupamento geral, de modo que a profundidade da lesão foi decrescente considerando a seguinte ordem STM02, MOJ01, BGM360, STM01 e STM03, tanto em ‘Amarelinha’ como em ‘Bem-te-vi’. Embora, a análise estatística tenha indicado interação diferencial significativa para alguns isolados, o padrão de comportamento das variedades se manteve inalterado, pelo qual, esta interação não se deve à ocorrência de raças em pós-colheita.

Por sua vez, a interação “época de colheita versus isolado”, também, foi significativa ( $p<0,001$ ), com variações nas médias dos isolados STM02 e MOJ01, que diferiram para raízes com dezoito meses em relação às com seis e quatorze, que por sua vez não diferiram entre si. Ao passo que para o isolado BGM360 houve variação entre as médias obtidas nas três épocas (Tabela 2). Por outro lado, os isolados STM01 e STM03 não diferiram entre as épocas de colheita avaliadas. Em geral, os isolados apresentaram dois padrões de crescimento, que foram representados um pelo grupo dependente e outro independente da época de colheita ou idade. O considerado dependente possuem lesões menores que aumentam com a idade ou época da colheita, sendo representado pelos isolados STM02, MOJ01 e BGM360. Ao passo que o grupo independente foi representado pelos isolados STM01 e STM03 e não tiveram variação

significativa na profundidade nas diferentes épocas de colheita, conforme representado na figura 5. Estes padrões explicam as inversões nos diferentes isolados, principalmente para o BGM360 e STM01, que inverteram suas posições ao serem comparados aos seis meses para os dezoito meses na profundidade das suas lesões (Figura 5).

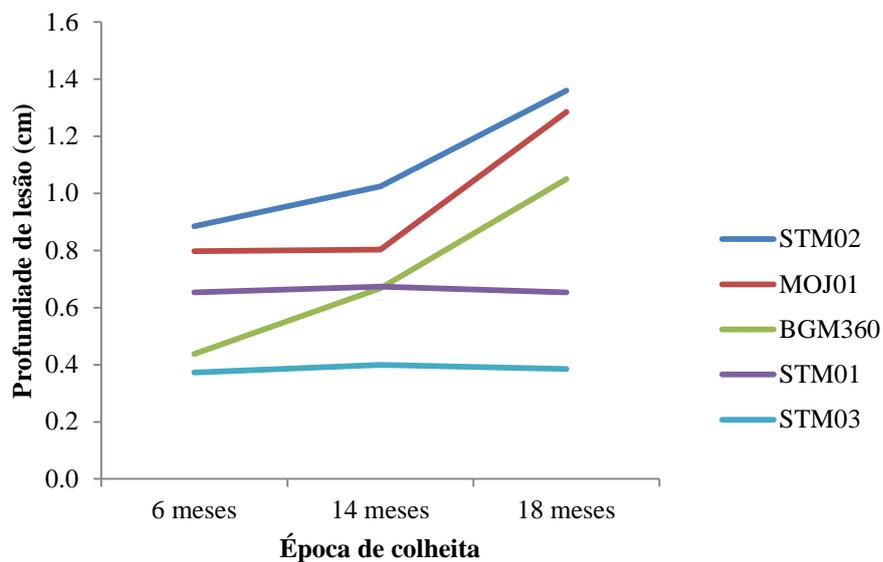


Figura 5 – Influência da época de colheita na profundidade média das lesões em raízes destacadas de mandioca para diferentes isolados de *F. solani*.

## 5.2 Largura da lesão

Para a largura da lesão houve influência significativa nas variedades, nos diferentes isolados e na época de colheita, assim como todas as interações (Tabela 4), diferentemente do comportamento observado para a profundidade das lesões.

As variedades apresentaram variação nas médias de largura da lesão na análise conjunta das épocas de colheita ( $p < 0,001$ ), entretanto, assim como para a “profundidade”, o comportamento geral das variedades em pós-colheita não correspondeu à resistência de campo das variedades da região Oeste do Pará, de modo que ‘Amarelinha’ apresentou em geral média superior (1,175 cm) a ‘Bem-te-vi’ (0,977 cm) (tabela 4).

Os isolados revelaram variações nas médias para a componente largura da lesão, com agrupamento geral correspondente ao que foi determinado pela profundidade

da lesão, no qual o nível de agressividade foi considerado maior para STM02 e MOJ01, intermediário para BGM360 e STM01 e menor para STM03, demonstrado na Tabela 3.

As épocas de colheita variaram entre as médias de largura da lesão. Em linhas gerais as raízes mais novas apresentaram maior crescimento lateral, de modo que houve agrupamento das médias obtidas aos seis e quatorze meses (1,161 e 1,113 cm, respectivamente) sendo superiores às obtidas aos dezoito meses (0,954 cm) (Tabela 3).

Na interação dos fatores “variedades versus isolado” houve comportamento diferencial significativo ( $p < 0,001$ ), indicando a ocorrência de raças. Os isolados STM01, STM02 e BGM360 representaram o grupo de virulência, enquanto os isolados MOJ01 e STM03 não apresentaram diferenças entre as médias das variedades (Tabela 3). Semelhante ao observado para a profundidade, os isolados que apresentaram variação nas médias entre as variedades revelaram novamente que ‘Amarelinha’ se comportou como suscetível e ‘Bem-te-vi’ como resistente em pós-colheita. Nas variedades não houve inversão dos níveis de agressividade dos isolados, esses se comportaram de maneira semelhante ao agrupamento geral quanto a ordem decrescente de agressividade sendo STM02, MOJ01, BGM360, STM01 e STM03. Portanto, a interação diferencial indicada pela análise estatística também não demonstrou comportamento diferencial das variedades que pudessem ser correlacionados à resistência de campo.

A interação diferencial “época de colheita versus variedade” foi significativa e indicou que em ‘Amarelinha’ houve diferenças na idade de seis meses em relação a quatorze e dezoito, ao passo que em ‘Bem-te-vi’ a diferença foi para a idade de quatorze meses em relação a seis e dezoito (Tabela 3). Portanto, as variedades apresentaram um padrão de crescimento em largura diferente entre elas, aonde diminuíram com o aumento da idade em ‘Amarelinha’, ao passo que em ‘Bem-te-vi’ as lesões foram mais largas aos quatorze meses e menos nas idades marginais. Para as épocas ou idade de colheita a diferença entre as variedades só não foi observada aos quatorze meses, ao passo que em seis e dezoito ‘Amarelinha’ apresentou as maiores estimativas, desse modo, o comportamento das variedades não correlacionado com a resistência de campo não esteve associado a época de colheita das raízes para as avaliações em pós-colheita.

