



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA APLICADA À AGROPECUÁRIA

ROSANE PATRICIA FERREIRA CHAVES

ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA
INFECTADOS POR *Phytophthium* sp.

BELÉM
2019

ROSANE PATRICIA FERREIRA CHAVES

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA
INFECTADOS POR *Phytophthium* sp.**

Dissertação apresentada á Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária: área de concentração Biotecnologia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Pesq. Dr. Roberto Lisboa Cunha
Co-orientador: Pesq. Dr. Marcelo Murad Magalhães
Co-orientador: Pesq. Dra. Elisa Ferreira Moura Cunha

BELÉM

2019

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação (CIP) Bibliotecas da Universidade
Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C398a Chaves, Rosane Patrícia Ferreira
Alterações fisiológicas de genótipos de mandioca infectados por *Phytophthium*
sp. / Rosane Patrícia Ferreira Chaves. - 2019.
45 f.
- Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária) - Programa de
Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, Campus Universitário de
Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019.
Orientação: Pesq. Dr. Roberto Lisboa Cunha.
Coorientação: Pesq. Dr. Marcelo Murad Magalhães.
Coorientação: Pesq. Dra. Elisa Ferreira Moura Cunha.
- I. Mandioca - análise genótipos. 2. Mandioca - doenças. 3. *Phytophthium sp.* 4. I.
Cunha, Roberto Lisboa, *orient.* II. Magalhães, Marcelo Murad, *coorient.* III. Cunha, Elisa
Ferreira Moura, *coorient.* IV. Título

CDD: 633.682

ROSANE PATRICIA FERREIRA CHAVES

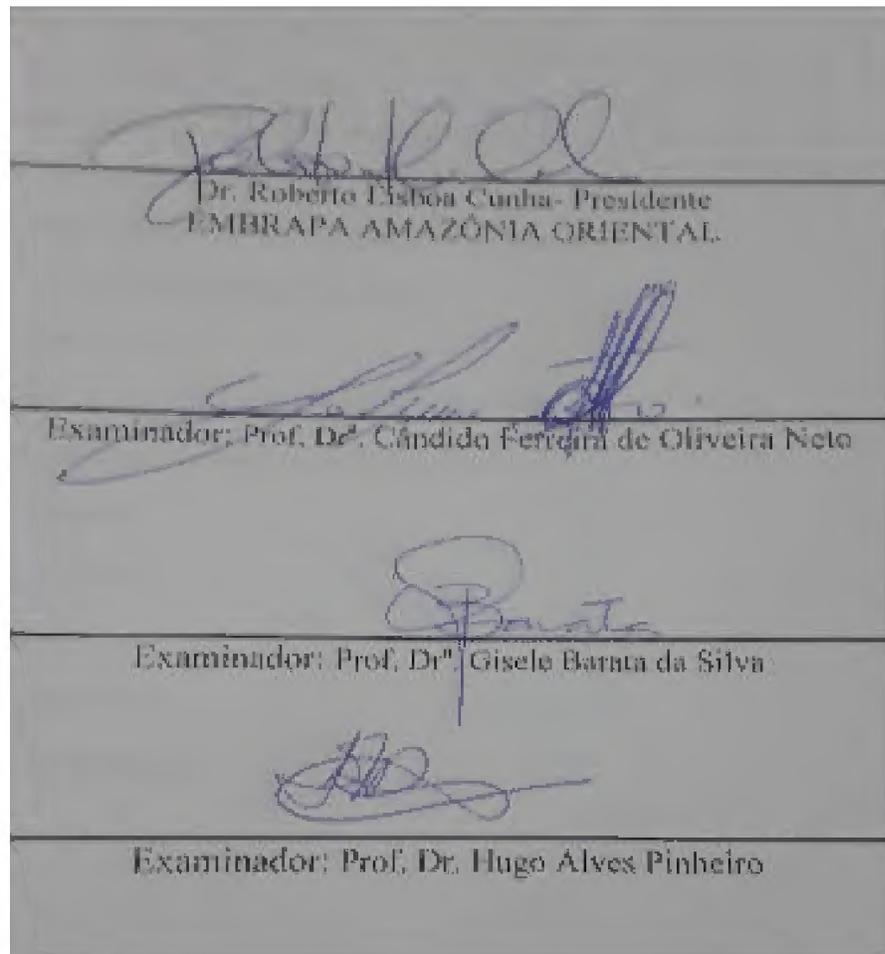
**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA
INFECTADOS POR *Phytophthium* sp.**

Dissertação apresentada á Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências das exigências Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária: área de concentração Biotecnologia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Pesq. Dr. Roberto Lisboa Cunha
Co-orientador: Pesq. Dr. Marcelo Murad Magalhães
Co-orientador: Pesq. Dra. Elisa Ferreira Moura Cunha

Aprovado em: 28/02/2019

BANCA EXAMINADORA



Dedico este trabalho a minha família com todo o amor,
obrigada por compartilharem os meus sonhos.

LISTA DE ABREVEATURAS

A - Taxa de assimilação de dióxido de carbono

APX- Ascorbato peroxidase

Car totais- Carotenoides totais

CAT- Catalase

C_i/C_a - Relação entre as concentrações interna e externa de dióxido de carbono

Cl_a- Clorofila *a*

Cl_b- Clorofila *b*

Cl totais- Clorofilas totais

CO₂- Dióxido de carbono

E- Taxa de transpiração

ETR- Taxa de transporte de elétrons

EROS- Espécies reativas do oxigênio

F_v/F_M - Razão entre a fluorescência variável e máxima

g_s - Condutância estomática

MAMPs- Padrões Moleculares Associados a Microrganismos

MMDA- Mandioca Mansa Dextrose Ágar

MDA- malondialdeído

PAMPs- Padrões Moleculares Associados a Patógenos

PRRs- Receptores de Reconhecimento de Padrões

PSI- Fotossistema I

PSII- Fotossistema II

POD- Peroxidase

PPO- Polifenoloxidase

q_p - Quenching fotoquímico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de pigmentos (*Cl_a*, *Cl_b*, *Cl*, totais e *Car* totais), metabolitos (Amido e MDA) e atividade enzimática (CAT e APX) em folhas e raízes de genótipos de mandioca, CPATU 530 e BRS Poti não infectados e infectados com o *Phytophthium* sp. 35

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. (A) Sistema radicular, (B) corte transversal em raiz tuberosa e (C) ramo da planta de mandioca. 15

Figura 2. Representação da formação de moléculas tóxicas no cloroplasto (A) e mitocôndria (B). 19

Figura 3. Mecanismo de defesa antioxidante. Radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$); radical hidroxila (OH^-); radical hidroperoxila (O_2H^-); oxigênio singleto (1O_2); peróxido de hidrogênio (H_2O_2); oxigênio (O_2); água (H_2O); superóxido dismutase (SOD); ascorbato peroxidase (APX); catalase (CAT); glutatona retutase (GR); glutatona (forma reduzida- GSH, forma oxidada- GSSG); monodehidroascorbato (MDHA- forma intermediária); monodehidroascorbato retutase (MDHR); dihidrorodamina (DHR). 20

Figura 4. Corte transversal de raízes de mandioca CPATU 530 não infectada (T1), CPATU 530 infectada (T2), BRS Poti não infectada (T3) e BRS Poti infectada (T4) no 7º dia, 15º dia e 34º dia após a inoculação do *Phytophthium* sp. 31

Figura 5. Porcentagem de área infectada nos genótipos CPATU 530 e BRS Poti. 31

Figura 6: (A) taxa de assimilação de CO_2 (A) em CPATU 530, (B) taxa de assimilação de CO_2 (A) em BRS Poti, (C) condutância estomática (g_s) em CPATU 530, (D) condutância estomática (g_s) em BRS Poti, (E) taxa de transpiração (E) em CPATU 530, (F) taxa de transpiração (E) em BRS Poti, (G) relação de contração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) em CPATU 530 e (H) relação de contração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) em BRS Poti. A coluna em branco com pontos pretos indica o tratamento não infectado e a coluna escura o tratamento infectado. O eixo horizontal exibe valores referentes das medições no 0 dia (sem patógeno), 7º, 15º e 34º dias após a inoculação. As barras representam o erro padrão. Os asteriscos indicam que as médias entre não infectada e infectada diferem significativamente (teste t, $p < 0,05$). ns indica que as médias não diferem significativamente (teste t, $p > 0,05$). 33

Figura 7. (A) Relação entre a fluorescência variável e máxima (F_v/F_M) em CPATU 530, (B) Relação entre a fluorescência variável e máxima (F_v/F_M) em BRS Poti, (C) taxa de transporte de elétrons (ETR) em CPATU 530, (D) taxa de transporte de elétrons (ETR)

em BRS Poti, (E) quenching fotoquímico (qP) em CPATU 530, (F) quenching fotoquímico (qP) em BRS Poti, (G) rendimento quântico do transporte de elétrons do PSII (Φ_{PSII}) em CPATU 530 e (H) rendimento quântico do transporte de elétrons do PSII (Φ_{PSII}) em BRS Poti. Para maiores detalhes estatísticos vide figura 4. 34

Figura 8. (A) Atividade da peroxidase (POD) em raízes de mandioca, (B) atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) em raízes de mandioca. O eixo vertical exibe os valores das enzimas obtidas na coleta de material no 34º dias após a inoculação do oomiceto. O eixo horizontal refere-se aos genótipos não infectados e infectados. Os asteriscos indicam que as médias entre não infectada e infectada diferem significativamente (teste t, $p < 0,05$). ns indica que as médias não diferem significativamente (teste t, $p > 0,05$). 37

RESUMO

A podridão radicular mole é uma doença ocasionada por patógenos (fungos e oomicetos) que habitam o solo, decorrentes, provavelmente, à abertura de lesões durante o manejo da cultura ou por estresse por alagamento. Considerando que genótipos apresentam tolerância à podridão mole, procurou-se avaliar a resposta fotossintética e bioquímica de dois genótipos contrastantes quanto a tolerância a infecção do *Phytophthium* sp.. O experimento foi conduzido com manivas-sementes previamente caracterizadas como resistente e suscetível à podridão mole (BRS Poti e CPATU 530, respectivamente), ambas com e sem a inoculação do *Phytophthium* sp. Foi analisada a incidência da doença, realizadas as determinações de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos, amido, malondialdeído, atividade enzimática da catalase, ascorbato peroxidase, peroxidase e polifenol oxidase. O genótipo CPATU 530 apresentou maiores índices de raízes com área infectadas, com média de 18,69 % no 34º dia de experimento. Os maiores valores médios para os parâmetros A , g_s , E e C_i/C_a foram obtidos em BRS Poti infectada, observou-se que parâmetros estiverem associados a eficiência fotoquímica do PSII. As concentrações de Cl_a , amido em folha, catalase e ascorbato em folhas e raízes não foram alterados. Foi observado aumento de 42,52% de peroxidação lipídica em CPATU 530 infectada, também apresentou um aumento de 84,19% na atividade de peroxidase em plantas infectadas e BRS Poti aumento de 185,98% na atividade da polifenoloxidase no tratamento infectado, mostrando que as enzimas que regulam o metabolismo secundário refletem resistência a planta. Portanto, a presença do oomiceto infectando raízes de mandioca em fase de enchimento, acarretou alteração na razão fonte-dreno, proporcionando um aumento em A , decorrente de fatores estomáticos em resposta a estímulos provenientes das raízes infectadas.

Palavras-chaves: *Phytophthium* sp., trocas gasosas, antioxidantes.

