

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRARIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**VARIABILIDADE FENOTÍPICA PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS
FOLIARES, IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS E
FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO EM MANDIOCA**

JOSÉ HENRIQUE BERNARDINO NASCIMENTO

CRUZ DAS ALMAS – BA

2024

**VARIABILIDADE FENOTÍPICA PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS
FOLIARES, IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS E
FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO EM MANDIOCA**

José Henrique Bernardino Nascimento

Licenciado em Biologia

Universidade de Pernambuco (UPE), 2016.

Tese submetida ao Colegiado do Curso
do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Agrárias da Universidade
Federal do Recôncavo da Bahia como
requisito para obtenção do título de
doutor em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira
Coorientador: Dr. Luciano Rogerio Braatz de Andrade
Coorientador: Dr. Diego Fernando Marmolejo Cortes

CRUZ DAS ALMAS – BA

2024

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRARIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**VARIABILIDADE FENOTÍPICA PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS
FOLIARES, IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS E
FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO EM MANDIOCA**

**COMISSÃO EXAMINADORA DE DEFESA DE TESE DE
José Henrique Bernardino Nascimento**

Documento assinado digitalmente
 **EDER JORGE DE OLIVEIRA**
Data: 25/09/2024 11:08:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB Examinador Interno
(Orientador)

Documento assinado digitalmente
 **LUIZ CLAUDIO COSTA SILVA**
Data: 19/07/2024 14:20:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luiz Cláudio Costa Silva
Universidade Estadual de Feira de Santana/ UEFS Examinador Externo

Documento assinado digitalmente
 **RODRIGO BEZERRA DE ARAUJO GALLIS**
Data: 19/07/2024 15:40:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodrigo Bezerra de Araújo Gallis
Universidade Federal de Uberlândia / UFU Examinador Externo

Documento assinado digitalmente
 **LEILANE SILVEIRA D AVILA**
Data: 18/07/2024 19:20:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr^a Leilane Silveira Dávila
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 **MARIA ANGELICA PEREIRA DE CARVALHO COSTA**
Data: 19/07/2024 12:40:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr^a Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB Examinador Interno

FICHA CATALOGRÁFICA

N244v

Nascimento, José Henrique Bernardino.

Variabilidade fenotípica para resistência a doenças foliares, identificação de regiões genômicas associadas e fenotipagem de alto rendimento em mandioca / José Henrique Bernardino Nascimento. _ Cruz das Almas, Bahia, 2024.

169f.; il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira.

Coorientador: Dr. Luciano Rogério Braatz de Andrade.

Coorientador: Dr. Diego Fernando Marmolejo Cortes.

1.Mandioca – Doenças e pragas – Antracnose. 2.Mandioca – Melhoramento genético. 3.Drone – Aeronave não tripulada – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 633.682

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus, por ter me dado saúde e sabedoria para chegar à conclusão do curso. E aos meus pais, por todo o apoio, incentivo, dedicação, amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado saúde, força, sabedoria e determinação para seguir sempre em frente e superar as dificuldades encontradas ao longo do caminho. Agradeço a ele, pela oportunidade de estar aqui e não permitir que eu renunciasse a mais essa vitória e conquista.

Aos meus pais, José Bernardino Neto e Eliene Maria do Nascimento Bernardino, pela dedicação, pelos valiosos conselhos e apoio contínuo em todos os momentos da minha vida. Amor incondicional.

Aos meus irmãos, Matheus Felipe Bernardino Nascimento e Paulo Ricardo Bernardino Nascimento, que estiveram sempre comigo, me apoiando e motivando para seguir em frente.

Ao meu orientador Dr. Eder Jorge de Oliveira, obrigado pela sua orientação, por todos os conhecimentos transmitidos e por estar sempre disposto a ajudar.

Aos meus coorientadores Dr. Luciano Rogerio Braatz de Andrade e Diego Fernando Marmolejo Cortes por toda atenção, paciência, disponibilidade, conselhos e ensinamentos passados durante todos esses anos.

A Taís Ferreira Costa, por quem tenho muito amor e gratidão por sua compreensão, carinho, presença e incansável apoio durante todo o trabalho. Agradeço por seus conselhos, preocupação e por estar sempre me ajudando a ser uma pessoa melhor. Obrigado por tudo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da UFRB, pela oportunidade de me tornar Doutor e por todos os ensinamentos que foram transmitidos pelos professores.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura, por toda a estrutura e suporte, no qual foi essencial para a realização de todo o trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Enfim, a todos que de forma direta e indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui. O meu muito obrigado.

EPIGRAFE

“A menos que modifiquemos à nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

VARIABILIDADE FENOTÍPICA PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS FOLIARES, IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS E FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO EM MANDIOCA

RESUMO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie de grande importância alimentar, econômica e social em diversos países. Contudo, várias doenças podem afetar sua produtividade, a exemplo da antracnose (CAD), mancha parda (BLS), mancha branca (WLS) e queima das folhas (BliLS). Este trabalho teve como objetivo: i) avaliar a variabilidade fenotípica de resistência as manchas foliares em genótipos de mandioca, ii) identificar regiões genômicas associadas a resistência; e iii) avaliar a fenotipagem de alto rendimento para características agronômicas em acessos de mandioca via imageamento aéreo. Em relação ao capítulo 1, verificou-se alta variabilidade ambiental para severidade das doenças e, portanto, baixas herdabilidades (h^2) para CAD, WLS e BLS (0,42, 0,34 e 0,29, respectivamente) e h^2 moderada para BliLS (0,51). As características produtivas não mostraram correlações significativas com a resistência a doenças. No capítulo 2 verificou-se correlações de magnitude mediana (variação entre 0,549 a 0,652) a elevada (0,96 – entre BLS × BliLS). Foram identificados cinco SNPs de efeito aditivo associados a resistência às doenças: SNP S7-1197325 (antracnose), S3-421126, S5-5050172 e S16-20450490 (mancha branca) e S17-944736 (queima das folhas). A maioria desses SNPs estão colocalizados em genes associados a resposta a estresses bióticos. No capítulo 3, verificou-se elevada h^2 dos índices de vegetação e alto potencial de uso do imageamento aéreo para estimar a altura das plantas. A capacidade preditiva do teor de matéria seca aumentou com a altura de voo para o modelo *Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection* (R^2 = 0,26 para 20 m e R^2 = 0,44 para 60 m), enquanto o vigor das plantas variou de R^2 = 0,50 para 20 m e R^2 = 0,47 para 40 m no modelo *K-Nearest Neighbor*. Esses resultados trazem informações importantes para otimizar a seleção em programas de melhoramento de mandioca.

Palavras Chaves: *Manihot esculenta* Crantz, germoplasma, GWAS, predição, manchas foliares, imageamento aéreo, melhoramento.

RESISTANCE TO LEAF DISEASES IN CASSAVA: PHENOTYPIC VARIABILITY, IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATES AND HIGH-THROUGHPUT PHENOTYPING

GENERAL ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is a species of great food, economic, and social importance in various countries. However, several diseases can affect its productivity, such as anthracnose (CAD), brown spot (BLS), white spot (WLS), and leaf burn (BliLS). This study aimed to: i) evaluate the phenotypic variability of resistance to foliar spots in cassava genotypes, ii) identify genomic regions associated with resistance; and iii) assess high-throughput phenotyping for agronomic traits in cassava accessions via aerial imaging. In Chapter 1, high environmental variability was observed for disease severity, leading to low heritabilities (h^2) for CAD, WLS, and BLS (0.42, 0.34, and 0.29, respectively), and moderate h^2 for BliLS (0.51). Productive traits did not show significant correlations with disease resistance. In Chapter 2, medium (ranging from 0.549 to 0.652) to high correlations (0.96 between BLS and BliLS) were found. Five additive effect SNPs associated with disease resistance were identified: SNP S7-1197325 (anthracnose), S3-421126, S5-5050172, and S16-20450490 (white spot), and S17-944736 (leaf burn). Most of these SNPs are co-localized in genes associated with biotic stress responses. In Chapter 3, high heritability of vegetation indices and significant potential of aerial imaging to estimate plant height were observed. The predictive capacity for dry matter content increased with flight height for the Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection ($R^2 = 0.26$ for 20 m and $R^2 = 0.44$ for 60 m), while plant vigor varied from $R^2 = 0.50$ for 20 m to $R^2 = 0.47$ for 40 m in the K-Nearest Neighbor model. These results provide important information to optimize selection in cassava breeding programs.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz, germplasm, GWAS, prediction, foliar spots, aerial imaging, breeding.

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
REVISÃO DE LITERATURA	1
CAPÍTULO 1	31
VARIABILIDADE FENOTÍPICA DA RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE, MANCHA BRANCA, MANCHA PARDA E QUEIMA DAS FOLHAS EM GERMOPLASMA DE MANDIOCA	
CAPÍTULO 2	69
MAPEAMENTO ASSOCIATIVO PARA RESISTÊNCIA ÀS DOENÇAS FOLIARES DA PARTE AÉREA DA MANDIOCA	
CAPÍTULO 3	96
FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO PARA CARACTERES AGRONÔMICOS EM MANDIOCA UTILIZANDO IMAGEAMENTO AÉREO	109

REVISÃO DE LITERATURA

1. ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA MANDIOCA

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie alógama (polinização cruzada) com flores masculinas e femininas presentes na mesma planta (monoica). O fruto apresenta formato de cápsula e as sementes são elipsoidais (IITA, 1990, OSPINA; CEBALLOS, 2012). Possui $2n = 36$ cromossomos e é considerada um anfidiplóide ou alopoliplóide sequencial (ELSHARKAWY, 2003).

A propagação da mandioca é feita predominantemente de forma assexuada, mas a forma sexuada também pode ocorrer, sobretudo quando induzida para fins de melhoramento genético (OSPINA; CEBALLOS, 2012). A propagação via sementes botânicas não é viável comercialmente, pela geração de variabilidade genética e consequente heterogeneidade das plantas no campo, considerando que a mandioca é uma planta alógama e altamente heterozigótica. Entretanto, possibilita a geração de diversidade genética para o desenvolvimento de variedades melhoradas em função da recombinação alélica entre parentais contrastantes (RAMALHO et al., 2008).

Comercialmente, a propagação utilizada é assexuada, cujas estacas do caule são conhecidas popularmente por manivas que contribuem para o sucesso da propagação e estabelecimento da cultura em campo (ESCOBAR, et al., 2006). As principais vantagens da propagação assexuada é a capacidade de assegurar que a planta selecionada repasse integralmente suas características genéticas para seus clones, garantindo que a nova geração seja agronomicamente equivalente à planta mãe. Por outro lado, a desvantagem da propagação assexuada se deve ao maior cuidado necessário para manutenção da qualidade genética e fitossanitária ao longo dos diferentes anos de cultivo.

De modo geral, a cultura da mandioca é de fácil cultivo e por isso possui bons rendimentos, mesmo quando cultivadas em solos pouco férteis e na ausência de fertilizantes. Além disso, possui certa tolerância ao déficit hídrico (JARVIS et al., 2012), o que credencia a espécie para cultivo em áreas de maior risco climático. As raízes são perecíveis em razão do alto conteúdo de umidade, e pela ocorrência da deterioração fisiológica pós-colheita ocorrer em um tempo relativamente curto, resultando em expressivas perdas pós-colheitas

(RAHMAWATI et al., 2021).

Algumas características importantes para maior adoção das cultivares de mandioca são a alta produtividade de raízes; a resistência a pragas e doenças (OLIVEIRA et al., 2015); a menor toxicidade, sobretudo em mandioca de mesa (consumo fresco) (PARMAR et al., 2017); tolerância ao déficit hídrico (KOUNDINYA et al., 2018) e melhor conteúdo nutricional e certa tolerância à deterioração fisiológica pós-colheita (ESUMA et al., 2012; CEBALLOS et al., 2013).

O principal produto comercial da mandioca é a raiz, órgão de armazenamento de amido, que é uma fonte energética de alto valor para diversos fins. O maior consumo das raízes de mandioca ocorre em regiões tropicais, tanto em preparos simples como o cozimento, quanto em produtos derivados do seu processamento (FAO, 2013; FAO, 2018). Apesar disso, a mandioca é uma planta em que se aproveita todas as suas partes (folhas, caules e raízes) (CEBALLOS et al., 2017).

2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A mandioca também conhecida como aipim ou macaxeira, é uma planta que produz raízes tuberosa de grande importância na alimentação mundial, sendo a cultura de maior importância logo após o trigo, o arroz e o milho (HORMHUAN et al., 2020). A espécie é caracterizada por ser uma rica fonte de amido para a alimentação humana, animal e uso industrial (JANSSON et al, 2009; HORMHUAN, et al, 2020). É considerada a principal fonte de calorias no continente africano (TOMLINSON et al., 2018), que atualmente é o principal produtor mundial de mandioca, com 63,28% da produção mundial, seguido pela Ásia (28,03%) e Américas (8,60%) (FAO 2022).

Em nível mundial a Nigéria se destaca como o maior produtor de raízes de mandioca, seguida pela República Democrática do Congo, Tailândia e Gana, com uma produção de 60,00; 41,01; 28,99; e 21,81 milhões de toneladas de raízes, respectivamente (FAO, 2022). O Brasil se destaca como o 5º maior produtor mundial, com produção de 18,20 milhões de toneladas, apresentando área colhida de 1,21 milhões de hectares, e um rendimento médio de 14,99 t.ha⁻¹ (FAO, 2022)

A produção de mandioca no Brasil nos últimos 20 anos sofreu um declínio

de 4,7 milhões de toneladas (Figura 1), em função do aumento dos custos de produção e competição com outras culturas pelo uso da terra, seja terras próprias ou mesmo arrendamento. Com o aumento da área plantada por commodities, a exemplo de milho e soja, houve uma forte pressão para redução da área plantada com mandioca. Estima-se que o valor da produção de mandioca no Brasil gere R\$10,8 bilhões anuais e geração de um milhão de empregos diretos e indiretos (EMBRAPA, 2020; IBGE 2019)

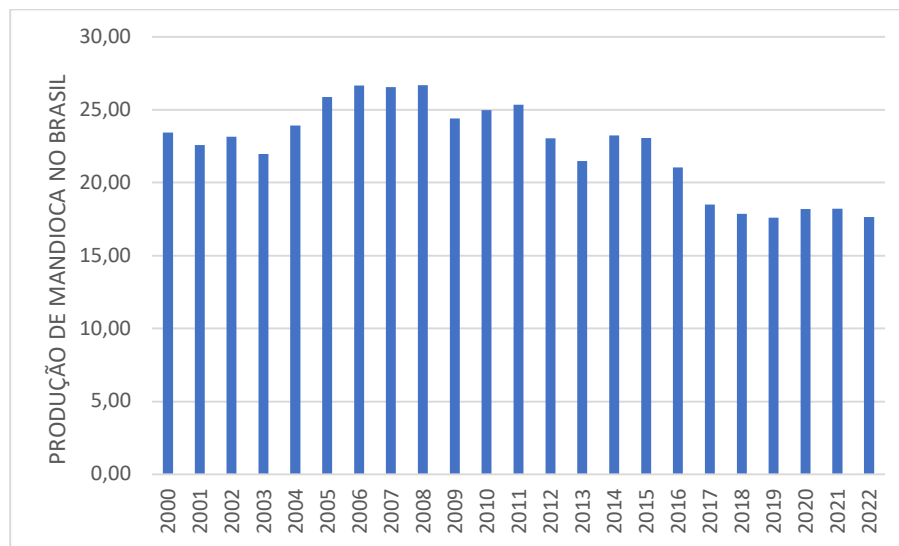


Figura 1: Distribuição dos dados de produção, em toneladas, de mandioca no Brasil entre os anos de 2000 e 2022.

A mandioca é cultivada em todas as regiões brasileiras, com destaque para as regiões Norte e Nordeste, que são responsáveis por aproximadamente 35,68% e 31,82% da produção brasileira, respectivamente, em seguida vem as regiões Sul com 16,87%, a região sudeste com 9,79% e a região Centro Oeste com apenas 5,84%. No entanto, as regiões apresentam cenários de produção totalmente distintos, interferindo diretamente na produção de cada estado. A região Norte e Nordeste apresentam semelhanças no que diz respeito ao padrão tecnológico, consumo e qualidade, embora apresentem panoramas contrastantes quanto as condições edafoclimáticas que refletem diretamente no volume de produção de cada estado. A região Norte tem a seu favor a distribuição de chuvas durante praticamente todo ano, favorecendo desta forma a produtividade da mandioca, enquanto a região Nordeste apresenta longos

períodos de estiagem, refletindo diretamente no volume final da produção (IBGE, 2019).

3. FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DA MANDIOCA

A mandioca é cultivada em diferentes regiões, e mesmo com grande diversidade climática, em praticamente todas as regiões do globo existem condições favoráveis para o seu desenvolvimento e cultivo. Seu cultivo ocorre entre 30° graus de latitudes Norte e Sul, com maior concentração de plantio entre as latitudes 20° Norte e 20° Sul, as temperaturas ideais para o cultivo situam-se entre os limites de 20°C a 27°C, sendo que temperaturas baixas retardam a germinação ou paralisam totalmente a atividade vegetativa das manivas (EMBRAPA, 2011). Em cada uma dessas regiões existem inúmeros estresses abióticos e bióticos, que tem sido apontados como principais obstáculos para se obter uma maior produção da cultura (YU et al., 2019). Os principais fatores abióticos que afetam a cultura é a temperatura, déficit hídrico, condições climáticas, disponibilidade de água afetando os parâmetros de crescimento e rendimento da planta (PUSHPALATHA e GANGADHARAN, 2020 MUIRURI et al., 2021). Em relação aos estresses bióticos o ataque de diversas pragas e doenças podem comprometer severamente a produtividade.

Nzuki et al. (2017) reportaram que a introgressão de resistência a essas doenças via programas de melhoramento é a principal forma de controle. Por isso, os programas de melhoramento vêm buscando desenvolver variedades que sejam resistentes às principais doenças que afetam a cultura, uma vez que ataques severos destas doenças podem ocasionar perdas significativas na colheita (PUSHPALATHA; GANGADHARAN, 2020).

Diversas doenças podem afetar a cultura da mandioca, entre as principais destacam-se, antracnose (*Colletotrichum* sp); bacteriose (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihoti*); vírus do mosaico comum (*Cassava common mosaic virus*), vírus do mosaico das nervuras (*Cassava vein mosaic virus*), vírus do mosaico africano (*African cassava mosaic virus*), e estria marrom da mandioca (*Cassava brown streak disease*); podridões radiculares (causadas por complexo de patógenos com predominância de *Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp.); oídio (*Oidium manihotis*); ferrugem (*Uromyces manihotis*); nematóides; e manchas foliares, como mancha parda (*Claroilum henningsii*), queima das folhas

(*Passalora vicosae*), e mancha branca (*Passalora maninhotis*) (REDDY, 2015; LIU et al., 2016).

4. PRINCIPAIS DOENÇAS DA CULTURA DA MANDIOCA

4.1 ANTRACNOSE

A antracnose é considerada uma das doenças mais destrutivas da cultura da mandioca nos principais países produtores (SANGPUEAK et al., 2018). Causada pelo fungo *Colletotrichum sp.*, a doença pode afetar a cultura em qualquer fase de desenvolvimento. A infecção e disseminação do fungo acontecem principalmente nos períodos chuvosos e temperaturas entre 18 e 23°C, e os principais sintomas da doença são a presença de cancrios nas hastes de formato irregular com coloração marrom clara e escura e profundas (KUNKEAW et al., 2010; SILVA et al., 2018) (Figura 2). No centro das lesões é possível observar pontos de coloração rósea que representa os corpos da frutificação do fungo (SILVA et al., 2018, SANGPUEAK et al., 2018). Devido as lesões nas hastes, ocorre a desfolha parcial, podendo levar a morte da planta (KUNKEAW et al., 2010; SILVA et al., 2018). Os danos causados na produtividade podem chegar até 90% nos países produtores da cultura (SANGPUEAK et al., 2018).



Figura 2. Sintomas da doença antracnose observados aos doze meses após plantio (MAP). Fonte: José Henrique B. Nascimento, 2021

4.2 MANCHA BRANCA

A mancha branca (Figura 3) tem como principal agente patogênico o fungo *Passalora manihotis*, embora já tenha recebido outros nomes, como *Cercospora caribaea* Ciferri, *Phaeoramularia manihotis* e *Ragnhildiana manihotis* (MYCOBANK, 2019). Essa doença é encontrada com frequência nas áreas de cultivo da cultura (REDDY 2015; MASSOLA et al., 2016); entretanto, existem poucos estudos sobre sua epidemiologia e quais os principais métodos de controle (COSTA et al., 2020). Seus principais sintomas são lesões circulares a angulares, que variam de 1 a 2 mm de diâmetro com coloração branca, o que a distingue da mancha parda e queima das folhas. O fungo pode sobreviver durante toda a estação de estiagem em tecidos infectados, renovando-se na estação chuvosa quando o hospedeiro inicia o período de crescimento e desenvolvimento. A doença atinge frequentemente folhas novas e velhas, podendo ocasionar desfolha significativa em plantas suscetíveis (COSTA et al., 2020).

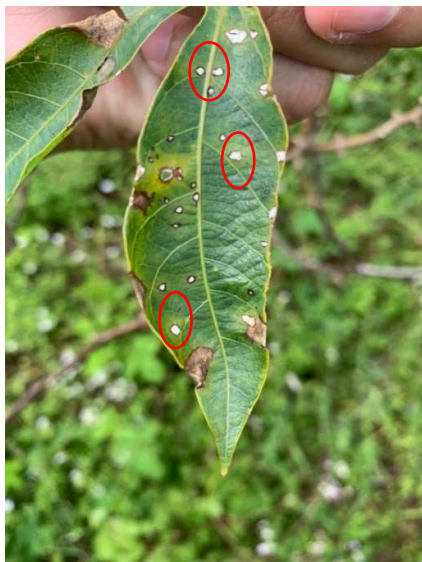


Figura 3. Sintomas da doença mancha branca (círculos em vermelho) observados aos doze meses após plantio (MAP). Fonte: José Henrique B. Nascimento, 2021

4.3 MANCHA PARDA

A mancha parda (Figura 4) é uma das principais doenças foliares que atacam a cultura da mandioca. Em condições climáticas favoráveis, essa doença pode reduzir a produção de raízes em mais de 30% devido à queda prematura

das folhas (FREITAS et al., 2017). Atualmente, a mancha parda é associada ao fungo *Claro hilum henningsii*, anteriormente conhecido ou associado a *Passalora henningsii*, *Cercospora henningsii*, *Cercosporidium henningsii*, *Cercospora cassavae*, *Cercospora manihotis*, *Septogloeum manihotis*, *Helminthosporium manihotis* e *Cercospora cearae* (MYCOBANK, 2019).

Os principais sintomas são lesões pequenas, arredondadas e angulares, com coloração amarelada e castanha. Em estágios mais avançados, as lesões atingem entre 5 a 10 mm de diâmetro, com formato angular e coloração parda, com bordas mais escuras e circundadas por halo amarelado, podendo levar a queda das folhas mais velhas da planta (LIMA et al., 2019). Além disso, as lesões causadas pela mancha parda, podem servir como porta de entrada para outros patógenos (PEI et al., 2014).



Figura 4. Sintomas da doença da mancha parda observados aos doze meses após plantio (MAP). Fonte: José Henrique B. Nascimento, 2021

4.4 QUEIMA DAS FOLHAS

A queima das folhas (Figura 5) foi descrita pela primeira vez na década de 30 por Muller e Chupp (1935). O agente causal da queima das folhas é *Passalora vicosae* também conhecido como *Cercospora vicosae*, (MYCOBANK, 2019). Os sintomas iniciais da doença aparecem no limbo foliar, com pequenas manchas de cor marrom, no formato de lua nas bordas das folhas, que crescem

ao longo do tempo e levam à desfolha das plantas (MASSOLA et al., 2016).

A queima das folhas é frequentemente confundida com a mancha parda, em razão da coloração semelhante. No entanto, devido ao formato de lua e localização dos sintomas ocorrer principalmente nas bordas das folhas, é possível diferenciar as duas doenças na cultura, mesmo quando ocorrem simultaneamente, uma vez que as lesões da mancha parda possuem formato globular e aparecem com frequência no centro da folha (MYCOBANK, 2019).

De modo geral, a queima das folhas apresenta maior incidência em períodos chuvosos e em períodos mais quentes (COSTA et al., 2020). No entanto, informações sobre a sua epidemiologia comparativa e manejo ainda são escassas na literatura.



Figura 5. Sintomas da doença queima das folhas observados aos doze (MAP) meses após plantio. Fonte: José Henrique B. Nascimento, 2021

5. MANEJO DAS DOENÇAS DA MANDIOCA

O controle das doenças da mandioca pode ser feito considerando estratégias de manejo, a exemplo da rotação de cultura e pulverização com defensivos agrícolas, além do uso de cultivares resistentes (MCCALLUM et al., 2017). O controle químico é o método mais utilizado no controle da maioria das doenças fúngicas (OLIVER; HEWITT 2014), embora no caso das manchas foliares existam algumas limitações a exemplo de: I) poucos ingredientes ativos registrados no Brasil para seu controle, sendo o principal deles o flutriafol

(JULIÃO et al., 2020), II) na maioria dos casos as doenças foliares afetam as lavouras de mandioca quando as plantas estão em ciclos avançados de crescimento, o que demanda equipamentos mais sofisticados de aplicação para minimizar o impacto negativo das intervenções com pulverizadores, e III) o custo de muitos químicos podem reduzir e comprometer a rentabilidade das lavouras de mandioca. Portanto, de modo geral, a seleção de cultivares resistentes continua a ser o principal método para o controle de doenças na cultura da mandioca (MASSOLA et al., 2016). De fato, nos últimos anos o principal foco dos programas de melhoramento vem sendo a busca por materiais que sejam produtivos e principalmente resistentes as principais pragas e doenças que afetam a cultura (BOAS et al., 2016), com ênfase na resistência às doenças foliares.

6. MELHORAMENTO PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS

6.1 VARIABILIDADE DA RESISTÊNCIA

Os bancos de germoplasma foram criados para preservar o material genético, visando a utilização em programas de melhoramento genético de mandioca (RABBI et al., 2017). Os principais bancos de germoplasma de mandioca estão localizados no Centro internacional de Agricultura Tropical (CIAT) – Colômbia (OKOGBENIN et al., 2007), Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) – Nigéria (DUMET et al., 2011) e na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) – Brasil (EMBRAPA, 2011).

As atividades de caracterização dos acessos de mandioca são atividades de grande importância para a seleção de progenitores com características únicas para utilização pelos programas de melhoramento (OLIVEIRA et al., 2015). Para melhor explorar a diversidade genética é necessário realizar caracterizações e avaliações ao longo de diferentes anos de cultivo, objetivando a obtenção de dados robustos e confiáveis para a seleção de genótipos com características agrônômicas desejáveis, como produtividade, resistência a pragas e doenças, e qualidade do produto final (RABBI et al., 2017).

Recentemente, um estudo desenvolvido por Albuquerque et al. (2019), analisaram a estrutura genética dos acessos do banco ativo de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura utilizando marcadores *Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs) para quantificar a variabilidade genética. Os resultados

demonstraram que o germoplasma do banco ativo de germoplasma da Embrapa apresentou ampla diversidade molecular e fenotípica, permitindo melhor entendimento da variabilidade genética conservada e a organização populacional do germoplasma.

6.2 MÉTODOS DE SCREENING PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS EM MANDIOCA

Nos últimos anos, foram alcançados progressos nas avaliações de características agronômicas, morfológicas e moleculares em mandioca (ASARE et al., 2011; GONÇALVES et al., 2017). No entanto, a falta de informação sobre a diversidade genética associada à resistência de doenças foliares no germoplasma brasileiro dificulta o desenvolvimento de novas variedades de mandioca resistentes a doenças foliares. O *screening* (triagem) dos acessos dos bancos de germoplasma da cultura para resistência as principais doenças são necessárias para identificar genótipos que apresentem resistência a essas doenças, a fim de desenvolver variedades superiores, que possam garantir a produtividade em áreas com alta incidência desses patógenos (OLASANMI et al., 2021).

O *screening* para fontes de resistência na cultura da mandioca, vêm sendo realizado basicamente em campo aos seis ou doze meses após o plantio, normalmente com escalas de notas que variam entre 0 a 6 (VALENTOR et al., 2018). Até o momento, não foram relatadas metodologias de avaliação das manchas foliares em condições de inoculação artificial devido a esses estudos necessitarem grande quantidade de inóculo, que geralmente são obtidos de folhas sintomáticas. No entanto, nem sempre as folhas doentes podem ser encontradas em grande quantidade e, em alguns casos, são necessários conídios específicos, como por exemplo em estudos etiológicos (COSTA et al., 2020). Além disso, a família dos cercosporóides apresentam lento crescimento e não esporulam em meios de culturas convencionais (BRUNELLI et al., 2006). Por esses motivos, a obtenção de conídios tem sido um desafio nas pesquisas envolvendo esses patógenos e consequentemente dificultando avaliações artificiais em experimentos (COSTA et al., 2020).

As avaliações fenotípicas convencionais continuam sendo um dos principais métodos de avaliação de ensaios, embora tenham limitações

importantes como o longo tempo necessário na tomada dos dados, a menor precisão experimental, a demanda por pessoas qualificadas para a realização das avaliações (LYNAM e BYERLEE 2017).

A avaliação fenotípica de doenças na mandioca é realizada de duas a três vezes no ciclo, dependendo da gravidade da doença e da taxa de desenvolvimento. A quantificação da severidade das manchas foliares da mandioca são realizadas por meio escala de notas, variando de 0 a 6, em que 0 identifica níveis mais altos de resistência à doença e 6 altas suscetibilidade. Porém, vários estudos citam grandes imprecisões na avaliação visual das doenças devido ao baixo treinamento dos avaliadores (LOLADZE et al., 2019). As contradições na avaliação das doenças podem ocorrer em uma mesma parcela experimental, tanto pela diferença na anotação da escala, quanto pelas condições ambientais de distribuição dos patógenos, como também pela diferença de percepção dos avaliadores quanto à gravidade das doenças. Além disso, as avaliações fenotípicas demandam tempo, apresentam custos elevados e ainda demandam pessoas treinadas para coleta dos dados (LOLADZE et al., 2019).

A utilização de ferramentas que possam monitorar determinadas características da mandioca (acima e abaixo do solo) tem se tornado uma demanda de pesquisa (DELGADO et al., 2017). Portanto, é preciso investir no desenvolvimento de métodos de fenotipagem de baixo custo com alta precisão nas avaliações de campo (ATANBORI et al., 2019). Nos programas de melhoramento da mandioca, estabelecer ferramentas de fenotipagem em larga escala pode permitir a seleção antecipada de genótipos, de modo a otimizar tempo e recursos financeiros dessa atividade (VITOR et al., 2019).

A fenotipagem digital é considerada uma das mais importantes ferramentas atuais nos programas de melhoramento (ZHAO et al., 2019). A utilização das aeronaves remotamente pilotadas (ARP's) tem permitido obter informações úteis para a seleção de plantas em diversas espécies (QUIRÓS et al., 2019). Fenotipagem por meio de imagens aéreas podem ajudar na predição de características de alto impacto como a produtividade das lavouras (COSTA et al., 2020).

Atualmente, o uso de imagens de sensoriamento remoto na fenotipagem de plantas em diferentes ambientes tem desenvolvido um importante papel na

seleção indireta dos melhores genótipos (KUSSL et al., 2017). O aumento registrado na utilização de sensoriamento remoto deve-se à capacidade de coleta de dados em um menor intervalo de tempo, além de ser uma ferramenta com grande potencial na identificação de fatores de estresse nos experimentos, a exemplo de infestações de plantas invasoras, estresse hídrico, e ataque de pragas e doenças (COSTA et al., 2020).

Existe uma gama de variedades de sensores que podem ser acoplados aos ARP's. Esses sensores podem ser divididos em duas categorias: os sensores de navegação e controle, responsáveis pelo funcionamento e sensores de missão, que são responsáveis pela obtenção dos dados. O GPS, piloto automático, acelerômetros, entre outros são sensores que se enquadram na primeira categoria. Na segunda categoria estão os sensores de temperatura, umidade, pressão, geração de imagens, entre outros dados. Na utilização de dados na superfície terrestre os mais utilizados são aqueles que geram imagens ou dados que estão relacionados com as imagens obtidas, por meio de câmeras multiespectrais (ZARCO-TEJADA et al., 2012).

As imagens remotas multiespectrais e hiperespectrais são geralmente utilizadas na avaliação fenotípica para resistência a doenças em diferentes culturas, a exemplo do oídio e ferrugem das folhas no trigo, doença de Huanglongbing em laranjeiras, podridão radicular em algodão, e *Xylella fastidiosa* em azeitona (FRANCESCHINI et al., 2019). Grande parte desses estudos utilizaram espectros visíveis (VIs, principalmente região do espectro verde e vermelho) e infravermelho próximo (NIR) com o emprego de sensores hiper-espectrais e/ou multiespectrais. De modo geral, as avaliações obtiveram moderada a alta precisão (50 a 90%), dependendo do estágio da doença. Deste modo, as avaliações fenotípicas por meio de imagens demonstram ser um indicador confiável para distinguir diferentes níveis da gravidade da doença em campo (FRANCESCHINI et al., 2019).

O processamento das imagens do sensoriamento remoto possibilita a obtenção dos chamados índices de vegetação, sendo o *Normalized Difference Vegetation Index (NDVI)* um dos mais utilizados (COSTA et al., 2020). Este índice permite a identificação da vegetação e caracterização da sua distribuição espacial e evolução no decorrer do tempo. O NDVI é o mais utilizado devido à sua sensibilidade à presença dos pigmentos que fazem parte do processo

fotossintético, além de permitir uma fácil aplicação, possibilitando rápida detecção de variação em toda a vegetação. De modo geral, o principal objetivo dos ARP é reduzir o elevado custo com mão de obra, tempo das avaliações fenotípicas, e ainda aumentar a precisão na obtenção dos dados fenotípicos (BERNARDI et al., 2014). Especificamente em mandioca, Selvaraj et al. (2020) utilizaram o imageamento aéreo para fenotipagem de ensaios de mandioca com intuito de utilizar os índices vegetativos para estimar a biomassa da cultura além de desenvolver modelos preditivos para prever rendimento de raízes de mandioca através de imagens aéreas. Os autores relataram com base no estudo que a utilização de ARP apresentou resultados de predição satisfatórios além disso a utilização dos índices vegetativos foi eficaz para rendimento de raízes, demonstrando ser uma alternativa econômica e confiável.