Tabela 03 – Comparação de médias e agrupamento estatístico para a característica da largura de lesão na avaliação dos fatores: variedades (AMR e BTV), isolados (STM01; STM02; STM03; MOJ01 e BGM360) e estágio fenológico (seis, quatorze e dezoito meses), considerando as interações entre eles. Pelo teste de inoculação em raízes destacadas de mandioca da região Oeste do Pará.

Isolado	AMR			BTV		
	Seis meses	Quatorze meses	Dezoito meses	Seis Meses	Quatorze meses	Dezoito meses
STM02	1,625 ABa(a)	1,420 Aa(a)	1,410 Aa(a)	1,300 Aa(b)	1,205 ABa(a)	1,125 Aa(b)
MOJ01	1,410 ABa(a)	1,385 Aa(a)	1,410 ABa(a)	1,335 Aa(a)	1,295 Aa(a)	1,150 Aa(a)
BGM360	1,235 BCa(a)	1,061 ABa(a)	1,080 ABa(a)	0,765 Ba(b)	0,825 Ba(a)	0,975 Aa(a)
STM01	1,710 ABa(a)	0,930 Bb(a)	0,830 BCb(a)	0,625 Bb(b)	1,100 ABa(a)	0,530 Bb(b)
STM03	0,855 Ca(b)	0,806 Ba(b)	0,670 Ca(a)	0,750 Bb(b)	1,100 ABa(a)	0,570 Bb(a)

Variedades	Idade na colheita			Isolados		
	AMR	BTV	Seis meses		Quatorze meses	Dezoito meses
STM02	1,485 Aa	1,210 Ab	1,463 Aa	1,313 Aa	1,268 Aa	1,348 A
MOJ01	1,330 ABa	1,260 Aa	1,373 ABa	1,340 Aa	1,173 Aa	1,295 A
BGM360	1,125 Ba	0,855 Bb	1,000 CDa	0,943 Ba	1,028 Aa	0,990 B
STM01	1,157 Ba	0,752 Bb	1,168 BCa	1,015 Ba	0,680 Bb	0,954 BC
STM03	0,777 Ca	0,807 Ba	0,803 Dab	0,953 Ba	0,620 Bb	0,792 C

Variedade	Idade na colheita			Média
	Seis meses	Quatorze meses	Dezoito meses	
Amarelinha	1,367 Aa	1,120 Ab	1,037 Ab	1,175 A
Bem-te-vi	0,955 Bb	1,105 Aa	0,870 Bb	0,977 B
Média	1,161 a	1,113 a	0,954 b	

\*letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

\*\*letras minúsculas entre parêntese para comparação de médias do fator “variedades” dentro de cada nível do fator “isolado” pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

A interação “época de colheita versus isolado” foi significativa e apresentou variação para os isolados STM01, entre dezoito meses em relação a seis e quatorze que não diferiram, e STM03, entre dezoito e quatorze, mas não entre seis e quatorze e seis e dezoito (Tabela 3). No agrupamento de isolados por época de colheita houve variação entre as três épocas, para seis meses os isolados foram divididos em três grupos, enquanto para quatorze e dezoito meses foram formados dois grupos, no qual BGM360 passou do grupo de menor agressividade aos quatorze meses, para o de maior

agressividade aos dezoito meses (Tabela 3). Foi possível observar que alguns isolados apresentaram um padrão de crescimento em largura de lesão sendo esse dependente da idade das raízes, no qual as lesões diminuíram com o aumento da idade, observados em STM01, STM02 e MOJ01, ao passo que BGM360 apresentou maior estabilidade de largura, não dependendo da época de colheita, enquanto STM03 foi variável e não esteve correlacionado com a idade das raízes (Figura 6).

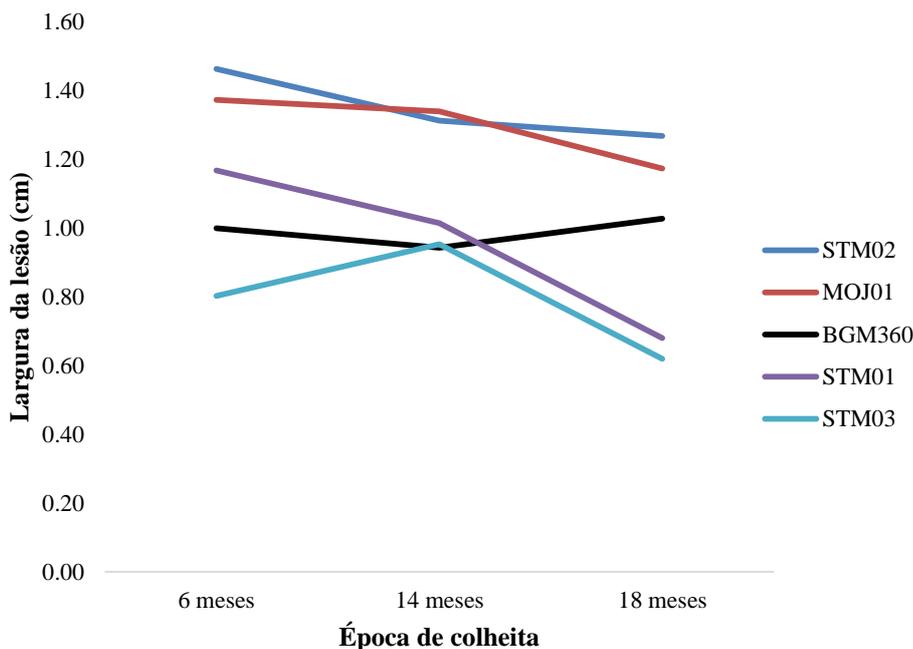


Figura 6 – Influência da época de colheita na largura média das lesões em raízes destacadas de mandioca para diferentes isolados de *F. solani*.

Por sua vez, a interação “variedade versus isolado versus época de colheita” foi significativa e demonstrou variação no comportamento dos isolados aos seis meses para STM01, STM02 e BGM360 no qual ‘Amarelinha’ comportou-se como suscetível; aos quatorze meses houve diferença para STM03 com ‘Amarelinha’ comportando-se como resistente e aos dezoito meses STM01 e STM02 nos quais ‘Amarelinha’ comportou-se como suscetível (Tabela 3). No comportamento dos isolados entre as épocas de colheita observou-se em ‘Amarelinha’ variação em STM01 com maior média aos seis meses em relação a quatorze e dezoito, que não diferiram entre si; ao passo que em ‘Bem-te-vi’ as variações foram observadas em STM01 e STM03 aos quatorze meses em relação a seis e dezoito, que não diferiram (Tabela 3). Já no agrupamento dos isolados observou-se que para ‘Amarelinha’ os isolados foram divididos em três grupos nas idades de seis e

dezoito meses e em dois grupos aos quatorze meses, enquanto em ‘Bem-te-vi’ houve formação de dois grupos nas três épocas de colheita, porém, com variação do isolado BGM360 que passou a integrar o grupo de maior agressividade aos dezoito meses (Tabela 3).