ABSTRAT

Soft root rot is a disease caused by a pathogen that inhabits the soil, infection in the roots is associated with the opening of lesions occurring slight blackout symptoms or necroses, the aerial part may or may not present symptoms. The objective was to evaluate the biochemical and physiological response of the defense of cassava genotypes infected by *Phytophthium* sp., in relation to source/drain. The experiment was conducted with stem cutting seeds previously characterized as resistant and susceptible to soft rot (BRS Poti and CPATU 530, respectively), both with and without the inoculation of *Phytophthium* sp. The severity of the disease was analyzed, the determinations of gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, pigment content, starch and malondialdehyde, catalase enzymatic activity, ascorbate peroxidase, peroxidase and polyphenoloxidase. The genotype CPATU 530 promoted higher root indices with infected area, with a mean of 18,69 % on the 34 Dait of experiment. Os maiores valores médios dos parâmetros A , g_s , E e C_i / C_a foram obtidos em BRS Poti infectados, observou-se que os parâmetros estão associados à eficiência fotoquímica do PSII. The concentrations of Cl_a , starch in leaf, catalase and ascorbate in leaves and roots were not altered. It was observed an increase of 42.52% of lipid peroxidation in CPATU 530 infected, also showed an increase of 84.19% in the activity of peroxidase in infected plants and BRS Poti increase of 185.98% in the activity of the polyphenoloxidase in the infected treatment, showing that the enzymes that regulate secondary metabolism reflect plant resistance. The presence of oomycete in the roots in the tuberization phase caused a change in the source-sink ratio, resulting in an increase in A , possibly due to stomatal factors in response to stimuli from infected roots.

Key-words: *Phytophthium* sp., gas exchange, antioxidants.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	14
1.1 Revisão de literatura	15
1.1.1 Mandioca	15
1.1.2 Podridão radicular causada por <i>Phytophthium</i> sp.	16
1.1.3 Interação planta-patógeno	17
1.1.4 Alterações no metabolismo fotossintético	17
1.1.5 Metabolismo oxidativo	18
REFERÊNCIAS	21

2 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA

INFECTADOS POR <i>Phytophthium</i> sp.	26
2.1 Introdução	26
2.2 Material e Métodos	27
2.2.1 Material vegetal	27
2.2.2 Preparação do inoculo e inoculação	28
2.2.3 Incidência da infecção	28
2.2.4 Determinação de trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	28
2.2.5 Pigmentos e metabolitos	29
2.2.6 Ensaio enzimático	30
2.2.7 Análise estatística	30
2.3 Resultados	30

2.3.1 Incidência da doença	30
2.3.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	32
2.3.3 Pigmentos e metabolitos	32
2.3.4 Ensaio enzimático	37
2.4 Discussão	37
2.5 Conclusão	40
REFERÊNCIAS	41

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Manihot esculenta Crantz é uma espécie originária da América do Sul e cultivada em regiões tropicais e subtropicais do planeta, possui diversas utilizações nas industriais de têxtil, papel e celulose, farmacêutica, energética e alimentícia (LYER *et al.*, 2010; ZAINUDDIN *et al.*, 2018).

As doenças em plantas são um dos fatores que mais impactam na redução de produção. A mandioca pode sofrer ataque de mais de 30 agentes patogênicos, a exemplo os fungos, oomicetos, bactérias e vírus (OLIVEIRA *et al.*, 2008; BOARI *et al.* 2018). A podridão radicular mole afeta o sistema radicular, o que compromete a absorção de água e nutrientes, interferindo, em último caso no crescimento da planta, conseqüentemente, proporcionando queda progressiva na produtividade e qualidade das raízes, além de inviabilizar os ciclos subsequentes da cultura (MASSOLA; BEDENDO, 2005; MOSES *et al.*, 2007; NOTARO, 2013). Tendo em vista que os principais produtos da mandioca são provenientes das raízes amiláceas, torna-se necessários estudos para avaliar a podridão radicular, visando diminuir as perdas na produtividade.

O *Phytophthium* é relatado como causador de podridão em mudas de soja (VARGAS, 2018), abacate (RODRÍGUEZ-PADRÓN *et al.*, 2018) e mandioca (BOARI *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2018). O patógeno, ao atacar a raiz da planta induz mecanismos de defesa, ocorrendo, primeiramente o reconhecimento do patógeno, e após, a sinalização da resposta. As plantas são capazes de produzir uma diversidade de reações de defesa após o ataque, entre elas estão à indução de síntese de proteínas-PR, peroxidase ou fitoalexinas, formação de radicais livres, lignificação e a suberificação (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014).

Poucos trabalhos avaliam a relação da podridão radicular e as respostas de defesa que modificam a relação fonte-dreno. Em virtude, o presente estudo analisou a magnitude das alterações da relação fonte-dreno em clones de mandioca previamente caracterizados como suscetível e resistente à podridão mole (ALBUQUERQUE; BRANDÃO, 2008; LIMA, 2018; SILVA *et al.*, 2017), comparando-se as características fisiológicas e bioquímicas em plantas infectadas por *Phytophthium* sp. Como objetivo específico foi avaliado as modificações ocorridas no processo fotossintético através de análises de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos cloroplastídicos e teor de amido. Além disso, as atividades enzimáticas da catalase, ascorbato peroxidase, peroxidase e polifenol oxidase foram realizadas a fim de analisar o efeito sinérgico nas mandiocas submetidas ao patógeno.

1.1 Revisão de literatura

1.1.1 Mandioca

A mandioca pertence à família *Euphorbiaceae*, o gênero *Manihot* possui 98 espécies, de hábito subarbastivo, arbustivo ou arbóreo, das quais somente *Manihot esculenta* Crantz apresenta importância econômica (CEBALLOS *et al.*, 2012).

A planta de mandioca pode produzir de 5 a 12 raízes tuberosas, variando tamanho, peso, e formato, em função da variedade, idade e região de produção (HILLOCKS; THRESH; BELLOTI, 2002; EMBRAPA, 2005). Apresentam dois tipos de raízes (Figura 1 A), as adventícias, que desempenham função de fixação e absorção de água e nutrientes, e as tuberosas, que resultam do processo de tuberização e armazenam fotoassimilados na forma de amido (VIÉGAS, 1976). Esta última é dividida, principalmente, em três diferentes tecidos, o parênquima corresponde a 85% do peso total da raiz e é onde se encontram as células de armazenamento de amido; o córtex e a periderme correspondem a 11-20% e 3% do peso total, respectivamente (Figura 1 B) (HILLOCKS; THRESH; BELLOTI, 2002; EMBRAPA, 2005). As raízes tuberosas apresentam em média 68% de umidade, 30% de amido, 0,2% de cinzas, 1,3% de proteínas, 0,2% de lipídios e 0,3% de fibras (CHISTÉ *et al.*, 2006; ALBUQUERQUE *et al.*, 2008). As folhas são palmadas, lobuladas, pecioladas e dispostas no caule em forma alternada (Figura 1 C), com elevado teor de proteína, que varia entre 14,7 a 40%, superior até ao das forrageiras tropicais, portanto, a raiz e a parte aérea podem ser utilizadas como fonte de alimento (ANDRÉ; SANTOS, 2012).

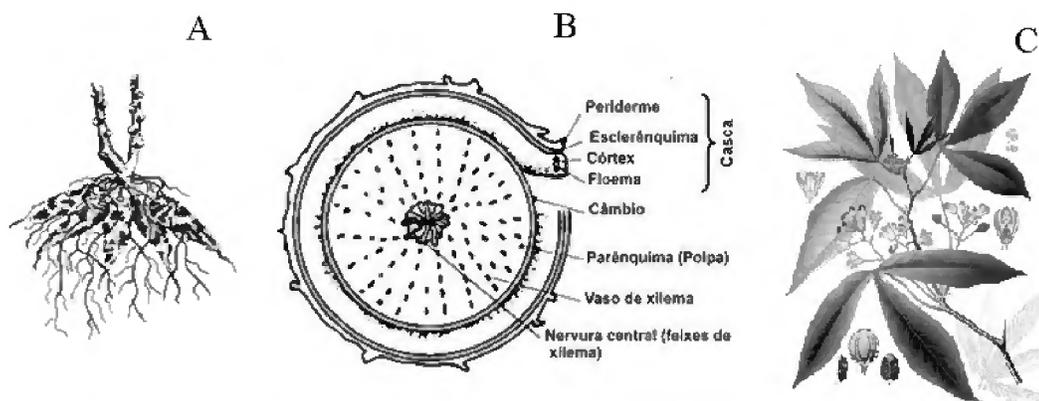


Figura 1. (A) Sistema radicular, (B) corte transversal em raiz tuberosa e (C) ramo da planta de mandioca (DOMINGUEZ *et al.*, 1983).

1.1.2 Podridão radicular causada por *Phytophthium* sp.

A podridão radicular é uma das principais doenças que acometem a cultura da mandioca, causada por patógenos que habitam o solo, afetam principalmente as raízes tuberosas e o colo das plantas, comprometendo a absorção de água, nutrientes e interfere no crescimento da planta (MASSOLA; BEDENDO, 2005; BANDYPADHYAY *et al.*, 2006). Além disso, a podridão radicular vem se tornando uma doença de alto impacto econômico e social nos principais países produtores como a África e no Brasil, provocando queda progressiva na produtividade, além de inutilizar as áreas para plantio ao longo dos ciclos da cultura (ONYEKA *et al.*, 2005; MOSES *et al.*, 2007; SERRA *et al.*, 2009; NOTARO, 2013).

Os sintomas da podridão radicular em mandioca variam conforme o patógeno, atualmente, *Phytophthium* sp. foi catalogado como causador de podridão mole (BOARI *et al.*, 2018), pertence ao reino Chromista, filo Oomicota na ordem Pythiales e família Pythiaceas (BALA *et al.*, 2010; De COCK *et al.*, 2015; JANKOWIAK; STEPNIEWSKA; BILANSKI, 2015), propicia características de podridão mole a raízes tuberosas de mandioca, com escurecimento do tecido afetado e a exsudação de líquido proporcionando mau cheiro (BANDYPADHYAY *et al.*, 2006; BOAS *et al.*, 2007).

A propagação da doença pode está associada a propriedades químicas e físicas do solo, tais como, a textura, condutividade elétrica, pH e matéria orgânica, podem influenciar na propagação da doença (ROJAS *et al.*, 2017; ZITNICK-ANDERSON *et al.*, 2017). A reprodução do patógeno pode ocorrer de forma sexuada e/ou assexuada, dependendo das condições saturadas do solo, a reprodução sexuada acontece a partir da interação da oogonia (estrutura feminina) e anterídio (estrutura masculina) formando o oósporo (estrutura sexual) e, em seguida, esporângios, que formaram zoósporos no solo que infecta as plantas (WATERHOUSE, 1967). A reprodução assexual ocorre com a produção direta de esporângios, nos quais formam zoósporos, os zoósporos se móveis em direção a raízes das plantas (BRODERS *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2014).

Métodos de controle podem ser utilizados para evitar a proliferação da podridão, são eles: genéticos, biológicos e culturais (PATRICIO, 2007; BENDENDO *et al.*, 2011; SILVA; MELO, 2013). O método de controle genético consiste na manipulação das variedades para que o cultivo apresente resistência ao patógeno, o método biológico utiliza microrganismos antagonistas sobre o patógeno e o controle cultural manipula as condições do meio durante o desenvolvimento do patógeno buscando a prevenção (PATRICIO, 2007; BENDENDO *et al.*, 2011; SILVA; MELO, 2013).

1.1.3 Interação planta- patógeno

As plantas estão expostas a interações com vários agentes biológicos, possibilitando estratégias de defesa que permite retardar ou impedir a penetração de patógenos, tais como, fungos, bactérias, oomicetos e vírus (RIZZARDI *et al.*, 2003). A interação pode ser dividida em dois tipos: a interação compatível e a interação incompatível. Na interação compatível o patógeno invade o tecido vegetal, se multiplica e provoca a doença na planta, e na interação incompatível, o patógeno encontra a resistência da planta, impedindo que se multiplique. Assim, a diferença entre as interações compatível e a incompatível é a presença ou ausência de um gene de resistência na planta, e de um gene de avirulência no patógeno (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003).