Com o avanço da possibilidade de detecção de polimorfismo diretamente em nível de DNA, houve um avanço no melhoramento genético, por meio do estudo do parentesco entre indivíduos e da correlação entre dados fenotípicos e marcadores moleculares, tornando-se possível a identificação precoce e precisa de indivíduos com as melhores combinações de alelos favoráveis (GUIMARÃES et al., 2009).

A metodologia de estudo de associação ampla do genoma (*Genome Wide Association Studies*- GWAS) analisa as variações na sequência do DNA, com o objetivo de identificar regiões ligadas a características fenotípicas de interesse (YANO et al., 2016). Diferentemente do mapeamento clássico de *Quantitative trait loci* (QTLs) que utilizam cruzamentos biparentais e com isso certa restrição na diversidade alélica e menor resolução genômica, a GWAS utiliza desequilíbrio de ligação histórico para identificar QTLs relacionados as características de interesse (HUANG e HAN, 2014). Com o rápido avanço nas tecnologias de sequenciamento e métodos computacionais, a GWAS vem sendo utilizada para detectar a variação genética relacionada às características de interesse em muitas espécies (ZHANG et al., 2018), como arroz (ZHAO et al., 2011), milho (LI et al., 2013), *Arabidopsis thaliana* (ATWELL et al., 2010) e painço (JIA et al., 2013). Estudos recentes de GWAS na cultura da mandioca reportaram progresso no entendimento da resistência ao vírus do mosaico africano (WOLFE et al., 2016), podridão da radicular (BRITO et al., 2017), e doença da estria marrom (KAYONDO et al., 2018), além de alguns atributos agronômicos como

teor de matéria seca nas raízes (RABBI et al., 2017) e carotenóides (ESUMA et al., 2016).

Estes exemplos mostram como a técnica de GWAS fornece aos programas de melhoramento de plantas, uma técnica inovadora e capaz de selecionar genes que possam acelerar a seleção de plantas e consequentemente o desenvolvimento de novas variedades (EZENWAKA et al., 2018). Muitos dos estudos de diversidade das espécies, construção de mapas genéticos e de mapeamento associativo (GWAS) resultaram no desenvolvimento de marcadores moleculares utilizados na seleção assistida (SAM) na cultura da mandioca (RABBI et al., 2014).

A GWAS vem sendo utilizada como um método alternativo para a seleção assistida por marcadores (SAM) e seleção fenotípica convencional em mandioca (KAYONDO et al., 2018), avaliação de desempenho de modelos de predição genômica utilizando dados fenotípicos e dados de genotipagem por sequenciamento (*Genotyping by sequencing* - GBS) (AMUGE et al., 2017), se tornado o principal método para a identificação de genes ligados a características agronômicas.

De modo geral, estudos de GWAS com dados confiáveis da variação fenotípica para determinada característica, pode permitir seu uso efetivo no melhoramento na busca de variantes com alelos associados à resistência a doenças em fases precoces do programa de melhoramento e com isso otimizar o processo seletivo na busca por redução no tempo necessário para completar um ciclo de melhoramento (HUANG e HAN, 2014).

A GWAS permite identificar genes em rotas metabólicas relacionadas ao caráter em estudo (KORTE e FARLOW, 2013), para isso, é necessária forte associação das regiões genômicas com a característica de interesse, pois do contrário a seleção fenotípica pode ser mais eficiente. A partir da análise de GWAS é possível detectar e identificar regiões importantes, QTLs e genes de efeito principal sobre o caractere de interesse (ZHANG et al., 2018), permitindo estimar o número de QTLs associados as características, localizar suas posições no genoma e estimar seus efeitos. A identificação destas regiões genômicas associadas a determinados fenótipos possibilita o uso de estratégias para reduzir o tempo e recursos financeiros gastos no desenvolvimento de novas cultivares, como a seleção assistida por marcadores (SAM) e a clonagem gênica (ZHANG

et al., 2018).

6.3 MELHORAMENTO PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS

Os principais objetivos de um programa de melhoramento de mandioca são, o aumento da produtividade de raízes e resistência a pragas e doenças da cultura (PEPRAH et al., 2020). Logo, a escolha do método de melhoramento adequado é de fundamental importância para o sucesso do programa de melhoramento e deve levar em consideração a herança das características. De modo geral, tem-se que as principais características agronômicas de maior interesse na cultura da mandioca são de caráter quantitativo e, portanto, afetadas pelas condições ambientais e de difícil seleção (OLIVEIRA et al., 2014). Entretanto, esse tipo de estudo para características relacionadas à resistência a doenças de mandioca é bastante escasso.

O método de melhoramento mais utilizado no melhoramento de mandioca, continua sendo a seleção recorrente, que pode levar em torno de seis a oito anos para completar um ciclo seletivo, e a partir daí permitir a seleção de progenitores para o próximo ciclo (CEBALLOS et al., 2016). Isso se deve principalmente à baixa taxa de multiplicação da espécie que faz com que experimentos com repetições e em diferentes ambientes para obtenção do valor de melhoramento (*breeding value*) dos genótipos sejam iniciados apenas após o quinto ano após os cruzamentos iniciais.

Esse longo ciclo de seleção tende a retardar a seleção de novas cultivares de alto rendimento e resistentes a doenças e pragas que possam atender a demanda dos produtores (OZIMATI et al., 2019). Por outro lado, o avanço da tecnologia de sequenciamento como a genotipagem por sequenciamento ou GBS, tem permitido a geração de milhares de marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único SNPs espalhados pelo genoma de mandioca, cujo uso tem permitido o mapeamento de QTLs (BOONCHANAWIWAT et al., 2016; NZUKI et al., 2017; GARCIA et al., 2020; OZIMATI et al., 2019). Além disso, os SNPs tem sido utilizado para predição do *breeding value* dos genótipos via seleção genômica (ANDRADE et al., 2019; LIMA et al., 2019; WOLFE et al., 2019; ESUMA et al., 2021); já na fase de *seedlings*, o que permite reduzir o ciclo de melhoramento da mandioca para dois anos. De acordo com Ewa et al. (2021), o desenvolvimento dos SNPs foi crucial para ter um maior entendimento do

genoma da mandioca e assim ajudar no seu processo de melhoramento.

Além da seleção genômica, os métodos de melhoramento com base nos marcadores moleculares, vêm sendo utilizados na seleção assistida por marcadores (SAM), com o objetivo de selecionar genótipos com características de interesse diretamente em nível de DNA (IDRESS e IRSHAD 2014), apresentando mais benefícios em comparação com os métodos convencionais de melhoramento, a exemplo do baixo custo, rápido avanço de gerações e alta eficiência de seleção (XU e CROUCH, 2008; OLIVEIRA et al., 2018). Na cultura da mandioca essa técnica vem apresentando eficiência na seleção para resistência ao vírus do mosaico da mandioca (CMD) (CODJIA et al., 2022). Em estudo realizado por Olasanmi et al. (2021) os autores conseguiram reduzir o ciclo seletivo para um ano de avaliação ao utilizarem marcadores moleculares para seleção de genótipos resistentes ao CMD.

Com os avanços tecnológicos de genotipagem, os marcadores SNPs previamente identificados nos estudos de GWAS tem sido convertido em marcadores alelo específico como é o caso da técnica *Kompetitive Allele Specific* (KASP), que se baseia na reação de cadeia de polimerase (PCR) utilizando marcadores com fluorescência (KIM et al., 2021). Essa técnica se caracteriza por apresenta baixa taxa de erro e custo relativamente baixo em comparação com outras plataformas de genotipagem para marcadores SNPs (STEELE et al., 2018). Os marcadores KASP vem sendo utilizado em várias culturas como arroz (KANG et al., 2020), sorgo (BUROW et al., 2019), trigo (FANG et al., 2020) MAKHOUL et al., 2020) e atualmente na cultura da mandioca (EWA et al., 2021).

Na cultura da mandioca a técnica KASP tem sido utilizada para seleção para resistência ao CMD (IGE et al., 2021). O marcador KASP (S12_7926132) ligado ao *CMD2* prediz a resistência ou suscetibilidade de novas plantas com razoável precisão tanto em nível populacional quanto entre progênies. Além disso, a seleção para o alelo resistente ligado a esse locus aumentaria a produtividade de raízes em média de pelo menos 27% em relação aos genótipos com o alelo suscetível.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, H. Y. G. D., OLIVEIRA, E. J. D., BRITO, A. C., ANDRADE, L. R. B. D., CARMO, C. D. D., MORGANTE, C. V. FALEIRO, F. G. Identification of duplicates in cassava germplasm banks based on single-nucleotide polymorphisms (SNPs). **Scientia Agricola**, v. 76, p. 328-336, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2017-0389>
- AMUGE, T., BERGER, D. K., KATARI, M. S., MYBURG, A. A., GOLDMAN, S. L. FERGUSON, M. E. A time series transcriptome analysis of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties challenged with Ugandan cassava brown streak virus. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-21, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09617-z>
- ANDRADE, L. R. B. D., SOUSA, M. B. E., OLIVEIRA, E. J., RESENDE, M. D. V. D. AZEVEDO, C. F. Cassava yield traits predicted by genomic selection methods. **PloS one**, v. 14, n. 11, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224920>
- ASARE, P. A.; GALYUON, I. K. A.; SARFO, J. K.; TETTEH, J. P. Morphological and molecular based diversity studies of some cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm in Ghana. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 63, p. 13900-13908, 2011. <https://doi.org/10.5897/AJB11.929>
- ATANBORI, J., MONTOYA-P, M. E., SELVARAJ, M. G., FRENCH, A. P. PRIDMORE, T. P. Convolutional neural net-based cassava storage root counting using real and synthetic images. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 1516, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01516>
- ATWELL, S., HUANG, Y. S., VILHJÁLMSSON, B. J., WILLEMS, G., HORTON, M., LI, Y. NORDBORG, M. Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. **Nature**, v. 465, n. 7298, p. 627-631, 2010. <https://doi.org/10.1038/nature08800>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1676-4>

BOONCHANAWIWAT, A., SRAPHET, S., WHANKAEW, S., BOONSENG, O., SMITH, D. R. TRIWITAYAKORN, K. Mapping of quantitative trait loci underlying resistance to cassava anthracnose disease. **The Journal of Agricultural Science**, v. 154, n. 7, p. 1209-1217, 2016. <https://doi.org/10.1017/S0021859615001057>

BRITO, A. C.; OLIVEIRA, S. A. S.; OLIVEIRA, E. J. Genome-wide association study for resistance to cassava root rot. **The Journal of Agricultural Science**, v. 155, n. 9, p. 1424-1441, 2017. <https://doi.org/10.1017/S0021859617000612>

BRUNELLI, K. R., FAZZA, A. C., ATHAYDE SOBRINHO, C., CAMARGO, L. E. A. Effect of culture media and light exposure on the sporulation of *Cercospora zeae-maydis*. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 92-94, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000100016>

BUROW, G., CHOPRA, R., SATTLER, S., BURKE, J., ACOSTA-MARTINEZ, V., XIN, Z. Deployment of SNP (CAPS and KASP) markers for allelic discrimination and easy access to functional variants for brown midrib genes bmr6 and bmr12 in *Sorghum bicolor*. **Molecular Breeding**, v. 39, n. 8, p. 1-10, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11032-019-1010-7>

CEBALLOS, H., HERSHEY, C., BECERRA-LÓPEZ-LAVALLE, L. A. New approaches to cassava breeding. **Plant breeding reviews**, v. 36, p. 427-504, 2012. <https://doi.org/10.1002/9781118358566>

CEBALLOS, H., PÉREZ, J. C., JOAQUI BARANDICA, O., LENIS, J. I., MORANTE, N., CALLE, F. HERSHEY, C. H. Cassava breeding I: the value of breeding value. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1227, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01227>

CEBALLOS, H.; DAVRIEUX, F.; TALSMA, E. F.; BELALCAZAR, J.; CHAVARRIAGA, P.; ANDERSSON, M. S. Carotenoids in cassava roots. In: Carotenoids. **InTech**, p. 189-221, 2017. <https://doi.org/10.5772/65523>

CEBALLOS, H.; MORANTE, N.; SÁNCHEZ, T.; ORTIZ, D.; ARAGÓN, I.; CHÁVEZ, A. L.; PIZARRO, M.; CALLE, F.; DUFOUR, D. Rapid cycling recurrent

selection for increased carotenoids content in cassava roots. **Crop Science**, v. 53, n. 6, p. 2342-2351, 2013. <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.02.0123>

CODJIA, E. D., OLASANMI, B., AGRE, P. A., UWUGIAREN, R., IGE, A. D., RABBI, I. Y. Selection for resistance to cassava mosaic disease in African cassava germplasm using single nucleotide polymorphism markers. **South African Journal of Science**, v. 118, n. 1/2, 2022. <http://dx.doi.org/10.17159/sajs.2022/11607>

COSTA, G. A., FREITAS-LOPES, R. L., LINO, J. B., JULIÃO, E. C., MICHEREFF, S. J., LOPES, U. P. An efficient method for inducing sporulation of cercosporoid fungal species causing leaf spots in cassava. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, p. 201-204, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00404-5>

DELGADO, A., HAYS, D. B., BRUTON, R. K., CEBALLOS, H., NOVO, A., BOI, E., SELVARAJ, M. G. Ground penetrating radar: a case study for estimating root bulking rate in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant methods**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0216-0>

DUMET, D.; KORIE, S.; ADEYEMI, A. Cryobanking Cassava Germplasm at IITA. **Acta Horticulturae**, v. 908, p. 439-446, 2011. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.908.56>

EL-SHARKAWY, M. A. Cassava biology and physiology. **Plant molecular biology**, v. 53, n. 5, p. 621-641, 2003. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2270-7>.

EMBRAPA, Meio Ambiente. **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. 1.ed. Jaguariúna, SP: Meio Ambiente, 2011. 357p. ISBN:9788577151515

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema de Produção de Mandioca no Semiárido, 2020**. Disponível em: <file:///C:/Users/Josi/Downloads/Sistema-deProducao-de-Mandioca-no-Semiarido.pdf>. Acesso em: 07 abril 2022.

ESCOBAR, R. H.; R. H., ANDREZ, C. H.; LARRAHONDO, N.; OSPINA, G.; RESTREPO, J.; NOZ, L. M; ROCA, W. M. Tissue culture for farmers: 22 Participatory adaptation of low-input cassava propagation in Colombia. **Experimental agriculture**, v. 42, n. 1, p. 103-120, 2006. <https://doi.org/10.1017/S001447970500311X>

ESUMA, W., HERSELMAN, L., LABUSCHAGNE, M. T., RAMU, P., LU, F., BAGUMA, Y. KAWUKI, R. S. Genome-wide association mapping of provitamin A carotenoid content in cassava. **Euphytica**, v. 212, n. 1, p. 97-110, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1772-5>

ESUMA, W., OZIMATI, A., KULAKOW, P., GORE, M. A., WOLFE, M. D., NUWAMANYA, E., KAWUKI, R. S. Effectiveness of genomic selection for improving provitamin A carotenoid content and associated traits in cassava. **G3**, v. 11, n. 9, p. jkab160, 2021. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab160>

ESUMA, W.; RUBAIHAYO, P.; PARIYO, A.; KAWUKI, R.; WANJALA, B.; NZUKI, I.; HARVEY, J. J. W.; BAGUMA, Y. Genetic diversity of provitamin A cassava in Uganda. **Journal of Plant Studies**, v. 1, n. 1, p. 60, 2012. <https://doi.org/10.5539/jps.v1n1p60>

EWA, F., ASIWE, J. N., OKOGBENIN, E., OGBONNA, A. C. EGESI, C. KASPar SNP genetic map of cassava for QTL discovery of productivity traits in moderate drought stress environment in Africa. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90131-8>

EZENWAKA, L. C., DEL CARPIO, D. P., JANNINK, J. L., RABBI, I. Y., DANQUAH, E. Y., ASANTE, I. EGESI, C. N. Genome-wide association study of resistance to cassava green mite pest and related traits in cassava. **Crop Science**, p. 1907-1908, 2018. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.01.0024>

FANG, T., LEI, L., LI, G., POWERS, C., HUNGER, R. M., CARVER, B. F., YAN, L. Development and deployment of KASP markers for multiple alleles of Lr34 in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 7, p. 2183-2195, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03589-x>

FAO. FAOSTAT. [<http://faostat3.fao.org/home/index.html>]. Accessed on 2

April (2022).

FOUNDATION AGRICULTURAL ORGANIZATION (FAO). Food Outlook: **BIANNUAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS, 2018**. Disponível em: . Acesso em: 10 de março de 2021

FOUNDATION AGRICULTURAL ORGANIZATION (FAO). **Produzir mais com menos: Mandioca**. Um guia para a intensificação sustentável da produção. Informe de Política. 2013. Acesso em: 20 novembro de 2018

FRANCESCHINI, M. H. D., BARTHOLOMEUS, H., VAN APELDOORN, D. F., SUOMALAINEN, J. KOOISTRA, L. **Feasibility of unmanned aerial vehicle optical imagery for early detection and severity assessment of late blight in potato**. Remote Sensing, v. 11, n. 3, p. 224, 2019.

FREITAS, J. P. X., DINIZ, R. P., DE OLIVEIRA, S. A. S., DA SILVA SANTOS, V., DE OLIVEIRA, E. J. Inbreeding depression for severity caused by leaf diseases in cassava. **Euphytica**, v. 213, n. 9, p. 1-12, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1995-0>

GARCIA-OLIVEIRA, A. L., KIMATA, B., KASELE, S., KAPINGA, F., MASUMBA, E., MKAMILO, G. FERGUSON, M. E. Genetic analysis and QTL mapping for multiple biotic stress resistance in cassava. **PloS one**, v. 15, n. 8, p. e0236674, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236674>

GONÇALVES, T. M., VIDIGAL FILHO, P. S., VIDIGAL, M. C. G., FERREIRA, R. C. U., ROCHA, V. P. C., ORTIZ, A. H. T., KVITSCHAL, M. V. I. Genetic diversity and population structure of traditional sweet cassava accessions from Southern of Minas Gerais State, Brazil, using microsatellite markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 8, p. 346-358, 2017. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15768>

GUIMARÃES, C. T., DE MAGALHÃES, J. V., LANZA, M. A., SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. Informe **Agropecuário**, Belo Horizonte, v.30, n.253, nov./dez. 2009.

HORMHUAN, P., VIBOONJUN, U., SOJIKUL, P., NARANGAJAVANA, J.

Enhancing of anthracnose disease resistance indicates a potential role of antimicrobial peptide genes in cassava. **Genetic**, v. 148, n. 3, p. 135-148, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10709-020-00097-0>

HUANG, X.; HAN, B. Natural Variations and Genome-Wide Association Studies in Crop Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, n. 1, p. 531–551, 2014. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035715>

IBGE [INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA], 2019. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2019_dez.pdf> . Acesso em: 02 de junho de 2021.

IDREES, M; e IRSHAD, M. Molecular markers in plants for analysis of genetic diversity: a review. **European academic research**, v. 2, n. 1, p. 1513-1540, 2014. ISSN 2286-4822

IGE, A. D., OLASANMI, B., NKOUAYA MBANJO, E. G., KAYONDO, I. S., PARKES, E. Y., KULAKOW, P., RABBI, I. Y. Conversion and validation of uniplex SNP markers for selection of resistance to cassava mosaic disease in cassava breeding programs. **Agronomy**, v. 11, n. 3, p. 420, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030420>

IITA. **Cassava in tropical Africa: a reference manual**. Ibadan, 1990, 184p

JANSSON C, WESTERBERGH A, ZHANG J, HU X, SUN C. Cassava, a potential biofuel crop in (the) People's Republic of China. **Applied Energy**, v. 86, p. S95-S99, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.05.011>

JARVIS, A.; RAMIREZ-VILLEGAS, J.; CAMPO, B. V. H.; NAVARRO-RACINES, C. Is cassava the answer to African climate change adaptation? **Tropical Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 9-29, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12042-012-9096-7>

JIA, J., ZHAO, S., KONG, X., LI, Y., ZHAO, G., HE, W., WANG, J. Aegilops tauschii draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. **Nature**, v. 496, n. 7443, p. 91-95, 2013. <https://doi.org/10.1038/nature12028>

JULIÃO, E. C., SANTANA, M. D., FREITAS-LOPES, R. D. L., VIEIRA, A. D. P., DE CARVALHO, J. S. B. LOPES, U. P. Reduction of brown leaf spot and changes in the chlorophyll a content induced by fungicides in cassava plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02001-0>

KANG, J. W., LEE, S. B., LEE, J. Y., KWON, Y. H., LEE, S. M., KABANGE, N. R., LEE, J. H. Development and validation of KASP markers for Stv-bi, a rice stripe virus resistance gene in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Breeding and Biotechnology**, v. 8, n. 2, p. 196-201, 2020. <https://doi.org/10.9787/PBB.2020.8.2.196>

KAYONDO, S. I., DEL CARPIO, D. P., LOZANO, R., OZIMATI, A., WOLFE, M., BAGUMA, Y., JANNINK, J. L. Genome-wide association mapping and genomic prediction for CBSD resistance in *Manihot esculenta*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19696-1>

KIM, M. S., YANG, J. Y., YU, J. K., LEE, Y., PARK, Y. J., KANG, K. K., CHO, Y. G. Breeding of high cooking and eating quality in rice by Marker-Assisted Backcrossing (MABc) using KASP markers. **Plants**, v. 10, n. 4, p. 804, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10040804>

KORTE, A., e FARLOW, A. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. **Plant methods**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2013. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-29>

KOUNDINYA, A. V. V.; HEGDE, V.; SHEELA, M. N.; CHANDRA, C. V. Evaluation of Cassava Varieties for Tolerance to Water Deficit Stress conditions. **JOURNAL OF ROOT CROPS**, v. 44, n. 1, p. 70-75, 2018. ISSN 0378-2409

KUNKEAW, S., WORAPONG, J., SMITH, D. R., TRIWITAYAKORN, K. An in vitro detached leaf assay for pre-screening resistance to anthracnose disease in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Australasian Plant Pathology**, v. 39, n. 6, p. 547-550, 2010. <https://doi.org/10.1071/AP10024>

KUSSUL, N., LAVRENIUK, M., SKAKUN, S., SHELESTOV, A. Deep learning classification of land cover and crop types using remote sensing data. **IEEE**

Geoscience and Remote Sensing Letters, v. 14, n. 5, p. 778-782, 2017.
<https://doi.org/10.1109/LGRS.2017.2681128>

LI, H., PENG, Z., YANG, X., WANG, W., FU, J., WANG, J., YAN, J. Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. **Nature genetics**, v. 45, n. 1, p. 43-50, 2013.
<https://doi.org/10.1038/ng.2484>

LIMA FILHO, F. A. S., LEITE, Í. C. H. L., CAPUCHO, A. S., MICHEREFF, S. J., FREITAS-LOPES, R. L., LOPES, U. P. Accuracy and efficiency of assessments of cassava brown leaf spot aided by standard area diagram sets based on whole compound leaves or single central leaflets. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, n. 2, p. 627-638, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1586-5>

LIU, Z.; BRAUN, U.; CROUS, P. W.; SI, J.; ZHANG Y. Taxonomy and phylogeny of cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) from China. **Phytotaxa**, v. 278, n. 3, p. 212-224, 2016. ISSN: 1179-3155

LOLADZE, A., RODRIGUES JR, F. A., TOLEDO, F., SAN VICENTE, F., GÉRARD, B., BODDUPALLI, M. P. Application of remote sensing for phenotyping tar spot complex resistance in maize. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 552, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00552>

LYNAM, J. K.; BYERLEE, D. **Forever pioneers–CIAT: 50 years contributing to a sustainable food futur and counting**. 2017.

MAKHOUL, M., RAMBLA, C., VOSS-FELS, K. P., HICKEY, L. T., SNOWDON, R. J., & OBERMEIER, C. Overcoming polyploidy pitfalls: a user guide for effective SNP conversion into KASP markers in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 8, p. 2413-2430, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03608-x>

MASSOLA N.S, BEDENDO I.P, OLIVEIRA S.A.S, AMORIM L, REZENDE J.A.M, BERGAMIN FILHO A, CAMARGO L.E.A. Doenças da Mandioca. (eds) Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas. **Agronômica Ceres**, Ouro Fino, p 515–522, 2016.

MCCALLUM, EMILY J.; ANJANAPPA, RAVI B.; GRUISSEM, WILHELM. Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). **Current opinion in plant biology**, v. 38, p. 50-58, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008>

MUIRURI, S. K., NTUI, V. O., TRIPATHI, L., TRIPATHI, J. N. Mechanisms and approaches towards enhanced drought tolerance in cassava (*Manihot esculenta*). **Current Plant Biology**, v. 28, p. 100227, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100227>

MULLER, A. S., CHUPP, C. Cercosporae from Minas Geraes. **Arch. Inst. Biol. veg.**, Rio de J., v. 1, n. 3, 1935.

MYCOBANK. International mycological association. **Disponível em:** <http://www.mycobank.org>. Acesso em 22 de out. de 2019.

NZUKI, I., KATARI, M. S., BREDESON, J. V., MASUMBA, E., KAPINGA, F., SALUM, K. FERGUSON, M. E. QTL mapping for pest and disease resistance in cassava and coincidence of some QTL with introgression regions derived from *Manihot glaziovii*. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1168, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01168>

OKOGBENIN, E.; PORTO, M. C. M. EGESI, C.; MBA, C.; ESPINOSA, E.; SANTOS, L. G.; OSPINA, C.; MARÍN, J.; BARRERA, E.; GUTIÉRREZ, J.; EKANAYAKE, I.; IGLESIAS, C.; FREGENE, M. A. Marker-Assisted Introgression of resistance to cassava mosaic disease into Latin American germplasm for the genetic improvement of cassava in Africa. **Crop Science**, v. 47, p. 1895-1904, 2007. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.10.0688>

OLASANMI, B., KYALLO, M., YAO, N. Marker-assisted selection complements phenotypic screening at seedling stage to identify cassava mosaic disease-resistant genotypes in African cassava populations. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82360-8>

OLIVEIRA, E. J.; OLIVEIRA FILHO, O. S.; SANTOS, V. S. Classification of cassava genotypes based on qualitative and quantitative data. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, p. 906-924, 2015.

<http://dx.doi.org/10.4238/2015.February.2.14>

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. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2309-8>

OLIVEIRA, P. H. G. D., BARBOSA, A. C. O., DINIZ, R. P., OLIVEIRA, E. J., FERREIRA, C. F. Molecular marker assisted selection for increasing inbreeding in S 1 populations of cassava. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 3853-3869, 2018. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180278>

OLIVER, R. P., HEWITT, H. G. Geoff. **Fungicides in crop protection**. Cabi, 2014.

OSPINA, B.; CEBALLOS, H. Cassava in the third millennium: modern production, processing, use, and marketing systems. **CIAT**, Cali, Colombia. 574 p., 2012

OZIMATI, A., KAWUKI, R., ESUMA, W., KAYONDO, S. I., PARIYO, A., WOLFE, M., JANNINK, J. L. Genetic variation and trait correlations in an East African cassava breeding population for genomic selection. **Crop science**, v. 59, n. 2, p. 460, 2019. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.01.0060>

PARMAR, A.; STURM, B.; HENSEL, O. Crops that feed the world: Production and improvement of cassava for food, feed, and industrial uses. **Food Security**, v. 9, n. 5, p. 907-927, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12571-017-0717-8>

PEI, Y.; SHI, T.; LI, C.; LIU, X.; CAI, J.; HUANG, G. Distribution and pathogen identification of cassava brown leaf spot in China. **Genetics and Molecular Biology**, v. 13, p. 3461-3473, 2014. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.April.30.7>

PEPRAH, B. B., PARKES, E., MANU-ADUENING, J., KULAKOW, P., VAN BILJON, A., LABUSCHAGNE, M. Genetic variability, stability and heritability for quality and yield characteristics in provitamin A cassava varieties. **Euphytica**, v. 216, n. 2, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-2562-7>

PUSHPALATHA, R., GANGADHARAN, B. Is Cassava (*Manihot esculenta*

Crantz) a Climate “Smart” Crop? A Review in the Context of Bridging Future Food Demand Gap. **Tropical Plant Biology**, v. 13, n. 3, p. 201-211, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12042-020-09255-2>

QUIRÓS VARGAS, J. J., ZHANG, C., SMITCHGER, J. A., MCGEE, R. J., SANKARAN, S. Phenotyping of plant biomass and performance traits using remote sensing techniques in pea (*Pisum sativum*, L.). **Sensors**, v. 19, n. 9, p. 2031, 2019. <https://doi.org/10.3390/s19092031>

RABBI, I. Y., HAMBLIN, M. T., KUMAR, P. L., GEDIL, M. A., IKPAN, A. S., JANNINK, J. L. KULAKOW, P. A. High-resolution mapping of resistance to cassava mosaic geminiviruses in cassava using genotyping-by-sequencing and its implications for breeding. **Virus research**, v. 186, p. 87-96, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.028>

RABBI, I. Y., UDOH, L. I., WOLFE, M., PARKES, E. Y., GEDIL, M. A., DIXON, A., KULAKOW, P. Genome-Wide Association Mapping of Correlated Traits in Cassava: Dry Matter and Total Carotenoid Content. **The plant genome**, v. 10, n. 3, p.90-105, 2017. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2016.09.0094>

RAHMAWATI, R. S.; SUKMA, D.; ARDIE, S. W.; SUDARSONO, S. Postharvest physiological deterioration in cassava: potential problems, possible inhibition, and resistant level identification. In: IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, p. 012035, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/694/1/012035>

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 4a ed. Editora UFLA, Lavras, 2008. 463p.

REDDY, P. P. **Plant protection in tropical root and tuber crops**. New Delhi: Springer India 2015.

SANGPUEAK, RUNGTHIP; PHANSAK, PIYAPORN; BUENSANTEAI, NATTHIYA. Morphological and molecular identification of *Colletotrichum* species associated with cassava anthracnose in Thailand. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 2, p. 129-142, 2018. <https://doi.org/10.1111/jph.12669>

SASTRY, K. S., & ZITTER, T. A. Plant virus and viroid diseases in the tropics. Dordrecht, The Netherlands: **Springer**, 2014. ISBN: 978-94-017-7962-3

SELVARAJ, M. G., VALDERRAMA, M., GUZMAN, D., VALENCIA, M., RUIZ, H. ACHARJEE, A. Machine learning for high-throughput field phenotyping and image processing provides insight into the association of above and below-ground traits in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant methods**, v. 16, n. 1, p. 1-19, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00625-1>

SILVA, L. L., PESTANA, K. N., FERREIRA, C. F., OLIVEIRA, S. A. Differentiation of phylogenetic lineages within the '*Colletotrichum gloeosporioides* species complex' associated with cassava anthracnose disease by PCR-RFLP. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 194-201, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0218-0>

STEELE, K. A., QUINTON-TULLOCH, M. J., AMGAI, R. B., DHAKAL, R., KHATIWADA, S. P., VYAS, D., WITCOMBE, J. R. Accelerating public sector rice breeding with high-density KASP markers derived from whole genome sequencing of indica rice. **Molecular breeding**, v. 38, n. 4, p. 1-13, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0777-2>

TOMLINSON, K. R., BAILEY, A. M., ALICAI, T., SEAL, S., FOSTER, G. D. Cassava brown streak disease: historical timeline, current knowledge and future prospects. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 5, p. 1282-1294, 2018. <https://doi.org/10.1111/mpp.12613>

VALENTOR, A. O., OCHWO-SSEMAKULA, M., KAWEESI, T., OZIMATI, A., MREMA, E., MWALE, E. S., KAWUKI, R. Plot based heritability estimates and categorization of cassava genotype response to cassava brown streak disease. **Crop Protection**, v. 108, p. 39-46, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.008>

VENTURINI, M. T., ARAÚJO, T. D. S., ABREU, E. F. M., ANDRADE, E. C. D., SANTOS, V. D. S., SILVA, M. R. D., OLIVEIRA, E. J. D. Crop losses in Brazilian cassava varieties induced by the Cassava common mosaic virus. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 520-524, 2016. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0374>

VITOR, A. B., DINIZ, R. P., MORGANTE, C. V., ANTÔNIO, R. P., DE OLIVEIRA, E. J. Early prediction models for cassava root yield in different water regimes. **Field Crops Research**, v. 239, p. 149-158, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.05.017>

WOLFE, M. D., BAUCHET, G. J., CHAN, A. W., LOZANO, R., RAMU, P., EGESI, C., JANNINK, J. L. Historical introgressions from a wild relative of modern cassava improved important traits and may be under balancing selection. **Genetics**, v. 213, n. 4, p. 1237-1253, 2019. <https://doi.org/10.1534/genetics.119.302757>

WOLFE, M. D., RABBI, I. Y., EGESI, C. N., HAMBLIN, M., KAWUKI, R., KULAKOW, P. A., JANNINK, J. L. Genome-wide association and prediction reveals genetic architecture of cassava mosaic disease resistance and prospects for rapid genetic improvement. *Plant Genome*, v. 9, n. 2, p. 1-13, 2016. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.11.0118>

XU, Y; & CROUCH, J. H. Marker-assisted selection in plant breeding: From publications to practice. **Crop science**, v. 48, n. 2, p. 391-407, 2008. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0191>

YANO, K., YAMAMOTO, E., AYA, K., TAKEUCHI, H., LO, P. C., HU, L., MATSUOKA, M. Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice. **Nature genetics**, v. 48, n. 8, p. 927-934, 2016. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.3596>

YU, X. Y., YAO, Y., HONG, Y. H., HOU, P. Y., LI, C. X., XIA, Z. Q., CHEN, Y. H. Differential expression of the Hsf family in cassava under biotic and abiotic stresses. **Genome**, v. 62, n. 8, p. 563-569, 2019. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0163>

ZARCO-TEJADA, P. J., GONZÁLEZ-DUGO, V., BERNI, J. A. Fluorescence, temperature and narrow-band indices acquired from a UAV platform for water stress detection using a micro-hyperspectral imager and a thermal camera. **Remote sensing of environment**, v. 117, p. 322-337, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2011.10.007>

ZHANG, S., CHEN, X., LU, C., YE, J., ZOU, M., LU, K. WANG, W. Genome-wide association studies of 11 agronomic traits in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 503, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00503>

ZHAO, C., ZHANG, Y., DU, J., GUO, X., WEN, W., GU, S., FAN, J. Crop phenomics: current status and perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 714, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00714>

ZHAO, K., TUNG, C. W., EIZENGA, G. C., WRIGHT, M. H., ALI, M. L., PRICE, A. H., MCCOUCH, S. R. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. **Nature communications**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2011. <https://doi.org/10.1038/ncomms1467>

CAPÍTULO 1

VARIABILIDADE FENOTÍPICA DA RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE, MANCHA BRANCA, MANCHA PARDA E QUEIMA DAS FOLHAS EM GERMOPLASMA DE MANDIOCA

CRUZ DAS ALMAS - BA

2024

VARIABILIDADE FENOTÍPICA DA RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE, MANCHA BRANCA, MANCHA PARDA E QUEIMA DAS FOLHAS NO GERMOPLASMA DE MANDIOCA

RESUMO: Apesar das doenças fúngicas da parte aérea da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) causarem perdas na produtividade, há uma escassez de estudos sobre a resistência da espécie. Este estudo teve objetivo avaliar a diversidade fenotípica para resistência à antracnose (CAD), queima das folhas (BliLS), mancha parda (BLS) e mancha branca (WLS) no germoplasma de mandioca, além de identificar genótipos para fins de melhoramento. Foram avaliados 837 genótipos em condições de campo em dois ciclos (2021 e 2022). Inoculações artificiais foram realizadas, e dados de produtividade e severidade das doenças foram coletados por meio de escala de notas. Os top 25 genótipos foram selecionados com base no índice de seleção. A alta variabilidade ambiental resultou em baixas herdabilidades (h^2) para CAD, WLS e BLS ($h^2 = 0,42, 0,34, 0,29$, respectivamente) e moderada para BliLS ($h^2 = 0,51$). A variação da resistência a doenças foi bastante estreita, em contraste com as características produtivas. De acordo com a análise de agrupamento o aumento das características produtivas e da severidade das doenças foi associado a escores mais altos das primeiras e segundas funções discriminantes, respectivamente. A maioria dos clusters foi composta por genótipos com características híbridas para ambas características. No geral, houve uma forte correlação entre as doenças, especialmente BLS e BliLS ($r = 0,96$), enquanto a correlação entre CAD e outras doenças variou de $r = 0,53$ a $0,58$. Não houve correlações significativas entre características produtivas e resistência a doenças. Embora o diferencial de seleção para resistência a doenças tenha sido modesto (entre $-2,31\%$ e $-3,61\%$), a seleção com base nas características produtivas mostrou resultados promissores, particularmente para produtividade de raízes frescas (82%), secas (39%), e da parte aérea (49%), além do vigor da planta (26%). Este estudo contribui para aumentar os ganhos genéticos em resistência às principais doenças das partes aéreas e para melhorar as características de produtividade em programas de melhoramento de mandioca.