A formação das lesões foi afetada pela época de colheita, desse modo, observou-se que em raízes mais novas a taxa de desenvolvimento lateral (largura) esteve mais próxima do crescimento em profundidade, enquanto em raízes mais velhas houve maior crescimento em profundidade. Dessa maneira, embora o padrão geral das lesões tenha sido predominantemente em “V”, em raízes mais precoces as lesões apresentaram-se mais largas do que nas com idade de colheita superior conforme os dados da Tabela 3.

### **5.3 Concentração pluviométrica e origem dos isolados**

Na época do inverno Amazônico a alta umidade do solo favoreceu a penetração de fungos que causaram outros tipos de podridão e tornaram as avaliações duvidosas em primeiro instante, pois reduziram substancialmente a acurácia do experimento. Dessa forma, devido à elevada ocorrência de raízes com podridões remanescentes do campo, houve a necessidade de repetir este experimento considerando o período de maior concentração pluviométrica, o que levou a utilização de fungicida no pré-tratamento das raízes. Portanto, a partir do uso de Tiofanato metílico foi possível reduzir os níveis de contaminação e conseqüentemente obter maior estabilidade nas estimativas de profundidade da lesão.

Por outro lado, observou-se que a concentração pluviométrica não influenciou o comportamento das variedades bem como a colonização dos isolados, haja vista que a resposta das inoculações, em termos gerais, durante o inverno amazônico (maior umidade no campo) não foi diferencial em relação às inoculações no verão, entre as idades de seis e quatorze meses, respectivamente. Provavelmente, a diferença nas estimativas gerais de profundidade e largura da lesão esteja mais relacionada com a idade das raízes, e algum outro fator demandado por esse, como, por exemplo, o diâmetro da raiz, do que com a concentração pluviométrica. Com tudo, deve-se considerar que a maior umidade no solo foi um fator favorável para penetração de patógenos com taxas de agressividade superiores à de *F. solani* e a partir do uso de

fungicida foi possível obter resultados com maior nível de confiabilidade, sem interferir no crescimento dos isolados na polpa da raiz.

Outra potencial fonte de variação nos níveis de agressividade poderia estar associada aos diferentes locais de origem dos isolados. No entanto, as diferenças de agressividade dos isolados não estiveram relacionadas com a região de onde foram coletados, uma vez que STM02 (proveniente Santarém) e MOJ02 (de Mojuí dos Campos) foram agrupados igualmente como os mais agressivos para os dois componentes avaliados, embora tenham sido coletados em regiões que compreendem municípios distintos. Entretanto, um estudo mais direcionado envolvendo um maior número de isolados é necessário para analisar possíveis variações de patogenicidade relacionadas à localização geográfica, em micro e macro escala.

#### 5.4 Diâmetros de inoculação

A diferenciação não correspondente com as características fenotípicas de resistência e suscetibilidade de campo das variedades avaliadas não esteve relacionada às variações da idade da raiz ou condições climáticas. Portanto, com objetivo de investigar o efeito da integridade da casca na resposta em profundidade da lesão, foram avaliados diferentes diâmetros de inoculação, para os quais as profundidades das lesões não foram constantes (Tabela 4).

Tabela 4 – Diferentes diâmetros da abertura de inoculação sobre os parâmetros média (cm) e variância (cm) da profundidade da lesão de *Fusarium solani* em raízes destacadas de duas variedades de mandioca, após dez dias.

Variedades de mandioca	Diâmetros de inoculação (cm)						Média para as variedades
	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	1,2	
Amarelinha (resistente)	0,543 (0,007)	0,845 (0,172)	1,150 (0,118)	1,050 (0,087)	1,095 (0,285)	0,983 (0,156)	0,944 A
Bem-te-vi (suscetível)	0,370 (0,007)	0,500 (0,013)	0,600 (0,033)	0,870 (0,173)	1,010 (0,092)	1,030 (0,589)	0,730 B
Média para os diâmetros	0,457 c	0,673 bc	0,875 ab	0,960 ab	1,053 a	1,007 ab	

\*Médias sem parêntese e variâncias entre parênteses

\*\*Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Também foi observado comportamento inverso para a característica de resistência das variedades, de modo semelhante ao observado nos experimentos com

diferentes idades. O aumento do diâmetro correspondeu ao aumento da profundidade da lesão até tornar-se mais constante a partir daí. Para ‘Amarelinha’, os valores se estabilizam no diâmetro de 0,5 cm, ao passo que em ‘Bem-te-vi’ ocorreu em 0,8 cm. Além de um aumento da variância nas estimativas das duas variedades em função do aumento do diâmetro da inoculação (Tabela 4).

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Padrão de lesão

A variação entre os mecanismos de defesa da planta nos diferentes tecidos pode moldar a forma que as lesões assumem durante o processo de colonização. De acordo com Agrios (2004), os mecanismos de defesa das plantas se dividem em características estruturais, que agem como barreira física para o patógeno, e reações bioquímicas que produzem substâncias inibidoras a ação do patógeno ou criam condições impróprias ao seu desenvolvimento. Por outro lado, a combinação desses mecanismos de defesa pode ocorrer de maneira diferenciada nos patossistemas, além do que estão condicionados a variações de idade da planta, tipo de órgão, tecido e as variações das condições climáticas e estado nutricional da planta.

Nos experimentos desenvolvidos nesse trabalho foram avaliados dois componentes da forma das lesões às quais variam significativamente para inoculações com *F. solani* em pós-colheita, a profundidade e largura das lesões. Esperava-se para a inoculação na polpa da raiz que a colonização se desenvolvesse na mesma proporção em todos os sentidos a partir do disco micelial depositado, isto é, com formato arredondado, no entanto, a forma que ressaltamos inicialmente foi o formato em “V”, ao que se pode relacionar a uma maior facilidade do crescimento em profundidade em detrimento ao crescimento lateral, resultando por isso em lesões em forma de cunha.

Nessas circunstâncias, ao considerar a estrutura anatômica das raízes verificou-se que o desenvolvimento das lesões se deu no mesmo sentido da disposição dos raios parenquimáticos, que convergiram em profundidade até um ponto de maior dificuldade de colonização que limitava o crescimento. Essa organização celular deve ter favorecido a formação de lesões no padrão encontrado nas inoculações com *F. solani*. Quanto às restrições no crescimento lateral, provavelmente tenham ocorrido principalmente a

características estruturais anatômicas que determinam as lesões em forma de “cunha” (em V).