Em resposta aos eliciadores dos patógenos, as plantas iniciam a defesa pela ativação de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), localizados nas membranas celulares, que respondem a padrões moleculares associados a microrganismos ou patógenos, MAMPs e PAMPs, respectivamente (BOLLER; FELIX, 2009). As PAMPs servem como primeira linha de defesa contra patógenos em potencial, uma molécula PAMPs ao se ligar a um receptor de reconhecimento padrão gera a sinalização do evento “downstream” e a indução de sistemas de defesa basal (RESENDE *et al.*, 2007), causando ativações em mecanismo de defesa que podem alterar os níveis de Ca^{+} no citoplasma, ativar uma cascata de proteínas quinases, produção de fitoalexinas, produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), deposição de calose para reforçar a parede celular e fechamentos de estômatos para prevenção de entrada de patógenos (HE; SHAN; SHEEN, 2007).

1.1.4 Alterações no metabolismo fotossintético

O metabolismo é constituído por um conjunto de processos e rotas metabólicas que transformam moléculas orgânicas em macromoléculas, tais como, os carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (ROCKENBACH *et al.*, 2018).

Infecções patogênicas, geralmente, desencadeiam alterações na fotossíntese, e consequentemente no metabolismo primário, devido a áreas cloróticas e necróticas que impactam em menor área foliar disponível para realizar fotossíntese (BERGER *et al.*, 2007). Aliado a isso, em folhas de arroz inoculada com *Monographella albescens*, mesmo antes de apresentem os primeiros sintomas de cloroses e necroses, resulta em redução na entrada de CO_2 , taxa líquida de fixação de CO_2 e na condutância estomática ao vapor de água (gs) (TATAGIBA *et al.*, 2015). Essa condição de estresse biótico aliadas à alta irradiação em

campo pode sobrecarregar os fotossistemas, traduzindo-se em excesso de poder redutor e ATP no estroma; alterando a homeostase celular e impactando diretamente na produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS), tendo como consequência a ocorrência de danos celulares que podem contribuir para a diminuição do desempenho fotossintético (NOGUÈS *et al.*, 2002). Estudos mostram que as EROS também são produzidas em outros compartimentos celulares, como na mitocôndria e no peroxissomo (CURVÊLO *et al.*, 2013; IVANOV; BERNARDS, 2016).

O excesso de energia pode ser dissipado na forma de fluorescência, assim, a análise da fluorescência da clorofila *a* pode avaliar os efeitos de estresse e injúrias no processo fotossintético causado por fatores bióticos e abióticos, que qualifica e quantifica a absorção e o aproveitamento de energia luminosa pelo PSII e PSI (FERREIRA *et al.*, 2015; IVANOV; BERNARDS, 2016).

O carbono assimilado é transportado para os órgãos de crescimento e armazenamento, principalmente, na forma de sacarose; duas enzimas, a invertase e a sintase da sacarose desencadeiam o processo de catabolismo da sacarose. Nas folhas, a invertase cliva a *o*-glicosídica (sacarose) gerando glicose e frutose, a sacarose sintase na presença de uridina difosfato (UDP – substrato enzimático) converte sacarose em UDP-glicose e frutose (PAUL *et al.*, 2001; KOCH, 2004). A sacarose não utilizada como reserva temporária é translocada para o órgão de armazenamento, nas raízes, e transformada em amido (DENARDIN; SILVA, 2009).

1.1.5 Metabolismo oxidativo

Processos metabólicos aeróbicos levam à produção de EROS que ocorrem na mitocôndria, cloroplastos e peroxissomos, devido à alta taxa de oxidação metabólica ou ao intenso fluxo de elétrons. O oxigênio molecular (O_2) pode produzir moléculas tóxicas, pois quando excitado forma o oxigênio singlete (1O_2) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($OH\bullet$) e ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (Figura 2) através de sucessivas adições de elétrons ao O_2 (BARBOSA *et al.*, 2014).

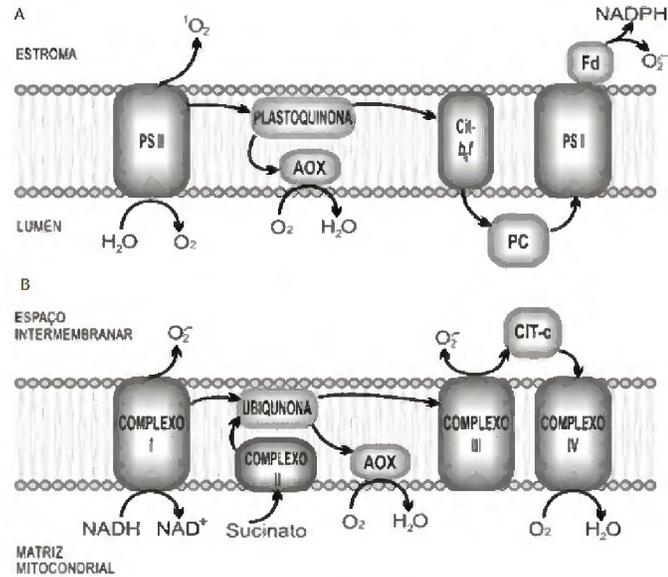


Figura 2. Representação da formação de moléculas tóxicas no cloroplasto (A) e mitocôndria (B) (BARBOSA *et al.*, 2014).

Quando a planta se encontra em condições de homeostase são produzidas EROS como moléculas sinalizadoras que controlam os processos de morte celular programada e regulação sistêmica. Na ocorrência de estresse, por exemplo, a planta aciona os mecanismos de defesa não enzimáticos, a exemplo, produção de carotenoides e compostos fenólicos, e enzimáticos, que é capaz de neutralizar a citotoxicidade das EROS (MITTLER *et al.*, 2011). No enzimático, várias enzimas antioxidantes são ativadas, tais como: superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação de $O_2^{\cdot-}$ para H_2O_2 (Figura 3); a catalase (CAT), que catalisa a redução do H_2O_2 em H_2O e O_2 (Figura 3) (ZHANG *et al.*, 2014; ; BARBOSA *et al.*, 2014). E as enzimas ascorbato peroxidase e glutatona que catalisam a redução de H_2O_2 em H_2O (SERKEDJIEVA, 2011; BARBOSA *et al.*, 2014).

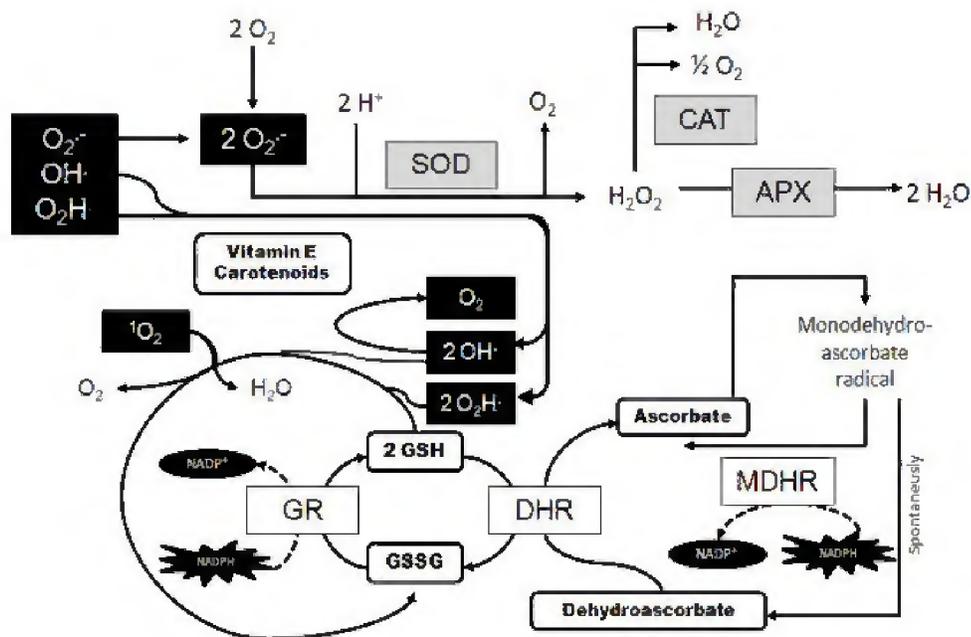


Figura 3. Mecanismo de defesa antioxidante. Radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$); radical hidroxila (OH^{\bullet}); radical hidroperoxila (O_2H^{\bullet}); oxigênio singlete (1O_2); peróxido de hidrogênio (H_2O_2); oxigênio (O_2); água (H_2O); superóxido dismutase (SOD); ascorbato peroxidase (APX); catalase (CAT); glutatona retutase (GR); glutatona (forma reduzida- GSH, forma oxidada- GSSG); monodehidroascorbato (MDHA- forma intermediária); monodehidroascorbato retutase (MDHR); dihidrorodamina (DHR) (HALLIWER, 2009).

As peroxidase (POD) e polifenoloxidasas (PPO) também são enzimas que respondem a condições de estresse e são relacionadas ao mecanismo de defesa celular. A enzima peroxidase (POD) atua na indução de respostas fisiológicas como a hipersensibilidade, processo de lignificação, suberização e produção de fitoalexinas (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003; CALVANTI *et al.*, 2005; NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014), além disso, atua nas reações de oxidação de compostos fenólicos, ligação de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético. A polifenoloxidase (PPO) também ajuda na prevenindo danos celulares contra microrganismos, catalisa a oxidação dos compostos fenólicos produzindo quinonas e consequentemente pigmentos escuros (CAMPOS *et al.*, 2004). Assim, as enzimas do metabolismo secundário desempenham papel fundamental na resposta de defesa das plantas, contribuindo na degradação das EROS, invertendo o processo de morte celular e a colonização do patógeno (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014).

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A. S.; BRANDÃO, I. C. D. **Cultivares BRS Mari e BRS Poti e medidas de controle da podridão-mole da mandioca**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 24p. (Embrapa Amazônia Oriental, Documento, 326). Disponível em: http://www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online. Acessado em: 01 maio de 2018.
- ANDRÉ, T.B.; SANTOS, A.C. Uso de produtos da cultura da mandioca (*Manihot*) na produção animal. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1622-1647, 2012.
- BALA, K.; ROBIDEAU G.P.; LÉVESQUE C.A. *Phytophthium Abad*, de Cock, Bala, Robideau, Lodhi e Lévesque, gen. nov. and *Phytophthium sindhum* Lodhi, Shahzad e Lévesque. **Fungal Planet** 49. **Persoonia**, v. 24, p. 136-137, 2010.
- BANDYOPADHYAY, R.; MAWANGI, M.; AIGBE, S. O.; LESLIE, J. *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 96, n.6, p. 673-676, 2006.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. de A.; WILLANDIO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Plant generation and enzymatic detoxification of reactive oxygen species. **Ciências Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BEDENDO, I. P.; MASSOLA, N. S.; AMORIM, L. Controles cultural, físico e biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; RESENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.(Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**, Piracicaba: Agronômica Ceres. p. 367-388, 2011.
- BOARI, A. J., QUADROS, A. F. F., CUNHA, E. M., FERNANDES, A. F., & BARRETO, R. W. First report of *Phytophthium* sp. causing storage root rot and foliage blight of cassava in Brazil. **Plant Disease**, <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1449-PDN>, 2018.
- BOLLER, T; FELIX, G. A Renaissance of Elicitors: Perception of MicrobeAssociated Molecular Patterns and Danger Signals by Pattern-Recognition Receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, n. 1, p. 379-406, 2009.
- BRODERS, K. D.; WALLHEAD, M. W.; AUSTIN, G. D.; LIPPS, P. E.; PAUL, P. A.; MULLEN, R. W.; DORRANCE, A. E. Association of soil chemical and physical properties with *Pythium* species diversity, community composition, and disease incidence. **Phytopathol**, v. 99, n. 8, p. 957-967, 2009.
- CAMPOS, Â. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, N. B.; SILVEIRA, E. P.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidação e polifenoxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.
- CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STARGARLIN, J. R.; CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**, p. 85-124. 2005.