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz, doenças, seleção, correlação, melhoramento.

PHENOTYPIC VARIABILITY IN RESISTANCE TO ANTHRACNOSE, WHITE, BROWN, AND BLIGHT LEAF SPOT IN CASSAVA GERMPLASM

ABSTRACT: Despite fungal diseases affecting the aerial parts of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and causing significant yield losses, there is a lack of comprehensive studies assessing resistance in the species' germplasm. This study aimed to evaluate the phenotypic diversity for resistance to anthracnose disease (CAD), blight leaf spot (BliLS), brown leaf spot (BLS), and white leaf spot (WLS) in cassava germplasm and to identify genotypes suitable for breeding purposes. A total of 837 genotypes were evaluated under field conditions across two production cycles (2021 and 2022). Artificial inoculations were carried out in the field, and data on yield and disease severity were collected using a standardized rating scale. The top 25 cassava genotypes were selected based on a selection index for disease resistance and agronomic traits. High environmental variability resulted in low heritabilities (h^2) for CAD, WLS, and BLS ($h^2 = 0.42, 0.34, 0.29$, respectively) and moderate heritability for BliLS ($h^2 = 0.51$). While the range of data for disease resistance was narrow, it was considerably wider for yield traits. Cluster analysis revealed that increased yield traits and disease severity were associated with higher scores of the first and second discriminant functions, respectively. Thus, most clusters comprised genotypes with hybrid characteristics for both traits. Overall, there was a strong correlation among aerial diseases, particularly between BLS and BliLS ($r = 0.96$), while the correlation between CAD and other diseases ranged from $r = 0.53$ to 0.58 . Yield traits showed no significant correlations with disease resistance. Although the mean selection differential for disease resistance was modest (between -2.31% and -3.61%), selection based on yield traits showed promising results, particularly for fresh root yield (82%), dry root yield (39%), shoot yield (49%), and plant vigor (26%). This study contributes to enhancing genetic gains for resistance to major aerial part diseases and improving yield traits in cassava breeding programs.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz, diseases; selection; correlation; breeding

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Manihot* pertence à família Euphorbiaceae, que abrange outras espécies de importância econômica, como por exemplo o pinhão-mansão e a seringueira, que divergiram da mandioca há aproximadamente 35 milhões de anos (BREDESON et al., 2016). Globalmente, a mandioca é uma das culturas de importância econômica em rápida expansão devido à sua ampla gama de usos em diversos setores industriais (HOHENFELD et al., 2022).

Atualmente, a Nigéria é o principal produtor, com uma produção de 60,0 milhões de toneladas cultivadas em 7,73 milhões de hectares, enquanto o Brasil ocupa o quinto lugar com produção de 18,2 milhões de toneladas em uma área de 1,21 milhão de hectares (FAO, 2022). Estima-se que o valor da produção brasileira de mandioca seja de cerca de US\$2,3 bilhões, com geração de um milhão de empregos diretos e indiretos (EMBRAPA, 2020; IBGE 2022). Apejar dessa pujança econômica, o que predomina nos diferentes sistemas de produção nacional é o uso de variedades obsoletas com baixos níveis de produção e elevada suscetibilidade a pragas e doenças que têm alto poder de destruição das plantas e sérias penalidades na produtividade de raízes.

Dentre as principais doenças que limitam o potencial produtivo da mandioca, estão aquelas que afetam a parte aérea das plantas, a exemplo da antracnose (*Colletotrichum* spp), mancha parda, (*Passalora henningsii*), mancha branca (*Passalora manihotis*) e queima das folhas (*Passalora vicosae*) (LIU et al., 2016). Estas doenças fúngicas são dispersas pela água e pelo vento, com maior incidência nos períodos chuvosos, que favorecem o crescimento e a reprodução desses fungos (HORMHUAN et al., 2020).

A antracnose afeta o desenvolvimento da cultura em qualquer fase do desenvolvimento, apresentando cancrs profundos nas hastes, ramos e frutos, manchas e murchas foliares, quebra da haste e morte da planta em casos mais severos (KUNKEAW et al., 2010; AISYAH et al., 2021). Os danos registrados à produtividade de raízes podem chegar a 90% (SANGPUEAK et al. 2018). Por outro lado, a mancha parda apresenta lesões arredondadas e formato meia lua de coloração amarelada e castanha, enquanto a queima das folhas apresenta manchas grandes, irregulares e sem bordas definidas, possuindo lesões grandes e necróticas de coloração marrom (PEI et al., 2014; MASSOLA et al., 2016; LEITE et al., 2019). A mancha branca apresenta sintomas de lesões circulares e

angulares com coloração branca bem visível (SILVA e ANDRADE, 2011). Estudos relatam que as manchas foliares levam a uma intensa redução da área foliar e na produtividade de raízes, ocasionando perdas que podem chegar a 40% (COSTA et al., 2020). Geralmente, essas perdas podem estar associadas à realocação do amido das raízes para recomposição da área foliar e parte aérea das plantas.

As principais formas de controle dessas doenças na cultura da mandioca são o uso de cultivares resistentes, a rotação de cultura e controle químicos com uso de defensivos agrícolas (MCCALLUM et al., 2017). Entretanto, o controle químico das manchas foliares tem algumas limitações a exemplo da reduzida disponibilidade de ingredientes ativos registrados no Brasil para seu controle (JULIÃO et al., 2020).

Como o Brasil é o principal centro de origem da mandioca, a ampla variabilidade genética para atributos como produtividade e qualidade de raízes e amido, adaptação a diferentes condições edafoclimáticas, e a tolerância a pragas e doenças podem ser facilmente encontradas no seu germoplasma (VENTURINI et al., 2016; VILAS-BOAS et al., 2016; FREITAS et al., 2017). De fato, alguns autores já reportaram a existência de grande diversidade genotípica no germoplasma de mandioca do Brasil com base em marcadores *single-nucleotide polymorphism* (SNP), além de estimativas de relações históricas que sugerem uma divisão inicial da população original da Amazônia para a Mata Atlântica e ecorregiões da Caatinga, com constantes fluxos gênicos ativos (ALBUQUERQUE et al., 2018; OGBONNA et al., 2021). Portanto, é possível que essa ampla variação molecular possa também refletir em variabilidade fenotípica suficiente para identificação de fontes de resistência às manchas foliares da mandioca.

A avaliação dos acessos dos bancos de germoplasma é fundamental para a seleção de potenciais parentais para início das ações de melhoramento (FERGUSON et al., 2012; RODRIGUES et al., 2019). Até o momento, a Embrapa Mandioca e Fruticultura tem realizado diversas ações de caracterização e avaliação do germoplasma para atributos associados ao padrão de florescimento (SOUZA et al., 2020), variabilidade fenotípica para qualidade e produtividade de raiz (CARVALHO et al., 2021), qualidade do amido (VASCONCELOS et al., 2017; SANTOS et al., 2021) e resistência à podridão

radicular (OLIVEIRA et al., 2013, 2017). Entretanto, ações consolidadas para avaliação de um conjunto significativo de clones de mandioca para resistência às manchas foliares e antracnose ainda são bastante escassos. Portanto, o objetivo do presente trabalho é estimar a diversidade fenotípica da resistência do germoplasma de mandioca do Brasil para antracnose, queima das folhas, mancha parda e mancha branca; além, de correlacionar os padrões de resistência com atributos produtivos e selecionar genótipos com alta resistência às doenças foliares e com atributos agrônômicos (alta produtividade e qualidade de raízes e amido) adequados a padrões produtivos de elevada produtividade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material genético e condução do experimento

O trabalho foi conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura (Latitude: 12°40'12"S, Longitude: 39°06'07"O e Altitude média: 220m), e na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (Latitude 12°40'39" S, e Longitude 39°06'26" O, e Altitude média: 226m) ambas situadas na cidade de Cruz das Almas (Bahia, Brasil). O clima da região é tropical quente e úmido, sem estação seca, com temperatura média anual de 24,5° C, umidade relativa do ar média anual de 80%, e pluviosidade média anual de 1.170 mm concentrada nos meses de março a agosto, seguida de meses mais quentes (setembro a fevereiro) (Figura 1A,B).

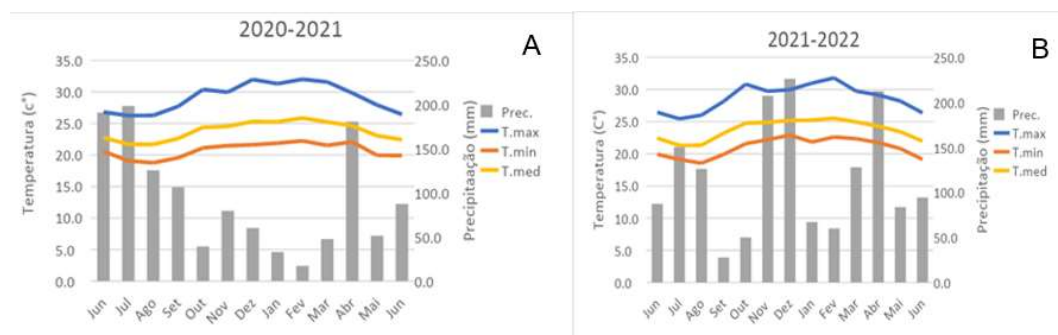


Figura 1. Dados meteorológicos da área experimental nos dois ciclos de produção: **A:** 2020-2021 e **B:** 2021-2022. T. Méd. = Temperatura média; T. Máx. = Temperatura máxima; T. Mín. = Temperatura mínima; Prec. = Precipitação pluviométrica acumulada. (EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA 2020, 2021,2022).

Foram avaliados 837 genótipos pertencentes ao banco de germoplasma de mandioca (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A coleção possui

predominantemente variedades locais e melhoradas de mandioca oriundas de várias regiões do Brasil, mas também existem acessos oriundos da Colômbia, Venezuela, Nigéria e Panamá. Dentre esses acessos, 163 são classificados como mandioca mansa (<100ppm de compostos cianogênicos) e 626 como bravas (>100ppm de compostos cianogênicos), enquanto os demais ainda não foram caracterizados para essa característica.

A avaliação de campo do germoplasma de mandioca foi realizada em dois ciclos de produção realizados durante os anos de 2021 e 2022, na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos aumentados (DBA), com 819 acessos não comuns e 28 testemunhas (variedades locais e comerciais) distribuídas em 15 blocos. Cada bloco foi composto por aproximadamente 144 genótipos não comuns. A parcela experimental foi composta por duas linhas com 10 plantas cada, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e 0,80 entre plantas, em condição de sequeiro. O preparo do solo consistiu de uma aração e duas gradagens, seguido da abertura de sulcos de plantio com aproximadamente 15 cm de profundidade. O plantio foi realizado manualmente no período das chuvas na região de Cruz das Almas – BA, durante o mês de maio de 2020 e 2021, utilizando manivas de 16-18 cm de comprimento, seguindo as recomendações e práticas agrícolas para a cultura em termos de adubação e controle de pragas (SILVA et al., 2018).

2.2. Coleta de folhas doentes e isolamento dos patógenos

Para a preparação do inóculo foram coletadas folhas de mandioca apresentando sintomas característicos de antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas, presentes no Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para isolamento dos fungos, as folhas foram identificadas e encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia, onde foram lavadas em água corrente, e em seguida cortados fragmentos com sintomas das doenças de forma individualizada. Fragmentos com cerca de 0,3 cm entre o tecido lesionado e a parte sadia foram imersos por 30 segundos em etanol (70%), seguido de 1 minuto em solução de hipoclorito de sódio (5%), e posteriormente lavados com água destilada estéril por três vezes. Os fragmentos foram colocados para secar em papel filtro esterilizado e logo após colocados

em meio batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados a 24°C por 7 dias com fotoperíodo de 12 horas.

Os isolados fúngicos foram submetidos ao teste de patogenicidade pela metodologia de folha destacada, para isso as folhas de variedades de mandioca foram distribuídas em caixas plásticas transparentes (gerbox), em seguida a região central de cada lóbulo da folha foi perfurada e inoculada em discos de meio de cultura contendo estruturas dos isolados. Discos contendo meio BDA (sem crescimento fúngico) foram utilizados como controle com o mesmo número de tratamentos. Todos os isolados causaram lesões típicas nas variedades padrão de mandioca (*in vitro*), possibilitando assim seu completo isolamento para posteriores inoculações em campo.

2.3. Preparo do inoculo e inoculações artificiais

Para evitar o efeito de escape e homogeneizar a incidência das doenças no experimento, foram realizadas inoculações artificiais via pulverização mecânica em todo o experimento para posterior avaliações por meio de escalas de notas. Para o preparo do inóculo de cada isolado, discos de micélio (2 mm de diâmetro) de colônias com 20 dias de crescimento foram colocados em frascos erlenmeyer contendo 1,5 L de meio ágar sabouraud dextrose líquido (40g/L dextrose, 10g/L peptona e 20g/L ágar com pH de 5,6). Os frascos foram mantidos sob agitação contínua (110 rpm), a 25 °C e fotoperíodo de 12 h, por 15 dias para crescimento e multiplicação dos patógenos. Em seguida, os isolados colonizados foram triturados com o auxílio de um mix Walita 400W.

Para avaliação da presença de esporos no meio ágar sabourud, foram retirados 1 ml do meio e misturados à 9 mL de água destilada. Em seguida retirou-se uma alíquota de aproximadamente 1 mL para visualização no microscópio. Após a certificação de que houve produção de esporos (conídios), uma suspensão aquosa foi avaliada por meio de contagem de conídios com auxílio da câmara de Neubauer. A solução em suspensão foi ajustada para 2.5×10^5 de esporos por mL. Para aplicação do inóculo em campo foi realizada utilizando pulverizador mecânico tipo Vulcan com capacidade de 600 litros.

As avaliações foram realizadas durante o período mais intenso das chuvas na região (junho de 2021 e junho de 2022) (Figura 1A,B), aos doze

meses após o plantio (MAP), época de maior incidência das doenças, sobretudo pela ocorrência dos fatores climáticos favoráveis à disseminação.

2.4. Características avaliadas

As avaliações da severidade causada pelas doenças da parte aérea da cultura da mandioca foram realizadas de acordo com a seguintes escalas de notas (OLIVEIRA et al. 2020).

1. **Antracnose:** (0) = Sem infecção (1) = Pequenas lesões nas folhas e hastes (2) = poucos cancrios rasos no caule ou foliares na metade inferior da planta, (3) = Muitos cancrios no caule seguidos de distorção e/ou lesões foliares na metade superior da planta (4) = Muitas lesões duras e lenhosas no caule e/ou em folhas (5)= Ataque altamente severo com muitas lesões em hastes duras e lenhosas e necrose severa nas axilas foliares seguida de murchamento e desfolhas severa da planta (6) = Seca de todos os ramos e/ou morte da planta.
2. **Mancha branca:** (0) = Sem sintomas (1) = Presença de algumas folhas afetadas no terço inferior da planta (2) = > 50% das folhas afetadas no terço inferior da planta, (3) = Folhas afetadas no terço médio e inferior, (4) = Incidência leve distribuída ao longo de toda a planta, (5) = Incidência moderada distribuída por toda a planta, além de amarelecimento e/ou desfolha do terço inferior (6) = Desfolha completa da planta.
3. **Mancha parda e Queima das folhas:** (0) Sem sintomas, (1) = Presença de algumas folhas afetadas no terço inferior da planta, (2) = Incidência leve no terço da parte inferior da planta, (3) = Incidência moderada nos terços médios e inferior, além de amarelecimento das folhas afetadas, (4) = Incidência severa distribuída por toda a planta, além de amarelecimento e/ou desfolha, (5) desfolha parcial da planta, (6) desfolha completa da planta.

Além da resistência às doenças da parte aérea, os dados produtivos foram coletados para correlacionar os efeitos das manchas foliares sobre as seguintes características: i) produtividade de raízes frescas ($t.ha^{-1}$); ii) produtividade da parte aérea ($t.ha^{-1}$); iii) número de raízes por planta; iv) retenção foliar com uso de escala de notas, em que 1 = menos 5% de retenção foliar, 2 = entre 6 e 15% de retenção foliar, 3 = entre 16 e 30% de retenção foliar, 4 = entre 31 e 50% de

retenção foliar, 5 = mais de 50% de retenção; v) vigor das plantas: avaliado com base em escala de notas, em que 1 = baixo vigor, 3 = vigor intermediário, 5 = alto vigor; e vi) teor de matéria seca (%), obtido pela pesagem de 3 a 5 kg de raízes por parcela, utilizando-se o método proposto por Kawano et al. (1987).

2.5. Análise dos dados

Os parâmetros genéticos da resistência às doenças da parte aérea e os BLUPs (*best linear unbiased predictions*) dos acessos de mandioca para resistência foram estimados via análise de modelos mistos. O modelo estatístico utilizado para estimação dos efeitos foi: $y_{ijklm} = b_i + c_j + a_k + i_{jk} + e_{ijklm}$, em que y_{ijklm} é a observação da planta avaliada na parcela $ijklm$; b_i é o efeito do bloco i , assumido como de efeito fixo $b_i \sim N(\mu_{bi}; 0)$; c_j efeito aleatório do clone j , assumido como aleatório $c_j \sim N(0; \sigma_c^2)$; a_k efeito do ano k , assumido como aleatório $a_k \sim N(0; \sigma_a^2)$, i_{jk} efeito aleatório de interação genótipo x ano, assumido como $i_{jk} \sim N(0; \sigma_i^2)$; e por último e_{ijklm} que é o efeito aleatório do erro experimental, assumido como $e_{ijklm} \sim N(0, \sigma^2)$. As análises foram realizadas com uso do pacote *lme4* (BATES et al., 2015). Foram estimados os BLUPs, os componentes de variância, e a herdabilidade no sentido amplo de acordo com a seguinte formula: $h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_{ga}^2 + \sigma_e^2}$, em que σ_g^2 é a variância genética, σ_{ga}^2 é variância da interação genótipo x ano e σ_e^2 é a variância residual. Também foram estimadas as correlações fenotípicas e genotípicas para as características avaliadas.

Os BLUPs estimados foram somados à média geral corrigida para o efeito fixo de blocos, e padronizados para a realização da análise de componentes principais. A análise de componentes principais foi realizada para selecionar o número de componentes principais com variância maior que um, para uso na análise discriminante de componentes principais (*Discriminant Analysis of Principal Components* - DAPC).

A análise DAPC estima a estrutura populacional utilizando as análises de componentes principais para redução de covariáveis, o método *K-means* para o agrupamento dos indivíduos, e a análise discriminante para a visualização da estruturação populacional (JOMBART et al., 2010). O método *K-means* agrupa

clones minimizando a variância entre clones dentro de grupo, similar à análise discriminante convencional. O número de grupos foi estimado com base na função “*find.clusters*” do pacote *ade4* (JOMBART e AHMED, 2011), que utiliza o critério *Bayesian information criterion* (BIC) para representar o número mais provável de agrupamentos do conjunto de dados.

As distribuições dos dados fenotípicos de cada característica foram analisadas pelo índice de diversidade de Shannon-Weaver (H') de acordo com Grenier et al. (2000), em que primeiro será estimado o número de observações obtidas entre seis classes criadas a partir da densidade das características (amplitude – amp, mínimo – min, máximo – max). ($\leq \min - \frac{amp}{6}$; $\leq \min - \frac{2 \times amp}{6}$; $\leq \min - \frac{3 \times amp}{6}$; $\leq \min - \frac{4 \times amp}{6}$; $\leq \min - \frac{5 \times amp}{6}$; $\leq \max$). Em seguida foi estimado a frequência observada de cada classe para estimar o índice de diversidade de Shannon-Weaver, pela fórmula: $H' = - \sum_{i=1}^n p_i \log_e p_i$, em que p_i é a frequência observada da classe i , n é o número das classes fenotípicas de um traço, p_i é a frequência relativa e $\log_e$ é o logaritmo natural. Todos os índices H' foram normalizados e divididos por $\log_e n$, para manter os valores entre 0 e 1 (monomorfismo até máxima diversidade fenotípica). H' foi estimado com toda a população H'_t e calculado a proporção de cada grupo da análise discriminante dos componentes principais (DAPC). $H'_s = H'_r/H'_t$, onde, $H'_r = 1/n \sum H'_t$ é a média da diversidade fenotípica dentro dos grupos DAPC, já $G_{st} = (H'_t - H'_r)/H'_t$ é a média de diversidade fenotípica entre os grupos DAPC.

As informações de agrupamento foram utilizadas para verificar a variância e a diferença nos agrupamentos de médias Scott-Knott ($p < 0,05$) utilizando um modelo fixo para todos os fatores com uso do software R versão 4.1.0 (R CORE TEAM, 2021).

Os BLUPs para teor de amido, vigor de parte aérea, número de raízes, retenção foliar, produtividade de raízes frescas e amido foram estimados para cada acesso considerando o seguinte modelo misto: $y_{ijl} = c_i + \beta_j + r_{l(j)} + e_{ijl}$, em que y_{ijl} é a observação da parcela ijl ; c_i é o efeito do clone i , assumido como de efeito aleatório com $c_i \sim N(0; \sigma_c^2)$; β_j é a combinação de local e ano, assumido como de efeito fixo com $\beta_j \sim N(\bar{\beta}, 0)$; $r_{l(j)}$ é o efeito da repetição alinhado a combinação de local e ano, assumido como de efeito aleatório com

$r_{l(j)} \sim N(0, \sigma_r^2)$; e por último e_{ijl} que é o efeito aleatório do erro experimental, assumido como de efeito aleatório $e_{ijl} \sim N(0; \sigma^2)$. Todas essas análises foram realizadas no pacote *lme4* (BATES et al., 2015).

Para a seleção dos 30 genótipos de mandioca para resistência a doenças produtividade e qualidade de raiz de mandioca foi utilizado o seguinte índice de seleção baseado na soma de ranks (MULAMBA e MOCK, 1978) e pesos predefinidos: $IC = (Anth \times 10) + (BILS \times 10) + BrLS - 10 + (WhLS - 5) + (Vigor \times 5) + (NR \times 8) + (RF \times 10) + (DRY \times 20) + (DMC \times 10) + (PTR \times 10) + PPA \times 5$, que se refere ao somatório dos BLUPs de cada característica multiplicados pelos seus respectivos pesos.

3. RESULTADOS

3.1. Diversidade, variâncias e parâmetros genéticos relacionados às manchas foliares e características produtivas

O efeito fixo de ano de avaliação do germoplasma de mandioca foi significativo ($p < 0,05$) para todas as quatro doenças da parte aérea (Tabela 1). O mesmo ocorreu na análise de deviance dos efeitos aleatórios de clone e interação genótipo $\times$ ano ($G \times A$) (Tabela 2). Isso demonstra a presença de diversidade fenotípica no germoplasma de mandioca para todas essas doenças da parte aérea.

Tabela 1. Análise de variância dos efeitos fixos referente às avaliações das doenças da parte aérea em acessos de mandioca durante os anos de 2021 e 2022 aos 12 meses após o plantio (12 MAP).

Doença	Fator	GL	SQ	QM	F
Antracnose	Ano	1	14,23	14,23	48,88*
	Bloco	28	308,68	11,02	33,22 ^{ns}
Mancha Branca	Ano	1	111,25	111,25	276,94*
	Bloco	28	264,52	9,45	23,52 ^{ns}
Mancha Parda	Ano	1	76,57	76,57	179,61*
	Bloco	28	336,92	12,00	28,23 ^{ns}
Queima das Folhas	Ano	1	310,44	310,44	590,33*
	Bloco	28	269,55	9,56	18,17 ^{ns}

GL: grau de liberdade; SQ: soma de quadrado; QM: quadrado médio; ^{ns} não significativo * significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Antracnose (Anth); Mancha Branca (WhLs); Mancha Parda (BrLs) e Queima das folhas (BILs).

Tabela 2. Análise de deviance de efeitos aleatórios de clone e interação genótipo × ano (G×A) para as doenças da parte aérea durante dois ciclos de produção aos 12 meses após o plantio (12 MAP).

Doença	Fator	Deviance	GL	P-Valor
Antracnose	Genótipo	1165,85	1	< 0,01**
	G×A	2185,42	1	
Mancha Branca	Genótipo	865,05	1	< 0,01**
	G×A	1298,36	1	
Mancha Parda	Genótipo	807,06	1	< 0,01**
	G×A	1521,75	1	
Queima das Folhas	Genótipo	835,09	1	< 0,01**
	G×A	1550,09	1	

X²: qui-quadrado; GL: grau de liberdade; **: significativo a 5% de probabilidade: Antracnose (Anth); Mancha Branca (WhLs); Mancha Parda (BrLs) e Queima das folhas (BILs)

Os valores de coeficiente de variação genética (CV_g) foram cerca de 2 a 3 vezes inferiores aos coeficientes de variação ambiental (CV_e), ou seja 7,00; 5,59; 5,56 e 18,19% da variação fenotípica (Tabela 3), para antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas, respectivamente. Como resultado desse elevado efeito ambiental na expressão fenotípica das doenças da parte aérea em mandioca, as herdabilidade no sentido amplo (h^2), variaram de baixa (0,42, 0,34, 0,29, para antracnose, mancha branca, e mancha parda, respectivamente) a moderada magnitude (0,51 para queima das folhas) (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros genéticos da resistência a doenças da parte aérea de mandioca aos 12 meses após o plantio (12 MAP) durante dois ciclos produtivos (2021-2022).

Doenças	σ_g^2	σ_{ga}^2	σ_e^2	h^2	CV_g	CV_e
Antracnose	0,49	0,80	0,33	0,41	6,95	18,17
Mancha Branca	0,39	0,68	0,40	0,34	5,92	19,06
Mancha Parda	0,34	0,71	0,43	0,29	5,59	19,57
Queima das folhas	0,70	0,77	0,53	0,51	18,16	49,84

σ_g^2 : variância genética, σ_{ga}^2 : variância da interação genótipo × ano; σ_e^2 : variância residual; h^2 : herdabilidade no sentido amplo; CV_g : coeficiente de variância genética, CV_e : coeficiente de variância ambiental.

A amplitude de variação dos BLUPs foi bastante ampla para resistência às doenças da parte aérea, bem como para os dados agronômicos no germoplasma de mandioca (Figura 1). A distribuição dos BLUPs para antracnose variou de 1,5 a 3,5 com média de 3,17, embora a maior parte do germoplasma apresentou escore entre 3,0 e 3,5. O mesmo foi observado em outras características associadas às manchas foliares como queima das folhas (densidade de 1,5 a 3,5 e média de 3,33) e mancha parda (densidade de 1,5 a 3,5 e média 3,34) cuja maior densidade dos dados estão entre os escores 3,0 e 3,5. Por outro lado, a mancha branca apresentou média de 1,45, e densidade dos dados variando entre 1,0 e 1,8. Portanto, a maioria dos genótipos avaliados apresentou resistência moderada à antracnose, mancha parda e queima das folhas, e maior resistência à mancha branca.

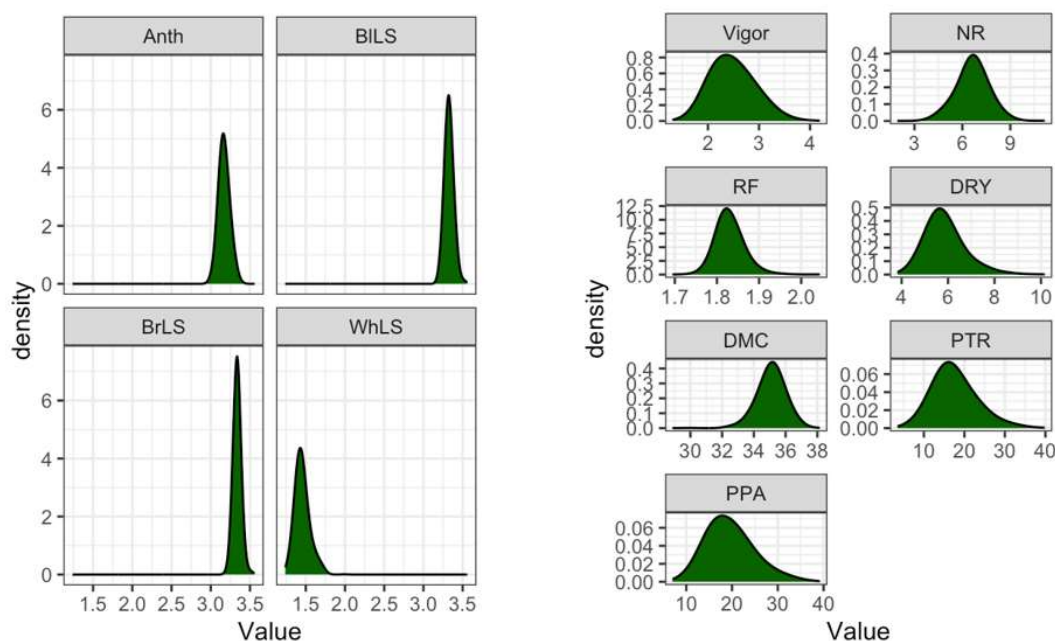


Figura 2 Distribuição dos melhores preditores lineares não-viesados (BLUPs) para as doenças da parte aérea como antracnose (Anth); mancha branca (WhLS); mancha parda (BrLS) e queima das folhas (BILs) e as características agronômicas como número de raiz (NR), produtividade de matéria seca (DRY), teor de matéria seca (DMC), produtividade total de raiz (PTR), produtividade da parte aérea (PPA), retenção foliar (RF) e vigor.

A variação fenotípica no germoplasma de mandioca para as características agronômicas foi muito mais ampla do que os dados de resistência a doenças da parte aérea. Por exemplo, para vigor das plantas, os escores

variaram de 2 a 4 com média de 2,5, porém com distribuição da maior parte dos dados entre os escores 2 e 3. O número de raízes por planta variou entre 3 a 9, com média de 6,7 raízes por planta e distribuição da maior parte dos dados entre 5 a 8 raízes por planta. A amplitude de variação das características produtividade da parte aérea, raízes frescas e secas também foi bastante ampla. A produtividade da parte aérea variou entre 10 a 40, com média de 20,26 t.ha⁻¹, porém com distribuição da maior parte dos dados entre 12 e 28 t.ha⁻¹, enquanto que para produtividade de raízes frescas a variação foi de 10 a 40 com média de 18,17 t.ha⁻¹, porém com distribuição da maior parte dos dados entre 10 e 25 t.ha⁻¹. No caso da produtividade de raízes secas, os dados variaram entre 4 e 10 t.ha⁻¹, média de 5,89 t.ha⁻¹ e distribuição concentrada entre 4,5 e 7,0 t.ha⁻¹. As características retenção foliar e teor de matéria seca nas raízes tiveram menor amplitude de variação, sendo de 1,7 e 2,0 e média de 1,83 e variação de 30 e 38 e média de 35,14%, respectivamente. A maior parte dos acessos apresentaram escore de retenção foliar entre 1,8 e 1,9, e entre 34 e 37% de matéria seca.

3.2. Correlações fenotípicas

A análise discriminante de componentes principais (DAPC) foi realizada com base no método *K-means*. As duas primeiras funções discriminantes representam 46,16% da variação fenotípica em estudo (Figura 2). De acordo com o agrupamento da DAPC não houve uma clara separação dos genótipos de mandioca com base nas duas primeiras funções discriminantes, havendo uma certa sobreposição dos agrupamentos no plano bidimensional. Apesar disso, com base nas três primeiras funções discriminantes foram identificados três grupos de genótipos de mandioca, havendo uma distribuição bastante equilibrada dos genótipos, ou seja, 345, 208 e 256 nos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente. De modo geral, o aumento na severidade das doenças da parte aérea está associado ao maior escore da segunda função discriminante, enquanto que o aumento nos valores das características produtivas com o aumento na primeira função discriminante e; portanto os agrupamentos da DPAC tendem a abranger genótipos com características híbridas a ambos os tipos de variáveis (resistência a doenças e potencial produtivo).