Adicionalmente, considerou-se a presença de um halo escurecido que delimitava a forma das lesões, sendo um padrão das lesões obtidas pela inoculação com *F. solani*. Possivelmente, isso decorra das reações de oxidação durante a colonização do tecido.

Ao avaliar o tamanho das lesões na profundidade e na largura ao longo do tempo, observa-se que são comportamentos diferentes, enquanto que a profundidade aumenta com as idades das raízes, a largura diminuí, devendo ocorrer por mecanismos diferentes, os quais ser estudados em maior detalhe, tanto na estrutura anatômica quanto de composição.

## **6.2 Inoculação em raízes destacadas para diferenciação de variedades**

Dentre os objetivos principais no melhoramento da mandioca está a busca por variedades resistentes, que em geral se dá pela avaliação dos genótipos em condições controlada, pois, em campo os custos e o tempo necessário são maiores, além de haver maior variação de resposta, que, por vezes, dificultam a repetibilidade dos experimentos.

As metodologias de inoculação em plântulas ou órgãos destacados devem ser simples, rápidas, de baixo custo, com repetibilidade e principalmente diferenciais, entretanto, devem estar correlacionados com os resultados de campo ou detectar alguns dos mecanismos relacionados com a resistência do hospedeiro ao patógeno específico (DHINGRA; SINCLAIR, 1985).

A etapa inicial para seleção de variedades resistentes à podridão radicular deve levar em consideração o estabelecimento de métodos de inoculação eficientes (RAJPUT et al., 2008). Desse modo, o foco principal nos programas de melhoramento da mandioca que fazem uso da metodologia de inoculação em raízes destacadas se constitui na diferenciação dos genótipos quanto à resistência aos grupos de patógenos relacionados com a podridão radicular.

Nestes experimentos, de modo geral, a diferenciação das variedades em pós-colheita não correspondeu à característica fenotípica de resistência e suscetibilidade de campo, visto que ‘Amarelinha’ apresentou lesões maiores que ‘Bem-te-vi’.

Variações na resposta das variedades em pós-colheita tem sido observada em outros trabalhos que buscaram avaliar diferentes métodos de inoculação, e por ocasião

apontaram a variedade ‘Poti branca’ com alto nível de resistência, ao passo que ‘Kiriris’ apresentou maior suscetibilidade a patógenos associados à podridão radicular (HOHENFELD et al., 2018a), portanto, não correspondendo ao fenótipo atribuído a Kiriris que possui resistência de campo a podridão radicular (FUKUDA et al., 2002).

Resultados inconsistentes também foram constatados no trabalho de Boas et al., (2016), ao avaliar 697 acessos quanto a resistência na casca e polpa da raiz à podridão por *Fusarium* spp., para as quais a variedade ‘Kiriris’ (resistente) foi considerada suscetível para lesão na polpa da raiz. Adicionalmente, foram consideradas discrepâncias na classificação de resistência entre os dois tecidos avaliados, indicando a resistência diferenciada dessas partes da raiz.

Corroborando, Senthil et al., (2013), ao comparar as inoculações de *Phytophthora palmivora* nas hastes, raízes e folhas de mandioca, observou correlação positiva apenas para as correlações folha-raiz, entretanto, ressaltou que as inoculações na folha apresentaram menor variação de resposta das variedades podendo, por sua vez, substituir as inoculações na raiz. Resultados semelhantes foram constatados por Loke et al. (2004), considerando o patossistema *P. tropicalis* - mandioca, para o qual houve uma baixa correlação positiva (0,37) entre as inoculações na folha e raiz. Entretanto em nenhum desses trabalhos a resposta por inoculação correspondeu à resistência de campo.

Embora a diferenciação de variedades por inoculação na polpa venha apresentando inconsistência no comparativo com a resistência de campo, esse método ainda é largamente utilizado pelos programas de melhoramento na seleção de fontes de resistência aos patógenos associados à podridão radicular (BOAS et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2013; ONYEKA et al., 2005; HOHENFELD et al., 2018a), o que pode levar a perda de genótipo resistentes ou à valoração de genótipo que não apresentam suscetibilidade à podridão radicular de campo.

Uma ferramenta fundamental no estudo da interação patógeno-hospedeiro se constitui a variabilidade patogênica, por meio da qual é possível determinar o tipo de resistência envolvida no patossistema. Portanto, consideram-se dois tipos principais de resistência genética: denominada vertical quando as variedades apresentam interação diferencial com raças virulentas do patógeno e horizontal quando as variedades não apresentam comportamento diferencial e o patógeno, por sua vez, apresenta variações de agressividade (VANDERPLANK, 1984).

Desse modo, para a avaliação de resistência em pós-colheita as inoculações não apresentaram resultados que pudessem ser correlacionados à resistência de campo, o que levou a invalidação das interações diferenciais que determinariam ou não a ocorrência de raças para os isolados de *F. solani* no campo.

Na região Oeste do Pará, os produtores possuem variedades resistentes à podridão de raízes por *F. solani*, entretanto, testes em raízes destacadas não as diferenciam como tais. O que leva a uma necessidade de investigação mais detalhada da aplicabilidade do teste para esse e outros patossistemas. Os resultados deste trabalho não demonstram a eficiência do método para diferenciação de variedades locais, pelo qual deve ser revista seu uso em programas de melhoramento de mandioca com vista à seleção de fontes de resistência a podridão radicular por *F. solani*.

Com isso reitera-se a necessidade da seleção de métodos que sejam capazes de detectar os mecanismos de defesa da planta aos diferentes grupos de patógenos associados a podridão de raízes, com vista em materiais com resistência múltipla (HOHENFELD et al., 2018a; OLIVEIRA et al., 2017), devido a comum ocorrência de mais de uma espécie, pertencentes a grupos sintomatológicos distintos, em associação a podridão dentro de uma mesma área (BOAS et al., 2016).

### **6. 3 Época de colheita, fatores climáticos e diâmetros de inoculação**

Os resultados obtidos nestes experimentos revelaram que a fenologia das raízes e o diâmetro das perfurações de inoculação são fatores que interagem com o tamanho das lesões.

A análise da época de colheita das raízes foi importante para a determinação do estágio fenológico mais apropriado para realizar as inoculações. Desta forma verificou-se que a utilização de raízes mais novas podem indicar interações diferenciais que não seriam confirmadas em raízes com maior desenvolvimento no campo.

Hohenfeld (2016) destaca que a técnica da inoculação em raízes destacadas requer uma programação que possibilite a utilização de raízes com no mínimo dez meses, com ausência de injúrias e infecção iniciais remanescentes do campo, considerando ainda, os sintomas de deterioração fisiológica pós-colheita podendo tornar interpretação errônea dos resultados.