- CEBALLOS, H; KULAKOW, P; HERSHEY, C. Cassava Breeding: Current Status, Bottlenecks and the Potential of Biotechnology Tools. **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 73-87, 2012.
- CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; MATHIAS, E. A.; RAMOA JÚNIOR, A. G. A. Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 861-864, 2006.
- De COCK, A. W.; LODHI, A. M.; RINTOULT, T. L.; ROBIDEAU, G. P.; ABAD, Z. G.; COFFEY, M. D.; SHAHZAD, S.; LÉVESQUE, C.A. *Phytophthium*: molecular phylogeny and systematics. **Persoonia**, v. 34, p. 25-39, 2015.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciências Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.
- DOMINGUEZ, C. E.; CEBALLOS, L. F.; FUENTES, C. Morfología de la planta de yuca. En: Yuca: investigación, producción y utilización. **Programa de Yuca**, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, p. 29-49, 1983.
- EMBRAPA – Mandioca: o pão do Brasil = Manioc, le pain du Brésil. Brasília: **Embrapa**, 2005. 530p.
- FERREIRA, A.F.; MATOS, C. da. C. de.; BARBOSA, E. A.; SILVA, D. V.; SANTOS, J. B dos.; PEREIRA, G. A. M.; FARIAS, A. T.; SILVA, C. T. Respostas fisiológicas da mandioca à aplicação de herbicidas. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 645-652. 2015.
- HALLIWELL, B. The wandering of a free radical. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 46, n. 5, p. 531-542, 2009.
- HE, P.; SHAN, L.; SHEEN, J. Elicitation and suppression of microbe associated molecular pattern-triggered immunity in plant-microbe interactions. **Cellular Microbiology**, v. 9, n. 6, p. 1-12, 2007
- HILLOCKS, R.J; THRESH, J.M; BELLOTI, A.C. **Cassava: biology, production and utilization**. Nova Iorque: CABI, 332p, 2002.
- JANKOWIAK, R.; STEPNIEWSKA, H.; BILANSKI, P. Notes on some *Phytophthium* and *Pythium* species occurring in oak forests in Southern Poland. **Acta Mycologica**. v. 50, n. 1, p. 1-10, 2015.
- KOCH, K. Sucrose metabolismo: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, n. 3, p. 235-246, 2004.
- LIMA, A. M.; MOURA, F. E.; ISHIDA, A. K. N.; PEREIRA, A. C. da C.; REIS, S. P. dos.; SOUZA, C. R. B. de. Expression profiles of defense genes in cassava storage roots upon exposure to *Phytophthium sp.*, causal agente of soft root rot disease. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 104, p. 23-30, 2018.

- LI, Y. P.; YOU, M. P.; COLMER, T. D.; BARBETTI, M. J. Effect of timing and duration of soil saturation on soilborne *Pythium* diseases of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Plant Disease**, v. 99, n. 1, p. 112–118, 2014.
- LYER, S; MATTINSON, D; FELLMAN, J. Study of the Early Events Leading to Cassava Root Postharvest Deterioration. **Tropical Plant Biology**, v. 3, n. 3, p. 151-165, 2010.
- MASSOLA, N. S.; BEDENDO, I. P. Doenças da Mandioca. In: KIMATI, H., AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª. Ed. São Paulo: Ceres. v. 2, p. 449-455, 2005.
- MITTLER, R; VANDERAUWERA, S; SUZUKI, N; MILLER, G; TOGNETTI, V; VANDEPOELE, K; GOLLERY, M; SHULAEV, V; VAN BREUSEGEM, F. ROS signaling: the new wave? **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 6, p. 300-309, 2011.
- MOSES, E.; AKROFI, S.; MENSAH, G. A. Characteristics and control of a new basidiomycetous root rot of cassava (*Manihot esculenta*) in Ghana. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 13, p. 307-311, 2007.
- NASCIMENTO, J. B.; BARRIGOSI, J. A. F. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer- Goiânia, v. 1, n. 1, p. 234- 250, 2014.
- NOTARO, K.A.; MEDEIROS, E.V.; SILVA, C.A.D.; BARROS, J.A. Prospecção de fitopatógenos associados à podridão radicular da mandioca em Pernambuco, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1832-1839, 2013.
- OLIVEIRA, A. M. G.; CARDOSO, C. E. L.; SILVA, J.; FERREIRA FILHO, J. R.; DITA, M. A. R. Doenças da mandioca. In: EMBRAPA. **Curso sobre o cultivo da mandioca**. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMFT, 2008.
- ONYEKA, T. J.; DIXON, A. G. O.; EKPO, E. J. A. Field evaluation of root rot disease and relationship between disease severity and yield in cassava. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 41, n. 3, p. 357-363, 2005.
- PATRÍCIO, F. R. A. Controle de doenças de hortaliças - convencional vs. alternativo. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 87-90, 2007.
- PAUL, M; PELLNY, T; GODDIJN, O. Enhancing photosynthesis with sugar signals. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 5, p. 197-200, 2001.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de Oxigênio na resposta de defesa de planta a Patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n. 2, p. 123-130, 2003.
- RESENDE, M. L. V.; BARRETTI, P. B.; MEDEIROS, F. C. L.; SILVA, D. D. PERREIRA, R. B.; LINS, S. R. O.; PEREIRA, L. M. P.; CAMPOS, M. A. Percepção e transdução de sinais para a ativação de respostas de defesa em plantas contra patógenos. **RAPP**, v. 15, p. 1-70, 2007.

- RIZZARD, M. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; JR, A. A. B. Ação de herbicidas sobre o mecanismo de defesa das plantas ao patógeno. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 957-965, 2003.
- ROCKENBACH, A. P.; RIZZARDI, M. A.; NUNES, A. L.; BIANCHI, M. A.; CARVERZAN, A.; SCHNEIDER, T. Interferência entre plantas daninhas e a cultura: alterações no metabolismo secundário. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 59-70, 2018.
- RODRÍGUEZ-PADRÓN, C.; SIVERIO, F.; PÉREZ-SIERRA, A.; RODRÍGUEZ, A. Isolation and pathogenicity of Phytophthora species and Phytophthora vexans recovered from avocado orchards in the Canary Islands, including Phytophthora niederhauserii as a new pathogen of avocado. **Research papers**, v. 57, n. 1, p. 89-106, 2018.
- ROJAS, J. A.; JACOBS, J. L.; NAPIERALSKI, S.; KARAJ, B.; BRADLEY, C. A.; CHASE, T.; ESKER, P. D.; GIESLER, L. J.; JARDINE, D. J.; MALVICK, D. K.; MARKELL, S. G.; NELSON, B. D.; ROBERTSON, A. E.; RUPE, J. C.; SMITH, D. L.; SWEETS, L. E.; TENUTA, A. U.; WISE, K. A.; CHILVERS, M. I. Oomycete species associated with soybean seedlings in North America—Part I: Identification and pathogenicity characterization. **Phytopathology**, v. 107, p. 280–292, 2017.
- SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, v. 13, p. 275-293, 2011.
- SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. da.; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 4, p. 327-328, 2009.
- SILVA, E.K.C.; MELO, L.G.L. Manejo de doenças de plantas: um enfoque agroecológico. **Revista Educamazônia**, Humaitá, v. 10, n. 1, p. 143-157, 2013.
- SILVA, J. L.; MOURA, E. F.; ILKIU-BORGES, F.; GALVÃO, J. R.; FARIAS-NETO, J. T. de. SILVA, G. B. da.; RÉGO, M. C. F.; CUNHA, R. L. Morphoanatomy and histochemistry analyses of cassava root do not discriminate resistant from susceptible genotypes to soft root rot. **ACTA Amazonica**, v. 47, n. 7, p. 1-6, 2017.
- TATAGIBA, S. D.; DaMATTA, F. M.; RODRIGUES, F. A. Silicon partially preserves the photosynthetic performance of rice plants infected by *Monographella albescens*. **Annals of Applied Biology**, v. 168, n. 1, p. 111-121, 2015.
- VARGAS, A. 2018. 107f. Management of seedling diseases caused by Oomycetes, *Phytophthora* spp., *Phytophthora* spp. and *Pythium* spp. using seed treatment in Ohio. Dissertação. curso Mestre em Ciências, Ohio State University, Patologia Vegetal, 2018.
- WATERHOUSE, G. M. Key to *Pythium* Pringsheim. **Mycology Papers**, v. 109, n. 1, p. 1–15, 1967.

ZAINUDDIN, I. M.; FATHONI, A.; SUDARMONOWATI, E. BEECHING, J. R.; GRUISSEM, W. VANDERSCHURE, H. Cassava pos-harvest physiological deterioration: From triggers to symptoms. **Postharvest Biology and Technology**, v. 142, p. 115-123, 2018.

ZITNICK-ANDERSON, K. K.; NORLAND, J. E.; DEL RIO MENDOZA, L. E.; FORTUNA, A.-M.; NELSON, B. D. J. Probability models based on soil properties for predicting presence-absence of *Pythium* in soybean roots. **Microbial Ecology**, v. 74, n. 3, p. 550–560, 2017.

ZHANG, L.; MA, H.; CHEN, T. T.; PEN, J.; TU, S.; ZHAO, X. Morphological and Physiological Responses of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Plants to Salinity. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, 2014

2 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIQUÍMICAS EM GENÓTIPOS DE MANDIOCA INFECTADOS POR *Phytophthora* sp.

2.1 Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura importante economicamente para países tropicais e subtropicais, pelo seu valor econômico e social. O Brasil como grande produtor mundial produziu em 2018 cerca de 20,8 milhões de toneladas de raízes em 1,4 milhões de hectares (IBGE, 2018).

Como toda cultura importante economicamente os fatores abióticos e bióticos podem comprometer o desenvolvimento e a produção vegetal num determinado ambiente (FERRÃO *et al.*, 2016; ALCALÁ *et al.*, 2017). O clima brasileiro facilita o desenvolvimento de vários fungos e oomicetos que habitam o solo, a exemplo infectam raízes tuberosas de mandioca, podridão mole, e em folhas à ferrugem (SILVA *et al.*, 2017). As podridões radiculares em geral, dependendo da severidade, podem levar a perdas significativas na produção de raízes, com destaque para os altos índices de podridão mole relacionada ao fungo do gênero *Fusarium* (MORAIS *et al.*, 2013; BOAS *et al.*, 2016), aos oomicetos *Phytophthora* e *Pythium* (FIGUEIREDO; ALBUQUERQUE, 1970; OLIVEIRA, *et al.*, 2016) e, recentemente, ao *Phytophthora* sp. (BOARI *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2018). As plantas afetadas podem apresentar sintomas visuais na parte aérea, como amarelecimento e/ou murcha, o patógeno compromete as raízes tuberosas acarretando em sintomas inicialmente leves de podridão nas áreas próximas ao local da infecção e pode desencadear rápida evolução necrótica, com odores fortes semelhantes à decomposição de matéria orgânica e coloração acinzentada devido aos micélios ou esporos; já em estádios mais avançados, pode atingir a base do caule e, por último, a planta murcha (NOTARO *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2017).

Como resposta a presença do patógeno, as plantas ativam o sistema de defesa que pode induzir respostas morfológicas, químicas e moleculares (e.g. barreira física, moléculas e sistema antioxidante enzimático e não enzimático). As folhas podem sofrer danos diretos com o avanço da doença, redução na área foliar (MICHEREFF, 2014), nas células do mesófilo, pigmentos, abertura e fechamento dos estômatos, prejudicando em última análise a transpiração, e a taxa fotossintética (BERGER *et al.*, 2007; CURVÊLO *et al.*, 2013; IVANOV; BERNARDS, 2016).

Nas raízes, enzimas do metabolismo primário diminuem os efeitos do estresse oxidativo sendo capazes de neutralizar a citotoxicidade das EROS (BARBOSA, *et al.*, 2014).

As enzimas do metabolismo secundário, tais como a peroxidase (POD) e a polifenol oxidase (PPO) podem retardar ou interromper a infecção, atuam diretamente em alterações na constituição da parede celular causados pelo patógeno e acúmulo de metabólitos secundários e/ou síntese de peptídeos que também atuam no mecanismo de defesa (ASHRY; MOHAMED, 2011; NGADZE *et al.*, 2012). As POD são enzimas que participam do processo de construção da parede celular (polímeros, lignina e suberina) que constituem uma barreira física contra o patógeno, o aumento da atividade dessa enzima confere resistência, assim como a PPO que tem o papel de oxidar compostos fenólicos endógenos em quinonas, substância tóxica a patógenos (ASHRY; MOHAMED, 2011; NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014).