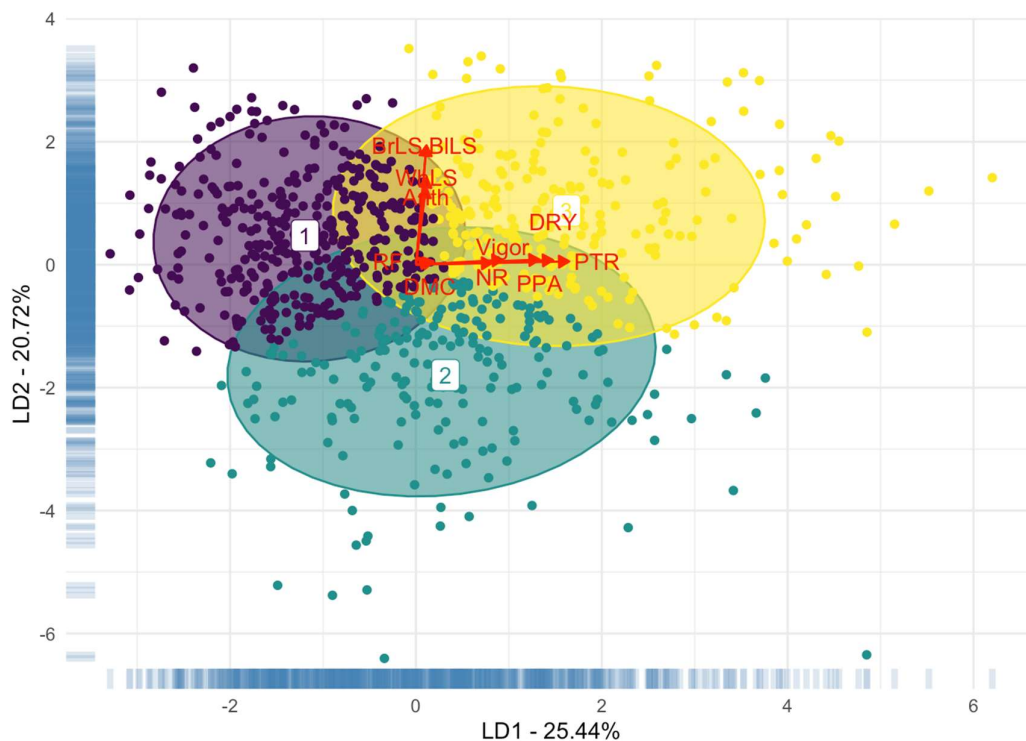


Figura 2. Gráfico de dispersão da primeira e segunda função discriminante da análise discriminante de componentes principais com base nas avaliações de resistência a antracnose (Anth); mancha branca (WhLs); mancha parda (BrLs) e queima das folhas (BILs) e as variáveis agronômicas como número de raiz (NR), produtividade de matéria seca (DRY), teor de matéria seca (DMC), produtividade total de raiz (PTR), produtividade da parte aérea (PPA), retenção foliar (RF) e vigor.

De modo geral, as doenças da parte aérea apresentaram alta correlação entre si, sobretudo entre mancha parda e queima das folhas ($r = 0,96$) (Figura 3). Por outro lado, a severidade da mancha branca apresentou correlação mediana com queima das folhas (0,65) e mancha parda (0,64). Em relação à antracnose, a correlação também foi de magnitude mediana (0,58 para queima das folhas e mancha parda e 0,53 para mancha branca, respectivamente).

Os dados produtivos não apresentaram elevadas correlações com a resistência às doenças da parte aérea da mandioca (Figura 3). Portanto, considerado apenas as informações da correlação entre esses dois conjuntos de características, é possível identificar e selecionar genótipos de mandioca com maior suscetibilidade às doenças foliares, mas como alto potencial produtivo e vice-versa. Por outro lado, houveram correlações de elevada magnitude entre as características produtivas a exemplo de produtividade de raízes frescas com

produtividade de raízes secas ($r = 0,79$) e número de raízes por planta ($r = 0,50$) além de produtividade da parte aérea com produtividade de raízes frescas ($r = 0,58$) produtividade de raízes secas ($r = 0,51$) e vigor das plantas ($r = 0,57$). Para os demais pares de características agronômicas as correlações foram apenas de baixa magnitude (variação entre 0,02 e 0,38).

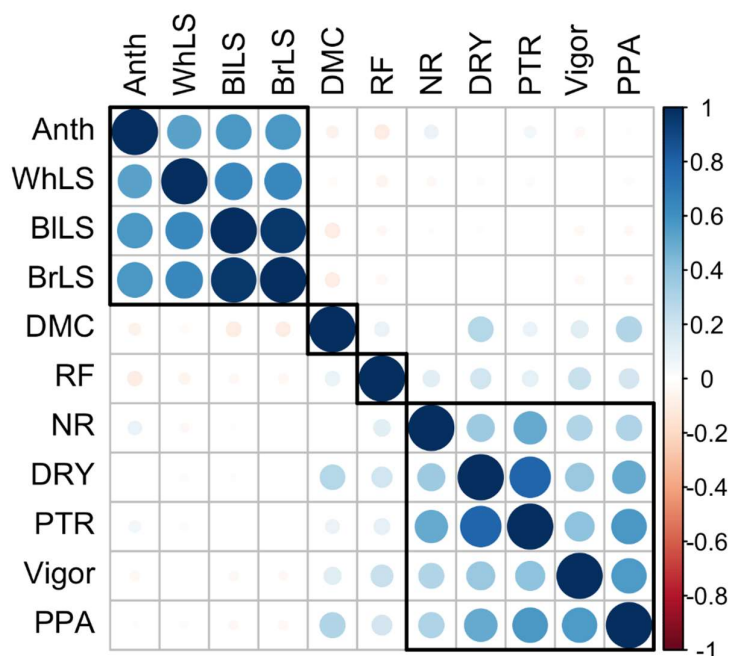


Figura 3. Correlograma entre doenças da parte aérea e características agronômicas de genótipos de mandioca avaliados durante os anos agrícolas de 2021 e 2022. Antracnose (Anth); mancha branca (WhLS); mancha parda (BrLS) e queima das folhas (BILs) e as variáveis agronômicas: número de raiz (NR), produtividade de matéria seca (DRY), teor de matéria seca (DMC), produtividade total de raiz (PTR), produtividade da parte aérea (PPA), retenção foliar (RF) e vigor.

3.3. Análise da diversidade fenotípica

A distribuição e média das características de resistência a doenças da parte aérea e atributos produtivos são apresentadas na Figura 4, considerando o agrupamento da DAPC em três grupos distintos. Os genótipos do Grupo 2 apresentaram maior severidade média das doenças da parte aérea em comparação com os demais grupos. De modo geral, a resistência média dos genótipos dos Grupos 1 e 3 foi muito similar para todas as doenças, e os genótipos mais resistentes estão presentes nestes dois grupos.

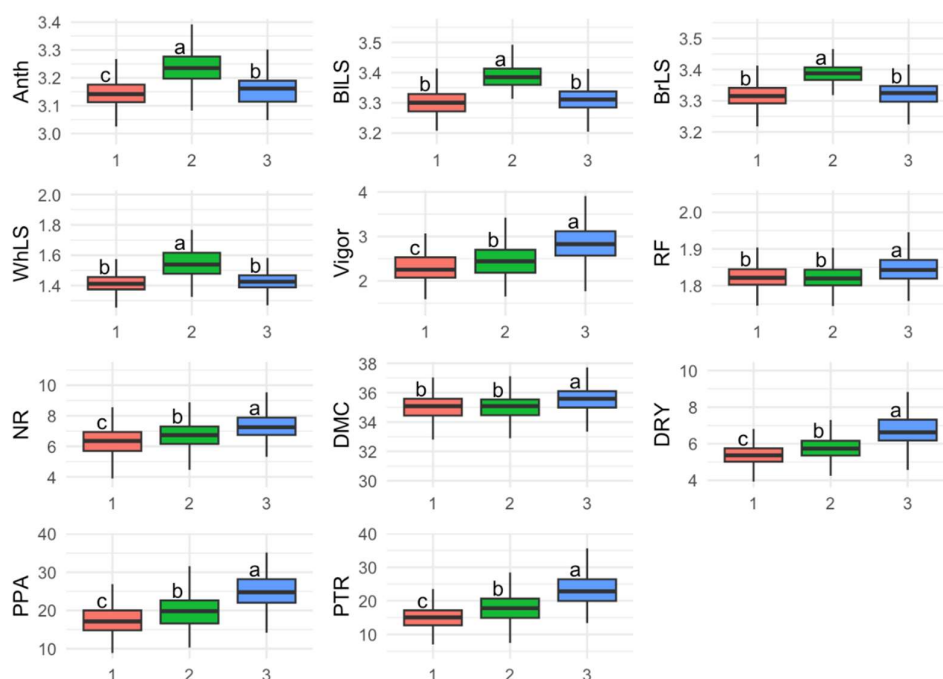


Figura 4. Boxplots dos melhores preditores lineares não-viesados (BLUPS) dos genótipos de mandioca agrupados pela análise discriminante de componentes principais quanto à resistência a antracnose (Anth), queima das folhas (BILs), mancha parda (BrLs) e mancha branca (WhLs), além de características agrônômicas e de qualidade de raízes como vigor das plantas, retenção foliar (RF), número de raiz por planta (NR), teor de matéria seca (DMC), produtividade de matéria seca (DRY), produtividade da parte aérea (PPA) e de raízes frescas (PTR).

Em contraste à maior suscetibilidade às doenças da parte aérea ocorreram nos genótipos pertencentes ao Grupo 3, que em contraste apresentaram maior média para características agrônômicas como vigor das plantas, retenção foliar, número de raízes por planta, teor de matéria seca, produtividade da parte aérea, raízes frescas e secas (Figura 4). Por outro lado, os genótipos do Grupo 2 apresentaram maior média quando comparados com o Grupo 1 para as características vigor das plantas, número de raízes por planta, produtividade da parte aérea, raízes frescas e secas. Os genótipos pertencentes ao Grupo 3 possuem maior resistência às doenças da parte aérea e ainda foram os mais produtivos. Por outro lado, embora os genótipos do Grupo 1 também tenham apresentado elevada resistência às doenças da parte aérea, o potencial produtivo desses genótipos foi menor do que aqueles do Grupo 3 para a maioria das características. Já os genótipos do Grupo 2 apresentaram potencial

produtivo intermediário para características como vigor, número de raízes por planta, produtividade da parte aérea, raízes frescas e secas mesmo com maior suscetibilidade às doenças da parte aérea.

Em relação às doenças, o índice de Shannon-Weaver foi mais elevado entre os genótipos de mandioca do Grupo 1 para queima das folhas; Grupo 2 para antracnose e Grupo 3 para mancha parda e mancha branca (Tabela 4). Por outro lado, para as características agronômicas, o índice de Shannon-Weaver foi mais elevado para vigor, número de raiz, retenção foliar e produtividade de matéria seca nos genótipos pertencentes ao Grupo 2, e para as características produtividade de raízes frescas e parte aérea para genótipos do Grupo 3. Os genótipos dos Grupos 1 e 3 apresentaram os maiores valores de diversidade fenotípica, com base no índice de Shannon-Weaver para teor de matéria seca nas raízes.

Tabela 4. Índice de diversidade de Shannon-Weaver com base em características de resistência a doenças da parte aérea e atributos agronômicos por grupo formado pela análise discriminante de componentes principais.

Grupo	Anth	BILS	BrLS	WhLS	Vigor	NR	RF	DRY	DMC	PTR	PPA
1	0,79	0,82	0,76	0,80	0,74	0,86	0,71	0,79	0,79	0,78	0,78
2	0,84	0,77	0,75	0,70	0,89	0,88	0,83	0,85	0,67	0,75	0,85
3	0,79	0,79	0,79	0,82	0,88	0,73	0,69	0,76	0,77	0,87	0,86
Média	0,81	0,79	0,76	0,77	0,84	0,82	0,74	0,80	0,74	0,80	0,83

Antracnose (Anth); queima das folhas (BILs); mancha parda (BrLs); mancha branca (WhLs); vigor das plantas (Vigor); número de raízes por planta (NR); retenção foliar (RF); produtividade de matéria seca (DRY), teor de matéria seca (DMC), produtividade de raízes frescas (PTR); e produtividade parte aérea (PPA).

3.4. Seleção de genótipos para recombinação

Com intuito de selecionar os 25 melhores genótipos de mandioca para recombinação e geração de novas progênies de mandioca com maior resistência às doenças da parte aérea associadas com elevados atributos agronômicos e produtivos, utilizou-se um índice de seleção com pesos diferenciados para cada característica. Como resultado, foram selecionados 18 acessos de germoplasma (BGM-0049, BGM-0058, BGM-0093, BGM-0120, BGM-0279, BGM-0287, BGM-0323, BGM-0389, BGM-0394, BGM-0442, BGM-0693, BGM-0714, BGM-0847, BGM-0901, BGM-1282, BGM-1626, BGM-2042 e BGM-2082), juntamente com sete cultivares melhoradas (BR-11-34-41, BR-11-34-45, BRS-Amansa Burro,

BRS-Caipira, BRS-Novo Horizonte, BRS-Poti Branca, e BRS Tapioqueira) (Tabela 5).

Em comparação com a população avaliada, o diferencial médio de seleção em relação a resistência às doenças da parte aérea foi bastante modesto, considerando a redução na severidade das doenças variando de -2,31% para antracnose a -3,61% para mancha branca (Tabela 5). A redução na severidade da mancha parda e queima das folhas foi de -2,52% e -2,66%. Por outro lado, o diferencial de seleção para atributos relacionados ao vigor e crescimento foi bastante elevado, a exemplo do potencial de elevação do vigor das plantas em 26% e na produtividade da parte aérea em 49%. Para esse conjunto de características apenas a retenção foliar apresentou baixo diferencial de seleção (1,2%) em comparação com a média da população avaliada.

Para atributos produtivos, o diferencial de seleção foi bastante elevado para produtividade de raízes frescas (82%) e raízes secas (39%), além do aumento médio no número de raízes por planta (22%). Por outro lado, para atributos relacionados à qualidade das raízes, a exemplo do teor de matéria seca, o diferencial médio de seleção foi bastante reduzido (0,7%). Apesar disso, verificou-se que de modo geral a seleção destes 25 genótipos de mandioca para ações de recombinação e geração de novas progênes tem potencial de trazer melhoria para a maioria das características avaliadas, conforme apontado pelo aumento médio no IS de 42% em comparação com todos os genótipos avaliados.

Tabela 5. Seleção dos 25 melhores genótipos de mandioca para cruzamento visando aumento da resistência a doenças associado com atributos produtivos e de qualidade de raízes com base no índice de seleção.

Genótipo	Anth	BILS	BrLS	WhLS	Vigor	NR	RF	DRY	DMC	PTR	PPA	SelInd
BR-11-34-41	3,18	3,32	3,31	1,33	3,85	11,16	1,94	8,83	32,15	38,41	32,35	719,03
BRS-Caipira	3,07	3,17	3,34	1,39	3,58	10,82	1,82	8,44	35,66	35,32	32,30	718,32
BGM-0442	3,10	3,20	3,21	1,60	3,01	8,44	1,84	7,78	34,87	37,69	33,24	706,39
BGM-0847	3,03	3,24	3,23	1,32	3,25	7,72	1,82	9,19	35,95	34,02	27,83	691,10
BGM-2082	3,11	3,21	3,17	1,38	3,61	8,30	1,88	7,41	35,67	35,30	25,48	690,48
BRS-Novo Horizonte	3,04	3,23	3,27	1,42	3,50	9,23	1,89	8,50	36,56	32,68	34,04	689,79
BGM-0049	2,99	3,26	3,24	1,36	3,22	6,94	1,85	8,58	36,83	33,56	38,69	683,06
BGM-0093	3,21	3,34	3,35	1,51	2,79	7,49	1,85	8,78	35,27	35,33	32,56	680,62
BGM-2042	3,03	3,27	3,28	1,35	3,66	8,46	1,86	7,70	36,55	33,18	31,26	680,42
BRS-Tapioqueira	3,10	3,24	3,36	1,47	3,32	9,85	1,90	7,78	35,40	33,08	27,65	675,46
BGM-0287	3,14	3,26	3,23	1,28	2,79	7,52	1,83	7,34	35,05	35,63	28,77	673,81
BRS-Poti Branca	3,01	3,22	3,30	1,37	3,58	9,41	1,84	7,85	35,28	32,48	33,97	670,47
BGM-1626	3,06	3,19	3,21	1,31	2,73	7,97	1,82	7,95	35,25	33,80	28,19	670,04
BRS-Poti-Branca	3,00	3,14	3,32	1,46	3,05	9,54	1,94	8,69	35,84	30,92	31,63	668,79
BGM-0901	3,08	3,08	3,18	1,33	3,33	8,52	1,80	8,37	35,64	31,76	30,78	667,14
BR-11-34-45	3,12	3,32	3,20	1,40	3,91	8,24	1,92	9,23	35,55	31,32	26,71	665,77
BGM-0279	3,15	3,17	3,22	1,50	3,26	8,18	1,81	8,57	34,86	32,51	29,98	660,80
BGM-0058	3,07	3,19	3,17	1,36	3,37	8,32	1,83	7,31	34,12	33,26	30,68	653,24
BGM-1282	3,02	3,19	3,13	1,32	3,02	6,35	1,81	9,15	36,85	30,16	34,83	652,11
BGM-0394	3,05	3,37	3,21	1,49	2,83	7,75	1,83	7,82	35,15	32,76	27,89	651,76
BGM-0693	3,09	3,22	3,22	1,35	2,78	7,79	1,83	7,86	35,30	32,25	26,48	651,19
BGM-0120	3,16	3,25	3,24	1,37	2,79	7,52	1,90	8,52	33,66	33,14	33,58	646,37
BGM-0714	3,05	3,22	3,25	1,26	3,03	8,06	1,87	7,21	35,51	31,76	29,38	646,22
BRS-Amansa Burro	3,16	3,18	3,19	1,40	3,30	8,64	1,88	8,42	36,94	28,53	28,66	645,61
BGM-0323	3,15	3,17	3,28	1,37	2,90	7,76	1,83	8,28	35,98	30,43	23,71	642,82
Média selecionados	3,09	3,23	3,24	1,39	3,22	8,40	1,86	8,22	35,43	33,17	30,43	672,03
Média população	3,17	3,32	3,33	1,45	2,50	6,71	1,83	5,90	35,15	18,22	20,31	471,90
Diferencial de seleção (%)	-2,59	-2,90	-2,68	-4,55	28,49	25,20	1,29	39,47	0,81	82,06	49,82	42,41

Antracnose (Anth); Queima das folhas (BILs); Mancha Parda (BrLS); Mancha Branca (WhLS) e as variáveis agrônômicas: vigor das plantas (Vigor); Número de raízes por planta (NR); Retenção foliar (RF); Produtividade de raízes secas (DRY); Teor de matéria seca (DMC); Produtividade total de raiz (PTR), Produtividade parte aérea (PPA) e Índice de seleção (SelInd).

4. DISCUSSÃO

4.1. Componentes de variação para resistência às doenças da parte aérea no germoplasma de mandioca

A variância da interação genótipo $\times$ ano (σ_{ga}^2) foi responsável por explicar boa parte da variância fenotípica da resistência às doenças da parte aérea em mandioca, seguido pela variância genética (σ_g^2) e residual (σ_e^2). As expressões fenotípicas dos genótipos influenciadas pelas condições ambientais (MEYER, 2009), podem resultar em heterogeneidade dos dados e diferente desempenho dos genótipos nos diferentes ambientes (BAKARE et al., 2022). De fato, outros autores também reportaram o alto efeito ambiental para resistência à antracnose em genótipos de mandioca avaliados em outras regiões (DALAROSA et al., 2022). Em outro estudo, Freitas et al. (2017), avaliaram os efeitos da depressão endogâmica em famílias S₁ para resistência a doenças foliares na cultura da mandioca. Estes autores mencionaram que a seleção de clones resistentes às manchas foliares deve ser feita levando-se em consideração a avaliação em diversos locais/ambientes, tendo-se em vista o forte efeito ambiental na sua expressão, sobretudo quando as avaliações são realizadas sob condições de infecção natural dos patógenos.

O maior coeficiente de variação residual (CV_e) em comparação com o coeficiente de variação genética (CV_g) para todas as doenças da parte aérea reforça a forte influência das condições ambientais, tornado o processo de seleção mais complexo para estas características nos programas de melhoramento genético. Resultados dessa natureza já foram reportados em outras doenças em mandioca, a exemplo da podridão radicular causada por *Fusarium* spp. e *Phytophthora* spp., cujo CV_e foi de 55,28 a 93,46%, respectivamente, para estes dois patógenos (OLIVEIRA et al., 2017).

Herdabilidade de magnitudes medianas foram encontradas para resistência à antracnose, mancha branca e queima das folhas ($h^2 = 0,42$; $0,34$ e $0,51$, respectivamente), enquanto baixa herdabilidade foi identificada para mancha parda ($h^2 = 29\%$). As herdabilidades encontradas no presente estudo são bastante parecidas àquelas reportadas por Delarosa et al. (2022) para resistências à bacteriose e antracnose ($h^2 = 0,38$ e $0,52$, respectivamente), além daquelas reportadas por Valentor et al. (2018) na análise de genótipos de mandioca quanto à

resistência ao vírus do castanho listrado da mandioca, cujos valores de herdabilidade foram $h^2 = 0,64$.

Como os parâmetros genéticos relacionados à resistência a doenças da parte aérea da mandioca indicam forte efeito ambiental na expressão dessas características, é preciso adotar abordagens que permitam melhorar o processo seletivo nessas condições. Uma alternativa seria proceder o screening dos genótipos em condições controladas de tal modo que as variações ambientais ao longo do crescimento das plantas, durante a inoculação e no período de avaliação da resistência aos patógenos sejam minimizadas e com isso haja drástica redução dos componentes σ_{ga}^2 e σ_e^2 . Por outro lado, até o momento não existem plataformas otimizadas de screening massal para resistência à antracnose, mancha parda, queima das folhas e mancha branca da mandioca em condições artificiais. Além disso, esse tipo de fenotipagem demandaria infraestrutura específica, especializada e de alto custo para essas avaliações, o que poderia inviabilizar sua implementação prática.

Outro aspecto a ser levado em consideração é o fato de que as fenotipagem conduzidas diretamente em condições de campo, permitem uma extrapolação mais realista dos resultados da seleção para os sistemas de cultivo-alvo. Isso pode não ocorrer com os resultados da fenotipagem em condições controladas, pois tem sido demonstrado que características complexas mensuradas em ambientes controlados não estão bem relacionadas com sua expressão no campo (REYNOLDS et al., 2020). Portanto, é preciso adotar abordagens que permitam controlar melhor componentes ambientais, a exemplo da umidade do solo via irrigação, definição de áreas com mínimo de variação nas condições de solo (fertilidade, compactação, teor de matéria orgânica etc...), distribuição efetiva dos inóculos em todas as parcelas experimentais, além de manejo eficiente e uniforme em todo o ensaio. Com isso, é possível maximizar a herdabilidade à medida que as características avançam pelo processo de seleção.

4.2. Associação da resistência às doenças da parte aérea com atributos produtivos e agronômicos

De modo geral, houve alta suscetibilidade às doenças foliares no germoplasma de mandioca avaliado durante os dois ciclos de produção. A queima das folhas e mancha parda foram as doenças mais agressivas (maior score médio dentre as doenças avaliadas) em comparação com as demais. A variação dos

BLUPs para mancha parda foi de 3,13 a 3,55, enquanto que para queima das folhas essa variação foi de 3,08 a 3,56. Por outro lado, a variação para resistência à mancha branca foi de 1,24 a 1,99. Apesar da elevada variabilidade genética presente nos genótipos avaliados para inúmeros atributos agronômicos, a maioria deles apresentou apenas resistência moderada às doenças da parte aérea da mandioca.

Aparentemente, de forma contrária a outras doenças, as manchas foliares e a antracnose da mandioca possuem potencial de perda relativamente reduzido, tendo em vista a baixa correlação entre a severidade das doenças com atributos produtivos. Apesar disso, as estimativas de perdas de cerca de 40% e 90% para as manchas foliares e antracnose, respectivamente, certamente fazem diferença na rentabilidade das lavouras. Como comparação, Ano et al. (2021), relataram a presença de correlações negativas entre as características agronômicas e a incidência foliar do CBSD aos três e seis meses após o plantio ao avaliarem ensaios com diferentes cultivares na Nigéria. Ainda de acordo com estes autores, as perdas na produtividade de raízes foi de 0 a 100%. Em outro estudo, Bisimwa et al. (2019), reportaram que infecções múltiplas causadas pelo vírus do mosaico africano e castanho listrado da mandioca (CBSD) resultaram em perdas significativas na produtividade de raízes e desfolha completa em variedades de mandioca em Uganda.

Doenças bacterianas em mandioca também já foram reportadas como causadoras de redução significativa na produtividade média de parte aérea e raízes, embora não tenha sido reportado correlação alta e significativa entre a severidade da bacteriose com o desempenho agronômico dos genótipos de mandioca (TEIXEIRA et al., 2021).

Diante desse cenário, os programas de melhoramento vêm trabalhando para o desenvolvimento de cultivares que apresentem produção mais estável através de uma maior tolerância a estresses bióticos e abióticos, aumento na produtividade, tanto em termos de raízes frescas como no aumento do teor de matéria seca (CEBALLOS et al., 2020). Entretanto, o desenvolvimento e a adoção de novas cultivares continuam a ser um dos desafios para os programas de melhoramento da cultura da mandioca (CONCEIÇÃO et al., 2023). As estratégias do melhoramento convencional para o desenvolvimento de variedades de mandioca resistentes a pragas e doenças são desafiadoras devido a floração na cultura, poliploidia, propagação vegetativa e heterozigosidade, que impedem a transferência de

características desejáveis na cultura (NTUI et al., 2023). Limitações essa que afeta o ganho de seleção por unidade de tempo, uma vez que a identificação de novas variedades também está ligada à sua taxa de propagação ao longo dos anos de avaliação (ANDRADE et al., 2019).

Atualmente os programas de melhoramento vem concentrando seus esforços no desenvolvimento e aplicação da seleção genômica afim de selecionar indivíduos promissores (resistentes a pragas e doenças) em estágios iniciais, maximizando assim os ganhos genéticos na cultura da mandioca (MEUWISSEN et al., 2001, HEFFNER et al., 2010), uma vez que a seleção genômica permite a seleção e recombinação precoce de genótipos promissores sem a necessidade de realizar avaliação fenotípica.

A análise das correlações mostrou uma clara separação entre as características correlacionadas, sendo que o grupo de características associadas à resistência ficou separado do grupo de características agronômicas e produtivas. Não havendo, portanto, correlações significativas e de alta magnitude entre estes dois grupos de características. As correlações entre as doenças da parte aérea foram elevadas, sobretudo entre a mancha parda e queima das folhas com correlação de ($r = 0,96$), enquanto que para as demais comparações foram identificadas correlações de magnitude mediana ($r \sim 0,64$). De fato, do ponto de vista prático a fenotipagem para resistência a mancha parda e queima das folhas deve ser feita por pessoal bem treinado, considerando a dificuldade de distinção dos sintomas dessas duas doenças, que muitas vezes podem ser confundidos. Apesar disso, a extensão das lesões causadas pela mancha parda e queima das folhas são muito parecidas (PEI et al., 2014, MYCOBANK, 2019), o que certamente leva a uma elevada correlação na severidade das doenças.

No caso dos dados produtivos as correlações de maior magnitude foram identificadas entre a produtividade de raízes frescas $\times$ produtividade de raízes secas ($r = 0,79$) e número de raízes por planta ($r = 0,50$), produtividade da parte aérea $\times$ produtividade de raízes frescas ($r = 0,58$), além de produtividade de raízes secas ($r = 0,51$) e vigor das plantas ($r = 0,57$). Em estudo realizado por Pepurah et al. (2020) avaliando características de rendimento os autores obtiveram valores de correlação entre produtividade de raízes frescas e produtividade de raiz secas ($r = 0,69$) valores esses inferiores aos achados no presente estudo. em outro estudo as características agronômicas produtividade de raízes frescas e produtividade de parte

aérea apresentaram correlação de ($r = 0,70$) (SAMPAIO et al., 2023). valores esses superiores aos achados no presente estudo.

4.3. Agrupamento da diversidade fenotípica para resistência às doenças da parte aérea e atributos produtivos e agronômicos

Diante dessas considerações prévias, verifica-se que as manchas foliares e a antracnose da mandioca podem ser classificadas como doenças de importância secundária em determinadas regiões, embora sua ocorrência seja determinante para garantir a rentabilidade do negócio, sobretudo quando o destino final é a comercialização de raízes para processamento, cujas margens de lucro são bem apertadas. A análise discriminante explicou cerca 46,16% da variância fenotípica, sendo assim capaz de demonstrar a dispersão e o agrupamento dos genótipos de mandioca em três grupos considerando informações das manchas foliares, dados de produtividade e qualidade de raiz. Os grupos foram distintos entre si com baixa associação entre as manchas foliares e os dados agronômicos. Os genótipos pertencentes ao Grupo 2 foram considerados os mais suscetíveis às doenças da parte aérea, enquanto que os genótipos do Grupo 3 foram os que apresentaram, em média, melhor desempenho agronômico para atributos associados à produtividade e qualidade de raiz.

O potencial de agrupamento de genótipos de mandioca com base na resistência a doenças tem sido analisado em outros estudos. Hohenfeld et al. (2022) avaliaram 148 genótipos para resistência à podridão radicular da mandioca, além do seu potencial produtivo em condições de infestação natural dos patógenos de solo. Estes autores agruparam os genótipos em 5 grupos, sendo possível distinguir grupos associados à altura das plantas, rendimento de raízes frescas e parte aérea, índice de doença e índice de sobrevivência. Além disso, os autores verificaram que o índice de doença apresentou correlação negativa com as demais variáveis, principalmente com o índice de sobrevivência. Da mesma forma que as demais características apresentaram fortes correlações positivas. No entanto, embora a altura de plantas tenha apresentado correlação com o índice de sobrevivência, bem como com o rendimento de raízes frescas e parte aérea, se comportou como uma variável independente. Todos os danos ocorrem a partir de 45 dias após o plantio (DAP) e os sintomas na parte aérea das plantas apresentaram tendência de estabilidade após

os 180 DAP. Os grupos 3 e 5 apresentaram as maiores taxas de doença em todas as avaliações, seguida pelos grupos 1, 2 e 4 respectivamente

A eficiência do método *K-means* para a formação de grupos com o mínimo de variação também foi descrita por Oliveira et al. (2016), cujo estudo reportou o agrupamento não hierárquico do germoplasma de mandioca com base em dados qualitativos, onde os autores avaliaram características produtivas e qualidade de raiz juntamente com a severidade das doenças da antracnose e bacteriose na cultura. De modo geral, os agrupamentos permitem a segregação dos genótipos com base em características comuns e isso pode facilitar o manejo futuro do germoplasma, seja para fins de conservação ou mesmo para orientar a escolha de genótipos para avaliações mais pormenorizadas da resistência a doenças ou mesmo caracterizações mais detalhadas sobre o potencial produtivo e qualidade de raízes e amido.

4.4. Seleção de genótipos para melhoramento populacional

Os programas de melhoramento de mandioca buscam incorporar características de interesse agrônomicos para o desenvolvimento de cultivares mais resistentes a pragas e doenças, além de apresentarem alta produtividade e qualidade de raízes. A caracterização fenotípica do germoplasma de mandioca é uma das principais alternativas na busca por genótipos que apresentem características de interesse, que possam vir a serem utilizadas em programas de melhoramento da cultura.

Os resultados do presente estudo demonstraram que mesmo sob alta pressão de patógenos da parte aérea (considerando que foram feitas inoculações artificiais controladas), a produtividade média de raízes frescas no germoplasma foi elevada, ou seja 18,17 t.ha⁻¹ (variação de 10 a 40 t.ha⁻¹), sendo superiores aos relatados por Carvalho et al. (2022), ao avaliar 21 ensaios de germoplasma de mandioca da Embrapa os autores obtiveram resultados que apresentou média de 16,49 t.ha⁻¹ e variação entre 5,41 a 33,62 t.ha⁻¹.

O teor de matéria seca nas raízes variou entre 30 a 38% (média de 35,14%), valores que estão dentro do esperado para uma amostra representativa de germoplasma de mandioca, levando em comparação a variação de 8,4 a 45,4% (média de 34,14%) identificado por Rabbi et al. (2017), ao avaliarem 3232 genótipos do germoplasma do Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA). Mesmo se tratando de doenças que afetam diretamente a parte aérea (queda de folhas e seca

de ramos), tendo como consequência a redução do peso da parte aérea, verificou-se que a produtividade média da parte aérea foi de 20,26 t.ha⁻¹ (variação de 10 a 40 t.ha⁻¹). Os valores foram superiores aos reportados por Hohenfeld et al. (2022), cuja variação foi de 0,30 t.ha⁻¹ a 27,03 t.ha⁻¹, e média 13,67 t.ha⁻¹, ao avaliarem 148 genótipos de mandioca em áreas com grande infestação de patógenos associados à podridão radicular.

Considerando a necessidade de melhoria populacional para diversas características de forma simultânea, foi aplicado um índice de seleção para seleção dos top 25 clones para aumento da resistência a doenças da parte aérea da mandioca, bem como para melhoria de atributos agronômicos de crescimento, produtividade e qualidade de raízes. De acordo com essa seleção, houve diferencial de seleção modesto para resistência a doenças (redução de doenças entre 2 e 4%), possivelmente como resultado da menor variação dos BLUPs para essas características. Esses resultados são contrastantes com a seleção para resistência a outras doenças em mandioca como a podridão radicular, na qual o uso do índice de seleção possibilitou selecionar genótipos com redução nos sintomas da podridão radicular na casca e na polpa em 45,24 e 46,08%, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2017).

De forma contrária, houve diferencial de seleção bastante elevado, sobretudo para produtividade de raízes frescas (82%), raízes secas (39%) e número de raízes por planta (22%). Como resultado final, o diferencial do índice de seleção dos top 25 clones resultou em um índice de seleção 42% maior em comparação com todos os genótipos avaliados. Em outros estudos em mandioca os ganhos genéticos obtidos com a seleção 10% dos melhores clones identificados por meio do índice de seleção foram de 15,13%, 0,39%, 14,38%, 24,95% e 1,84% para produtividade de raízes frescas, teor de matéria seca, rendimento de matéria seca, rendimento de parte aérea fresca e índice de colheita, permitindo assim, seleção precoce eficaz no primeiro estágio da avaliação clonal (TORRES et al., 2019). Portanto, o potencial de seleção no germoplasma de mandioca avaliado no presente estudo, para atributos agronômicos é bastante elevado e pode efetivamente contribuir para o melhoramento populacional.