Outro aspecto importante no estudo do efeito fenológico na resposta das variedades em condições controladas é a necessidade de se manter um padrão nas metodologias de inoculação. Devido ser comum detectar diferenças na reação de resistência em função do estágio fenológico, conhecido como resistência relacionada à idade (PANTER; JONES, 2002; NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2011).

Embora o efeito fenológico tenha se expressado nos parâmetros estatísticos “média” e “variância” da profundidade das lesões, com aumento diretamente proporcional à época de colheita, a aplicabilidade desse método foi ineficiente para seleção de fontes de resistência à podridão seca nas variedades avaliadas na região Oeste do Pará, pois os mecanismos que conferem resistência de campo a variedade ‘Amarelinha’ não foram detectados nas inoculações no tecido da polpa da raiz. Desta forma acredita que essa metodologia não seja diferencial, a ponto de poder ser usado na seleção de fontes de resistência a *F.solani*, ou ainda que haja comprometimento deles quando as raízes são destacadas da planta.

Adicionalmente, considerara-se o efeito das condições climáticas na ocorrência da doença, que são representadas principalmente pela umidade e temperatura (DHINGRA; SINCLAIR, 1985). Neste trabalho a época de maior concentração pluviométrica resultou em maior ocorrência de fungos causadores de podridões advindas do campo, como a podridão negra, estes penetram no campo devido à alta umidade do período, não tendo eficiência a desinfecção superficial com hipoclorito de sódio (200 ppm), e ao possuírem taxas de crescimento superiores à de *F. solani* (HOHENFELD et al, 2018b), ocasionam lesões com padrões diferenciados.

Portanto, com a elevação do percentual de contaminação nesse período, foi necessário repetir os experimentos e realizar ajustes na metodologia que se deu pelo uso do fungicida cujo ingrediente ativo foi o Tiofanato metílico (490 ppm) no pré-tratamento das raízes, o que permitiu controlar as podridões provindas do campo e como efeito adicional proporcionou maior estabilidade nas estimativas de tamanho da lesão.

A variação nas temperaturas médias aferidas durante os períodos de inoculação, também, esteve associada à frequência de chuvas de cada época, que apresentaram temperaturas mais baixas no período de maior concentração pluviométrica (representada pela inoculação aos quatorze meses).

Considerando que a temperatura ótima para o crescimento de *F. solani* e outras espécies desse gênero é de 28 °C (GUPTA et al, 2010). Nesse aspecto, a época que é

mais próxima dessa condição é durante o período do inverno Amazônico (janeiro a junho), entretanto, os resultados deste trabalho indicaram que a idade foi mais relevante na suscetibilidade.

Por outro lado, a temperatura média durante a época das inoculações em raízes com seis e dezoito meses apresentaram-se acima da faixa ideal. Haja vista que a variação de temperatura tem sido estudada como fator que pode atuar na inibição ou favorecimento do crescimento para espécies do gênero *Fusarium*, devido a aparente sensibilidade térmica (MEDINA; MAGAN, 2011; JURADO et al, 2008), é provável que a profundidade das lesões tenham sido afetada por esse fator para a época de inoculação correspondente a dezoito meses.

Hohenfeld et al (2018b), estudando o efeito da temperatura na severidade de *F. solani* e *Neoscytalidium hyalinum* associados a podridão de raízes de mandioca pelo método de inoculação, verificaram que houve maior severidade na faixa de 25 °C a 32 °C para *F. solani*, enquanto que para *N. hyalinum* a faixa de 32 °C a 36 °C foi a mais propícia. No mesmo estudo observaram que o comportamento dos genótipos variou de acordo com a temperatura e o patógeno inoculado; sendo o genótipo BRS ‘Kiriris’ (resistente em campo) o qual apresentou maiores lesões em relação à ‘Poti Branca’ (suscetível em campo) que, por sua vez, obteve lesões mais estáveis nas temperaturas avaliadas.

Não foi estudada ainda a atuação da temperatura na produção ou inibição de enzimas durante o processo de infecção para os patógenos associados à podridão radicular da mandioca, entretanto, é sabido que ela pode influenciar na concentração de toxinas produzidas por espécies do gênero *Fusarium* (HOHENFELD, 2016), sendo que esses fitopatógenos possuem a capacidade de produzir uma quantidade considerável de micotoxinas hidrossolúveis que podem translocar-se nos tecidos ou ser absorvido no sitio de infecção (OSBORNE; STEIN, 2007), entretanto, estudos mais direcionados devem ser desenvolvidos para melhor compreensão do efeito térmico no processo de infecção da mandioca por patógenos associados à podridão de raízes.

Na análise dos diâmetros de inoculação esperava-se que as lesões fossem menores na variedade resistente do que na suscetível e que a profundidade fosse constante nos diferentes diâmetros. Entretanto, houve comportamento inverso, de modo que ‘Amarelinha’ produziu de forma geral lesões maiores do que na variedade ‘Bem-te-vi’. Nessas circunstâncias, verificou-se que a integridade da casca desfavoreceu de alguma maneira a formação das lesões, no entanto, em nenhum dos diâmetros avaliados

a diferenciação em pós-colheita foi correspondente à resistência de campo das variedades. Com isso, se faz necessário que o método seja validado também para outros patossistemas da podridão radicular da mandioca.

Desta forma, ressalta-se que embora a temperatura apresenta influência no desenvolvimento de *F. solani* podendo resultar em variações na severidade, enquanto os estádios fenológicos pode influenciar o tamanho das lesões através dos diâmetros da raiz e ocorra efeito na formação das lesões a partir dos diferentes diâmetros de inoculação, nenhuma das variações nessas condições possibilitou obter resultados que pudessem ser comparados à diferenciação de campo para as variedades da região Oeste do Pará.

#### **6.4 Variabilidade patogênica**

Uma forma de detectar a resistência vertical e conseqüentemente à ocorrência de raças fisiológicas do patógeno se dá pela análise de variância, sendo positiva para esse tipo de resistência quando for significativa a interação “patógeno versus planta hospedeira” (VALOIS, 2016; VANDERPLANK, 1984).

Ressalta-se que os dados destes experimentos revelaram que para os cinco isolados de *F. solani* avaliados, não foi possível determinar a ocorrência de raças fisiológicas, visto que a resistência pós-colheita não pôde ser comparada a resistência de campo. Por outro lado, foi possível detectar a variabilidade na patogenicidade entre os isolados, que apresentaram níveis distintos de agressividade.