Assim, tendo em vista que a podridão mole é uma doença que possui impacto negativo na produção de raiz, faz-se necessário estudo para avaliar a resposta fotossintética e bioquímica de plantas contrastantes quanto à tolerância de genótipos de mandioca infectados por *Phytophthium* sp..

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Material vegetal

O experimento foi conduzido na Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, norte do Brasil (latitude 01° 27' 21 e longitude de 48° 30' 16, 10 m altitude), no período entre os meses de agosto de 2016 a junho de 2017. Foram selecionadas manivas sementes (*Manihot esculenta* Crantz) do banco ativo de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, previamente caracterizados como resistente e suscetível à podridão mole (BRS Poti e CPATU 530) (ALBUQUERQUE; BRANDÃO, 2008) causada por *Phytophthium* sp.

O experimento foi desenvolvido com um total de 40 plântulas/clone por acesso, todas uniformes e proveniente de câmara de propagação, foram plantados em vasos (10 L de volume) mantidos em casa de vegetação com flutuações naturais de densidade de fluxo de fótons ($368 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) e temperatura (33,4 °C). O substrato era composto de terra preta e esterco curtido (3:1, v/v). As plantas foram irrigadas e fertilizadas conforme a necessidade da cultura (MATTOS; CARDOSO, 2003).

Seis meses após o transplante para os vasos, plantas de um metro de altura média foram separadas em quatro grupos (delineamento inteiramente casualizado) de 20 plantas: o primeiro, recebeu o inoculo sem *Phytophthium* sp.- CPATU 530 (T1); o segundo recebeu o inoculo de *Phytophthium* sp.- CPATU 530 (T2); o terceiro recebeu inoculo sem *Phytophthium*

sp.- BRS Poti (T3); e o quarto grupo, o inoculo de *Phytophthium* sp.- BRS Poti (T4). Para avaliação foram coletados lotes de cinco plantas para todos os tratamentos sob os tempos de zero dias, 7º dia, 15º dia e 34º dia após a inoculação do oomiceto.

2.2.2 Preparação do inoculo e inoculação

O *Phytophthium* sp. catalogado na Micoteca da Embrapa Amazônia Oriental com isolado CT0084, foi utilizado para ser inoculado nas plantas de mandioca. Esse isolado foi multiplicado em meio de cultura contendo mandioca mansa dextrose ágar (MMDA) a 28 °C em placa de petri no escuro contínuo por 12 dias. Além disso, procedeu-se teste de patogenicidade de acordo com ONYEKA et al. (2005) e OLIVEIRA et al. (2013).

O composto inoculante foi preparado com área branca e fubá de milho (3:1, v/v) e 75 mL de água, autoclavado (1 h a 121°C) por duas vezes em intervalos de 24h. Após atingir temperatura ambiente, 50 discos coletados em pontos equidistantes, do meio de cultura MMDA (6X 2 mm, diâmetro e profundidade da placa) contendo os micélios e o meio de cultura foram inoculados em frascos de vidro por 10 dias.

Dada à necessidade de haver o fermento para que os oomicetos penetrassem nas raízes tuberosas (vide LIMA, 2017 e SILVA *et al.*, 2017 para maiores detalhes). Procedeu-se a exposição da superfície das raízes mediante escavações manuais, em seguida, com auxílio de um estilete, foi realizada a raspagem de sua superfície, removendo-se casca e a exoderme. Em seguida, 100 g do inoculante, mencionada anteriormente, foram adicionados em cada vaso, separando-se os tratamentos; (I) composto inoculante sem patógeno (II) composto inoculante com patógeno *Phytophthium* sp.

2.2.3 Incidência da infecção

As raízes de T1, T2, T3 e T4 no 7º dia, 15º dia e 34º dia após a inoculação foram coletadas, cortadas transversalmente e fotografadas com câmera digital, com cinco repetições por tratamento. A incidência foi quantificada utilizando o software ImageJ, a partir das observações de área lesionada e foi calculada a porcentagem de área afetada nas raízes.

2.2.4 Determinação de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

A taxa de assimilação de CO₂ (*A*), condutância estomática (*g_s*), taxa de transpiração (*E*) e a relação entre as concentrações interna e externa de CO₂ (*C_i/C_a*) foram determinadas nas folhas, totalmente expandidas, do terço médio das plantas, simultaneamente, pelas

medidas de fluorescência da clorofila *a*, utilizando-se analisador portátil de fotossíntese, LI-6400XT (Li-Cor, Inc, Lincoln, NE, USA), em sistema aberto, sob irradiância de saturação de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração atmosférica de CO_2 de 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, acoplado com câmara de fluorescência integrada (Li-6400-40; Li-Cor, Inc) no horário entre 8 horas às 10 horas.

Folhas mantidas, previamente, no escuro (30 min) expondo os tecidos foliares, inicialmente, a um fraco pulso de luz vermelho distante para determinação da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, em pulso de luz saturante com irradiância de 6000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e, estimando-se a fluorescência máxima (F_M); quando se estima a razão entre a fluorescência variável e máxima $F_V/F_M = (F_M - F_a)/F_M$. Para se obter a máxima eficiência do PSII, nas folhas adaptadas a luz, a fluorescência constante “steady-state” são medidas após os registros dos parâmetros de trocas gasosas. Em seguida, um pulso de luz saturante foi aplicado por 1 s para a obtenção de fluorescência máxima emitida pela amostra sob luz (F_M'). A luz actínica foi desligada e as folhas foram analisadas com a luz vermelho distante para a obtenção de F_0 adaptada à luz (F_0'). Usando os valores desses parâmetros o quenching fotoquímico (q_p), o rendimento quântico do transporte de elétrons do PSII (Φ_{psII}) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) foram calculados utilizando as equações descritas por Maxwell e Johnson (2000).

2.2.5 Pigmentos e metabolitos

Amostras de tecido foliar e radicular, aproximadamente 100 mg foram extraído em metanol 100 %, incubadas a 70 °C por 90 min e submetidas a duas centrifugações (10000g, 10 min). Imediatamente, após a extração, na fração solúvel em metanol foi determinado o teor de clorofila a (Cl_a), clorofila b (Cl_b), clorofilas totais (Cl total) e carotenoides totais (Car total) em tecido foliar (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001) e, as concentrações de amido foram determinadas, enzimaticamente, da fração insolúvel das folhas e raízes (PRAXEDES *et al.*, 2006).

Já para o malondialdeído (MDA) foi utilizada amostras de 100 e 200 mg (tecido radicular) extraídos com 0,1% ácido tricloroacético (TCA) (m/v) e encubado a 90 °C com 0,5% ácido tiobarbitúrico (TBA) em 20% TCA. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 10000 g, por 3 min, a 4°C. A leitura foi realizada a 532 e 600 nm conforme o descrito por Pinheiro *et al.* (2004).

2.2.6 Ensaio enzimático

Para a determinação da atividade das enzimas CAT, APX, POD e PPO amostras de folhas e raízes (~200 e 400 mg MF, respectivamente, exceção das duas últimas que foram somente raízes) foram homogeneizados num meio extração a 4°C, contendo 30% de polivinilpirrolidona (m/v) e 4 mL de tampão de extração para a CAT e APX constituído de 50 mM tampão fosfato de potássio (pH 7,0), 2 mM EDTA, 20 mM ascorbato, 0,1% triton x 100 (v/v). Já para a POD e PPO a extração procedeu-se com tampão fosfato potássio 200 mM pH 6,0. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 10000 g, por 3 min, a 4°C. A leitura foi realizada a 240 e 290 nm para a CAT e APX conforme o descrito por Pinheiro et al. (2004); e, a 470 e 425 nm para a POD e PPO conforme Medeiros (2009) e Simões et al. (2015). Os ensaios supracitados foram previamente otimizados de acordo com a linearidade da resposta ao volume de extrato e tempo de reação.

2.2.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à comparação de médias pelo teste t, a 5% de significância, usando o Sisvar 5.6.

2.3 Resultados

2.3.1 Incidência da infecção

Em relação ao *T1* e *T3* foram verificadas infecções, %, em cortes transversais sobre as áreas lesionadas (quando presentes) de raízes de mandioca, nessa ordem, em que a partir do 7, 15 e 34º DAIT de inoculação foram de 4,95, 9,52 e 18,69 % em CPATU 530 (*T2*); enquanto para a BRS Poti3,61, 6,07 e 5,93 % (*T4*).

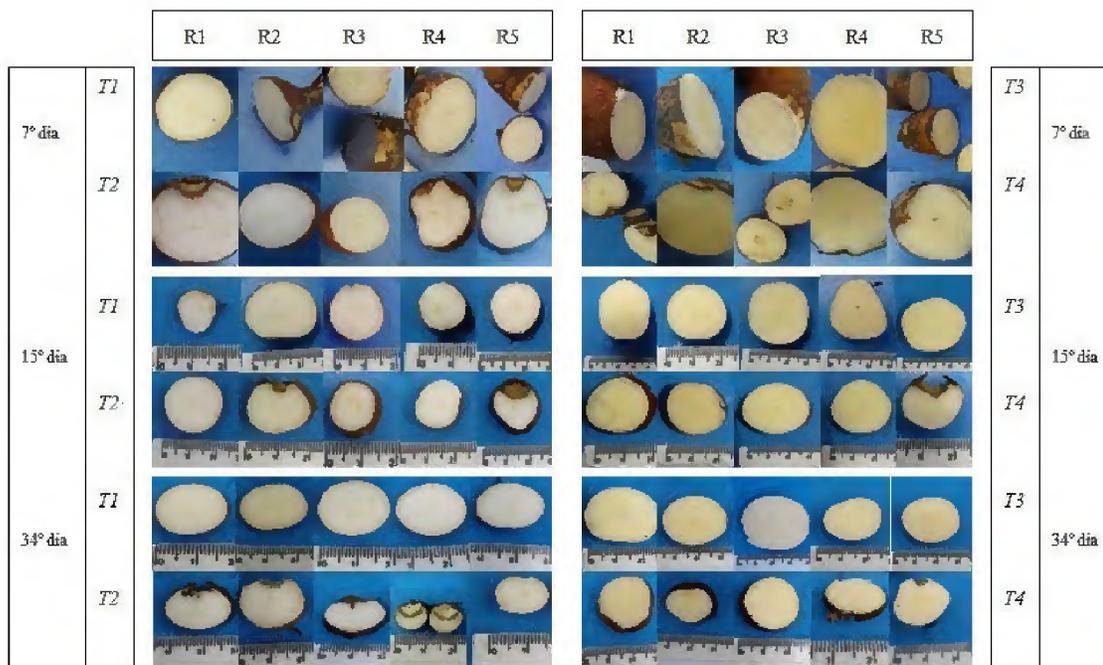


Figura 4. Corte transversal de raízes de mandioca CPATU 530 não infectada (T1), CPATU 530 infectada (T2), BRS Poti não infectada (T3) e BRS Poti infectada (T4) no 7º dia, 15º dia e 34º dia após a inoculação do *Phytophthium* sp. R1, R2, R3, R4 e R5 denotam repetições.

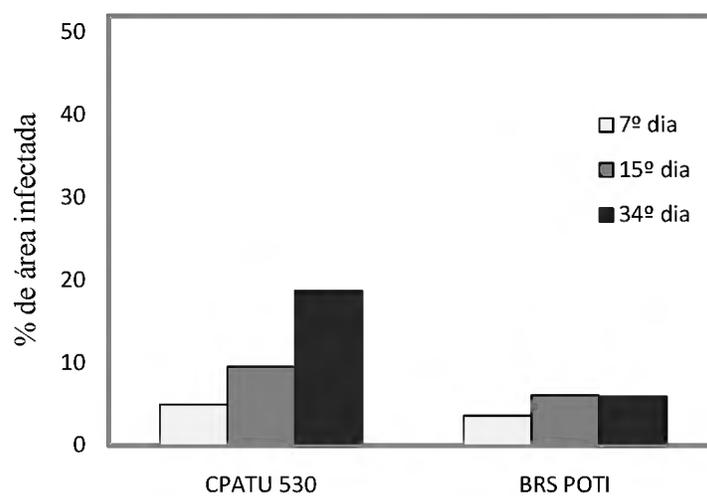


Figura 5. Porcentagem de área infectada nos genótipos CPATU 530 e BRS Poti no 7º dia, 15º dia e 34º dia após a inoculação do *Phytophthium* sp.