Os índices de seleção são ferramentas úteis no melhoramento de plantas, pois permitem a seleção eficiente de genótipos superiores (CREVELARI et al., 2019). A utilização de índices de seleção na cultura da mandioca para aspectos

agronômicos como rendimento, teor de matéria seca, índice de colheita e respostas a doenças mostra o potencial da utilização de tais ferramentas pois, permitem a identificação de genótipos promissores com alto potencial agrônomo e resistentes a pragas e doenças (LEÓN et al., 2021).

A possibilidade de se obter ganhos genéticos utilizando diferentes estratégias de seleção é uma das principais contribuições da genética quantitativa, pois os métodos de seleção permitem orientar de forma eficaz o processo de melhoramento, prever o resultado e decidir, com base científica, a eficiência do método de melhoramento. Portanto, embora com sucesso relativamente limitado para resistência a doenças da parte aérea em mandioca, a utilização de índices de seleção foi uma estratégia eficaz para se obter ganhos simultâneos em diversas características desejáveis.

5. CONCLUSÕES

A variabilidade fenotípica para características agronômicas e produtivas em parte do germoplasma de mandioca foi bastante elevada, embora limitada para resistência a doenças da parte aérea. Com isso, a seleção dos top 25 genótipos de mandioca para recombinação visando ao melhoramento populacional, permitiu um diferencial de seleção bastante elevado (>22%) para o índice de seleção e características produtivas como produtividade de raízes frescas, raízes secas e número de raízes por planta. Apenas reduções modestas na severidade das doenças foram observadas (entre 2 e 4%).

Correlações significativas foram identificadas apenas entre o grupo de características associadas à resistência a doenças da parte aérea e entre atributos agronômicos e produtivos. Portanto, a falta de correlação entre estes grupos de características indica que é possível identificar e selecionar genótipos de mandioca com alta produtividade, mesmo com certo nível de suscetibilidade a doenças da parte aérea. Apesar disso, a seleção dos genótipos deve se concentrar também na resistência, tendo em vista que algumas das doenças avaliadas, a exemplo da antracnose, tende a reduzir a qualidade do material propagativo.

Os genótipos pertencentes ao germoplasma de mandioca avaliado apresentam características de grande interesse para os programas de melhoramento, de forma a contribuir para aumento dos ganhos genéticos e consequente desenvolvimento de cultivares mais adequadas aos diversos sistemas

de produção de mandioca.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AI SYAH, S. N., HASBIYALLAH, M. S., HUZAENI, A., TRISNAWATI, D. W., NURKOMAR, I. JAMSARI, J. Survey of cassava anthracnose disease occurrence in various local cultivars of cassava cultivated in regency of Gunungkidul, Special Region of Yogyakarta. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. P.12-15, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/752/1/012051>

ALBUQUERQUE, H. Y. G., CARMO, C. D. D., BRITO, A. C., OLIVEIRA, E. J. D. Genetic diversity of *Manihot esculenta* Crantz germplasm based on single-nucleotide polymorphism markers. **Annals of applied biology**, v. 173, n. 3, p. 271-284, 2018. <https://doi.org/10.1111/aab.12460>

ANDRADE, L. R. B. D., SOUSA, M. B. E., OLIVEIRA, E. J., RESENDE, M. D. V. D., AZEVEDO, C. F. Cassava yield traits predicted by genomic selection methods. **PLoS One**, v. 14, n. 11, p. e0224920, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224920>

ANO, C. U., OCHWO-SSEMAKULA, M., IBANDA, A., OZIMATI, A., GIBSON, P., ONYEKA, J., S KAWUKI, R. **Cassava brown streak disease response and association with agronomic traits in elite Nigerian cassava cultivars**. *Frontiers in plant science*, v.12, p.53-72, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.720532>

BAKARE, M. A., KAYONDO, S. I., AGHOGHO, C. I., WOLFE, M. D., PARKES, E. Y., KULAKOW, P., RABBI, I. Y. Parsimonious genotype by environment interaction covariance models for cassava (*Manihot esculenta*). **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 978248, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.978248>

BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**. v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1406.5823>

BISIMWA, E. B., BIRINDWA, D. R., YOMENI, M. O., RUDAHABA, N., BYAMUNGU, K., BRAGARD, C. Multiple cassava viruses' co-infections and resurgence of pests are leading to severe symptoms and yield losses on cassava in the South-Kivu Region, Democratic Republic of Congo. **American Journal of Plant Sciences**, v.

10, n. 11, p. 1969-1988, 2019. <https://doi.org/10.4236/ajps.2019.1011138>

BREDESON, J. V., LYONS, J. B., PROCHNIK, S. E., WU, G. A., HA, C. M., EDSINGER-GONZALES, E. ROKHSAR, D. S. Sequencing wild and cultivated cassava and related species reveals extensive interspecific hybridization and genetic diversity. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 5, p. 562-570, 2016. <https://doi.org/10.1038/nbt.3535>

CARVALHO, R. R. B., BANDEIRA E SOUSA, M., DE OLIVEIRA, L. A., DE OLIVEIRA, E. J. Phenotypic diversity and selection in biofortified cassava germplasm for yield and quality root traits. **Euphytica**, v. 218, n. 12, p. 173, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03125-6>

CARVALHO, R. R. B., E SOUSA, M. B., DE OLIVEIRA, L. A. OLIVEIRA, E. J. Phenotypic diversity and selection in biofortified cassava germplasm for yield and quality root traits. **Euphytica** v. 218, n. 12, p. 173, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03125-6>

CEBALLOS, H., ROJANARIDPICHED, C., PHUMICHA, C., BECERRA, L. A., KITTIPADAKUL, P., IGLESIAS, C., GRACEN, V. E. Excellence in cassava breeding: perspectives for the future. **Crop Breeding, Genetics and Genomics**, v. 2, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.20900/cbqg20200008>

CONCEIÇÃO, L. V. D., CORTES, D. F. M., OLIVEIRA, E. J. D. New protocol for rapid cassava multiplication in field conditions: a perspective on speed breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1258101, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1258101>

COSTA, G. A., FREITAS-LOPES, R. L., LINO, J. B., JULIÃO, E. C., MICHEREFF, S. J. LOPES, U. P. An efficient method for inducing sporulation of cercosporoid fungal species causing leaf spots in cassava. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 1, p. 201-204, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00404-5>

CREVELARI, J. A., PEREIRA, M. G., AZEVEDO, F. H. V., VIEIRA, R. A. M. Genetic improvement of silage maize: predicting genetic gain using selection indexes and best linear unbiased prediction. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, p. 197-204, 2019. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20190023>

DALAROSA, L. E., DAVIDE, L. M. C., GONÇALVES, M. C., BACCHI, L. M. A., SANTOS, A. D., GUIMARÃES, A. G., AMORIM, G. A. D. A. Parameters and genetic divergence to identify resistance to anthracnose and bacteriosis in cassava accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, p.1-8. 2022 <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02790>

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema de Produção de Mandioca no Semiárido**, 2020. Disponível em: <file:///C:/Users/Josi/Downloads/Sistema-deProducao-de-Mandioca-no-Semiarido.pdf>. Acesso em: 07 ABRIL 2022

FERGUSON, M. E.; HEARNE, S. J.; CLOSE, T. J.; WANAMAKER, S.; MOSKAL, W. A.; TOWN, C. D.; YOUNG, J.; MARRI, P. R.; RABBI, I. Y.; VILLIERS, E. P. Identification, validation and high-throughput genotyping of transcribed gene SNPs in cassava. **Theoretical Applied Genetics**, v. 124, p.685–695, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1739-9>

FOUNDATION AGRICULTURAL ORGANIZATION (FAO). **Participação dos continentes na produção de mandioca em 2022**. FAOSTAT Database Gateway – FAO. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>. Acesso em: 18 de maio de 2022.

FREITAS, J. P. X., DINIZ, R. P., DE OLIVEIRA, S. A. S., DA SILVA SANTOS, V. DE OLIVEIRA, E. J. Inbreeding depression for severity caused by leaf diseases in cassava. **Euphytica**, v. 213, n. 9, p. 1-12, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1995-0>

GRENIER, C., BRAMEL-COX, P. J., NOIROT, M., PRASADA RAO, K. E., HAMON, P. Assessment of genetic diversity in three subsets constituted from the ICRISAT sorghum collection using random vs non-random sampling procedures A. Using morpho-agronomical and passport data: A. Using morpho-agronomical and passport data. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, p. 190-196, 2000 <https://doi.org/10.1007/s001220051468>

HEFFNER, E. L., LORENZ, A. J., JANNINK, J. L., SORRELLS, M. E. Plant breeding with genomic selection: gain per unit time and cost. **Crop science**, v. 50, n. 5, p.

1681-1690, 2010. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.11.0662>

HOHENFELD, C. S., PASSOS, A. R., DE CARVALHO, H. W. L., DE OLIVEIRA, S. A. S., DE OLIVEIRA, E. J. Genome-wide association study and selection for field resistance to cassava root rot disease and productive traits. **PloS one**, v. 17, n. 6, p. e0270020, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270020>

HORMHUAN, P., VIBOONJUN, U., SOJIKUL, P. NARANGAJAVANA, J. Enhancing of anthracnose disease resistance indicates a potential role of antimicrobial peptide genes in cassava. **Genetica**, v. 148, n. 3, p. 135-148, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10709-020-00097-0>

IBGE [INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA], 2022. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/10334>. Acesso em: 02 de junho de 2022.

JOMBART, T., & AHMED, I. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 3070-3071, 2011. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>

JOMBART, T., DEVILLARD, S. BALLOUX, F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. **BMC genetics**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>.

JULIÃO, E. C., SANTANA, M. D., FREITAS-LOPES, R. D. L., VIEIRA, A. D. P., DE CARVALHO, J. S. B. LOPES, U. P. Reduction of brown leaf spot and changes in the chlorophyll a content induced by fungicides in cassava plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, n. 2, p. 433-439 2020. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02001-0>

KAWANO, K.; FUKUDA, W. M. G.; CENPUKDEE, U. Genetic and environmental effects on dry matter content of cassava root. **Crop Science**, v. 27, n. 1, p. 69-74, 1987. <https://doi.org/10.2135/cropsci1987.0011183X002700010018x>

KUNKEAW, S., WORAPONG, J., SMITH, D. R. TRIWITAYAKORN, K. An in vitro detached leaf assay for pre-screening resistance to anthracnose disease in cassava

(*Manihot esculenta* Crantz). **Australasian Plant Pathology**, v. 39, n. 6, p. 547-550, 2010. <https://doi.org/10.1071/AP10024>

LEITE, I. C. H. L., LIMA FILHO, F. A. S., FREITAS-LOPES, R. L., MICHEREFF, S. J., CAPUCHO, A. S., LOPES, U. P. Standard area diagrams to aid assessments of the severity of blight leaf spot symptoms on cassava leaves. **Journal of Plant Pathology**, v. 101, n. 1, p. 155-160, 2019. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0132-9>

LEÓN, R., ROSERO, A., GARCÍA, J. L., MORELO, J., OROZCO, A., SILVA, G., CEBALLOS, H. Multi-trait selection indices for identifying new cassava varieties adapted to the Caribbean region of Colombia. **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1694, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091694>

LIU, Z.; BRAUN, U.; CROUS, P. W.; SI, J.; ZHANG Y. Taxonomy and phylogeny of cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) from China. **Phytotaxa, Auckland**, v. 278, n. 3, p. 212-224, 2016. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.278.3.2>

MASSOLA N.S, BEDENDO I.P, OLIVEIRA S.A.S, AMORIM L, REZENDE J.A.M, BERGAMIN FILHO A, CAMARGO L.E.A. **Doenças da Mandioca. (eds) Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. Agronômica Ceres, Ouro Fino, p 515–522, 2016.

MCCALLUM, EMILY J.; ANJANAPPA, RAVI B. GRUISSEM, WILHELM. Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). **Current opinion in plant biology**, v. 38, p. 50-58, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008>

MEUWISSEN, T. H., HAYES, B. J., GODDARD, M. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **genetics**, v. 157, n. 4, p. 1819-1829, 2001. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>

MEYER, K. Factor-analytic models for genotype× environment type problems and structured covariance matrices. **Genetics Selection Evolution**, v. 41, n. 1, p. 1-11, 2009. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-21>

MULAMBA, N.N.; MOCK, J.J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize

(Zea mays L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, v.7, p.40-57, 1978 ISSN: 0046-161X

MYCOBANK. **International mycological association**. Disponível em: <http://www.mycobank.org>. Acesso em 22 de out. de 2019.

NTUI, V. O., TRIPATHI, J. N., KARIUKI, S. M., TRIPATHI, L. Cassava molecular genetics and genomics for enhanced resistance to diseases and pests. **Molecular Plant Pathology**, 2023. <https://doi.org/10.1111/mpp.13402>

OGBONNA, A. C., DE ANDRADE, L. R. B., MUELLER, L. A., DE OLIVEIRA, E. J., BAUCHET, G. J. Comprehensive genotyping of a Brazilian cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm bank: insights into diversification and domestication. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, n. 5, p. 1343-1362, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03775-5>

OLIVEIRA, E. J. D., AUD, F. F., MORALES, C. F. G., OLIVEIRA, S. A. S. D., SANTOS, V. D. S. Non-hierarchical clustering of *Manihot esculenta* Crantz germplasm based on quantitative traits. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, p. 548-555, 2016. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160066>

OLIVEIRA, E. J., DE OLIVEIRA, S. A. S., BOAS, S. A. V., HOHENFELD, C. S., DA SILVA SANTOS, V. Selection of cassava accessions with multiple resistance to pathogens associated with root rot disease. **Euphytica**, v. 213, p. 1-13, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1973-6>

OLIVEIRA, S. A. S. D., HOHENFELD, C. S. SANTOS, V. D. S., HADDAD, F. OLIVEIRA, E. J. D. Resistance to *Fusarium* dry root rot disease in cassava accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 1414-1417, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013001000014>

OLIVEIRA, S. A. S., DIAMANTINO, M. S. A. S., DINIZ, R. P., DE OLIVEIRA, E. J. **Escala de notas inespecíficas para seleção de plantas de mandioca resistentes a doenças foliares**. 2020. ISSN:1809-5003.

PEI, Y.; SHI, T.; LI, C.; LIU, X.; CAI, J.; HUANG, G. Distribution and pathogen identification of cassava brown leaf spot in China. **Genetics and Molecular Biology**, v. 13, p. 3461-3473, 2014. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.April.30.7>

PEPRAH, B. B., PARKES, E., MANU-ADUENING, J., KULAKOW, P., VAN BILJON, A., LABUSCHAGNE, M. Genetic variability, stability and heritability for quality and yield characteristics in provitamin A cassava varieties. **Euphytica**, v. 216, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-2562-7>

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

RABBI, I. Y., UDOH, L. I., WOLFE, M., PARKES, E. Y., GEDIL, M. A., DIXON, A., KULAKOW, P. Genome-Wide Association Mapping of Correlated Traits in Cassava: Dry Matter and Total Carotenoid Content. **The plant genome**, v. 10, n. 3, p.90-105, 2017. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2016.09.0094>

REYNOLDS, M., CHAPMAN, S., CRESPO-HERRERA, L., MOLERO, G., MONDAL, S., PEQUENO, D. N., SUKUMARAN, S. Breeder friendly phenotyping. **Plant Science**, v. 295, p. 110396, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110396>

RODRIGUES, M. G. F., SANTOS, T. P. D., FERREIRA, A. F. A., MONTEIRO, L. N. H., NAKANISHI, E. S. BOLIANI, A. C. Morphological characterization of active germoplasm bank fig tree accessions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, 2019. <https://doi.org/10.1590/0100-29452019074>

SAMPAIO F. J. S., OLIVOTO, T., OLIVEIRA, E. J. Multi-trait selection in multi-environments for performance and stability in cassava genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1282221, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1282221>

SANGPUEAK, RUNGTHIP; PHANSAK, PIYAPORN; BUENSANTEAI, NATTHIYA. Morphological and molecular identification of *Colletotrichum* species associated with cassava anthracnose in Thailand. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 2, p. 129-142, 2018. <https://doi.org/10.1111/jph.12669>

SANTOS, T. B. D., CARVALHO, C. W. P. D., OLIVEIRA, L. A. D., OLIVEIRA, E. J. D., VILLAS-BOAS, F., FRANCO, C. M. L. CHÁVEZ, D. W. H. Functionality of cassava genotypes for waxy starch. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, p.241 2021. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2021.v56.02414>

SILVA, H. S. A., DE ANDRADE, E. C. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**-Capítulo em livro científico (ALICE), 2011.

SILVA, L. L., PESTANA, K. N., FERREIRA, C. F., OLIVEIRA, S. A. Differentiation of phylogenetic lineages within the '*Colletotrichum gloeosporioides* species complex' associated with cassava anthracnose disease by PCR-RFLP. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 194-201, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0218-0>

SOUZA, L. S., ALVES, A. A. C. DE OLIVEIRA, E. J. Phenological diversity of flowering and fruiting in cassava germplasm. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109253, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109253>

TEIXEIRA, J. H. D. S., GUIMARAES, M. A. S., CARDOSO, S. C., BRITO, A. D. S., DINIZ, R. P., DE OLIVEIRA, E. J., DE OLIVEIRA, S. A. S. Evaluation of resistance to bacterial blight in Brazilian cassava germoplasm and disease-yield relationships. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, p. 324-335, 2021. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00419-3>.

TORRES, L. G., VILELA DE RESENDE, M. D., AZEVEDO, C. F., FONSECA E SILVA, F., DE OLIVEIRA, E. J. Genomic selection for productive traits in biparental cassava breeding populations. **PloS one**, v. 14, n. 7, p. e0220245, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220245>.

VALENTOR, A. O., OCHWO-SSEMAKULA, M., KAWEESI, T., OZIMATI, A., MREMA, E., MWALE, E. S., KAWUKI, R. Plot based heritability estimates and categorization of cassava genotype response to cassava brown streak disease. **Crop Protection**, v. 108, p. 39-46, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.008>

VASCONCELOS, L. M., BRITO, A. C., CARMO, C. D., OLIVEIRA, P. H. G. A. OLIVEIRA, E. J. Phenotypic diversity of starch granules in cassava germplasm.

Genetics and Molecular Research, v. 16, p. 1-10, 2017.
<http://dx.doi.org/10.4238/gmr16029276>

VENTURINI, M. T., ARAÚJO, T. D. S., ABREU, E. F. M., ANDRADE, E. C. D., SANTOS, V. D. S., SILVA, M. R. D., OLIVEIRA, E. J. D. Crop losses in Brazilian cassava varieties induced by the cassava common mosaic virus. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 520-524, 2016. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0374>

VILAS-BOAS, S.A.; HOHENFELD, C.S.; OLIVEIRA, S.A.S.; SILVA, S.V.; DE OLIVEIRA, E.J. Sources of resistance to cassava root rot caused by *Fusarium spp.* **Euphytica**, v. 209, p. 237-251, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1676-4>.

CAPÍTULO 2

MAPEAMENTO ASSOCIATIVO PARA RESISTÊNCIA ÀS MANCHAS FOLIARES DE PARTE AÉREA EM MANDIOCA

CRUZ DAS ALMAS – BA

2024

MAPEAMENTO ASSOCIATIVO PARA RESISTÊNCIA ÀS MANCHAS FOLIARES DA PARTE AÉREA DA MANDIOCA

RESUMO: Estudos genéticos sobre manchas foliares da parte aérea da mandioca tem sido negligenciado, apesar do elevado impacto na redução da produtividade. Esse estudo objetivou analisar as correlações entre a resistência às principais manchas foliares em mandioca, além de identificar *quantitative trait loci* (QTLs) via *genome-wide association studies* (GWAS). As avaliações foram realizadas em dois ciclos produtivos em área inoculada artificialmente. As análises de associação genômica para resistência a antracnose, mancha branca, mancha parda, e queima das folhas foi realizada pelos seguintes modelos GWAS: *general linear model* (GLM), *mixed linear model* (MLM), *compressed mixed linear model* (CMLM) e *fixed and random model for circulating probability unification* (FarmCPU). Elevada variabilidade fenotípica foi observada no germoplasma em comparação com as variedades melhoradas (controle). A maioria das manchas foliares apresentou correlações de magnitude mediana (variação entre 0,549 a 0,652), embora a correlação entre mancha parda × queima das folhas tenha sido elevada (0,96). Mesmo com baixa captura da variação total dos dados moleculares (*single nucleotide polymorphism* – SNP) o agrupamento dos genótipos de mandioca com base nessa abordagem permitiu a clara separação do germoplasma em quatro grupos distintos, diferentemente dos dados fenotípicos de resistência a doenças que separaram os genótipos em três grupos com alta sobreposição. No total foram identificados cinco SNPs associados a resistência às doenças da parte aérea da mandioca, sendo o SNP S7-1197325 (antracnose), S3-421126, S5-5050172 e S16-20450490 (mancha branca) e S17-944736 (queima das folhas). De acordo com o modelo *general linear model* (GLM), todos esses SNPs possuem efeito aditivo. A maioria dos genes associados aos SNPs significativos para as manchas foliares possuem função biológica associadas, sobretudo a estresses bióticos. Nossos resultados contribuem para o entendimento dos mecanismos de resistência, além de fornecer perspectivas para estudos de análise funcional, identificação e anotações de novos genes para seleção de plantas.

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz; melhoramento, QTLs, seleção, doenças.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES FOR AERIAL PARTS DISEASES IN CASSAVA

ABSTRACT: Genetic studies on foliar spots in cassava have been overlooked, despite their significant impact on productivity reduction. This study aimed to analyze the correlations between resistance to major foliar spots in cassava and to identify quantitative trait loci (QTLs) through genome-wide association studies (GWAS). Evaluations were conducted over two production cycles in an artificially inoculated area. Genomic association analyses for resistance to anthracnose, white spot, brown spot, and leaf burn were performed using the following GWAS models: *General Linear Model* (GLM), *Mixed Linear Model* (MLM), *Compressed Mixed Linear Model* (CMLM), and Fixed and Random Model for Circulating Probability Unification (FarmCPU). High phenotypic variability was observed in the germplasm compared to improved varieties (controls). Most foliar spots exhibited medium-magnitude correlations (ranging from 0.549 to 0.652), although the correlation between brown spot and leaf burn was notably high (0.96). Despite capturing only a small portion of the total variation in molecular data (*single nucleotide polymorphism* – SNP), clustering cassava genotypes based on this approach allowed for a clear separation of the germplasm into four distinct groups, in contrast to the phenotypic disease resistance data, which separated the genotypes into three groups with significant overlap. A total of five SNPs associated with resistance to foliar diseases in cassava were identified: SNP S7-1197325 (anthracnose), S3-421126, S5-5050172, and S16-20450490 (white spot), and S17-944736 (leaf burn). *According to the General Linear Model* (GLM), all these SNPs exhibit additive effects. Most genes associated with the significant SNPs for foliar spots have biological functions related to biotic stress responses. Our findings contribute to the understanding of resistance mechanisms and provide valuable insights for functional analysis studies, as well as the identification and annotation of new genes for plant selection.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz; breeding, QTLs, selection, diseases.

1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é comumente afetada por doenças da parte aérea, a exemplo da mancha parda (*Claroohilum henningsii*), queima das folhas (*Passalora vicosae*), mancha branca (*Passalora maninhotis*) e antracnose (*Colletotrichum* spp) (LIU et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2020). Esses fungos apresentam ampla distribuição geográfica, sobretudo em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Austrália, América Central, América do Sul e África (COSTA et al., 2020). As doenças da parte aérea da mandioca têm ganhado relevância, sobretudo na América Latina, devido à alta incidência nas lavouras e aos efeitos adversos da sua ocorrência (COSTA et al., 2020), sobretudo nos períodos mais chuvosos do ano, o que acaba facilitando a disseminação das doenças pelos respingos da chuva e pelo vento.

A mancha parda é caracterizada por lesões pequenas e arredondadas de coloração amarela a castanha, em estágio avançado causa desfolha das folhas mais velhas (PEI et al., 2014), enquanto a queima das folhas apresenta manchas em formato de meia lua de coloração marrom (MASSOLA et al., 2016). A mancha branca apresenta lesões circulares e angulares de coloração branca (SILVA e ANDRADE, 2011). A diagnose das manchas foliares é complexa, pelo fato de ocorrerem de forma conjunta na planta e devido a algumas semelhanças entre os sintomas, sobretudo da mancha parda e queima das folhas (PEI et al., 2014).

Os sintomas da antracnose levam à ocorrência de cancrios profundos nas hastes, ramos, manchas foliares, murchamento das folhas e morte da planta em qualquer estágio do ciclo da cultura (AISYAH et al, 2021), gerando perdas na produtividade de raízes entre 80 e 90% (SANGPUEAK et al., 2018). No caso das manchas foliares as perdas na produtividade de raízes podem chegar a 40% (COSTA et al., 2020).

Atualmente o controle das doenças na cultura da mandioca baseia-se na seleção de cultivares resistentes, rotação de cultura e uso de defensivos agrícolas (MCCALLUM et al., 2017). Nesse último caso, existe um número limitado de moléculas registradas para uso na cultura da mandioca, forçando os agricultores a utilizarem defensivos não registrados. Além disso, dependendo da fase da cultura e do tipo de pulverização a ser realizada, o controle químico é inviável por causa dos danos mecânicos à lavoura ou mesmo ao elevado custo de aplicação. A rotação de cultura é uma prática agrícola benéfica para maior sustentabilidade das lavouras,

embora não seja capaz de eliminar os patógenos, mesmo após vários anos de rotação. Portanto, o desenvolvimento de cultivares resistentes é a prática agrícola mais sustentável para o controle das doenças da parte aérea na cultura da mandioca (OLIVEIRA et al., 2014; BOAS et al., 2016).

A existência de ampla variabilidade é um requisito fundamental para o melhoramento da cultura, para incorporação de resistência a doenças. Grande parte da variabilidade da espécie é mantida em bancos de germoplasma, com a finalidade de conservar, caracterizar, avaliar e disponibilizar os acessos para que possam ser utilizados futuramente em estudos genéticos e em programas de melhoramento (ALBUQUERQUE et al., 2019). Embora relatos de literatura sobre a identificação de fontes de resistência às doenças foliares no germoplasma de mandioca sejam escassos. Freitas et al. (2017) reportaram ampla variabilidade genética para resistência a manchas foliares em populações melhoradas (progênies S₁) derivadas da autofecundação de cinco variedades de mandioca. Portanto, é possível que haja acessos de germoplasma com elevada resistência a essas doenças que possam ser explorados no melhoramento genético.

Adicionalmente, com o avanço das ferramentas biotecnológicas, existem inúmeras oportunidades de associar a variabilidade genética de determinada população a variantes genômicas que permitem realizar a seleção indireta dos genótipos mais resistentes em populações segregantes. Recentemente os marcadores do tipo *single-nucleotide polymorphism* (SNPs) tornaram-se uma opção atraente para genotipagem de alto rendimento devido ao baixo custo, alta abundância no genoma, especificidade dos locus, a codominância, potencial de alto rendimento e baixa taxa de erro na genotipagem (RAFALSKI, 2002; SCHLOTTERER, 2004; CHAGNÉ et al., 2007).

Os SNPs tem sido utilizado na cultura da mandioca com foco em análises de ligação e mapeamento de loci de características quantitativas *quantitative trait locus* (QTLs) (NZUKI et al., 2017); identificação de duplicatas (RABBI et al., 2017) e *genome-wide association studies* (GWAS) (OLIVEIRA et al., 2012), identificação de estrutura populacional (OLIVEIRA et al., 2014) e duplicatas (ALBUQUERQUE et al., 2019), estudos de resistência a podridão radicular (BRITO et al., 2017) e tolerância a seca (SANTOS et al., 2021). De modo geral, as tecnologias de genotipagem de SNPs permitem a obtenção de maior cobertura genômica em comparação com outros tipos de marcadores e a disponibilidade de informações em larga escala

permitiu o uso do desequilíbrio de ligação (LD) nos estudos de GWAS para aprimorar o mapeamento de características de interesse (SANTOS et al., 2021).

A GWAS explora eventos históricos de recombinação que acontecem de forma natural ao longo de várias gerações para o mapeamento de QTLs (ROSENBERG et al., 2010; KORTE e FARLOW, 2013). A técnica GWAS permite a identificação de fenótipos de interesse, fornece informações sobre as características genéticas em análise e identifica candidatos em potencial para estudos de mutagenese e transgenia, permitindo assim, a seleção de parentais para análise de QTLs como uma estratégia complementar para o mapeamento mais refinado de características com baixa a média complexidade (SANTOS et al., 2021).

A identificação dessas regiões genômicas permite reduzir o tempo e recursos financeiros utilizados no desenvolvimento de novas variedades, por meio da seleção assistida por marcadores (SAM) e da clonagem gênica (ZHANG et al., 2018). A GWAS vem sendo utilizada na cultura da mandioca para detecção de QTLs associados a diversas características de alto impacto agrônomo como teor de matéria seca nas raízes e carotenoides (RABBI et al., 2017), resistência ao vírus do mosaico africano (WOLFE et al., 2016), resistência à podridão radicular (BRITO et al., 2017) e ao castanho listrado da mandioca (*Cassava brown streak virus* - CBSV) (KAYONDO et al., 2018), além de teor de compostos cianogênicos (HCN). Muitos desses estudos resultaram na conversão dos SNPs em marcadores *Kompetitive Allele Specific PCR* (KASP) para rápido *screening* e seleção de genótipos com características desejáveis em grandes populações de melhoramento, a exemplo de resistência a doença do mosaico da mandioca (CMD) (RABBI et al., 2022), conteúdo de glicosídeo cianogênico em raízes de mandioca (HCN) (OGBONNA et al., 2021) e teor de β - caroteno em mandioca (UDOH et al., 2017).

Apesar dos avanços da GWAS para diversas características em mandioca, poucos programas de pesquisa têm dedicado atenção ao mapeamento de regiões genômicas associadas às doenças da parte aérea da mandioca, que tem grande impacto na produtividade de raízes e na qualidade do material propagativo, sobretudo na América Latina. Assim, o presente estudo teve como objetivo identificar QTLs associados à resistência da antracnose, mancha branca, mancha parda, e queima das folhas na cultura da mandioca via GWAS, e identificar o potencial de uso dos marcadores para seleção assistida e otimização da seleção de clones resistentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material genético e condução do experimento

O estudo foi realizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura (latitude 12°40'12"S e longitude 39°06'07"O) e na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (latitude 12°40'39" S e longitude 39°06'26" O) localizadas na cidade de Cruz das Almas, Bahia, Brasil, com altitudes médias de 220m e 226m, respectivamente. A região apresenta clima tropical quente e úmido, caracterizado pela ausência de uma estação seca. A temperatura média anual é de 24,5°C, com uma umidade relativa do ar média de 80%. A precipitação média anual é de 1.170 mm, com maior concentração nos meses de março a agosto, seguidos por meses mais quentes de setembro a fevereiro.

No total foram analisados 837 genótipos do banco de germoplasma de mandioca (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Contendo principalmente variedades locais e melhoradas de mandioca, provenientes de diversas regiões do Brasil, além de acessos originários da Colômbia, Venezuela, Nigéria e Panamá. Dentro desses acessos, 172 são identificados como mandiocas de baixa toxicidade (<100ppm de compostos cianogênicos), enquanto 665 são considerados de alta toxicidade (>100ppm de compostos cianogênicos).

A avaliação de campo do germoplasma de mandioca foi conduzida ao longo de dois ciclos de cultivo durante os anos de 2021 e 2022, na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Onde se utilizou delineamento experimental de blocos aumentados (DBA), com 819 acessos não comuns e 28 testemunhas (variedades locais e comerciais), distribuídos em 15 blocos com cada bloco constituído por 144 genótipos não comuns. As parcelas experimentais foram compostas por duas linhas de 10 plantas cada, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e 0,80 m entre plantas, em condições de sequeiro. O preparo do solo incluiu aração e duas gradagens, seguidas pela abertura de sulcos de plantio com aproximadamente 15 cm de profundidade. O plantio foi realizado manualmente durante o período chuvoso na região de Cruz das Almas, Bahia, nos meses de maio de 2020 e 2021, utilizando manivas de 16 cm de comprimento, conforme as práticas e recomendações agrícolas para a cultura, incluindo adubação e controle de pragas (SILVA et al., 2018).

2.2. Coleta de folhas doentes e isolamento dos patógenos

Para preparação do inóculo, foram coletadas folhas de mandioca do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, que exibiam sintomas típicos das quatro doenças. As folhas foram levadas ao Laboratório de Fitopatologia, onde foram lavadas em água corrente e, em seguida cortados fragmentos individuais contendo os sintomas das respectivas doenças. Cada fragmento, com aproximadamente 0,3 cm de distância entre o tecido afetado e o tecido saudável, foi imerso em etanol (70%) por 30 segundos, seguido por um minuto em uma solução de hipoclorito de sódio (5%), e depois enxaguados três vezes com água destilada esterilizada. Esses fragmentos foram então colocados para secar em papel filtro esterilizado e posteriormente transferidos para meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), onde foram incubados a 24°C por 7 dias, com um ciclo de luz de 12 horas.

Os fungos isolados foram testados quanto à sua patogenicidade usando a técnica de folha destacada. Para isso, folhas de mandioca foram dispostas em caixas plásticas transparentes (gerbox), com cada lóbulo da folha perfurado e inoculado com discos de meio de cultura contendo estruturas dos fungos isolados. Discos contendo meio BDA sem crescimento fúngico foram usados como controle, com o mesmo número de tratamentos. Todos os isolados fúngicos causaram lesões características nas variedades padrão de mandioca (*in vitro*), o que permitiu seu isolamento completo para futuras inoculações em campo.

2.3. Preparo do inóculo e inoculações artificiais

Para assegurar a uniformidade na propagação das doenças no experimento e evitar possíveis escapes, optou-se por realizar inoculações artificiais por meio de pulverização mecânica em toda a área experimental. Essas inoculações foram posteriormente avaliadas usando escalas de notas para análise dos sintomas.

No preparo do inóculo de cada isolado transferiu-se discos de micélio, com 2 mm de diâmetro das colônias que haviam crescido por 20 dias para erlenmeyer contendo 1,5 L de meio líquido ágar sabouraud dextrose (com uma composição de 40g/L de dextrose, 10g/L de peptona e 20g/L de ágar, e com pH ajustado para 5,6). Esses frascos foram mantidos sob agitação constante a 110 rpm, em temperatura de 25 °C e com um ciclo de luz de 12 horas, durante 15 dias para permitir o crescimento e a multiplicação dos patógenos. Posteriormente, os isolados colonizados foram triturados utilizando um misturador 400W.