O efeito da diferença de agressividade é um aspecto importante que deve ser estudado, por estar correlacionado às perdas acometidas à cultura, haja vista que quanto maior o nível de agressividade, tal qual serão os prejuízos verificados na produtividade final das raízes.

Esses efeitos têm sido considerados em outros trabalhos, demonstrando a importância do estudo da agressividade em patossistemas envolvendo espécies do gênero *Fusarium*, para a qual foram correlacionadas diferenças de severidade com as localizações geográficas dos isolados (OLIVEIRA et al., 2014).

Corroborando, Onyeka et al (2005b), também constatou variações de agressividade em estudo envolvendo isolados da espécie *Botryodiplodia theobromae* e quatro genótipos de mandioca, indicando interação quantitativa entre isolados e genótipos, por meio do tamanho da área lesionada em raízes.

Dessa forma, ainda que o método de inoculação na polpa da raiz não tenha detectado os mecanismos que conferem o fenótipo de resistência ou suscetibilidade das variedades, o mesmo foi útil na determinação de níveis distintos de agressividade dos isolados de *F. solani*, e pode representar uma ferramenta prática para estudar patógenos que atuam na podridão pós-colheita das raízes.

Em linhas gerais a formação das lesões foi influenciada pela fenologia da raiz, integridade da casca e pelas condições climáticas, entretanto, nenhum dos experimentos apresentou correlação entre a resistência pós-colheita e a resistência de campo, o que compromete o uso desse teste nos programas de melhoramento para a seleção de genótipos resistentes à podridão por *F. solani*. Dessa forma, se faz necessário rever seu uso para outras espécies de *Fusarium* ou mesmo outros gêneros do complexo de podridão radicular da mandioca.

## 7 CONCLUSÕES

A resistência em pós-colheita difere da resistência de campo à podridão seca de *F. solani*, porque a variedade resistente ‘Amarelinha’ apresentou lesões maiores em relação à variedade suscetível ‘Bem-te-vi’.

Pelo teste em raízes destacadas não podem ser detectada raças para podridão seca de *F. solani*, somente diferenças de agressividade.

Em pós-colheita, houve um comportamento diferencial na forma da lesão, a profundidade aumentando com a idade das raízes e a largura diminuindo, tendo lesões mais arredondadas nas raízes mais novas e mais em forma de cunha nas mais velhas.

Entre os isolados houve agressividades diferentes, podendo ser agrupados em: alta agressividade (STM02 e MOJ01), agressividade intermediária (BGM360 e STM01) e baixa agressividade (STM03); além de ocorrer dois tipos de comportamento, um dependente e outro independente da idade das raízes.

A idade das raízes teve efeito na profundidade média das lesões, sendo maiores em raízes mais velhas, porém, aos quatorze meses os resultados foram mais estáveis e com menor variação de resposta.

A época de obtenção das raízes associada aos períodos do verão e inverno Amazônico, não foi significativo no tamanho das lesões.

O diâmetro da perfuração realizado na inoculação influencia positivamente na profundidade da lesão.

## 8 REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5ª ed. San Diego: Academic Press: 2004, 922.p

AGUIAR, E. B. **Produção e qualidade de mandioca de mesa (*Manihot esculenta* Crantz) em diferentes densidades populacionais e épocas de colheita**, 2003, 101 f. Dissertação (mestrado), curso de mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical, Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2003.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia, Princípios e Conceitos**. Agronômica. 4ª ed. São Paulo: Ceres - SP, 704.p, 2011.

ANDRÉ, T. B; SANTOS, A. C. Uso de produtos da cultura da mandioca (*Manihot*) na produção animal. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15, p. 1622-1647, 2012.

BANDYOPADHYAY, R.; MWANGI, M.; AIGBE, S. O.; LESLIE, J. F. *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. **Phytopathology**, v. 96, n. 6, p.673-676, 2006.

BEDENDO, I. P. Podridão de raízes e colo. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**, Princípios e Conceitos. Agronômica. 4ª ed. São Paulo: Ceres - SP, 2011. Cap. 23. p, 443-449.

BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. Introdução ao melhoramento de plantas. In: BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento de Plantas**. 2007, p.1-9. Disponível em <http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%201.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2018.

BOAS, S. A. V.; HOHENFELD, C. S.; OLIVEIRA, S. A. S.; SILVA, S. V.; OLIVEIRA, E. J. Sources of resistance to cassava root rot caused by *Fusarium* spp.: a genotypic approach. **Euphytica**, v.209, n.1, p. 237-251, 2016.

BORGES, M.F.; FUKUDA, W.M.G.; ROSSETTI, A.G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n. 11, p.1559-1565, 2002.

BUENO, L.C.S.; MENDES, A.N.G.; CARVALHO, S.P. (ed). Melhoramento de Plantas: princípios e procedimentos. Lavras: UFLA, 2001, p.182- 201.

CAMARGO, L. E. A. Controle genético. In: AMORIM, L; REZENDE, A. A. M; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. São Paulo – SP: Ceres, 2011 ,Cap.15. p.325-341.

CHISTÉ, R. C; COHEN, K. O; MATHIAS, E. A; OLIVEIRA, S. S. Quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água. **Acta Amazônia**. v. 40, n.1, p.221-226, 2010.

CONAB. 2013. Usos e utilidades da mandioca. Disponível: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_06\\_05\\_10\\_14\\_46\\_mandioca\\_e\\_derivados\\_-\\_ncao\\_produtos.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_05_10_14_46_mandioca_e_derivados_-_ncao_produtos.pdf)>. Acesso em: 22 mai. 2017.

CORDEIRO, I; SECCO, R.; SILVA, M. J. D; SODRÉ, R. C.; MARTINS, M. L. L. *Manihot*. In: CORDEIRO, I; SECCO, R.; SILVA, M. J. D; SODRÉ, R. C.; MARTINS, M. L. L. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB17591>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton – Florida: CRC Press, 1985, 355.p.

EMBRAPA/ALELO. 2015. **Portal Alelo Recursos Genéticos**. Disponível em: <http://mwpin026.cenargen.embrapa.br:8080/portalelo/index.php/portal/colecoes/vegetal/raizes-e-tuberculos>. Acesso em: 17 jun. 2017.

FAO. 2008. Mandioca. **Por que a mandioca?**. Disponível em <[http://www.fao.org/ag/agp/agpc/gcds/index\\_es.html](http://www.fao.org/ag/agp/agpc/gcds/index_es.html)>. Acesso em: 22 mai. 2018.

FAO/WHO. **Codex Standard for Sweet Cassava**. Codex Standard 238-2003. Food and Agriculture Organisation and World Health Organisation of the United Nations, 2005. Disponível em <[www.fao.org/input/download/standards/10368/CXS\\_238e.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/10368/CXS_238e.pdf)> Acesso em: 27 mai. 2017.