2.3.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Observou-se que os maiores valores médios de *A*, *g_s*, *E*, *Ci/Ca* (Figura 6) foram nas plantas infectadas, independente do genótipo, com destaque para o valores de *T2* em relação a *T1* no 7º DAIT (aumento de 20%, 52%, 27% e 7%, respectivamente) e 15º dia (aumento 27% apenas em *A*), e *T4* em relação a *T3* no 15º DAIT (aumento de 66, 120 e 64% os valores de *A*, *g_s* e *E*, respectivamente) e em 34º DAIT (aumento de 50 e 159% de *A* e *Ci/Ca*).

Quanto as parâmetros de fluorescência da clorofila *a* expostos na Figura 7, a F_V/F_M não diferem significativamente ($p < 0,05$) para os dois genótipos, exceto em BRS Poti em 0 dias. ETR houve aumento de 28% em *T2* comparado a *T1* no 7º DAIT, e *T4* apresentou aumento de 46 %, 27 %, e 41 % no 7º 15º e 34º dia em relação a *T3*. O quenching fotoquímico (*qp*) e o rendimento quântico do transporte de elétrons no fotossistema II aumentaram, significativamente, em *T2* em 0 e 7º DAIT e, em *T4* em 7, 15 e 34º DAIT.

2.3.3 Pigmentos e metabolitos

As concentrações de clorofila não diferem significativamente ($p < 0,05$) (Tabela 1) para todos os tratamentos, com exceção dos parâmetros de clorofila *b* em BRS Poti no 15º DAIT e carotenoides totais em CPATU 530 no 7º DAIT.

As concentrações de amido foram menores nas plantas infectadas independente do tecido avaliado nos 7 e 15º DAIT (Tabela 1), em raízes do genótipo BRS Poti os teores de amido foram de 27 e 18% menores em relação as plantas não infectadas, possivelmente associado ao fato que o oomiceto utiliza o amido como principal fonte de carboidrato.

A presença do oomiceto pouco ou mesmo nada alterou a concentração de MDA em todos os tratamentos (Tabela 1) ($p < 0,05$).

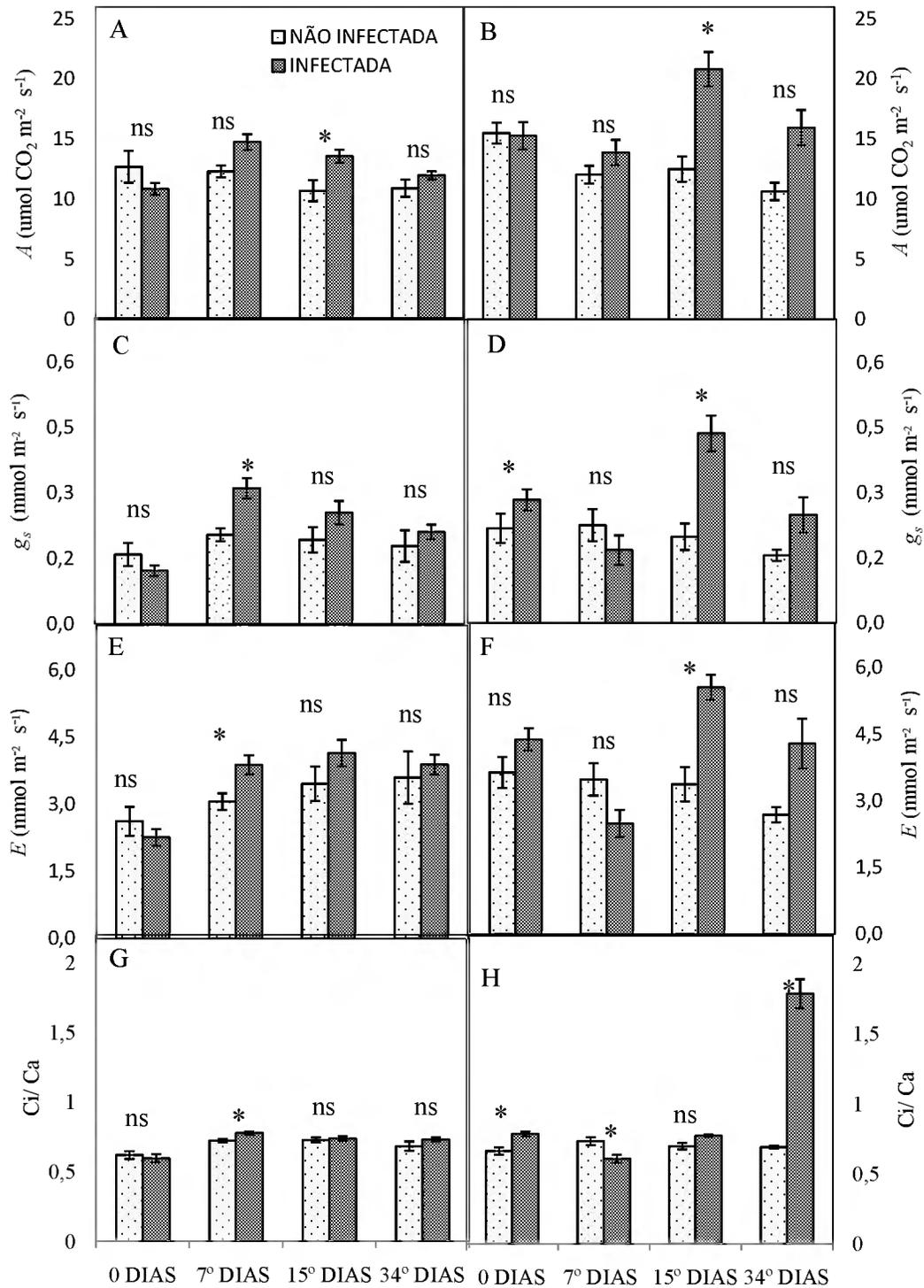


Figura 6. (A) taxa de assimilação de CO₂ (*A*) em CPATU 530, (B) taxa de assimilação de CO₂ (*A*) em BRS Poti, (C) condutância estomática (*g_s*) em CPATU 530, (D) condutância estomática (*g_s*) em BRS Poti, (E) taxa de transpiração (*E*) em CPATU 530, (F) taxa de transpiração (*E*) em BRS Poti, (G) relação de contração interna e externa de CO₂ (*C_i/C_a*) em CPATU 530 e (H) relação de contração interna e externa de CO₂ (*C_i/C_a*) em BRS Poti. A coluna em branco com pontos pretos indica o tratamento não infectado e a coluna escura o tratamento infectado. O eixo horizontal exibe valores referentes das medições no 0 dia (sem patógeno), 7°, 15° e 34° dias após a inoculação. As barras representam o erro padrão. Os asteriscos indicam que as médias entre não infectada e infectada

diferem significativamente (teste t, $p < 0,05$). ns indica que as médias não diferem significativamente (teste t, $p > 0,05$).

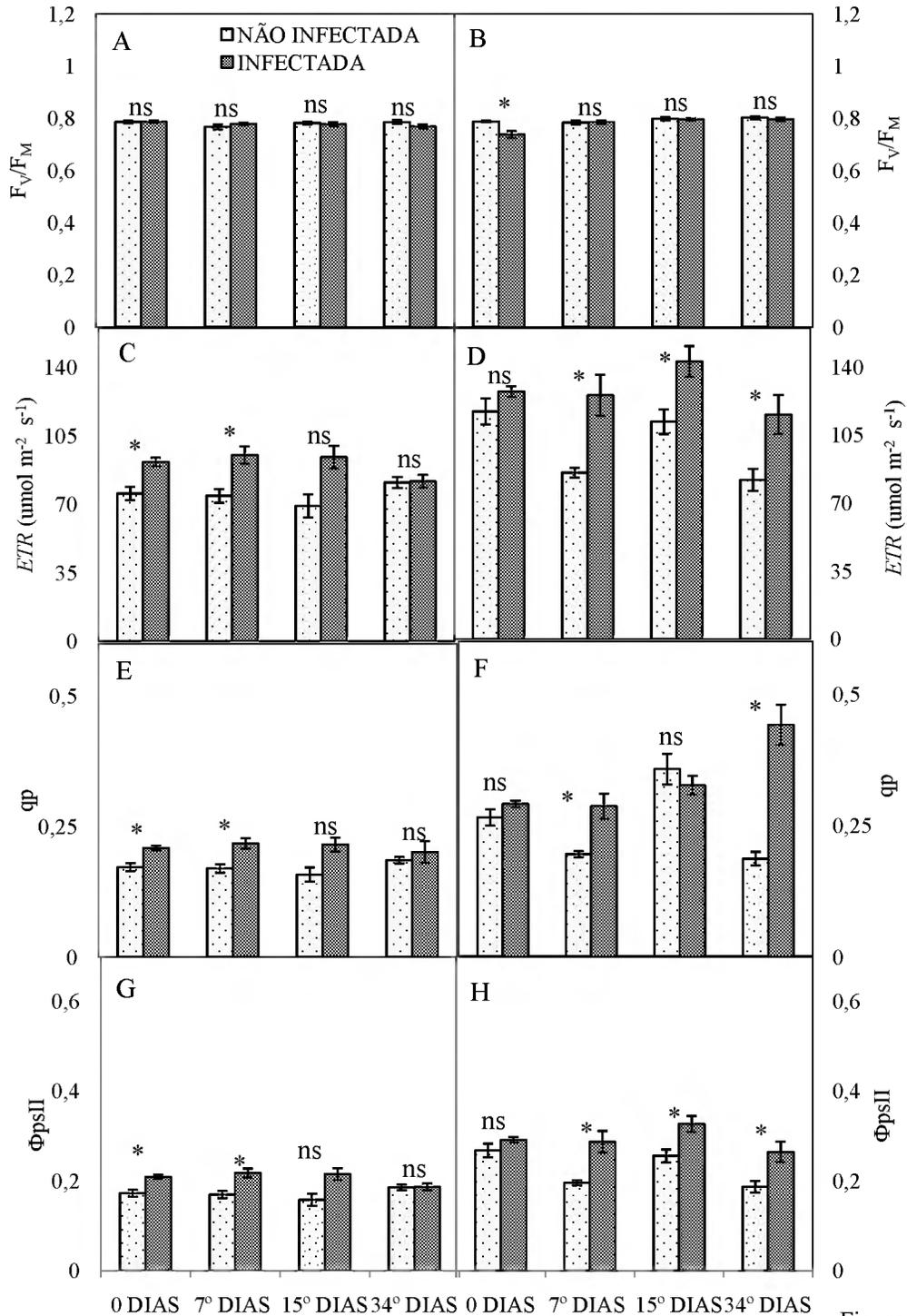


Figura 7. (A)

Relação entre a fluorescência variável e máxima (F_v/F_m) em CPATU 530, (B) Relação entre a fluorescência variável e máxima (F_v/F_m) em BRS Poti, (C) taxa de transporte de elétrons (ETR) em CPATU 530, (D) taxa de transporte de elétrons (ETR) em BRS Poti, (E) quenching fotoquímico (qp) em CPATU 530, (F) quenching fotoquímico (qp) em BRS Poti, (G) rendimento quântico do transporte de elétrons do PSII (Φ_{psII}) em CPATU 530 e (H) rendimento quântico do transporte de elétrons do PSII (Φ_{psII}) em BRS Poti. Para maiores detalhes estatísticos vide figura 4.