Para verificar a presença de esporos dos fungos, uma amostra do meio ágar sabouraud foi retirada e misturada com água destilada na proporção de 1:9. Uma pequena quantidade dessa mistura foi então examinada ao microscópio para confirmar a presença de esporos (conídios). Após a confirmação, uma suspensão aquosa foi preparada e a contagem de conídios foi realizada utilizando uma câmara de Neubauer, ajustando a concentração da suspensão para $2,5 \times 10^5$ esporos por ml. Essa suspensão foi então aplicada no campo utilizando um pulverizador mecânico do tipo Vulcan, com capacidade para 600 litros.

As avaliações foram conduzidas durante os períodos de chuvas mais intensas na região (junho de 2021 e junho de 2022), aos doze meses após o plantio, momento de maior incidência das doenças, principalmente devido às condições climáticas favoráveis à disseminação dos patógenos.

2.4. Características avaliadas

As avaliações da severidade das doenças que afetam a parte aérea da cultura da mandioca seguiram as seguintes escalas de notas conforme descrito por Oliveira et al. (2020):

1. Antracnose:

(0) = Sem infecção (1) = Pequenas lesões nas folhas e hastes (2) = poucos cancrios rasos no caule ou foliares na metade inferior da planta, (3) = Muitos cancrios no caule seguidos de distorção e/ou lesões foliares na metade superior da planta (4) = Muitas lesões duras e lenhosas no caule e/ou em folhas (5) = Ataque altamente severo com muitas lesões em hastes duras e lenhosas e necrose severa nas axilas foliares seguida de murchamento e desfolhas severa da planta (6) = Seca de todos os ramos e/ou morte da planta.

2. Mancha branca, parda e queima das folhas:

0) = Sem sintomas (1) = Presença de algumas folhas afetadas no terço inferior da planta (2) = > 50% das folhas afetadas no terço inferior da planta, (3) = Folhas afetadas no terço médio e inferior, (4) = Incidência leve distribuída ao longo de toda a planta, (5) = Incidência moderada distribuída por toda a planta, além de amarelecimento e/ou desfolha do terço inferior (6) = Desfolha completa da planta.

2.5. Genotipagem por sequenciamento (GBS)

O protocolo básico do GBS foi descrito por Elshire et al. (2011), em que o DNA é digerido pela enzima *ApeKI*, uma endonuclease de restrição do tipo II que reconhece uma sequência degenerada de 5 bases (GCWGC, onde W é A ou T), em comprimentos de 100 bp, conforme recomendado por Hamblin e Rabbi (2014). A ligação entre os fragmentos de clivagem do *ApeKI* e o adaptador foi realizada após a digestão das amostras e um sequenciamento de 192-*p/lex*. Para analisar as sequências e filtros de qualidade, o software Tassel, versão 5.2.37 (BRADBURY et al., 2007) foi utilizado para remover os marcadores com uma frequência mínima (MAF) < 5%, manter as variantes que foram genotipadas com sucesso em pelo menos 50% dos indivíduos e SNPs com mais de 20% de dados ausentes.

2.6. Estudos de associação genômica ampla (GWAS)

A análise de associação genômica para resistência as doenças antracnose, mancha branca, mancha parda, e queima das folhas foi realizada pelos seguintes métodos disponíveis no pacote 'GAPIT' v.3 (WANG e ZHANG, 2021): *general linear model* (GLM), *mixed linear model* (MLM), *compressed mixed linear model* (CMLM) e *fixed and random model for circulating probability unification* (FarmCPU). O método GLM utiliza componentes principais como efeito fixo para a correção da estrutura populacional, enquanto o *mixed linear model* (MLM) utiliza a matriz de parentesco genômico como de efeito fixo para corrigir a estrutura populacional. O CMLM compreende duas etapas para aumentar a velocidade do processo de iteração e reduzir a demanda computacional. A primeira etapa realiza a abordagem do modelo MLM, porém sem o efeito genético de marcadores, enquanto a segunda etapa utiliza os resíduos da etapa anterior como variável dependente do modelo GLM, o que elimina a necessidade do processo de iteração para testar os marcadores. O FarmCPU faz uso de um modelo de efeito fixo, que testa os efeitos individuais dos marcadores com pseudos QTNs incluídos como covariáveis para controlar falsos positivos. O FarmCPU usa o modelo de efeito aleatório para otimizar a seleção dos pseudos QTNs por meio de análise estatística e localização no cromossomo por meio do algoritmo SUPER.

Os p-valores obtidos de cada marcador em todas as metodologias foram transformados em escala logarítmica e apresentados em gráficos circulares de

Manhattan e qqplots gerados no pacote 'CMplot' (YIN et al., 2021) R versão 4.1.0 (R CORE TEAM, 2021).

A análise de desequilíbrio de ligação foi realizada pela função '*LD*' do pacote '*genetics*' (WARNES et al., 2021) que estimou o coeficiente de correlação (r^2) entre os pares de SNPs de cada cromossomo. Os resultados de r^2 foram utilizados em uma análise de regressão *loess* em função da distância física entre os pares de marcadores em pares de bases (bp). Foram realizadas análises discriminantes de componentes principais (DAPC) nos dados fenotípicos (severidade das doenças) e genotípicos (matriz de marcadores SNPs) para avaliar a diversidade entre os acessos do banco de germoplasma da Embrapa por meio da função '*find.clusters*' do pacote '*adeigenet*'. Este método de agrupamento utiliza o método K-means associado a análise discriminante de componentes principais para identificar o número de grupos ideal que possui a maior variância entre grupos do que dentro de grupos por meio do Critério de conteúdo de informação Bayesiana (BIC).

2.7. Identificação in silico de genes candidatos

Os SNPs significativos a partir dos dados obtidos pelo método de GWAS, foram anotados para identificação de genes candidatos. As regiões dos marcadores com p-valor acima do limite de Bonferroni ($p < 0,05$, $0,05/16790$), dentro de um intervalo de 4 a 8 Mb, foram utilizadas como referência para a anotação de genes e QTLs ligados a estes marcadores. Os SNPs significativos foram localizados no genoma de referência da mandioca v6.1 (BREDESON et al., 2016) depositado no banco de dados do Phytozome v11.0 com uso da ferramenta JBrowse (GOODSTEIN et al., 2012). A anotação funcional de todos os genes foi identificada pela ferramenta *PhytoMine* do Phytozome v11.0 (GOODSTEIN et al., 2012).

3. RESULTADOS

3.1. Fenotipagem e correlação da resistência a doenças da parte aérea

Para a análise de correlação entre os dados de fenotipagem referentes à resistência às principais manchas foliares que afetam a cultura da mandioca (antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas), observaram-se correlações significativas para a maioria das manchas foliares, indicando uma associação linear positiva entre as doenças (Figura 1). Na avaliação de todos os genótipos, a mancha parda e a queima das folhas apresentaram a maior correlação

positiva (0,96), bastante consistente com a variância fenotípica apresentada por ambas as manchas (64,47 e 65,65, respectivamente). As demais correlações entre as doenças foram de magnitude mediana, a exemplo da correlação antracnose × mancha branca (0,549), e entre antracnose × mancha parda e queima das folhas cujas correlações foram de 0,589 e 0,584, respectivamente. A correlação entre mancha branca × mancha parda e queima das folhas foi de 0,652 e 0,661, respectivamente.

A análise separada dos genótipos (germoplasma e controles) demonstrou que apenas a correlação entre mancha parda × queima das folhas (0,974) e entre mancha branca × antracnose (0,559) permaneceram praticamente inalteradas, enquanto que para as demais doenças as correlações entre os sintomas de antracnose × mancha parda e queima das folhas e mancha branca × mancha parda e queima das folhas foram bastante reduzidas nos genótipos controles, indicando a ausência de uma relação linear neste tipo de genótipo, que passou pelo processo de seleção nos programas de melhoramento.

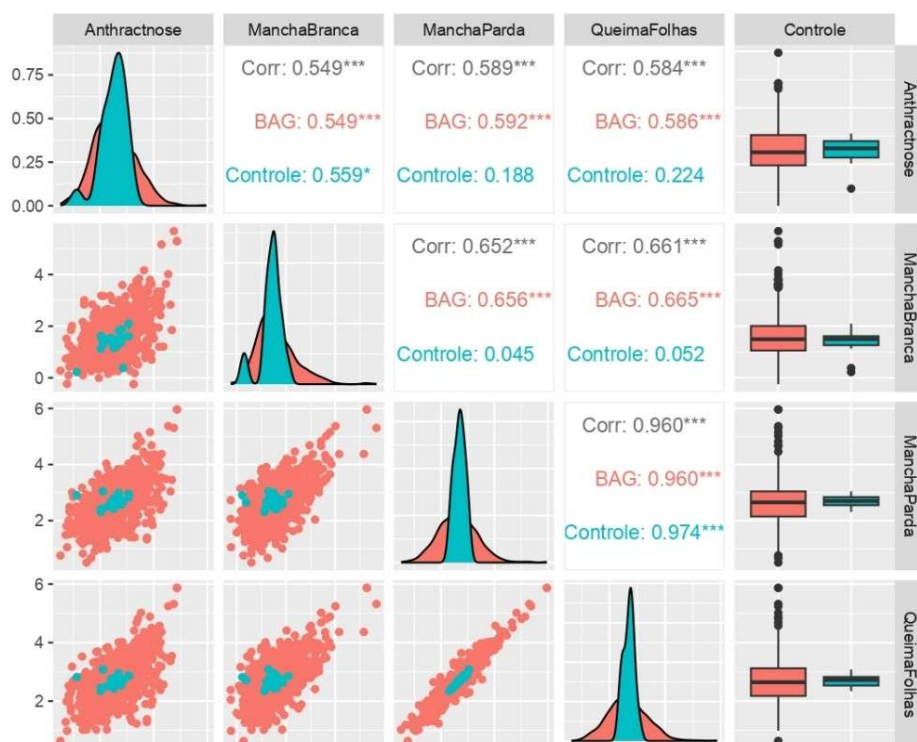


Figura 1. Correlação entre quatro doenças foliares oriundas da avaliação de 837 genótipos de mandioca em área inoculada por antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas com nível de significância: *** = 0.001; ** = 0.01.

De modo geral, os acessos do germoplasma de mandioca apresentaram maior amplitude de variação quanto a resistência às doenças foliares em comparação com os controles, possivelmente como resultado do maior número de genótipos avaliados. Portanto, as chances de identificação de genótipos mais promissores quanto à resistência a estas doenças são maiores ao proceder *screening* no germoplasma da Embrapa.

3.2. Estrutura populacional

A DAPC foi conduzida utilizando dados fenotípicos e genotípicos para avaliar o agrupamento dos 837 genótipos de mandioca com base na resistência às principais manchas foliares e antracnose. Com base nos dados fenotípicos, as duas primeiras funções discriminantes capturaram 100% da variação fenotípica total (Figura 2). Entretanto, neste agrupamento não houve uma separação clara dos genótipos de mandioca, em função da sobreposição dos agrupamentos no plano bidimensional, indicando que embora a maior parte da variação fenotípica tenha sido capturada, os genótipos não são suficientemente discrepantes quanto à resistência às doenças para serem agrupados de forma objetiva. No agrupamento DAPC dos dados fenotípicos, três grupos de genótipos de mandioca foram identificados, apresentando uma distribuição relativamente equilibrada, sendo alocados 394 genótipos no Grupo 1, 318 genótipos no Grupo 2 e 125 genótipos no Grupo 3.

Em contrapartida, o agrupamento DAPC com base nos dados genotípicos capturou apenas 1,57% da variação genotípica total explicada pelas funções discriminantes. Apesar disso, as duas primeiras funções discriminantes dos dados genotípicos permitiram uma separação mais clara dos genótipos de mandioca, sem praticamente haver nenhuma sobreposição. Quatro agrupamentos compostos por 154, 277, 362 e 44 genótipos foram identificados nos grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

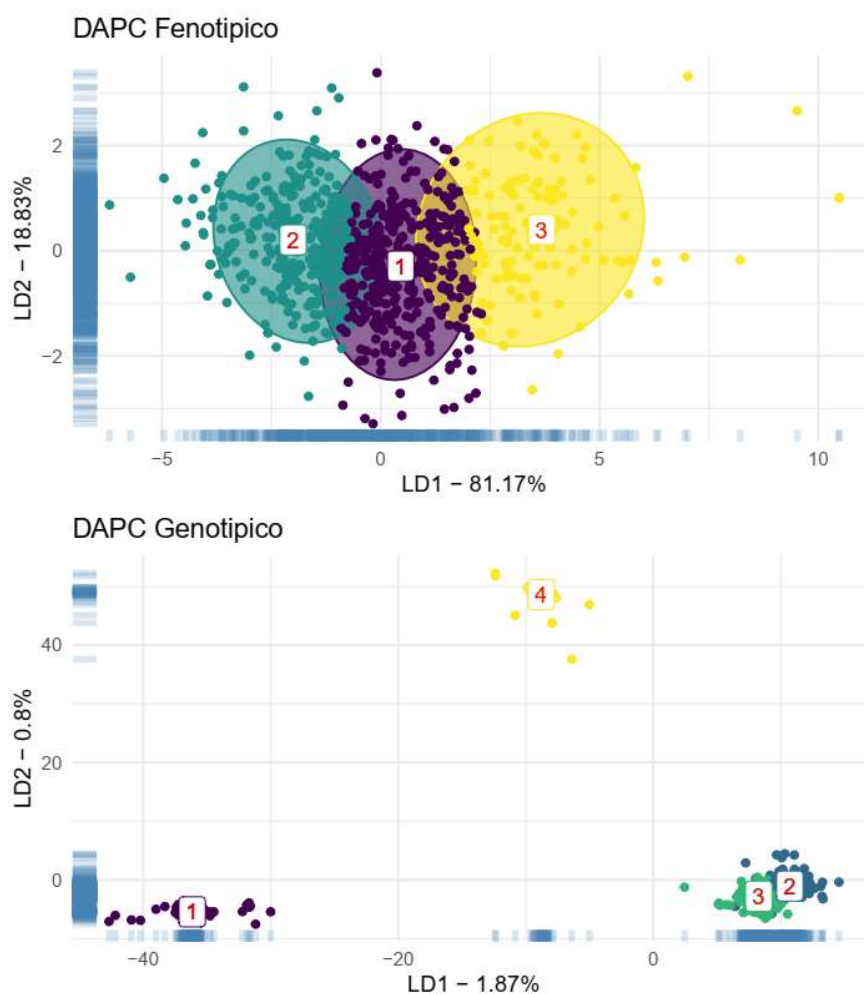


Figura 2. Análise discriminante de componentes principais (DAPC) dos dados fenotípicos relacionados a resistência à antracnose (Anth), mancha branca (WhLs), mancha parda (BrLs) e queima das folhas (BILs) e dados genotípicos (SNPs) em 837 genótipos de mandioca provenientes do banco ativo de germoplasma da Embrapa mandioca e Fruticultura.

3.3. Desequilíbrio de ligação

Foram utilizados um total de 16.790 SNPs (média de 932,7 SNPs por cromossomo) na análise de desequilíbrio de ligação (LD), utilizando as correlações ao quadrado da frequência dos alelos (r^2). A média geral de r^2 foi de 0,027, variando de 0,00 a 0,9996. O decaimento de LD demonstrou variações a nível cromossômico, apresentando uma média de 1,82% dos pares de SNPs com $r^2 >$ que 0,20 por cromossomo. O cromossomo de número 18 apresentou a maior porcentagem de

SNPs em LD, com 2,99% dos pares de SNPs com $r^2 > 0,20$. Em contraste, os cromossomos 4 e 5 exibiram as menores porcentagens, com 1,07% e 1,15%, respectivamente. As estimativas médias de r^2 por cromossomo variaram de 0,021 (cromossomo 10) a 0,036 (cromossomo 18).

O padrão de decaimento de LD, baseado na distância física (kb) entre SNPs, foi analisado considerando todos os 18 cromossomos da mandioca. A distribuição do LD indicou um rápido decaimento de LD com o aumento da distância física entre os loci. A distância média de decaimento do LD foi de cerca de 500.000 pb para pares de loci com $r^2 > 0,05$ em todo o genoma (Figura 3). Adicionalmente, 98,17% dos valores de r^2 foram inferiores a 0,2, enquanto apenas 0,59% excederam 0,5. O decaimento de LD também foi avaliado como a variação do valor médio de r^2 ao longo das distâncias entre os SNPs para cada cromossomo.

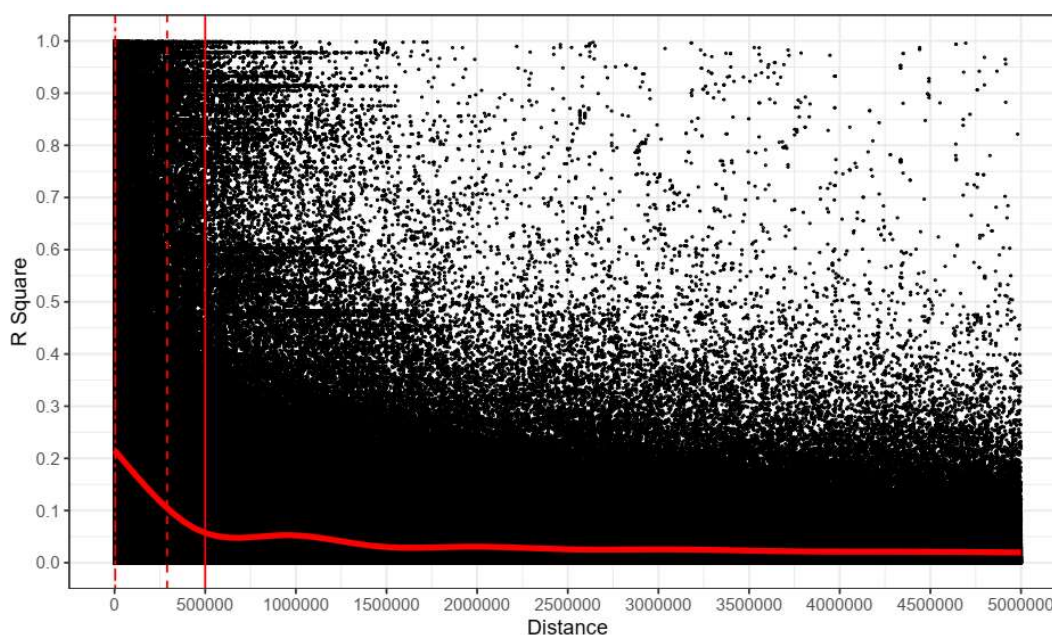


Figura 3. Decaimento do desequilíbrio de ligação entre pares de marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) em função da distância física em pares de bases (pb), com base na análise de 18 cromossomos na cultura da mandioca.

3.4. Mapeamento associativo

Com base na GWAS de 16.790 SNPs distribuídos em 18 cromossomos de mandioca, foram identificados marcadores significativos pelo modelo GLM para algumas doenças após a correção de Bonferroni ($p < 0,05$). Nos demais modelos

(FarmCPU, MLM e CMLM), não foram encontrados SNPs significativos para nenhuma das quatro doenças em estudo. De acordo com os gráficos de Manhattan foram identificados cinco SNPs significativos com efeitos aditivos para a resistência à antracnose, mancha branca e queima das folhas (Figura 4).

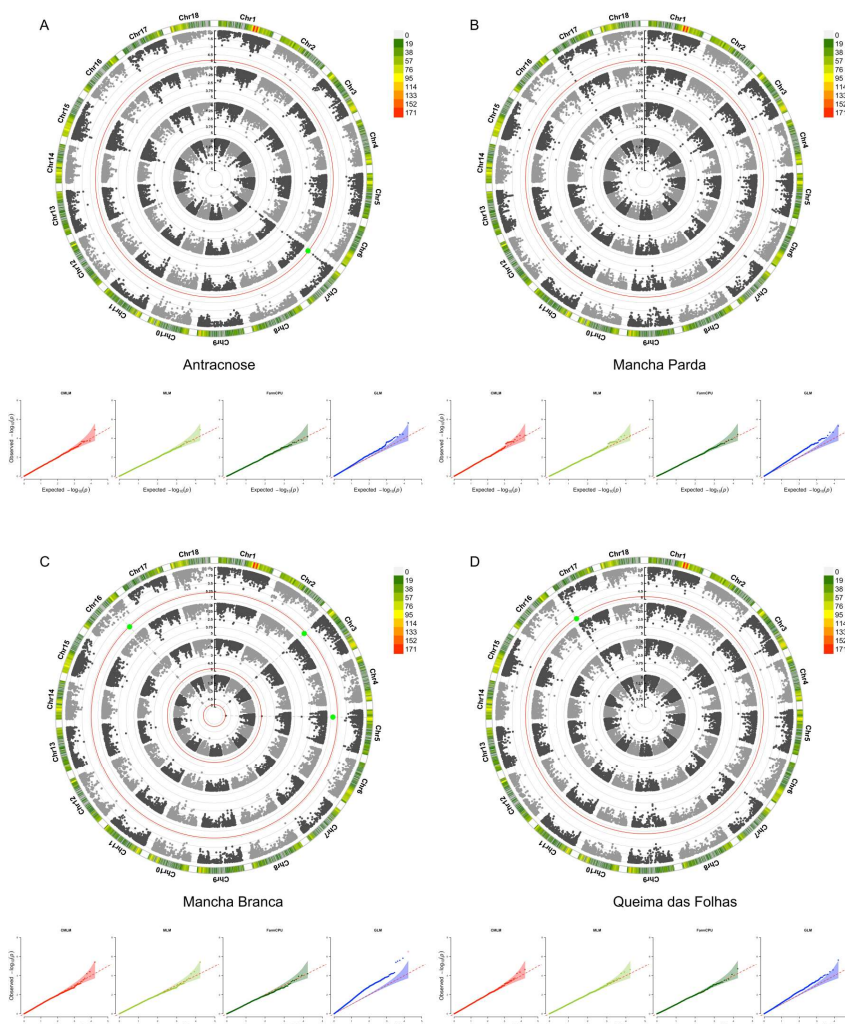


Figura 4. Gráfico circular de Manhattan plot indicando *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) associados à resistência a antracnose (A), mancha parda (B), mancha branca (C) e queima das folhas (D) pelos modelos CMLM, MLM, FarmCPU, e GLM, de dentro para fora do círculo, respectivamente. A linha vermelha pontilhada indica o valor do threshold (limite) para declarar associação significativa, de acordo com a correção de Bonferroni ($p < 0,05$).

Os SNPs associados à resistência à antracnose foram localizados no cromossomo 7 na posição (S7-1197325), com uma variância fenotípica de 7,07% e

um p-valor de 5,61 (Figura 4). O SNP S7-1197325 está posicionado no gene Manes.07G011900.1, descrito como "*Sec31-related protein*" (Tabela 1). No caso da resistência à mancha branca foram identificados três SNPs localizados em cromossomos distintos (3, 5 e 16) (Figura 4). Os SNPs significativos explicaram variâncias fenotípicas de 1,41%, 3,57% e 1,56%, com p-valores de 5,83, 6,52 e 6,07, respectivamente. Os SNPs significativos associados à mancha branca foram encontrados nas posições (S3-421126), (S5-5050172) e (S16-20450490), cuja localização coincide com os genes "*cyclic nucleotide-gated ion channel 14-related*", "*cw-type zinc-finger protein*" e "*transcriptional corepressor leunig*" (Tabela 1), correspondentes aos genes Manes.03G005100.1, Manes.05G066000.1 e Manes.16G063800.1, respectivamente. Para a queima das folhas, foi identificado apenas um SNP significativo localizado no cromossomo 17, posição (S17-944736) (Figura 4), com uma variância fenotípica de 6,82% e um p-valor de 5,63. Este SNP está localizado no gene Manes.17G003000.1, descrito como "*Amino acid transporter*" (Tabela 1).

Com base nos SNPs significativos identificados para as manchas foliares verificou-se seus efeitos com base nos possíveis genótipos, sendo 0: homozigoto para o alelo de referência, 1: heterozigoto, e 2: homozigoto para o alelo alternativo. O SNP S7-1197325 para resistência à antracnose apresentou efeitos aditivos (aumento da regressão linear) com valor de 0,31 na substituição alélica, referente a resistência a doença da antracnose na cultura da mandioca (Figura 5). No caso da resistência a mancha branca, os SNPs S3-421126, S5-5050172 e S16-20450490, também apresentaram efeito aditivo (aumento da regressão linear) com valores referentes à 0,18, 0,21, e 0,20 na substituição alélica, respectivamente. Para queima das folhas o SNP S17-944736 apresentou efeito aditivo (redução da regressão linear) com valor de 0,17 na substituição alélica de referência (Figura 5).

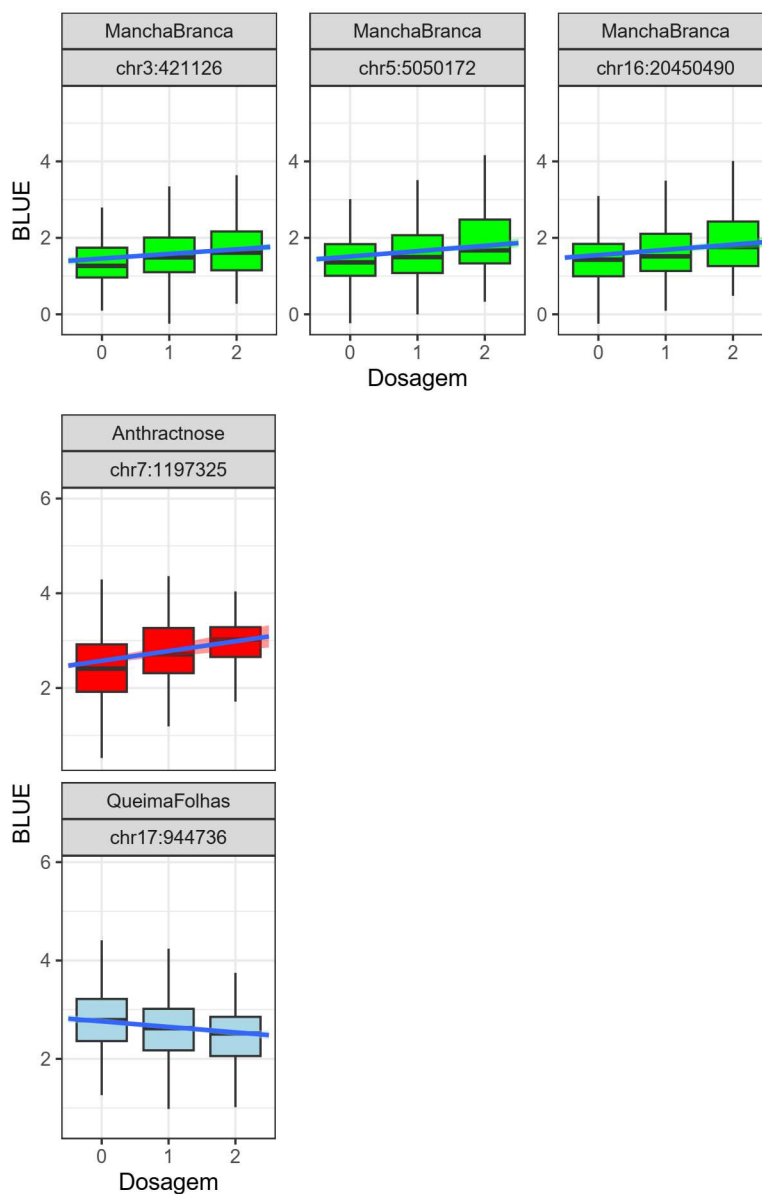


Figura 5. Box plots referente aos diferentes tipos de efeitos dos *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) significativos para antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas na cultura da mandioca para os marcadores chr7:1197325; chr3:421126; chr5:5050172; chr16:20450490 e chr17: 944736; respectivamente.

Tabela 1. Relação de marcadores *single-nucleotide polymorphism* (SNP) com associação marcador-característica corrigidos pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$) para resistência à antracnose (Anth); mancha branca (WhLs); mancha parda (BrLs) e queima das folhas (BILs) na cultura da mandioca.

Característica	Modelo	Efeitos	SNP	Cromosomo	P-valor (-log10)	Transcrito	Descrição	Função
Antracnose	GLM	Add	S7 - 1197325	7	5,61	Manes.07G011900.1	Sec31-related protein	WD40-repeat-containing domain
Mancha Branca	GLM	Add	S3 - 421126	3	5,83	Manes.03G005100.1	Cyclic nucleotide-gated ion channel 14-related	Cyclic nucleotide-binding domain
Mancha Branca	GLM	Add	S5 - 5050172	5	6,52	Manes.05G066000.1	Cw-type zinc-finger protein	Zinc finger, RING/FYVE/PHD-type
Mancha Branca	GLM	Add	S16 - 20450490	16	5,60	Manes.16G063800.1	Transcriptional corepressor leunig	WD40-repeat-containing domain
Queima das Folhas	GLM	Add	S17 - 944736	17	5,63	Manes.17G003000.1	Amino acid transporter	Amino acid/polyamine transporter I

4. DISCUSSÃO

4.1. Correlações e agrupamento dos genótipos com base nos dados fenotípicos e genotípicos de resistência a doenças

A seleção de fontes de resistência é uma etapa fundamental para o manejo efetivo das manchas foliares da cultura da mandioca. Entretanto, para que os programas de melhoramento obtenham sucesso, além da disponibilidade de fontes de resistência, é fundamental conhecer a complexidade da herança da resistência, além de dispor de processos eficientes de seleção dentro do melhoramento (BROWN, 2015), que se baseiam em parâmetros genéticos e correlações que podem indicar estratégias de seleção mais eficientes.

Ao avaliar o desempenho dos genótipos de mandioca por dois ciclos de produção em área inoculada artificialmente, observou-se que a severidade das manchas foliares apresentou correlação positiva de magnitudes moderadas e altas entre as quatro manchas. As correlações da resistência a antracnose × mancha branca, mancha parda e queima das folhas (variação entre 0,549 e 0,589), e entre resistência à mancha branca × mancha parda e queima das folhas (0,656 e 0,665, respectivamente) foram de moderada magnitude. A maior correlação foi observada entre a resistência à mancha parda × queima das folhas (0,96).

Essa elevada correlação pode surgir devido ao desequilíbrio de ligação ou pleiotropia (quando um único gene apresenta múltiplos efeitos biológicos não relacionados ou regulação compartilhada de múltiplos genes) (CHEN e LÜBBERSTEDT 2010). Tanto a pleiotropia quanto o desequilíbrio de ligação contribuem para a existência de relações complexas observadas entre diferentes características, destacando a natureza complexa das interações genéticas e seus efeitos nas correlações de características (NANDUDU et al., 2024).

Estudos em outras culturas tem demonstrado correlações entre a resistência a diferentes doenças. Nganga et al. (2022), avaliaram a resistência a doenças foliares na cultura do arroz cultivado no Quênia, os autores verificaram que brusone (*Magnaporthe grisea*) apresentou correlação de alta magnitude (0,96) nos diferentes locais de produção de arroz (Busia e Kisumu (ocidental) e no condado de Kirinyaga (central). Quando comparado com a mancha marrom das folhas que apresentou correlação de magnitude moderada (0,49). Esses resultados se assemelham aos encontrados no presente estudo, onde a mancha

parda e queima das folhas apresentaram altos valores de correlação, enquanto as demais apresentaram valores moderados para incidência dos acessos avaliados no presente estudo.

A DAPC dos dados fenotípicos de resistência as manchas foliares, explicou 100% da variância dos dados, embora com elevada sobreposição entre os genótipos dos três grupos identificados com base nestes dados. Para os dados genotípicos apenas 1,57% da variância genética foi captada no agrupamento DAPC dos 837 genótipos de mandioca em quatro grupos distintos. Apesar disso, os agrupamentos ficaram bastante dispersos no gráfico, indicando elevada variabilidade genotípica entre eles, com base nos marcadores SNPs. O alto número de SNPs analisados (16,790) em comparação com apenas quatro características fenotípicas (resistência às quatro doenças) pode ter contribuído para explicar a maior captação de variabilidade com base nos marcadores moleculares.

Marcadores SNPs permitem capturar variações em todo o genoma, oferecendo uma visão abrangente das diferenças genéticas entre os indivíduos. Isso contrasta com características fenotípicas, que muitas vezes são limitadas em número e podem ser influenciadas por fatores ambientais, levando a uma menor capacidade de distinção entre os genótipos (FADASON et al., 2022). Estudos anteriores mostraram que o uso de dados genômicos, especialmente quando em alta densidade, proporciona uma resolução superior em análises de agrupamento genético, devido à sua capacidade de captar tanto a variação genética entre populações quanto a diversidade genética dentro de populações específicas (ROMERO NAVARRO et al., 2017). Além disso, os dados genéticos permitem uma análise mais robusta, uma vez que capturam múltiplas regiões do genoma e não são limitados à expressão de características específicas que podem ou não ser manifestadas devido a variações ambientais (ABDELLAOUI et al., 2022). Essa abordagem tem sido especialmente útil em estudos de genética de populações, onde a identificação de estruturas populacionais e a correlação com variações fenotípicas são fundamentais (RAJ et al., 2014; FRICHOT et al., 2013).

O melhor agrupamento proporcionado pelos dados genômicos também pode ser analisada pela capacidade destes dados em refletir a história evolutiva e os processos de seleção que moldaram os genótipos analisados (CROSSA et

al., 2017). Em contraste, os caracteres fenotípicos podem não refletir adequadamente a divergência genética, especialmente quando as características são controladas por múltiplos loci ou estão sujeitos a efeitos pleiotrópicos e epistáticos (WÜRSCHUM et al., 2012).

A ampla diversidade molecular presente no germoplasma deve ser utilizada para auxiliar os programas de melhoramento na seleção de genótipos que possam ampliar a base genética e, conseqüentemente, desenvolver variedades que possam ser resistentes a doenças e ao mesmo tempo serem portadores de características agrônômicas produtivas compatíveis com as expectativas dos agricultores (SIVAN et al., 2023).