FAOSTAT. **Production/Yield quantities of Cassava in World**. Disponível em: [www.fao.org](http://www.fao.org) . Acesso em: 18 abr. 2018.

FERNANDES, F.D; GUIMARÃES JÚNIOR, R; VIEIRA, E. A; FIALHO, J. F; MALAQUIAS, J. V. Produtividade e valor nutricional da parte aérea e de raízes tuberosas de oito genótipos de mandioca de indústria. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.17, n. 1, p.1-12, 2016.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011.

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, n.1, p.63-71, 2000.

FUKUDA, C; OTSUBO, A. A. O cultivo da mandioca na região centro sul do Brasil. Cruz das Almas-BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010. Disponível em <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca\\_centro\\_sul/](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_centro_sul/)>. Acesso em: 24 mai. 2017.

FUKUDA, W. M. G.; FUKUDA, C.; DIAS, M. C.; XAVIER, J. J. B. N.; FIALHO, J. F. Variedades. In: SOUZA, L. S; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M. G. **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006 p. 433-454.

FUKUDA, W.M.G.; SILVA, S. O; IGLESIAS, C. Cassava breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.2, n.4, p.617-638, 2002.

GOMES, J. C; LEAL, F. C. Cultivo da mandioca para a região dos Tabuleiros Costeiros. EMBRAPA: **Sistema de produção 11**, 4.p, 2003. ISSN: 1678-8796

GROXKO, M. **Análise da conjuntura agropecuária safra 2011/12**. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento de Economia Rural – PR. 14.p, 2011.

GUPTA, V. K MISRA, A. K; GAUR, R. K. Growth characteristics of *Fusarium* spp. causing ilt disease in *Psidium guajava* L. in India. **Journal of Plant Protection Research**, v.50, n.4, p.452-462, 2010.

HOHENFELD, C. S. Podridão radicular da mandioca: metodologias de inoculação e seleção de fontes de resistência, 2016, 86 f. Dissertação (Mestrado), curso de mestrado em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. – Cruz das Almas, BA, 2016.

HOHENFELD, C. S; SANTANA, M. P; JUNIOR, L. R. C; OLIVEIRA, E. J; OLIVEIRA, S. A. S. Modelling growth characteristics and aggressiveness of *Neoscytalidium hyalinum* and *Fusarium solani* associated with black and dry root rot diseases on cassava. **Tropical Plant Pathology**, p.1-11, 2018b.

HOHENFELD, C. S; SANTANA, M. P; JUNIOR, L. R. C; OLIVEIRA, S. A. S; OLIVEIRA, E. J. Methodologies for selecting cassava with resistance to dry and black root rot under controlled condition. *Bragantia*, Campinas, 12. p, 2018a.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 22 mai. 2018.

INDEX FUNGORUM. **Search Index Fungorum**. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=8284>>. Acesso em: 05 jun. 2017.

JUNIOR, M. S. M; ALVES, R. N. B. **Cultura da Mandioca**: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústrias. 21ª ed. Brasília-DF: Embrapa-DF, 2016, p. 257.

JURADO, M.; MARÍN, P.; MAGAN N.; GONZALEZ-JAÉN, M.T. Relationship between solute and matric potential stress, temperature, growth and *FUM1* gene expression in two *Fusarium verticillioides* strains from Spain. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.7, p.2032–2036, 2008.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. 1º ed. USA: Blackell Publishing, 2006, 388.p

LESLIE, J. F.; ZELLER, K. A.; SUMMERELL, B. A. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.59, n.3, p. 107-117, 2001.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; VALLE, L. A. C. Controle genético de doenças de plantas. In: MICHEREFF, S. J; ANDRADE, D. E. G. T; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p. 247-278, 2005.

LOKE, J; ÁLVAREZ, E; CORREDOR, J.A; FOLGUERAS, M; JARAMILLO G; CEBALLOS, H. Preliminary evidence of correlation between foliar and root resistance to root rot caused by *Phytophthora tropicalis* in cassava. In: SIXT INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING OF THE CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 8-14, SB 211, C3 158, 2004.

LUCENA, C. C; ALMEIDA, C. O; SILVA, A, S. Análise de adoção da variedade de mandioca BRS Kiriris no Agreste de Sergipe e no Baixo Jequitinhonha. Boletim de

Pesquisa e Desenvolvimento nº 73. 1º ed, Bahia: Embrapa, 2015. ISSN 1809-5003, p. 01-19.

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.

MASSOLA JUNIOR, N. S; BEDENDO, I. P. Doenças da mandioca. In: KIMAT, H; AMORIM, L; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. E. A (Eds.). Manual de Fitopatologia. Doenças de plantas cultivadas. **Agronômica Ceres**, v.2, p.399-455, 1997.

MATTOS, P. L. P; CARDOSO, E. M. R. Cultivo da mandioca no Estado do Pará. Sistema de produção. 13. Cruz das Almas-BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. ISSN 1678-8796. Versão eletrônica, 2003.

MATTOS, P.L.P.; GOMES, J.C.; FARIAS, A.R.N.; FUKUDA, C. Cultivo da mandioca nas regiões norte e nordeste do Brasil. In: CEREDA, M. P. **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São paulo: Fundação Cargill - SP, 2002. v.2, p.275-301.

MEDINA, A.; MAGAN, N. Comparisons of water activity and temperature impacts on growth of *Fusarium langsethiae* strains from northern Europe countries. **Food Microbiology**, v.28, n.3, p.392–398, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Atenção à Saúde, **Departamento de Atenção Básica Alimentos regionais brasileiros**. 2ª ed, Brasília - DF : Ministério da Saúde, 2015. 484.p.

MORAIS, M.S.; MEDEIROS, E.V.; MOREIRA, K.A.; CAVALCANTI, M.S.; OLIVEIRA, N.T. Epidemiologia das doenças da parte aérea da mandioca no Município de Alagoa Nova, Paraíba. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.3, p.264-269, 2014.

MOSES, E; AKROFI, S; MENSAH, G. A. Characteristics and control of a new basidiomycetous root rot of cassava (*Manihot esculenta*) in Ghana. In: PROCEEDINGS OF THE ISTRC SYMPOSIUM, 13<sup>th</sup>, 2007, Arucha-Tanzânia. **Anais...** Arucha-Tanzânia: Plants Genetic Resource Center, 2007. p.307-311.

NECHET, K. L; HALFELD-VIEIRA, B. A. Efeito do inóculo, período de molhamento foliar e do estágio fenológico do feijão-caupi no desenvolvimento da mela. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n.2, p.104-109, 2011.