Tabela 1: Concentrações de pigmentos (Cl_a, Cl_b, Cl, totais e Car totais), metabolitos (Amido e MDA) e atividade enzimática (CAT e APX) em folhas e raízes de genótipos de mandioca, CPATU 530 e BRS Poti não infectados e infectados com o *Phytophthium* sp.

Parâmetros	Não infectada				Infectada				
	0 dias	7º dias	15º dias	34º dias	0 dias	7º dias	15º dias	34º dias	
CPATU 530	Cl _a	240,6 ± 28,99	188,22 ± 9,9	178,49 ± 15,25	172,49 ± 15,25	211,67 ± 20,26	235,43 ± 25,91	191,47 ± 14,57	197,22 ± 20,21
	Cl _b	72,28 ± 11,20	78,67 ± 23,70	57,67 ± 7,21	57,67 ± 9,34	61,29 ± 2,01	70,56 ± 9,49	55,23 ± 3,99	55,23 ± 7,03
	Cl _{total}	317,88 ± 38,72	266,89 ± 31,26	236,46 ± 21,69	230,16 ± 20,14	272,96 ± 21,9	305,99 ± 35,18	246,7 ± 18,46	252,45 ± 26,87
	Car total	57,75 ± 5,78	35,65 ± 7,05 *	50,63 ± 6,31	43,92 ± 5,59	61,03 ± 5,78	63,44 ± 3,92*	46,74 ± 4,29	56,96 ± 5,69
	Amido _F	4,09 ± 0,84	8,46 ± 1,03	3,22 ± 0,59	4,65 ± 0,95	5,09 ± 0,80	5,23 ± 0,43	2,62 ± 0,13	4,26 ± 1,36
	CAT _F	-	-	-	0,26 ± 0,05	-	-	-	0,29 ± 0,05
	APX _F	-	-	-	2,50 ± 0,50	-	-	-	2,95 ± 0,41
	Amido _R	23,52 ± 2,58*	12,75 ± 0,57	15,55 ± 0,95	9,82 ± 1,03	11,98 ± 1,42*	13,90 ± 1,28	13,58 ± 0,93	7,27 ± 0,94
	MDA _R	9,19 ± 0,41	11,25 ± 2,29	7,93 ± 1,14	8,30 ± 0,63	9,63 ± 0,47	9,12 ± 0,52	11,97 ± 1,73	9,89 ± 0,92
	CAT _R	-	-	-	0,21 ± 0,02	-	-	-	0,23 ± 0,03
APX _R	-	-	-	10,42 ± 1,23	-	-	-	17,13 ± 3,23	
BRS Poti	Clor a	261,82 ± 25,7	160,33 ± 9,12	192,82 ± 12,81	211,92 ± 17,33	211,19 ± 21,37	225,72 ± 23,05	170,52 ± 13,76	184,7 ± 11,12
	Clor b	82,65 ± 16,38	44,91 ± 3,28	46,91 ± 2,44*	46,91 ± 4,29	65,21 ± 8,21	76,4 ± 10,78	32,81 ± 2,87*	32,81 ± 4,97
	Clor total	344,47 ± 39,30	204,87 ± 10,93	239,73 ± 15,22	258,83 ± 21,02	276,4 ± 27,56	302,12 ± 32,7	203,33 ± 13,68	217,51 ± 32,97
	Car total	62,23 ± 8,71	40,7 ± 2,13	50,73 ± 4,26	60,98 ± 5,63	60,63 ± 7,01	52,18 ± 5,31	49,05 ± 4,02	47,25 ± 3,71
	Amido _F	6,31 ± 0,96	2,90 ± 0,57	6,24 ± 0,84	4,22 ± 1,22	4,06 ± 0,43	3,00 ± 0,35	4,09 ± 0,75	4,13 ± 0,74
	CAT _F	-	-	-	0,47 ± 0,09	-	-	-	0,75 ± 0,09
	APX _F	-	-	-	7,29 ± 0,89	-	-	-	8,36 ± 0,43
	Amido raiz	13,82 ± 0,86	8,63 ± 0,91*	17,43 ± 1,04 *	5,39 ± 0,65	10,50 ± 0,84	6,32 ± 0,49 *	14,24 ± 0,75 *	5,66 ± 0,83
	MDA raiz	6,8 ± 0,91	8,67 ± 0,58	7,8 ± 0,92	6,33 ± 0,73	9,97 ± 1,11	9,54 ± 1,09	8,64 ± 1,13	7,52 ± 0,46
	CAT _R	-	-	-	0,25 ± 0,03	-	-	-	0,18 ± 0,04
APX _R	-	-	-	10,48 ± 2,25	-	-	-	12,79 ± 1,43	

Clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenoides expressos em µg. g de massa fresca. Amido em folhas (Amido_F) e amido em raízes (Amido_R) expresso mg de glucose eq. g de massa fresca. MDA em raízes (MDA_R) expressos em nmol g⁻¹ de massa fresca. Catalase em folhas (CAT_F) e catalase em raízes

(CAT_R) expresso em $\mu\text{mol. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de MF. Ascorbato peroxidase em folhas (APX_F) e ascorbato de peroxidase em raízes (APX_R) expresso em $\mu\text{mol. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de MF. Médias \pm erro padrão. Valores seguidos asteriscos indicam que o genótipo não infectado e infectado no mesmo tratamento e período de análise diferem significativamente (teste t, $p < 0,05$), as demais médias sem asteriscos não diferem significativamente (teste t, $p > 0,05$).

2.3.4 Ensaio enzimático

A atividade das CAT e APX manteve-se inalteradas, em resposta a presença do oomiceto, em todos os tratamentos e épocas avaliadas (Tabela 1).

Enquanto, a atividade da PPO e POD apresentaram diferenças significativas em *T2* quando comparados ao *T1* (incremento de 84%) e, *T3* em relação ao *T4* (incremento de 186%), nessa ordem (Figura 8).

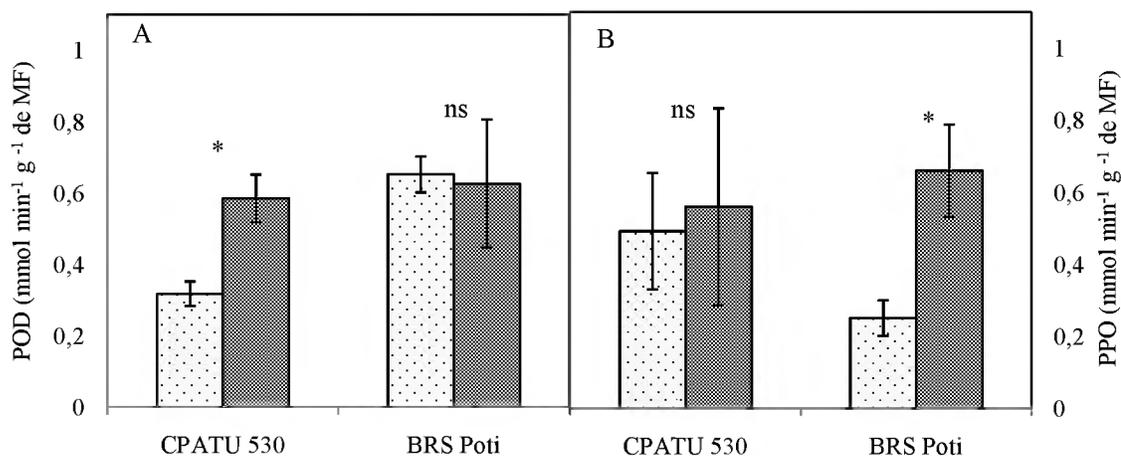


Figura 8. (A) atividade da peroxidase (POD) em raízes de mandioca, (B) atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) em raízes de mandioca. O eixo vertical exibe os valores das enzimas obtidas na coleta de material no 34º dias após a inoculação do oomiceto. O eixo horizontal refere-se aos genótipos não infectados e infectados. Os asteriscos indicam que as médias entre não infectada e infectada diferem significativamente (teste t, $p < 0,05$). ns indica que as médias não diferem significativamente (teste t, $p > 0,05$).

2.4 Discussão

Nas raízes de CPATU 530, genótipo caracterizado como suscetível, houve maior penetração do *Phytophthium* sp. acarretando em aumentos crescentes de área infeccionada no decorrer do período experimental, maiores índices de lesões foram observados quando comparadas com o BRS Poti. Ao término de 34 dias de avaliações a raízes de CPATU 530 apresentaram em média 18,69 % de área lesionada e BRS Poti 5,93 %. Lima et al. (2018) recentemente avaliaram cultivares suscetíveis do *Phytophthium* sp. ratificando a importância de genótipos resistentes ao patógeno. Silva et al (2017) e Lima et al. (2018) relatam que a infecção nas raízes está associada,

provavelmente, a lesões ocasionadas pelos tratos culturais e ou pelo encharcamento do solo.

Em resposta ao ataque do patógeno, a planta ativa rotas metabólicas que culminam no mecanismo de defesa. No tecido foliar, a presença da infecção acarretou em aumentos nas taxas de trocas gasosas independente dos genótipos durante o período experimental, particularmente em 7 e 15 DAIT em *T2* e *T4*, respectivamente. Esses resultados são surpreendentes, pois sob a presença do oomiceto há incrementos médios nas trocas gasosas. Contudo, esses resultados deste trabalho contrastam com a maioria da literatura (BERGER *et al.* 2007; DALLAGNOL *et al.*, 2011, RUBIO; CARRASCAL; MELGEREJO, 2017). O aumento de *A*, possivelmente, está relacionado ao período de enchimento das raízes que tende a aumentar na demanda do dreno preferencial, e também pode ser relacionado a intensificação da glicólise para suprir a necessidade de biossíntese de compostos de defesa (TAIZ; ZEIGER, 2017).

Registra-se que, nas raízes de *T4* a redução na quantidade de amido por unidade de massa, decorre que provavelmente o oomiceto se utilizou da reserva de amido como principal fonte de carboidrato para suportar seu crescimento, tendo como consequência um aumento na força do dreno, uma vez que há relatos que patógenos radiculares podem alterar a mobilidade de açúcar nos tecidos foliares e não foliares (KANWAR; JHA, 2018). Plantas lenhosas, de modo geral, ajustam sua carga de frutos\ tubérculos à disponibilidade de carboidratos e minerais (KOZLOWSKIL; PALLARDY, 1997).

Sugere-se que aumentos em *A* deve ter ocorrido principalmente em função dos incrementos nos parâmetros de fluorescências (fotoquímica) o que se traduz em maior disponibilidade de CO₂, pois, maior *g_s* seguiu o mesmo comportamento de *E*, conforme se depreende na Figura 6. Adicionalmente, o aumento concomitante de ETR, qP e rendimento quântico, sugerem ganho na capacidade fotoquímica em folhas de mandioca infectadas pelo *Phytophthium* sp. independente do genótipo avaliado (Figura 7). Este ganho fotoquímico poderia ser resultado de maior produção de ATP e poder redutor para assimilação de CO₂. Neste caso, estímulo bioquímico, provavelmente, relatado pela maior difusão de CO₂ ao sitio de carboxilação da RubisCO, que previsivelmente, poderia ser a principal explicação para a maior capacidade fotossintética observada nas folhas durante a infecção pelo oomiceto nas raízes. Assim, uma vez que a fotossíntese foi estimulada pela inoculação do oomiceto para suportar a elevada demanda por fotossimilados na raízes em fase de maior demanda.

Aliado a isso, diferenças encontradas em g_s em resposta a presença do *Phytophthium* sp., provavelmente estiveram associadas com a diferença na disponibilidade de CO_2 , uma vez que maiores valores de g_s não foram acompanhadas de menores valores de C_i/C_a (Figura 6). Logo estas alterações provavelmente refletiram a habilidade da mandioca em regular positivamente a fotossíntese, independentemente de alterações no sistema antioxidante, conforme se depreende nos valores encontrados neste trabalho.