4.2. Desequilíbrio de ligação dos SNPs

O desequilíbrio de ligação (LD) é avaliado por meio das associações não aleatórias entre pares de SNPs, cujos parâmetro r^2 tem sido um dos mais utilizados para determinação da significância do LD (FLINT-GARCIA et al., 2003; MANGIN et al., 2011; LIPKA et al., 2015). O decaimento do LD nos genótipos de mandioca ocorreu rapidamente com o aumento da distância física entre os loci no genoma (sendo ~200 kb com $r^2 = 0,20$ e ~500 kb com $r^2 = 0,05$). Em outros estudos em mandioca no germoplasma brasileiro LD apresentou variação de 15 a 20 kb com $r^2 = 0,20$ avaliando o germoplasma de mandioca brasileiro (BRITO et al., 2017).

O LD pode diferir entre populações da mesma espécie e é influenciada pelo tamanho e complexibilidade do genoma, padrões de recombinação, estrutura populacional e processos de reprodução (WÜRSCHUM et al. al. 2013). Em linhas endogâmicas de milho as populações apresentaram decaimento LD em intervalo de 100-500 pares de base (bp) (CHING et al., 2002). Já na cultura do arroz o decaimento do LD em variedades de clima temperado ocorreu a mais de 500 bp, enquanto em variedades oriundas de regiões tropicais ocorreu a ~150 bp (MATHER et al., 2007).

Processos de seleção e domesticação podem interferir fortemente no comportamento do LD (SANTOS et al., 2021) e de modo geral, a determinação da magnitude do LD é de extrema importância, uma vez que estas informações estabelecem o número mínimo de SNPs necessários para diversos estudos, incluindo estudos de associação e seleção assistida por marcadores

moleculares (GRENIER et al., 2015). As variações nos resultados de LD estão diretamente relacionadas à complexidade e ao tamanho do genoma da espécie, ao sistema reprodutivo e à quantidade de marcadores utilizados, que são cruciais para capturar com maior precisão todas as variações genéticas existentes. Além disso, fatores como deriva genética, estrutura populacional e seleção também podem influenciar a extensão do LD (ALBUQUERQUE et al., 2018).

Espécies propagadas vegetativamente, como é o caso da mandioca, apresentam um número limitado de eventos de recombinação, resultando em um decaimento mais lento do LD (VOS et al., 2017). De acordo com Albuquerque et al. (2018) o LD em genótipos de mandioca apresentou um decaimento entre 15 e 20 kb com $r^2 = 0,20$, que foi inferior ao detectado no presente estudo. Em comparação com espécies alógamas, como o milho, o decaimento do LD decai em distâncias geralmente inferiores a 1 kb considerando um $r^2 = 0,20$ (ROMAY et al., 2013), enquanto que em espécies autógamas como a soja, o decaimento do LD está em torno de 500 a 1000 kb com $r^2 = 0,20$ (ZHOU et al., 2015, BANDILLO et al., 2015).

4.3. Mapeamento de características associadas as manchas foliares na cultura da mandioca

Com base na análise do modelo GLM da GWAS, foram identificados cinco SNPs significativos para todas as manchas foliares avaliadas, exceto para mancha parda. Estes SNPs significativos foram localizados em regiões gênicas com funções proteicas já descritas, com atuação nos mecanismos de defesa da planta contra estresses bióticos e abióticos. A identificação desses genes subjacentes a QTL envolvidos na resistência a doenças da parte aérea da mandioca, possibilita implementação da seleção assistida por marcadores (MAS) em busca dos genótipos mais resistentes em populações melhoradas (WILLE et al., 2018).

O Manes. 07G011900.1, ligado ao marcador S7-1197325 e descrito como “*Sec31-related protein*” contém repetições WD40 envolvidas em interações proteína × proteína ou proteína × DNA, cujas funções estão relacionadas à estruturação, montagem ou regulação de complexos poliproteicos ativos (STIRNIMANN et al., 2010; XU e MIN, 2011). As “*Sec31-related protein*” estão associadas a diversos processos biológicos, como tradução de sinal, regulação

de transcrição, modificação da cromatina, resposta a danos, biogênese do RNA ribossômico, montagem de citoesqueleto, controle do ciclo celular e apoptose (XU e MIN, 2011; TAN et al., 2021), além de estarem envolvidas na tolerância a determinados tipos de estresses (TAN et al., 2021), a exemplo do seu papel no acúmulo de óxido nítrico e fechamento dos estômatos sob estresse hídrico em *Arabidopsis* (LIU et al., 2017), bem como na regulação de resposta a estresses salinos e osmótico na cultura do trigo (KONG et al., 2015).

O SNP S3-421126 presente no Manes. 03G005100.1 está associado à “*Cyclic nucleotide-gated ion channel 14-related*” que possui importante papel nas vias de sinalização de plantas, nos processos de crescimento e desenvolvimento, bem como em respostas a vários estresses como moléculas de sinalização de processos fisiológicos fundamentais para respostas a estressores. Também funciona como transportador de cálcio para dentro das células fornecendo um modelo catiônico para produção de óxido nítrico (NO) induzindo resposta imune da planta a patógenos (DUSZYN et al., 2019). A “*Cyclic nucleotide-gated ion channel 14-related*” foi descrita em trabalhos com foco na interação planta × patógeno em trigo (GUO et al., 2018), além da associação com genes relacionados a estresses hormonais, bióticos e abióticos em arroz (NAWAZ et al., 2014)

O SNP S5-5050172, associado ao Manes.05G066000.1 é descrito como “*cw-type zinc-finger protein*” que possui uma grande diversificação de funções biológicas associadas à ligação de proteínas ao DNA/RNA, e a fatores de crescimento, desenvolvimento e estresses abióticos, apresentando domínio estrutural altamente resistente. A função de ligação do DNA dessa classe de proteínas (rica em leucina) determina uma função reguladora em condições de estresse. As proteínas se ligam aos ácidos nucleicos para função ou participação no processo de regulação transcricional ou translacional, a presença dessas proteínas foi relatada em genes de resistência a doenças em diversas culturas como batata, arroz e *Arabidopsis* (HAN et al., 2021). Além disso, estudos recentes reportaram que a “*cw-type zinc-finger protein*” pode estar ligada a diferentes vias de sinalização, atuando na resistência da planta contra fatores abióticos na cultura do pepino (CHEN et al., 2020).

O SNP S16-20450490, identificado no Manes.16G063800 está associado ao “*Transcriptional corepressor leunig*” que também contém repetição WD40

predominantes em eucariontes e que tem como função básica servir como sustentação para interações proteínas $\times$ DNA. As proteínas contendo WD40 estão envolvidas nos mecanismos fundamentais, como tradução de sinal, modificação da cromatina e regulação da transcrição, estando também envolvidos em uma ampla variedade de processos vegetais, como por exemplo, divisão celular, sinalização luminosa, desenvolvimento floral, imunidade inata e metabolismo secundário (HU et al., 2017). As proteínas WR40 também estão envolvidas em uma gama de processos celulares, que vão desde respostas de defesa ao metabolismo secundário e tolerância ao estresse abiótico (GUERRIERO et al., 2015; MILLER et al., 2016), até em vias de crescimento e desenvolvimento, além de respostas a estresses abióticos (HU et al., 2018).

O Manes.17G003000.1 descrito por "*Amino acid transporter*" foi colocalizado com o SNP S17-944736. Este gene tem função geral nas plantas, já que o transporte de aminoácido tanto intracelular como para locais distantes é regulado através do sistema de transporte do xilema e floema (GONG e MASCLAUX-DAUBRASSE, 2018). Além de auxiliar no crescimento dos órgãos vegetais, os aminoácidos têm importância no transporte de nutrientes através dos compartimentos subcelulares, como os cloroplastos, vacúolo, peroxissomo e mitocôndrias, ajudando assim a manutenção do pool de nitrogênio orgânico de forma geral (DINKELLOO et al., 2018). Além disso, os "*Amino Acid Transporters*" são responsáveis pela síntese de compostos relacionados à atividades de defesa das plantas (TROVATO et al., 2021). Muitos compostos defensivos vegetais são derivados da atividade dos genes codificadores desses transportadores. Um exemplo são os glucosinolatos, metabolitos secundários comumente encontrados em Brassicales, que são essenciais para a defesa da planta contra patógenos (ZEIER, 2013). Portanto, o metabolismo de aminoácidos é essencial para a biossíntese de muitos compostos que achem no sistema de defesa das plantas (YUE et al., 2021).

Apesar da maioria das análises com base na GWAS serem realizadas levando em conta apenas efeitos aditivos, os efeitos de dominância e sobredominância, também desempenham papéis importantes na expressão de algumas características (TAN e INGVARSSON, 2022). Entretanto, os cinco SNPs significativos encontrados nesse estudo apresentaram predominantemente efeitos aditivos. Relatos em mandioca mencionam a

identificação de efeitos aditivos para características de qualidade de raízes, a exemplo do teor de matéria seca nas raízes (MBANJO et al., 2021)

Ewa et al. (2021) utilizaram marcadores SNPs com o objetivo de identificar QTLs relacionados a características produtivas e de resistência a doenças em ambientes de estresse hídrico, identificou três QTLs com efeitos aditivos para altura das plantas localizados nos cromossomos 1, 3 e 7, explicando uma variação fenotípica que variou de 4,5% a 8,0%. Para retenção foliar, dois QTLs situados nos cromossomos 6 e 21 foram identificados, sendo que o QTL localizado no cromossomo 6 apresentou efeito aditivo, enquanto o QTL no cromossomo 21 apresentou ação dominante. No caso da resistência ao mosaico da mandioca (CMD), os pesquisadores identificaram três QTLs com efeitos aditivos localizados nos cromossomos 2, 5 e 6. Outra doença de grande importância agrônômica em mandioca (*Cassava Brown Streak Disease* – CBSD) também apresentou efeito aditivo para resistência presente nos parentais Namikonga (resistente) e Albert (suscetível). Os efeitos aditivos do parental resistente reduziu o score do CBSD nas progênies avaliadas. Portanto, esses SNPs de ação aditiva identificados em mandioca para resistência a diversas doenças indicam que o uso abordagens de melhoramento genético que utilizem autofecundação e seleção recorrente podem ser mais adequadas para aumentar as frequências alélicas dessas características desejáveis.

Uma exceção às doenças avaliadas foi a mancha parda, na qual não foi possível identificar nenhum SNPs significativos, independentemente dos modelos GWAS testados. Mesmo com a adoção de inoculações artificiais para homogeneizar a distribuição dos patógenos na área, as complexas interações no campo podem não refletir bem o fenótipo desejado, e com isso impedir a detecção de efeitos genéticos via mapeamento associativo. No futuro, espera-se implementar plataformas de fenotipagem em condições controladas para mancha parda na tentativa de reduzir os efeitos ambientais e com isso obter fenótipos mais adequados para a identificação de QTLs associados ao caráter.

A necessidade de variedades de mandioca com resistência a múltiplos patógenos é cada vez mais importante para a segurança alimentar e desenvolvimento econômico (BRITO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017). As manchas foliares que afetam a cultura são comuns em áreas de cultivo de mandioca, entretanto, pouco se sabe sobre elas e com isso há a necessidade de

informações sobre seus agentes patogênicos, epidemiológicos e métodos de controle (REDDY, 2015; COSTA et al., 2020). Uma vez identificada às fontes de resistência, é indispensável o estabelecimento de estratégias que permitam o acúmulo gradual de alelos favoráveis que possam controlar a resistência as manchas foliares. Contudo, qualquer metodologia inovadora para captação da resistência a doenças precisa estar dentro de um contexto genético que venham a atender as características agronômicas de interesse (SUMMERS e BROWN, 2013). A detecção de elevada variabilidade genotípica no germoplasma de mandioca e a predominância dos efeitos aditivos dos QTLs para resistência a antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas podem vir a contribuir para seleção de genes candidatos e utilização de ferramentas de seleção assistida visando otimizar os ganhos genéticos nos programas de melhoramento da espécie.

5. CONCLUSÃO

Apesar da maior variabilidade molecular (baseada em SNPs) em comparação com a variação fenotípica para resistência à antracnose, mancha branca, mancha parda e queima das folhas, foi possível identificar QTLs associados à resistência.

O estudo GWAS permitiu o entendimento de alguns mecanismos de resistência as manchas foliares em mandioca além de fornecer perspectivas para estudos de análise funcional, identificação e anotações de novos genes relacionados aos QTLs identificados. Um total de cinco genes candidatos foram identificados, e a validação dos mesmos possibilitará a utilização de marcadores moleculares funcionais associadas a resistência para posterior *screening* de germoplasma e de populações segregantes para identificação de clones promissores quanto a resistência as principais manchas foliares que acometem a cultura da mandioca.

Embora a elevada correlação entre as doenças, indique a possibilidade de haver genes de resistência em comum, nossos resultados identificaram QTLs em distintos cromossomos, a exemplo do cromossomo 7 para resistência a antracnose; cromossomos 3, 5 e 16 para resistência a mancha branca e cromossomo 17 para resistência a queima das folhas. Mesmo com elevada correlação entre mancha parda × queima das folhas (0,96), não foi possível

identificar nenhum QTL para a mancha parda, o que indica a necessidade de aperfeiçoar a fenotipagem para melhor captação dos efeitos genéticos associados a essa característica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELLAOUI, A., DOLAN, C. V., VERWEIJ, K. J., NIVARD, M. G. Gene–environment correlations across geographic regions affect genome-wide association studies. **Nature genetics**, v. 54, n. 9, p. 1345-1354, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01158-0>

AISYAH, S. N., HASBIYALLAH, M. S., HUZAENI, A., TRISNAWATI, D. W., NURKOMAR, I. JAMSARI, J. Survey of cassava anthracnose disease occurrence in various local cultivars of cassava cultivated in Regency of Gunungkidul, special region of Yogyakarta. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. P. 012-051, 2021 <https://doi.org/10.1088/1755-1315/752/1/012051>

ALBUQUERQUE, H. Y. G. D., OLIVEIRA, E. J. D., BRITO, A. C., ANDRADE, L. R. B. D., CARMO, C. D. D., MORGANTE, C. V. FALEIRO, F. G. Identification of duplicates in cassava germplasm banks based on single-nucleotide polymorphisms (SNPs). **Scientia Agricola**, v. 76, p. 328-336, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2017-0389>

ALBUQUERQUE, H. Y. G., CARMO, C. D. D., BRITO, A. C., OLIVEIRA, E. J. D. Genetic diversity of *Manihot esculenta* Crantz germplasm based on single-nucleotide polymorphism markers. **Annals of applied biology**, v. 173, n. 3, p. 271-284, 2018. <https://doi.org/10.1111/aab.12460>

BEUGIN, M. P., GAYET, T., PONTIER, D., DEVILLARD, S., JOMBART, T. A fast likelihood solution to the genetic clustering problem. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 4, p. 1006-1016, 2018. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12968>

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.

<https://doi.org/10.1007/s10681-016-1676-4>

BRADBURY, P. J.; ZHANG, Z.; KROON, D. E.; CASSTEVENS, T. M.; RAMDOSS, Y.; BUCKLER, E. S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics Applications Note**, v. 23, p. 2633–2635, 2007. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>

BREDESON, J. V., LYONS, J. B., PROCHNIK, S. E., WU, G. A., HA, C. M., EDSINGER-GONZALES, E., ROKHSAR, D. S. Sequencing wild and cultivated cassava and related species reveals extensive interspecific hybridization and genetic diversity. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 5, p. 562-570, 2016. <https://doi.org/10.1038/nbt.3535>

BRITO, A. C., OLIVEIRA, S. A. S., & OLIVEIRA, E. J. Genome-wide association study for resistance to cassava root rot. **The Journal of Agricultural Science**, v. 155, n. 9, p. 1424-1441, 2017. <https://doi.org/10.1017/s0021859617000612>

BROWN, J.K.M. Durable resistance of crops to disease: a Darwinian perspective. **Annual Review of Phytopathology**, v.53, p.513-539, 2015 <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914>

CHAGNÉ, D., BATLEY, J., EDWARDS, D., FORSTER, J. W. Single nucleotide polymorphism genotyping in plants. In: Association mapping in plants. **Springer, New York**, NY, p. 77-94. 2007. https://doi.org/10.1007/978-0-387-36011-9_5

CHEN, Y., & LÜBBERSTEDT, T. Molecular basis of trait correlations. **Trends in plant science**, v. 15, n. 8, p. 454-461, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.plants.2010.05.004>

CHEN, Y., WANG, G., PAN, J., WEN, H., DU, H., SUN, J., PAN, J. Comprehensive genomic analysis and expression profiling of the C2H2 zinc finger protein family under abiotic stresses in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Genes**, v. 11, n. 2, p. 171, 2020. <https://doi.org/10.3390/genes11020171>

CHING, A. D. A., CALDWELL, K. S., JUNG, M., DOLAN, M., S (HOWIE) SMITH, O., TINGEY, S., RAFALSKI, A. J SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. **BMC genetics**, v. 3, p. 1-14, 2002.

<https://doi.org/10.1186/1471-2156-3-19>

COSTA, G. A., FREITAS-LOPES, R. L., LINO, J. B., JULIÃO, E. C., MICHEREFF, S. J., LOPES, U. P. An efficient method for inducing sporulation of cercosporoid fungal species causing leaf spots in cassava. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 1, p. 201-204, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00404-5>

CROSSA, J., PÉREZ-RODRÍGUEZ, P., CUEVAS, J., MONTESINOS-LÓPEZ, O., JARQUÍN, D., DE LOS CAMPOS, G., VARSHNEY, R. K. Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. **Trends in plant science**, v. 22, n. 11, p. 961-975, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.011>

DINKELOO, K., BOYD, S., & PILOT, G. Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants. In: Seminars in cell & developmental biology. **Academic Press**, p.105-113, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.07.010>

DUSZYN, M., ŚWIEŻAWSKA, B., SZMIDT-JAWORSKA, A., JAWORSKI, K. Cyclic nucleotide gated channels (CNGCs) in plant signalling—Current knowledge and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 241, p. 153035, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153035>

ELSHIRE, R. J.; GLAUBITZ, J. C.; SUN, Q.; POLAND, J. A.; KAWAMOTO, K.; BUCKLER, E. S.; MITCHELL, S. E. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **Plos One**, v. 6, p. 1-10, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>

EWA, F., ASIWE, J. N., OKOGBENIN, E., OGBONNA, A. C., EGESI, C. KASPar SNP genetic map of cassava for QTL discovery of productivity traits in moderate drought stress environment in Africa. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 11268, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90131-8>

FADASON, T., FARROW, S., GOKULADHAS, S., GOLOVINA, E., NYAGA, D., O'SULLIVAN, J. M., SCHIERDING, W. Assigning function to SNPs: considerations when interpreting genetic variation. In: **Seminars in Cell & Developmental Biology**. v. 121, p. 135-142 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.semcd.2021.08.008>

FLINT-GARCIA, S. A., THORNSBERRY, J. M., & BUCKLER IV, E. S. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annual review of plant biology**, v. 54, n. 1, p. 357-374, 2003. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134907>

FREITAS, J. P. X., DINIZ, R. P., DE OLIVEIRA, S. A. S., DA SILVA SANTOS, V., DE OLIVEIRA, E. J. Inbreeding depression for severity caused by leaf diseases in cassava. **Euphytica**, v. 213, p. 1-12, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1995-0>

FRICHOT, E., SCHOVILLE, S. D., BOUCHARD, G., FRANÇOIS, O. Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 7, p. 1687-1699, 2013. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst063>

GONG T, M., & MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. **New phytologist**, v. 217, n. 1, p. 35-53, 2018. <https://doi.org/10.1111/nph.14876>

GOODSTEIN, D. M.; SHU, S.; HOWSON, R.; NEUPANE, R.; HAYES, R. D.; FAZO, J.; MITROS, T.; DIRKS, W.; HELLSTEN, U.; PUTNAM, N.; ROKHSAR, D. S. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. **Nucleic Acids Research**, v. 40, p.1178–1186, 2012. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>

GRENIER, C., CAO, T. V., OSPINA, Y., QUINTERO, C., CHÂTEL, M. H., TOHME, J., AHMADI, N. Accuracy of genomic selection in a rice synthetic population developed for recurrent selection breeding. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0136594, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136594>

GUERRIERO, G., HAUSMAN, J. F., EZCURRA, I. WD40-repeat proteins in plant cell wall formation: Current evidence and research prospects. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 1112, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01112>

GUO, J., ISLAM, M. A., LIN, H., JI, C., DUAN, Y., LIU, P., GUO, J. Genome-wide identification of cyclic nucleotide-gated ion channel gene family in wheat and functional analyses of TaCNGC14 and TaCNGC16. **Frontiers in Plant Science**,

v. 9, p. 18, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00018>

HAN, G., QIAO, Z., LI, Y., WANG, C. WANG, B. The roles of CCCH zinc-finger proteins in plant abiotic stress tolerance. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 15, p. 8327, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22158327>

HU, R., XIAO, J., GU, T., YU, X., ZHANG, Y., CHANG, J., HE, G. Genome-wide identification and analysis of WD40 proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.). **BMC genomics**, v. 19, p. 1-13, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5157-0>

HU, X. J., LI, T., WANG, Y., XIONG, Y., WU, X. H., ZHANG, D. L., WU, Y. D. Prokaryotic and highly-repetitive WD40 proteins: A systematic study. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 10585, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11115-1>

JOMBART, T., DEVILLARD, S., BALLOUX, F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. **BMC genetics**, v. 11, p. 1-15, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>

KAYONDO, S. I., DEL CARPIO, D. P., LOZANO, R., OZIMATI, A., WOLFE, M., BAGUMA, Y., JANNINK, J. L. Genome-wide association mapping and genomic prediction for CBSD resistance in *Manihot esculenta*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19696-1>

KONG, D., LI, M., DONG, Z., JI, H., LI, X. Identification of TaWD40D, a wheat WD40 repeat-containing protein that is associated with plant tolerance to abiotic stresses. **Plant cell reports**, v. 34, p. 395-410, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00299-014-1717-1>

KORTE, A., & FARLOW, A. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. **Plant methods**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2013. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-29>

LIPKA, A. E., KANDIANIS, C. B., HUDSON, M. E., YU, J., DRNEVICH, J., BRADBURY, P. J., GORE, M. A. From association to prediction: statistical methods for the dissection and selection of complex traits in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 24, p. 110-118, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.02.010>

LIU Z, BRAUN U, CROUS PW, SI J, ZHANG Y. Taxonomy and phylogeny of cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) from China. **Phytotaxa**. v. 278, n. 3, p. 212–224, 2016. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.278.3.2>

LIU, W. C., LI, Y. H., YUAN, H. M., ZHANG, B. L., ZHAI, S., LU, Y. T. WD40-REPEAT 5a functions in drought stress tolerance by regulating nitric oxide accumulation in *Arabidopsis*. **Plant, cell & environment**, v. 40, n. 4, p. 543-552, 2017. <https://doi.org/10.1111/pce.12723>

MANGIN, B., SIBERCHICOT, A., NICOLAS, S., DOLIGEZ, A., THIS, P., CIERCO-AYROLLES, C. Novel measures of linkage disequilibrium that correct the bias due to population structure and relatedness. **Heredity**, v. 108, n. 3, p. 285-291, 2012. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.73>

MASSOLA N.S, BEDENDO I.P, OLIVEIRA S.A.S, AMORIM L, REZENDE J.A.M, BERGAMIN FILHO A, CAMARGO L.E.A. **Doenças da Mandioca. (eds) Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. Agronômica Ceres, Ouro Fino, p 515–522, 2016.

MATHER, K. A., CAICEDO, A. L., POLATO, N. R., OLSEN, K. M., MCCOUCH, S., PURUGGANAN, M. D. The extent of linkage disequilibrium in rice (*Oryza sativa* L.). **Genetics**, v. 177, n. 4, p. 2223-2232, 2007. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.079616>

MBANJO, E. G. N., RABBI, I. Y., FERGUSON, M. E., KAYONDO, S. I., ENG, N. H., TRIPATHI, L., EGESI, C. Technological innovations for improving cassava production in sub-Saharan Africa. **Frontiers in genetics**, v. 11, p. 1829, 2021. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.623736>

MCCALLUM, EMILY J.; ANJANAPPA, RAVI B.; GRUISSEM, WILHELM. Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). **Current Opinion in Plant Biology**, v. 38, p. 50-58, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008>

MILLER, J. C., CHEZEM, W. R., CLAY, N. K. Ternary WD40 repeat-containing

protein complexes: evolution, composition and roles in plant immunity. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1108, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01108>

NANDUDU, L., STROCK, C., OGBONNA, A., KAWUKI, R., JANNINK, J. L. Genetic analysis of cassava brown streak disease root necrosis using image analysis and genome-wide association studies. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1360729, 2024. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1360729>

NAWAZ, Z., KAKAR, K. U., SAAND, M. A., SHU, Q. Y. Cyclic nucleotide-gated ion channel gene family in rice, identification, characterization and experimental analysis of expression response to plant hormones, biotic and abiotic stresses. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 1-18, 2014. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-853>

NGANGA, E. M., KYALLO, M., ORWA, P., ROTICH, F., GICHUHI, E., KIMANI, J. M., TALBOT, N. J. Foliar diseases and the associated fungi in rice cultivated in Kenya. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1264, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11091264>

NZUKI, I., KATARI, M. S., BREDESON, J. V., MASUMBA, E., KAPINGA, F., SALUM, K. FERGUSON, M. E. QTL mapping for pest and disease resistance in cassava and coincidence of some QTL with introgression regions derived from *Manihot glaziovii*. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1168, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01168>

OGBONNA, A. C., BRAATZ DE ANDRADE, L. R., RABBI, I. Y., MUELLER, L. A., OLIVEIRA, E. J., BAUCHET, G. J. Large-scale genome-wide association study, using historical data, identifies conserved genetic architecture of cyanogenic glucoside content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root. **The Plant Journal**, v. 105, n. 3, p. 754-770, 2021. <https://doi.org/10.1111/tpj.15071>

OLIVEIRA, E. J., DE RESENDE, M. D. V., DA SILVA SANTOS, V., FERREIRA, C. F., OLIVEIRA, G. A. F., DA SILVA, M. S. AGUILAR-VILDOSO, C. I. Genome-wide selection in cassava. **Euphytica**, v. 187, n. 2, p. 263-276, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0722-0>

OLIVEIRA, E. J., FERREIRA, C. F., DA SILVA SANTOS, V., DE JESUS, O. N.,

OLIVEIRA, G. A. F., DA SILVA, M. S. Potential of SNP markers for the characterization of Brazilian cassava germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, p. 1423-1440, 2014 <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2309-8>

OLIVEIRA, E.J.; OLIVEIRA, S. A.S.; VILASBOAS, S.A.; HOHENFELD, C.; SILVA S. V. Selection of cassava accessions with multiple resistance to pathogens associated with root rot disease. **Euphytica**, v. 213, p. 185, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1973-6>

OLIVEIRA, S. A. S., DA SILVA, L. L., NASCIMENTO, D. D. S., DIAMANTINO, M. S. A. S., FERREIRA, C. F., DE OLIVEIRA, T. A. S. Colletotrichum species causing cassava (*Manihot esculenta* Crantz) anthracnose in different eco-zones within the Recôncavo Region of Bahia, Brazil. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 127, p. 411-416, 2020. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00327-9>

PEI, Y.; SHI, T.; LI, C.; LIU, X.; CAI, J.; HUANG, G. Distribution and pathogen identification of cassava brown leaf spot in China. **Genetics and Molecular Biology**, v. 13, p. 3461-3473, 2014. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.April.30.7>

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**. Vienna. Austria. 2021. URL <https://www.R-project.org/>.

RABBI, I. Y., KAYONDO, S. I., BAUCHET, G., YUSUF, M., AGHOGHO, C. I., OGUNPAIMO, K., KULAKOW, P. Genome-wide association analysis reveals new insights into the genetic architecture of defensive, agro-morphological and quality-related traits in cassava. **Plant Molecular Biology**, v. 109, n. 3, p. 195-213, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11103-020-01038-3>

RABBI, I. Y., UDOH, L. I., WOLFE, M., PARKES, E. Y., GEDIL, M. A., DIXON, A. KULAKOW, P. Genome-wide association mapping of correlated traits in cassava: dry matter and total carotenoid content. **The plant genome**, v. 10, n. 3, p. 090-109, 2017. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2016.09.0094>

RABBI, I., HAMBLIN, M., GEDIL, M., KULAKOW, P., FERGUSON, M., IKPAN,

A. S., JANNINK, J. L. Genetic mapping using genotyping-by-sequencing in the clonally propagated cassava. **Crop Science**, v. 54, n. 4, p. 1384-1396, 2014. <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.07.0482>

RAFALSKI, A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 2, p. 94-100, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00240-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00240-6)

RAJ, A., STEPHENS, M., & PRITCHARD, J. K. fastSTRUCTURE: variational inference of population structure in large SNP data sets. **Genetics**, v. 197, n. 2, p. 573-589, 2014. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.164350>

RAMU, P., ESUMA, W., KAWUKI, R., RABBI, I. Y., EGESI, C., BREDESON, J. V., LU, F. Cassava haplotype map highlights fixation of deleterious mutations during clonal propagation. **Nature genetics**, v. 49, n. 6, p. 959-963, 2017. <https://doi.org/10.1038/ng.3845>

REDDY, P. P. **Plant protection in tropical root and tuber crops**. New Delhi, India: Springer India, 2015.

ROMAY, M.C., MILLARD, M.J., GLAUBITZ, J.C., PEIFFER, J.A., SWARTS, K.L., CASSTEVENS, T.M., GARDNER, C.A. Comprehensive genotyping of the USA national maize inbred seed bank. **Genome biology**, v. 14, p. 1-18, 2013. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-r55>

ROMERO NAVARRO, J. A., WILLCOX, M., BURGUEÑO, J., ROMAY, C., SWARTS, K., TRACHSEL, S., BUCKLER, E. S. A study of allelic diversity underlying flowering-time adaptation in maize landraces. **Nature genetics**, v. 49, n. 3, p. 476-480, 2017. <https://doi.org/10.1038/ng.3784>

ROSENBERG, N. A., HUANG, L., JEWETT, E. M., SZPIECH, Z. A., JANKOVIC, I., BOEHNKE, M. Genome-wide association studies in diverse populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 11, n. 5, p. 356-366, 2010. <https://doi.org/10.1038/nrg2760>

SANGPUEAK, RUNGTHIP; PHANSAK, PIYAPORN; BUENSANTEAI, NATTHIYA. Morphological and molecular identification of *Colletotrichum* species

associated with cassava anthracnose in Thailand. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 2, p. 129-142, 2018. <https://doi.org/10.1111/jph.12669>

SANTOS S. P. P., DE OLIVEIRA, E. J., MORGANTE, C. V., DE OLIVEIRA, C. R. S., VIEIRA, S. L., BOREL, J. C. Genome-wide association study of drought tolerance in cassava. **Euphytica**, v. 217, n. 4, p. 1-26, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02800-4>

SCHLÖTTERER, C. The evolution of molecular markers—just a matter of fashion? **Nature reviews genetics**, v. 5, n. 1, p. 63-69, 2004. <https://doi.org/10.1038/nrg1249>

SILVA S. P. P., E SOUSA, M. B., DE OLIVEIRA, E. J. Prediction models and selection of agronomic and physiological traits for tolerance to water deficit in cassava. **Euphytica**, v. 215, p. 1-18, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2399-0>

SILVA, H. S. A.; DE ANDRADE, E. C. **Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil**. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Capítulo em livro científico (ALICE), 2011.

SIVAN, S., ARYA, K., SHEELA, M. N., REVATHI, B. S., KRISHNAN, P., MUTHUSAMY, S.K. Genetic diversity analysis of Indian Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) accessions using morphological and molecular markers. **South African Journal of Botany**, v. 161, p. 347-357, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.08.027>

STIRNIMANN, C. U., PETSALAKI, E., RUSSELL, R. B., MÜLLER, C. W. WD40 proteins propel cellular networks. **Trends in biochemical sciences**, v. 35, n. 10, p. 565-574, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.04.003>

SUMMERS, R.W.; BROWN, J.K.M. Constraints on breeding for disease resistance in commercially competitive wheat cultivars. **Plant Pathology**, v.62, p.115–121, 2013. <https://doi.org/10.1111/ppa.12165>

TAN, B., INGVARSSON, P. K. Integrating genome-wide association mapping of additive and dominance genetic effects to improve genomic prediction accuracy

in *Eucalyptus*. **The Plant Genome**, v. 15, n. 2, p. e20208, 2022. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20208>

TAN, L., SALIH, H., HTET, N. N. W., AZEEM, F., ZHAN, R. Genomic analysis of WD40 protein family in the mango reveals a TTG1 protein enhances root growth and abiotic tolerance in *Arabidopsis*. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 226-236, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81969-z>

TROVATO, M., FUNCK, D., FORLANI, G., OKUMOTO, S., AMIR, R. Amino acids in plants: regulation and functions in development and stress defense. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 772-810, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.772810>

UDOH, LI, GEDIL, M., PARKES, EY, KULAKOW, P., ADESOYE, A., NWUBA, C., RABBI, IY. Candidate gene sequencing and validation of SNP markers linked to carotenoid content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Molecular breeding**, v. 37, p. 1-12, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11032-017-0718-5>

VOS, P. G., PAULO, M. J., VOORRIPS, R. E., VISSER, R. G., VAN ECK, H. J., VAN EEUWIJK, F. A. Evaluation of LD decay and various LD-decay estimators in simulated and SNP-array data of tetraploid potato. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, p. 123-135. 2017. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2798-8>

WANG, J. & ZHANG, Z. GAPIT Version 3: Boosting power and accuracy for genomic association and prediction. **Genomics. Proteomics Bioinformatics** v.19, p. 1–12. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>

WARNES G, GORJANC WCFG, LEISCH F, MAN. M (2021). genetics: Population Genetics. R package version 1.3.8.1.3, <<https://CRAN.R-project.org/package=genetics>>.