NELSON, P. E., TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, 1983, 193.p

NORMANHA, E. S; PEREIRA, A. S. Aspectos agronômicos da cultura da mandioca (*Manihot utilíssima* Pohl). **Bragantia**, Instituto agronômico, v.2, n.7, 28.p, 1950.

NORONHA, A. C. S. Manejo das principais doenças da cultura da mandioca no Estado do Pará. In: JUNIOR, M. S. M; ALVES, R. N. B. **Cultura da mandioca**. Belém-PA: Embrapa, 2014. p.125-139.

NOTARO, K. A; MEDEIROS, E. V SILVA, C. A. D; BARROS, J. A. Prospecção de fitopatógenos associados á podridão radicular da mandioca em pernambuco, brasil. **Biosciense Journal**, Uberlândia, v.29, n.5, p.1832-1839, 2013

OLIVEIRA, E. J; FERREIRA, C. F; SILVA, S. V; JESUS, O. N; OLIVEIRA, G. A. F; SILVA, M. S. Potential of SNP markers for the characterization of Brazilian cassava germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, n.6, p.1423-1440, 2014.

OLIVEIRA, E. J; OLIVEIRA, S. A. S; VILAS-BOAS, S. A; HOHENFELD, C. S; SANTOS, V.S. Selection of cassava with multiple resistance to pathogens associated with root rot disease. **Euphytica**, 213:185, 13.p, 2017.

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

ONYEKA, T J.; EKPO , E.J.A.; DIXON, A. G. O. Virulence and Host–pathogen Interaction of *Botryodiplodia theobromae* Isolates of Cassava Root Rot Disease. **J. Phytopathology**, v.153, p.726–729, 2005b.

ONYEKA, T.J.; DIXON, A.G.O.; EKPO, E.J.A. Assessment of laboratory methods for evaluating cassava genotypes for resistance to root rot disease. **Mycopathologia**, v.159, n.3, p.461-467, 2005a.

OSBORNE, L.E.; STEIN, J.M. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals. **International Journal of Food Microbiology**, v.119, n.1-2, p.103–108, 2007.

OTSUBO, A. A; MERCANTE, F. M; SILVA, R. F; BORGES, C. D. Sistemas de preparo do solo, plantas de cobertura e produtividade da cultura da mandioca. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília - DF, v.43, n.3, p.327-332, 2008.

PANTER, S. N; JONES, D. A. Age-related resistance to plant pathogens. **Advances in Botanical Research**, v.38, p.251-280, 2002.

PASCHOLATTE, S. F; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A; KIMATI, H; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia**. São Paulo: AAgronômica Ceres, 1995. cap.22, p.417-453.

PERUCH, L. A. M; COLARICCIO, A; NEUBERT, E. O; MORETO, A. L; PEREIRA, E. F. Sintomas e controle das principais doenças da mandioca em Santa Catarina. Informativo técnico. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis – SC. v.26, n.2, p.52-54, 2013.

POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R.; CARDOSO, S. S. Incidência de *Fusarium solani* em mandioca no Estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**. v.27, n.5, p.544, 2002.

POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SILVA, H. M.; ALBUQUERQUE, F. C. Patógenos associados à podridão mole de raízes de mandioca no Estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, 1997. v.22, n.1, p.111.

RAJPUT, N.A.; PATHAN, M.A.; JISKANI, M.M.; RAJPUT, A.Q.; ARAIN, R.R. Pathogenicity and host range of *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., causing dieback of Sisham (*Dalbergia sissoo* Roxb.). **Pakistan Journal of Botany**, v.40, n.6, p.2631-2639, 2008.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do *Fusarium* spp na aviculture commercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.185-190, 2000.

SEAB. **Análise da conjuntura agropecuária** – Mandioca Safra 2014/2015. Secretaria de Estado e do Abastecimento. Departamento de economia rural, p.18, 2015.

SENTHIL, M.; NATH, V.S.; LAJAPATHYJEEVA, M.; HEGDE, V.M; MISRA, R.S. In Vitro standardisation of resistance screening methods in cassava against tuber rot disease. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.46, p.1255-1261, 2013.

SILVA, A. D. A. **Doenças da mandioca causada por fungos**. Brasília, DF: Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2017. Disponível em <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio\\_mata\\_sul\\_pernambucana/arvore/CONT000gxupxfbo02wx7ha0b6gs0xsarnjx6.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_mata_sul_pernambucana/arvore/CONT000gxupxfbo02wx7ha0b6gs0xsarnjx6.html)>. Acesso em: 26 mai. 2017.

SILVA, H. S. A; ANDRADE, E. C. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, . (Ed). **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Jahuariúna: Embrapa Meio Ambiente. Publicação eletrônica, p.263-272, 2011.

SIRITUNGA, D.; SAYRE, R. Engineering cyanogen synthesis and turnover in cassava (*Manihot esculenta*). **Plant Molecular Biology**, v.56, p.661-669, 2004.

SREEJA, V.G.; NAGAHARA, N.; LI, Q.; MINAMI, M. New aspects in pathogenesis of konzo: neural cell damage directly caused by linamarin contained in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **British Journal of Nutrition**, v.90, p.467-472, 2003.

STEFANELLO, L; VAZ STEFANELLO; HELING, A. L; HENKEMEIER, N. P; COLTRO-RONCATO, S; KUHN, O. J; STANGARLIN, J. R. Manejo da podridão radicular da mandioca pela combinação de manejo de solo, variedade resistente e controle biológico com *Trichoderma harzianum*. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v.13, n.1, p.31-45, 2017.

SUMMERELL, B. A.; SALLEH, B.; LESLIE, J. F. A utilitarian approach to Fusarium identification. **Plant disease**, v. 87, n.2, p.117-128, 2003.

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

VALLE, T. L.; CARVALHO, C. R. L.; RAMOS, M. T. B.; MÜHLEN, G. S.; VILLELA, O. V. Conteúdo cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas. **Bragantia**, Campinas, v.63, n.2, p.221-226, 2004.

VALOIS, A. C. C. Mecanismos genéticos da resistência de plantas às doenças. **Revista - RG News**. v.2, n.2, p.51-56, 2016.

VANDERPLANK, J.E. **Disease Resistance in Plants**. 2° ed. Orlando: Academic Press, 1984, 194.p

VIDA, J. B; ZAMBOLIM, L; TESSMANN, D. J; BRANDÃO FILHO, J. U. T; VERZIGNASSI, J. R; CAIXETA, M. P. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.355-372, 2004.

WURDACK, K.J.; DAVIS, C.C. Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. **American Journal of Botany**, v.96, n.8, p.1551-1570, 2009.