Ademais, apesar das diferenças em A entre os tratamentos, os valores da razão F_v/F_M não foram superiores a 0,78, indicando ausência da fotoinibição da fotossíntese (VERISSIMO *et al.*, 2010), bem como na Tabela 1, quando nenhuma alteração na atividade da CAT e APX, e de peroxidação lipídica (MDA) ocorreu. Consequentemente, nenhum indicativo de maior formação de radicais livres para a formação de H_2O_2 . Além disso, as concentrações de pigmentos fotossintéticos se mantiveram, praticamente, inalterados, independentes dos tratamentos, a exceção do incremento em plantas infectadas em carotenoides totais ($T2$ em relação a $T1$) e, redução de clorofila b ($T4$ em relação a $T3$); isto posto pode indicar que houve capacidade diferente na proteção do aparato fotossintético e da eficiência no uso da radiação para a fotossíntese (MATSUDA *et al.*, 2004; VERISSIMO *et al.*, 2010; KANGASJARVI *et al.*, 2012).

A ação da polifenoloxidase e peroxidase geralmente são elevadas em tecidos infectados, além de degradar as EROs são responsáveis pela degradação oxidativa dos compostos fenólicos próximos ao local da infecção, provocando como consequência o aparecimento de substâncias escuras (BARROS *et al.*, 2010). Corroborando com os maiores valores de atividade da peroxidase ($T2$ em relação a $T1$ - 84%) e da polifenol oxidase ($T4$ em relação a $T3$ - 186%) observada neste trabalho. Muito embora tenha sido sugerido que o mecanismo de toxicidade das quinonas geradas pela enzima resultam em barreira de propagação do hospedeiro Khodadadi *et al.* (2016) e Li e Steffens (2002).

2.5 Conclusão

O genótipo BRS Poti previamente caracterizado como resistente a podridão mole apresentou mecanismo de defesa que minimizaram o efeito da infecção nas raízes no decorrer do experimento.

A presença do *Phytophthium* sp. nas raízes no período de enchimento acarretou alteração na razão fonte-dreno, proporcionando um aumento em *A*, decorrente possivelmente de fatores estomáticos em resposta a estímulos provenientes das raízes infectadas.

A utilização do amido nas raízes pelo patógeno, possivelmente, intensificou mobilidade de açúcar nos tecidos da planta para suprir a necessidade de biossíntese de compostos de defesa. As atividades das enzimas do metabolismo secundário conferiram maior grau de resistência à planta, formando uma barreira para a propagação do oomiceto.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A. S.; BRANDÃO, I. C. D. **Cultivares BRS Mari e BRS Poti e medidas de controle da podridão-mole da mandioca**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 24p. (Embrapa Amazônia Oriental, Documento, 326). Disponível em: http://www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online. Acessado em: 01 maio de 2018.
- ALCALÁ, E. I. L.; HERNÁNDEZ, J. L. M.; ILINÁ, A.; CISNEROS, L. G.; CASTILHO, F. D. H. Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistência vegetal frente a patógeno. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, v. 8, n. 3, p. 679-683, 2017.
- ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. **Biotechnology Advance**, v.27, n.1, p.84-93, 2009.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. de A.; WILLANDIO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. (2014). Plant generation and enzymatic detoxification of reactive oxygen species. **Ciências Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BARROS, F. C.; SAGATA, E. FERREIRA, L. C. de C.; JULIATTI, F. C. Induction of resistance in plants against phytopathogens. **Journal Bioscience**, v. 26, n. 2, p. 321-239, 2010.
- BERGER, S.; SINHA, A.K.; ROITSCH, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 4019-4026, 2007.
- BOARI, A. J., QUADROS, A. F. F., CUNHA, E. M., FERNANDES, A. F., & BARRETO, R. W. First report of *Phytophthora* sp. causing storage root rot and foliage blight of cassava in Brazil. **Plant Disease**, <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1449-PDN>, 2018.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Enfield: **Science Publishers**, p. 1-30, 2010.
- BOAS, S. A. V.; HOHENFELD, C. S.; OLIVEIRA, S. A. S. de.; SANTOS, V. da S.; OLIVEIRA, E. J. de. Sources of resistance to cassava root rot caused by *Fusarium* spp.: a genotypic approach. **Euphytica**, v. 209, n. 1, p. 237-251, 2016.
- BOLTON, M.D. Primary metabolism and plant defense fuel for the fre. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 5, p.487-97, 2009.
- CURVÊLO, C. R. da S.; RODRIGUES, F. Á.; PEREIRA, L. F.; SILVA, L. C.; D, F. M.; BERGER, P. G. Trocas gasosas e estresse oxidativo em plantas de algodoeiro supridas com silício e infectadas por *Ramularia* aréola. **Fitossanidade**, Bragatina, Campinas, v.72, n.4, p.346-359, 2013.
- DALLAGNOL, L. J.; RODRIGUES, F. A.; MARTIS, S. C. V.; DaMATTA, C. F. M. Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. **Australasian Plant Pathology**, v. 40, n. 4, p. 360-365, 2011.

FERRÃO, R. G.; MOREIRA, S. O.; FERRÃO, M. A. G.; RIVA, E. M.; ARANTES, L. de O.; COSTA, A. de F. S. da.; CARVALHO, P. L. T. de.; GALVÊAS, P. A. O. Genética e melhoramento: desenvolvimento e recomendação de cultivares com tolerância à seca para o Espírito Santo. **Incaper em Revista**, v. 6, n. 4, p. 51-71, 2016.

FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. **Mandioca no cerrado: orientações técnicas**. In: VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S. Recursos genéticos e melhoramento da mandioca. Brasília: Embrapa. p. 26-37, 2013.

IVANOV, D. A.; BERNARDS, M. A. Chlorophyll fluorescence imaging as a tool to monitor the progress of a root pathogen in a perennial plant. **Planta**, v. 243, n. 1, p. 263-279, 2016.

KANGASJÄRVI, S.; NEUKERMANS, J.; LI, S.; ARO, E. M.; NOCTOR, G. Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1619–1636, 2012.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J. C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

KHODADADI, F.; TOHIDFAR, M.; MOHAYEJI, M.; DANDEKAR, A. M.; LESLIE, C. A.; KLUEPFEL, D.; BUTTERFIELD, T.; VAHDATI, K. Induction of polyphenol oxidase in walnut and its relationship to the pathogenic response to bacterial blight. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 141, n. 2, p. 119-124, 2016.

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. **Physiology of woody plants**. San Diego: Academic Presse, v. 2, 441p, 1997.

KROMDIJK, J.; GLOWCKA, K.; LEONELLI, L.; GABILLY, S. T.; IWAI, M.; NIYOGI, K.; LONG, S. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. **Science**, v. 354, n. 6314, p. 857-861, 2016.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. v.1, n.1, p.1-8, 2001.

LI, L.; STEFFENS, J.C. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. **Plants**, v.215, n.2, p.239-247, 2002.

LIMA, A. M.; MOURA, F. E.; ISHIDA, A. K. N.; PEREIRA, A. C. da C.; REIS, S. P. dos.; SOUZA, C. R. B. de. Expression profiles of defense genes in cassava storage roots upon exposure to *Phytophthium sp.*, causal agent of soft root rot disease. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.104, p.23-30, 2018.

MATSUDA, R.; OHASHI-KANEKO, K.; FUJIWARA, K.; GOTO, E.; KURATA, K. Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light. **Plant Cell Physiology**, v.45, n. 12, p.1870-1874, 2004.

MATTOS, P. L. P. de.; CARDOSO, E. M. R. **Cultivo da mandioca para o Estado do Pará**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Sistema de Produção 13.). Disponível em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_para_importancia.htm. Acessado em 22 jan 2018

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence- a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, n.345, p.659-668, 2000.

MEDEIROS, E. A. A. Deterioração pós colheita de mandioca minimamente processada. 2009. 101 f. Tese. Doutorado em Fisiologia Vegetal: Área de concentração em controle de maturação e senescência em órgão perecíveis. Universidade Federal de Viçosa, 2009.

MICHEREFF, S. J. Epidemiologia de doenças de plantas. **Research Gate**, p. 1-14, 2014.

MICHEREFF, S.J.; DOMINGOS, E. G. T.; ANDRADE, M. M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, p.1-18, 2005.

MITTLER, R; VANDERAUWERA, S; SUZUKI, N; MILLER, G; TOGNETTI, V; VANDEPOELE, K; GOLLERY, M; SHULAEV, V; VAN BREUSEGEM, F. ROS signaling: the new wave?. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 6, p. 300-309, 2011.

MORAIS, M. dos. S.; NASCIMENTO, L. C. do.; MOREIRA, K. A.; CAVALCANTI, M. da. S.; OLIVEIRA, N. T. de. Levantamento e avaliação da incidência das doenças da mandioca no estado da Paraíba. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 39, n. 3, p. 204-206, 2013.

NASCIMENTO, J. B.; BARRIGOSSI, J. A. F. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer- Goiânia, v. 1, n. 1, p. 234- 250, 2014.

NGADZE, E.; ICISHAHAYO, D.; COUTINHO, T. A. WAALS, J. E. van der. Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. **Plant Disease**, v.96, n.2, 2012.

NOTARO, K.A.; MEDEIROS, E.V.; SILVA, C.A.D.; BARROS, J.A. Prospecção de fitopatógenos associados à podridão radicular da mandioca em Pernambuco, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1832-1839, 2013.

OLIVEIRA, A. M. G.; CARDOSO, C. E. L.; SILVA, J.; FERREIRA FILHO, J. R.; DITA, M. A. R. Doenças da mandioca. In: EMBRAPA. **Curso sobre o cultivo da mandioca**. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMFT, 2008.

OLIVEIRA, S. A. S. de.; BOAS, S. A. V.; BRAGANÇA, C. A. D.; OLIVEIRA, E. J. de. First report of *Phytophthora melonis* causing cassava wilt and root rot in Bahia State, Brazil. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 42, n. 1, p. 107, 2016.

OLIVEIRA, S.A.S de.; 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.; DIXON, A. G. O.; EKPO, E. J. A. Assessment of laboratory methods forevaluating cassava genotypes for resistance to root rot disease. **Mycopathologia**, v.159,p.461-467, 2005.

PINHEIRO, H. A.; DaMATTA, F. M.; CHAVES, A.; FONTES, E.; LOUREIRO, M. E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long- term drought. **Plant Science**, v.167, n.6, p.1307-1314, 2004.

PRAXEDES, S.; DaMATTA, F. M.; LOUREIRO, M. E.; FERRÃO, M. A. G.; CORDEIRO, A. T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. kouillou) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, v.56, n. 3, p.263-273, 2006.

PUTHUR, J. T. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. **South Indian Journal Of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 14-17, 2016.

ROSENTHAL, D; ORT, D. Examining Cassava's Potential to Enhance Food Security under Climate Change. **Tropical Plant Biology**, v.5, n.1, p.30-38, 2012.

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

SILVA, J. L.; MOURA, E. F.; ILKIU-BORGES, F.; GALVÃO, J. R.; FARIAS-NETO, J. T. de. SILVA, G. B. da.; RÉGO, M. C. F.; CUNHA, R. L. Morphoanatomy and histochemistry analyses of cassava root do not discriminate resistant from susceptible genotypes to soft root rot. **ACTA Amazonica**, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2017.

SIMOES, A.N.; MOREIRA, S. I.; MOSQUIM, P. R.; SOARES, N. F. F.; PUSCHMAN, R. The effects of storage temperature on the quality and phenolic metabolism of whole and minimally processed kale leaves. **Acta Scientiarum**, v. 37, n. 1, p. 101-107, 2015.

SOARES, A. M. dos S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica- Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1 n.1, p.9-20, 2007.

STEFANELLO, L.; STEFANELLO, V. F. V.; HELING, A. L.; HENKEMEIER, 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 Raizes e Amido Tropicais**, v. 13, n. 1, p. 31-45, 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 6 ed., Artmed, 2017.

VERISSIMO, V.; CRUZ, S. J. S.; PEREIRA, L. F. M.; SILVA, P. B. DA.; TEIXEIRA, J. D.; FERREIRA, V. M.; ENDRES, L. Pigmentos e eficiência fotossintética de quatro variedades de mandioca. **Revista raízes amido tropical**, v.6, p.222-231, 2010