WILLE, L.; MESSMER, M.M.; STUDER, B.; HOHMANN, P. Insights to plant-microbe interactions provide opportunities to improve resistance breeding against root diseases in grain legumes. **Plant, Cell & Environment**, p.1-21, 2018. <https://doi.org/10.1111/pce.13214>

WOLFE, M. D., RABBI, I. Y., EGESI, C. N., HAMBLIN, M., KAWUKI, R.,

KULAKOW, P. A. JANNINK, J. L. Genome-wide association and prediction reveals genetic architecture of cassava mosaic disease resistance and prospects for rapid genetic improvement. **Plant Genome**, v. 9, n. 2, p. 1-13, 2016. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.11>

WÜRSCHUM, T., LANGER, S. M., LONGIN, C. F. H., KORZUN, V., AKHUNOV, E., EBMEYER, E., REIF, J. C. Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p. 1477-1486, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2065-1>

WÜRSCHUM, T., LIU, W., GOWDA, M., MAURER, H. P., FISCHER, S., SCHECHERT, A., REIF, J. C. Comparison of biometrical models for joint linkage association mapping. **Heredity**, v. 108, n. 3, p. 332-340, 2012. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.78>

XU, C., MIN, J. Structure and function of WD40 domain proteins. **Protein & cell**, v. 2, p. 202-214, 2011. <https://doi.org/10.1007/s13238-011-1018-1>

XU, Y., LI, P., YANG, Z., XU, C. Genetic mapping of quantitative trait loci in crops. **The Crop Journal**, v. 5, n. 2, p. 175-184, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.003>

YIN, L., ZHANG, H., TANG, Z., XU, J., YIN, D., ZHANG, Z., LIU, X. rMVP: a memory-efficient, visualization-enhanced, and parallel-accelerated tool for genome-wide association study. **Genomics, proteomics & bioinformatics**, v. 19, n. 4, p. 619-628, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2020.10.007>

YUE, L., GUAN, Z., ZHONG, M., ZHAO, L., PANG, R., LIU, K. Genome-wide identification and characterization of amino acid polyamine organocation transporter family genes reveal their role in fecundity regulation in a brown planthopper species (*Nilaparvata lugens*). **Frontiers in Physiology**, v. 12, p. 708-739, 2021. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.708639>

ZEIER, J. New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 12, p. 2085-2103, 2013. <https://doi.org/10.1111/pce.12122>

ZHANG, S., CHEN, X., LU, C., YE, J., ZOU, M., LU, K. WANG, W. Genome-wide association studies of 11 agronomic traits in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 503, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00503>.

ZHOU, Z., JIANG, Y., WANG, Z., GOU, Z., LYU, J., LI, W., TIAN, Z. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. **Nature biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 408-414, 2015. <https://doi.org/10.1038/nbt.3096>

CAPÍTULO 3

FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO PARA CARACTERES AGRONÔMICOS EM MANDIOCA UTILIZANDO IMAGEAMENTO AÉREO

CRUZ DAS ALMAS – BA

2024

FENOTIPAGEM DE ALTO RENDIMENTO PARA CARACTERES AGRONÔMICOS EM MANDIOCA UTILIZANDO IMAGEAMENTO AÉREO

RESUMO: A fenotipagem em larga escala com uso de aeronaves remotamente pilotadas tem sido considerada uma importante ferramenta para seleção de plantas. Esse estudo teve como objetivo estimar as correlações entre dados agronômicos e índices de vegetação (IV) obtidos em diferentes alturas de voo, além de selecionar modelos de predição para avaliar o potencial de uso do imageamento aéreo nos programas de melhoramento de mandioca. Diversos IV foram obtidos e analisados via modelos mistos para obtenção dos preditores lineares não viesados, parâmetros de herdabilidade e correlações com diversos atributos agronômicos. Os IV também foram utilizados para construção de modelos de predição dos atributos agronômicos. O imageamento aéreo apresentou alto potencial para estimar a altura das plantas, independentemente da altura de voo ($r = 0,99$), embora voos em menor altura (20 m) tenham resultados em menor viés nas estimativas dessa característica. Os sensores multiespectrais apresentaram correlações mais altas em comparação com o RGB, especialmente para vigor, produtividade da parte aérea e raízes frescas ($-0,40 \leq r \leq 0,50$). As herdabilidades dos IV em diferentes alturas de voo variaram de moderadas a elevadas ($0,51 \leq H_{Cullis}^2 \leq 0,94$), independentemente do sensor utilizado. Os melhores modelos de predição foram observados para as características vigor das plantas e teor de matéria seca, usando modelos *Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection* (GLMSS) e *K-Nearest Neighbor* (KNN). A capacidade preditiva do teor de matéria seca aumentou com a altura de voo para o modelo GLMSS ($R^2 = 0,26$ para 20 m e $R^2 = 0,44$ para 60 m), enquanto o vigor das plantas variou de $R^2 = 0,50$ para 20 m e $R^2 = 0,47$ para 40 m no modelo KNN. Nossos resultados indicam a possibilidade de implementação prática da fenotipagem de alto rendimento via imageamento aéreo para uma rápida e eficiente seleção em programas de melhoramento.

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz, ARP, predição, índices vegetativos

HIGH-THROUGHPUT PHENOTYPING FOR AGRONOMIC TRAITS IN CASSAVA USING AERIAL IMAGING

ABSTRACT: Large-scale phenotyping using remotely piloted aircraft has been considered an important tool for plant selection. This study aimed to estimate the correlations between agronomic data and vegetation indices (VIs) obtained at different flight altitudes and to select prediction models to evaluate the potential use of aerial imaging in cassava breeding programs. Various VIs were obtained and analyzed using mixed models to derive the best linear unbiased predictors, heritability parameters, and correlations with various agronomic traits. The VIs were also used to build prediction models for agronomic traits. Aerial imaging showed high potential for estimating plant height, regardless of flight altitude ($r = 0.99$), although lower altitude flights (20 m) resulted in less biased estimates of this trait. Multispectral sensors showed higher correlations compared to RGB, especially for vigor, shoot yield, and fresh root yield ($-0.40 \leq r \leq 0.50$). The heritabilities of VIs at different flight altitudes ranged from moderate to high ($0.51 \leq H^2_{Cullis} \leq 0.94$), regardless of the sensor used. The best prediction models were observed for the traits of plant vigor and dry matter content, using Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS) and K-Nearest Neighbor (KNN) models. The predictive ability for dry matter content increased with flight altitude for the GLMSS model ($R^2 = 0.26$ at 20 m and $R^2 = 0.44$ at 60 m), while plant vigor ranged from $R^2 = 0.50$ at 20 m to $R^2 = 0.47$ at 40 m in the KNN model. Our results indicate the practical potential of implementing high-throughput phenotyping via aerial imaging for rapid and efficient selection in breeding programs.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz, RPAs, prediction, vegetation indices

1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie produtora de raízes tuberosas de grande importância mundial, sendo a quarta cultura de maior relevância após o trigo, arroz e milho (HORMHUAN et al., 2020). Essa cultura caracteriza-se por ser uma rica fonte de amido para uso na alimentação humana, animal e em diversas aplicações industriais (JANSSON et al., 2009; HORMHUAN et al., 2020), sendo considerada a principal fonte de calorias em países em desenvolvimento, sobretudo no continente africano e asiático (TOMLINSON et al., 2018).

A Nigéria é líder em produção de raízes de mandioca, seguida pela República Democrática do Congo, Tailândia e Gana, com uma produção de 60,00; 41,01; 28,99; e 21,81 milhões de toneladas de raízes, respectivamente (FAO, 2022). Atualmente, o Brasil é o quinto maior produtor, com produção de 18,2 milhões de toneladas em uma área aproximada de 1,2 milhões de hectares, e rendimento médio de 14,9 t.ha⁻¹ (FAO, 2022). A mandioca apresenta alta adaptabilidade edafoclimática e produtividade relativamente elevada quando comparada a cereais, mesmo quando cultivada em solos de baixa fertilidade e sujeitos a estresse hídrico (BURNS et al., 2010; JARVIS et al., 2012).

O desenvolvimento de novas cultivares tem sido uma das principais linhas de ação para o incremento da produtividade, qualidade de raízes e resistência a doenças (ANDRADE et al., 2019). Apesar disso, a seleção de cultivares nos programas de melhoramento é dificultada devido à realização de avaliações fenotípicas de modo convencional (muitas vezes de forma manual), o que geralmente demanda alto custo e baixo rendimento diário, o que acaba sendo um fator limitante na avaliação de um grande número de indivíduos, podendo levar à diminuição da precisão experimental e consequentemente a seleção de genótipos superiores para maximização do ganho genético (ROSHER et al., 2014). Portanto, a adoção de novas abordagens que permitam mitigar os problemas mencionados anteriormente, pode aprimorar a qualidade da coleta de dados, permitir o aumento no tamanho das populações de melhoramento, e ainda otimizar o uso dos recursos financeiros e humanos (CHAWADE et al., 2019).

A fenotipagem em larga escala com a utilização de aeronaves remotamente pilotadas (ARPs) é considerada uma das mais importantes

ferramentas atuais para otimização dos ganhos genéticos nos programas de melhoramento, pois permite obter informações úteis para a seleção de plantas em diversas espécies (QUIRÓS et al., 2019; ZHAO et al., 2019). Os ARPs são eficazes para monitorar parâmetros de crescimento das culturas, como biomassa (FU et al., 2014), índice de área foliar (VERGER et al., 2014; LIANG et al., 2015), teor de clorofila (HABOUDANE et al., 2004), vigor e produtividade (HARMSE et al., 2022), que podem ser estimados através dos índices de vegetação (ZHOU et al., 2017).

Os índices de vegetação são combinações matemáticas simples e eficazes para avaliações quantitativas e qualitativas de características como cobertura vegetal, vigor, taxa de crescimento, dentre outras (XUE e SU, 2017). Os principais índices vegetativos utilizam valores de refletância em três faixas de comprimento de ondas (visível, borda vermelha e infravermelho próximo), além disso reduzem o volume de dados a serem analisados e facilitam estimativas de variáveis biofísicas estruturais e fisiológicas da vegetação (QIAN et al., 2019). O cálculo dos índices de vegetação é realizado por combinações matemáticas dos valores da reflectância (FORMAGGIO e SANCHES, 2017), que tem por objetivo avaliar e caracterizar a cobertura vegetal, sendo que estes dados, por sua vez, são associados às características fisiológicas das plantas (PEZZOPANE et al., 2019).

Dentre os inúmeros índices vegetativos destacam-se o *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) (ROUSE et al., 1973), que utiliza canais espectrais da refletância espectral (R) e infravermelho próximo (IVP). O NDVI é muito utilizado em razão da sua alta resposta a variações do vigor da vegetação (FORMAGGIO e SANCHES, 2017), alta sensibilidade aos pigmentos fotossintéticos, permitindo identificar, caracterizar a distribuição espacial e a evolução da vegetação ao longo do tempo (BERNARDI et al., 2014). As faixas espectrais do verde e do vermelho podem servir como indicadores de crescimento e desenvolvimento das plantas. O índice *Normalized Difference Green/Red Normalized green red difference index* (NGRDI), por exemplo, possui grande potencial para estimar a fração da vegetação, biomassa verde, alterações na clorofila foliar e indicar diferenças na fenologia vegetal (HUNT et al., 2005). O índice vegetativo de clorofila (GLI) que representa a alteração da vegetação indicando, plantas vivas, mortas e o solo exposto, tem demonstrado

resultados robustos na identificação de variações na clorofila foliar, podendo-se assim ser utilizado como fator indicativo de degradação da vegetação (BALLESTROS et al., 2018).

Em estudo recente na cultura da mandioca, Selvaraj et al. (2020) apresentaram resultados promissores na predição da produtividade de raízes com base no uso de índices vegetativos a exemplo do *Green Normalized Difference Vegetation* (GNDVI) e *Normalized Difference Red Edge Index* (NDRE), demonstrando grande potencial na fenotipagem rápida de grandes populações de melhoramento para a seleção de novas variedades. Em espécies como milho e trigo também existem relatos de sucesso na predição de atributos produtivos utilizando dados de imageamento aéreo. Maresma et al. (2016) utilizaram diversos índices vegetativos e reportaram que o índice *Wide Dynamic Range Vegetation Index* (WDRVI) foi o mais acurado para prever o rendimento de grãos no milho (*Zea mays* L.) e ainda determinar se uma aplicação de cobertura adicional de nitrogênio antes da floração seria necessária para aumentar a produtividade. Na cultura do trigo, Kyratzis et al. (2017) analisaram índices vegetativos em um conjunto de vinte variedades submetidas ao déficit hídrico e reportaram que a capacidade preditiva dos índices foi afetada pela fenologia da planta. Ainda de acordo com esses autores, o índice GNDVI apresentou maior eficiência discriminativa como preditor do rendimento de grãos quando registrado em fases reprodutivas iniciais.

Os modelos de predição apresentam grande eficiência em determinar uma série de características além de ajudar a priorizar aquelas de importância agrônômica a serem coletadas em campo. Isto é especialmente útil para reduzir os custos de fenotipagem dos programas de melhoramento (SILVA et al., 2019). Na cultura da mandioca os modelos de predição devem considerar índices que indiquem a capacidade dos genótipos de produção de biomassa da parte aérea, mas principalmente a produtividade de raízes.

Alguns estudos já demonstraram que características relacionadas à biomassa da parte aérea, diâmetro da raiz e densidade de ramificação têm potencial para uso como preditores da eficiência hídrica e de nutrientes no campo, tornando-os úteis para a seleção de genótipos de mandioca durante a fase inicial de crescimento (ADU et al., 2018). Entretanto, existem desafios para a implantação dos modelos de predição na agricultura, como a falta de amplas

bases de dados, o alto custo de sensores e outras tecnologias além da necessidade de capacitação especializada para desenvolver e manter as diferentes soluções técnicas para uso prático dessas novas abordagens (ELBASI et al., 2023). No entanto, à medida que mais espécies agrícolas implementam a agricultura de precisão, colem, armazenem e disponibilizem mais dados, os lucros potenciais da implementação dos modelos de predição na agricultura tornar-se-ão mais evidentes. Embora os modelos de predição de atributos de importância econômica ainda estejam numa fase inicial, os resultados preliminares das predições são promissores (RASHID et al., 2021).

Dentre os diversos fatores que mais impactam nas predições, a altura de voo é um parâmetro determinante para o sucesso nas correlações/predições por apresentar relação direta com a resolução espacial das imagens (HU et al., 2019). Mesas-Carrascosa et al. (2016) afirmaram que quanto maior o número de imagens coletadas melhores serão os resultados das resoluções espaciais, ou seja, a resolução espacial está diretamente relacionada com a altura do voo e poderia ser predefinida para a obtenção de imagens com maior riqueza de detalhes.

Considerando a necessidade de desenvolvimento de metodologias de fenotipagem de alto rendimento para otimizar a seleção dos programas de melhoramento de mandioca, o presente estudo teve como objetivos: I) avaliar a correlação entre dados agronômicos e índices de vegetação obtidos em diferentes alturas de voo; (II) selecionar a melhor altura de voo para avaliação em genótipos de mandioca para avaliações de produtividade e qualidade de raiz e (III) selecionar modelos de predição de características agronômicas utilizando índices de vegetação obtidos de imagens aéreas em diferentes alturas de voo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condução experimental

O experimento foi implantado em junho de 2021, na Fazenda Botelho (Latitude 11°48' 7.24" S, e Longitude 38°22' 27.53" O e altura média de 224 m) situada na zona rural do município de Inhambupe (BA). O clima da região é tropical quente e subúmido, com temperatura média anual de 34° C, umidade relativa do ar média anual de 82%, com pluviosidade média anual de 1.100 mm concentrada nos meses de março a agosto, seguida de meses mais quentes

(setembro a fevereiro). Foram avaliados 36 clones de mandioca do ensaio avançado de rendimento (UYT). O delineamento foi em blocos casualizados (DBC) com três repetições e parcelas constituídas por três linhas de 7 plantas cada. A lista dos clones e sua genealogia é apresentada na Tabela S1.

O preparo do solo consistiu em uma aração e duas gradagens, seguido da abertura de sulcos de plantio com aproximadamente 15 cm de profundidade. O plantio foi realizado manualmente no período das chuvas na região durante o mês de maio de 2021 utilizando manivas de 16 a 18 cm de comprimento, seguindo as recomendações e práticas agrícolas para a cultura em termos de adubação e controle de pragas (SILVA et al., 2018).

2.2 Avaliação das características agrônômicas

Além dos índices vegetativos em diferentes alturas de voo, foram avaliados os seguintes dados produtivos: I) PTR: produtividade de raízes frescas (t.ha^{-1}); II) PPA: produtividade da parte aérea (t.ha^{-1}); III) MF: resistência a manchas foliares, avaliado com base na escala de notas onde: 0 = Sem sintomas, 1 = 25% das folhas afetadas, 2 = > 50% das folhas afetadas, 3 = Folhas afetadas no terço médio e inferior, 4 = Incidência leve distribuída ao longo de toda a planta, 5 = Incidência moderada, 6 = Desfolha completa da planta; V) RF: retenção foliar, com uso de escala de notas, em que 1 = menos 5% de retenção foliar, 2 = entre 6 e 15% de retenção foliar, 3 = entre 16 e 30% de retenção foliar, 4 = entre 31 e 50% de retenção foliar, 5 = mais de 50% de retenção; V) VG: vigor das plantas, avaliado com base em escala de notas em que 1 = baixo vigor, 3 = vigor intermediário, 5 = alto vigor; e VI) DMC: teor de matéria seca nas raízes (%), obtido pela pesagem de 3 a 5 kg de raízes por parcela, para se obter o peso no ar e na água, utilizando-se o método gravimétrico proposto por Kawano et al. (1987).

2.3 Aquisição das imagens

A aquisição das imagens RGB e multiespectrais foi realizada com uso do ARP DJI Phantom 4 Pro V2. A câmera RGB possui distância focal de 8,8 mm com tela de 5,5 polegadas e sensor CMOS de 1 polegada e resolução de 20 megapixels. Já a câmera multiespectral Micasense modelo Rededge-M apresenta distância focal fixa de 5,4 mm, sensores de resolução de 1280 x 980

pixels e cinco bandas espectrais diferentes (Tabela S2).

A coleta das imagens da ARP foi realizada em condições meteorológicas favoráveis como céu uniforme entre os horários de 10 e 14 horas, horários com máximo ângulo da irradiação solar direta sobre o ensaio. O aplicativo *Dji Pilot* foi utilizado para controlar o caminhar e velocidade do ARP durante a fenotipagem com 90% de sobreposição das imagens.

As imagens foram coletadas em diferentes alturas (20, 30, 40 e 60 m) para estimar a melhor altura de voo para predição dos dados fenotípicos. Para aprimoramento e precisão da localização das parcelas experimentais antes da realização de cada voo foram utilizados pontos de controle de solo (GCP) pelo posicionamento de alvos ao redor e dentro da área. Para a medição desses pontos foi utilizado sistema Emlid Reach RS+ GNSS com precisão de 2 cm no sistema de coordenadas.

2.4 Construção e processamento dos ortomosaicos e calibração radiométrica

As imagens foram processadas no software Agisoft Metashape (versão 1.5.5) seguindo o fluxo de trabalho de processamento de imagens, considerando o seu alinhamento, geração de nuvens esparsas a partir do alinhamento das fotos, preparação da nuvem densa, criação de malha para visualização 3D e nitidez da imagem, ortorretificação e exportação dos ortomosaicos finais do campo (Agisoft LLC, 2021).

A calibração radiométrica foi realizada para produzir imagens multiespectrais e hiperespectrais que forneçam informações que estejam de acordo com o referencial radiométrico conhecido. O pré-processamento da imagem do sensor MicaSense RedEdge utilizou a fórmula de conversão radiométrica fornecida pela MicaSense (<https://support.micasense.com/hc/en-us/articles/115000351194-RedEdge-Camera-Radiometric-Calibration-Model>), que converte os valores dos números digitais (DN) em valores absolutos de radiância espectral, com base na fórmula: $L = V(x, y) \times \frac{a_1}{g} \times \frac{p - p_{BL}}{t_e + a_2 y - a_3 t_e y}$, em que L é a radiância espectral; $V(x, y)$ é a função polinomial de vinhetagem no pixel (x, y) ; a_1 , a_2 e a_3 são os coeficientes de calibração radiométrica; g é a configuração de ganho do sensor; p é o valor DN normalizado; p_{BL} é o

deslocamento do nível preto; e t_e é o tempo de exposição da imagem. Todos os parâmetros necessários para o cálculo da radiância espectral foram obtidos nos metadados da foto. Ao levar em consideração diversas circunstâncias climáticas e de iluminação, a calibração radiométrica produz dados mais precisos e confiáveis que permitem análise de séries temporais e comparação de resultados ao longo do tempo.

2.5 Obtenção da altura das plantas com base nas imagens aéreas

A medição das alturas das plantas utilizando o processamento digital de imagens foi realizada com o auxílio do software QGIS (versão 3.32.3), e do plugin Terrain Profile. Os dados obtidos no processamento pelo software Agisoft Metashape (versão 1.5.5) foram exportados para a criação do modelo digital de elevação e para o recorte da ortofoto. Em seguida, procedeu-se à sobreposição da ortofoto, com transparência de 50%, sobre o modelo digital de elevação (MDE) de cada experimento. A partir dessa sobreposição, foi traçada uma linha de perfil planta a planta, identificada na imagem RGB, e realizada uma contagem/conferência no mapa de campo de cada experimento. Essa linha de perfil foi desenhada para atravessar a parte mais baixa do MDE, representando o solo, e a parte mais alta da planta, permitindo assim a estimativa da altura.

2.6 Obtenção dos índices de vegetação

Os índices de vegetação podem ser definidos como formulações matemáticas desenvolvidas a partir de dados espectrais via sensores remotos, em sua grande maioria nas regiões do vermelho (R) e infravermelho próximo (IVP) (FORMAGGIO e SANCHES, 2017). No presente estudo, foram obtidos 18 índices de vegetação mais comumente reportados como úteis para análise de vigor, crescimento vegetal e estudos de predição (Tabela 1).

Na obtenção dos índices de vegetação, realizada com auxílio do pacote FIELDimageR (MATIAS et al., 2020) do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023), foi utilizado para remoção do solo e plantas daninhas por segmentação de imagens utilizando a função *fieldMask*.

Tabela 1. Índices vegetativos com base na câmera RGB e multiespectral conforme descrito na tabela.

Descrição	Índices ¹	Formula ²	Características relacionadas	Referência
Blue Green Pigment Index	BGI ^{rgb, M}	$\frac{B}{G}$	Clorofila e índice de área foliar	Zarco-Tejada et al. (2005)
Green Leaf Index	GLI ^{rgb, M}	$\frac{(2G - R - B)}{2G + R + B}$	Clorofila	Louhaichi et al. (2001)
Normalized green-Red Difference Index	NGRD ^{rgb, M}	$\frac{(G - R)}{(G + R)}$	Clorofila, biomassa, teor de água	Tucker (1979)
Visible Atmospherically Resistant Index	VARI ^{rgb, M}	$\frac{(G - R)}{(G + R + B)}$	Copa, biomassa, clorofila	Gitelson et al. (2002)
Plant Senescence Reflectance Index	PSRI ^{rgb, M}	$\frac{(R - G)}{(RE)}$	Clorofila, nitrogênio e maturação	Merzlyak et al. (1999)
Spectral Slope Saturation Index	SI ^{rgb, M}	$\frac{(R - B)}{(R + B)}$	Índice de saturação	Escadafal (1994)
Soil Color Index	SCI ^{rgb, M}	$\frac{(R - G)}{(R + G)}$	Cor do solo	Mathieu et al. (1998)
Primary Colors Hue Index	HI ^{rgb, M}	$\frac{(2^* R - G - B)}{(G - B)}$	Índice de matiz	Escadafal (1994)
Hue Index	HUE ^{rgb, M}	$arctan\left(\frac{2R - G - B}{30.5} (G - B)\right)$	Índice geral de matiz	Escadafal (1994)
Brightness Index	BI ^{rgb, M}	$\frac{(R^2 + G^2 + B^2)}{3}$	Cobertura vegetal	Richardson e Wiegand (1977)
Chlorophyll Index – green	CIG ^M	$\frac{(NIR)}{(G)} - 1$	Teor de clorofila	Gitelson et al. (2003)
Normalized Difference Red Edge Index	NDRE ^{rgb, M}	$\frac{(NIR - G)}{(NIR + G)}$	Teor de clorofila	Gitelson e Merzlyak (1994)
Red-edge chlorophyll index	CIRE ^{rgb, M}	$\frac{NIR}{RE} - 1$ $NIR - RE$	Teor de clorofila das folhas	Gitelson et al. (2003)
Difference Vegetation Index	DVI ^{rgb, M}	$NIR - R$	Nitrogênio e clorofila	Jordan (1969)
Normalized Difference Vegetation Index	NDVI ^{rgb, M}	$\frac{(NIR - R)}{(NIR + R)}$	Clorofila, área foliar, biomassa e rendimento	Rouse et al. (1973)
Green normalized difference vegetation index	GNDVI ^{rgb, M}	$\frac{(NIR - G)}{(NIR + G)}$	Clorofila, área foliar, nitrogênio e proteínas	Gitelson et al. (1996)
Ratio Vegetation Index	RV ^M	$\frac{NIR}{R}$	Biomassa, água e nitrogênio	Pearson e Miller (1972)
Chlorophyll Vegetation Index	CVI ^M	$\frac{(NIR * R)}{(G^2)}$	Clorofila	Vincini et al (2008)

¹rgb: Red Green e Blue; M: multiespectral; ²R: Red; G: Green; B: Blue; NIR: Near Infra-Red; RE: RedEdge

2.7 Análise dos dados

A avaliação das diversas características agrônômicas nas diferentes alturas de voo (20, 30, 40 e 60m) foram avaliadas via modelos mistos, com base na seguinte formula: $Y = X\beta + Zg + \varepsilon$, em que: y é o vetor de observações fenotípicas; β é o vetor dos efeitos fixos de blocos adicionados à média geral; g é o vetor das médias ajustadas para genótipos com efeito aleatório; ε é o vetor

de resíduos, considerado como de efeito aleatório, X e Z são as matrizes de incidência que relacionam os vetores independentes à variável de resposta y .

Os efeitos do modelo foram estimados com auxílio do pacote lme4 (BATES et al., 2015) do Software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023). Os componentes de variância foram estimados por máxima verossimilhança restrita (REML) e, em seguida, os melhores preditores lineares não viesados (BLUPs) foram obtidos para os efeitos aleatórios de genótipos. A significância dos efeitos do modelo foi testada com base na análise de deviance, de acordo com o teste da razão de verossimilhança (LRT), usando a distribuição de χ^2 a 5% de probabilidade.

A herdabilidade no sentido amplo foi estimada a partir da fórmula descrita por Cullis et al. (2006), proposta como uma expressão alternativa quando se trabalha com dados desbalanceados e modelos mistos através da seguinte fórmula: $H_{Cullis}^2 = 1 - \frac{\bar{V}_\Delta^{Blup}}{2 * \sigma_g^2}$, em que: σ_g^2 refere-se à variância genética, $\bar{V}_\Delta^{Blup}$ é o erro padrão médio dos BLUPs genotípicos.

Foram obtidas correlações de Pearson para estimar as associações entre os índices de vegetação e as características agronômicas obtidas pela fenotipagem via ARP. A significância das correlações foi avaliada pelo teste t com $n-2$ graus de liberdade, usando o pacote corrplot do Software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023). A abordagem Bland e Altman (1999) foi realizada para plotar a concordância entre a altura de planta mensurada de forma manual com altura da nuvem de pontos em diferentes alturas de voo (20m, 30m, 40m e 60m). Esta abordagem é utilizada para analisar a concordância entre dois métodos diferentes que mensuram uma mesma variável com igual unidade de medida. Assim, permite decidir se as diferenças entre as mensurações dos dois métodos podem ser aceitáveis e equivalentes. O gráfico de Bland e Altman envolveu estimar as diferenças entre cada par de observações dos métodos (Altura da planta manual – Altura nuvem de pontos) no eixo vertical, enquanto a média das médias dos pares de observações dos métodos [(Altura da planta manual + Altura nuvem de pontos) / 2] foi plotada no eixo horizontal. Os limites de concordância de 95%, foram determinados como $\pm 1,96$ vezes o desvio padrão (DP) do viés. O gráfico Bland Altman foi construído utilizando os pacotes dplyr (Wickham et al., 2023) e ggpubr (Kassambara, 2023) do software R.

Além disso, os índices de vegetação foram utilizados para avaliar a capacidade preditiva das características agronômicas utilizando quatro modelos de predição derivados de regressão e aprendizado de máquina: *Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection* (GLMSS), *Partial Least Squares* (PLS), *Support Vector Machine* (SVM), *K-Nearest Neighbor* (KNN). O esquema de validação cruzada foi realizado em 5 repetições com 6-folds cada. Do total de amostras, 60% foram usadas como população de treinamento e 40% como população de validação. Os modelos preditivos foram implementados no pacote *caret* (KUNH, 2008) do software R versão 4.3 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023).

O desempenho dos modelos preditivos foi avaliado com base nos valores da raiz do erro quadrático médio (RMSE) e pelo coeficiente de determinação (R^2), obtidos em cada partição de validação cruzada. O RMSE mede a magnitude média dos erros estimados; quanto mais próximo o seu valor positivo estiver de 0, melhor será a qualidade dos valores estimados. O RMSE foi calculado de acordo com a fórmula $RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}$, em que: y_i e $\hat{y}_i$ são os valores observados e estimados, respectivamente, n é o número de observações. O R^2 é a razão da proporção da variação total da variável dependente que é explicada pela variação da variável independente, estimado com base na seguinte equação: $R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$, em que: $\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2$ e $\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$ correspondem à parte da variação explicada e não explicada pelo modelo, respectivamente, sendo $\bar{y}$ a média dos y_i .

3. RESULTADOS

3.1. Herdabilidade e correlação entre características agronômicas e índices vegetativos

As correlações e concordância Bland Altman entre as diferentes alturas da planta obtida pela fenotipagem convencional e aquela extraída das imagens aéreas são apresentadas para as quatro diferentes alturas de voo na Figura 1. É possível verificar que as correlações entre as duas mensurações foram de elevada magnitude ($r = 0,99$). Independente da altura de voo, os limites de 95% de concordância incluíram 95% das diferenças entre os dois métodos de

mensuração mostrando boa concordância. Apesar disso, existem diferenças na qualidade das mensurações nas quatro alturas de voo. Com o aumento da altura de voo verificou-se maior viés na estimativa da altura das plantas em comparação com a mensuração manual variando.

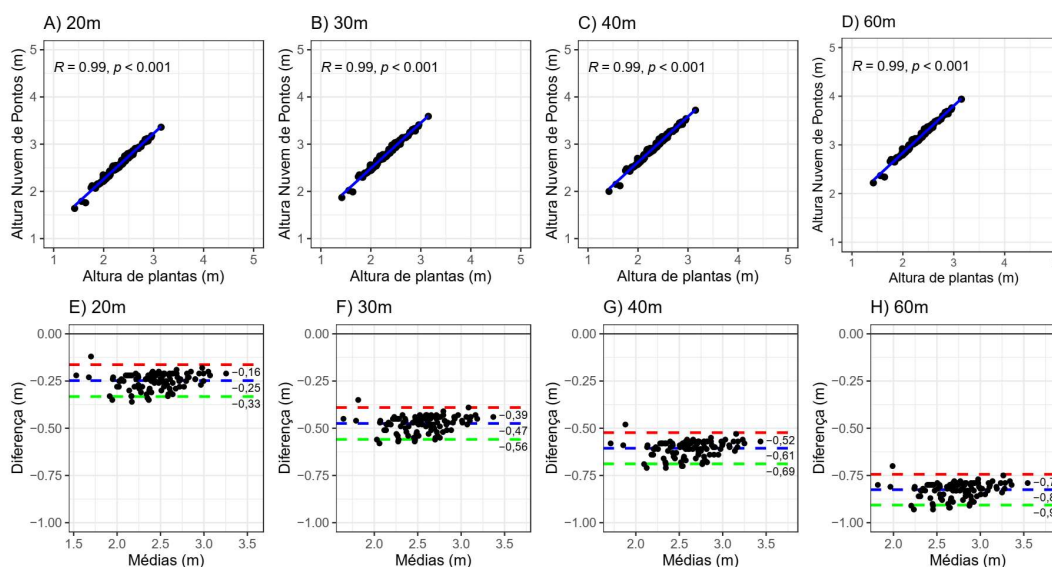


Figura 1. (A-D) Gráficos de correlações entre altura de plantas mensurada manualmente e via nuvem de pontos com base nas imagens aéreas do veículo aéreo não tripulado em diferentes alturas de voo (20 m, 30 m, 40 m e 60 m). **(E – F)** Gráficos de concordância Bland Altman da altura de plantas mensurada manualmente e via nuvem de pontos obtida com base nas imagens aéreas do veículo aéreo não tripulado em diferentes alturas de voo. O eixo x corresponde às médias dos métodos de mensuração de altura (altura nuvem de pontos + altura manual / 2). O eixo y corresponde às diferenças entre os métodos (altura nuvem de pontos $\times$ altura manual). A linha azul tracejada é a diferença média (viés) entre os métodos de mensuração e as linhas vermelha (superior) e verde (inferior) são os limites de 95% de concordância ($\pm 0,96 \times$ desvio padrão).

A altura de voo tem relação direta com o tempo da missão do voo e tempo de processamento das imagens (Tabela 2). Portanto, o número de imagens (50) e tempo de voo (4 min) foi menor utilizando o voo a 60 m de altura em comparação com o voo a 20 m que teve quase cinco vezes mais o número de imagens (222) e mais que o dobro de tempo para realização da missão (10 min). Voos curtos demandam pouco consumo de bateria possibilitando aumentar o

número de missões e consequente de ensaios avaliados. Entretanto, no presente estudo houve maior viés na estimativa da altura das plantas em maior altura de voo, o que deve ser levado em consideração no momento das avaliações de campo.

Tabela 2. Resumo de parâmetros de voo e informações sobre coleta e processamento de imagens.

Altura de voo (m)	Número imagens	Tempo voo	Horário voo (h/m/s)	Tempo de processamento (RGB) h/m	Tempo de processamento (Multiespectral) h/m
20	222	10 min	10:17:46	02:52	02:12
30	129	7 min	10:00:10	02:12	01:44
40	69	5 min	09:46:56	01:32	01:29
60	50	4 min	09:29:29	01:22	01:15

h:Horas; m:Minutos; s: Segundos.

Com base nos coeficientes de correlação entre índices vegetativos obtidos por meio de sensores multiespectrais e dados agronômicos na cultura da mandioca durante o ano agrícola de 2022, verificou-se a existência de correlações de magnitude moderada ($-0,40 \leq r \leq 0,50$) para as características agronômicas de vigor, produtividade da parte aérea e de raízes frescas a 60 m de altura (Figura 2). Os índices vegetativos, DVI ($r = 0,50$), NDVI ($r = 0,40$), GNDVI ($r = 0,40$), RVI ($r = 0,40$) e CIG ($r = 0,40$) mensurados a 60 m apresentaram correlação moderada com o vigor das plantas. Da mesma forma, os índices SCI e SI, apresentaram correlação moderada com a produtividade da parte aérea ($r = 0,40$), enquanto os índices NGRDI e VARI com a produtividade de raízes frescas ($r = 0,40$). Por outro lado, os índices BGI ($r = -0,4 \leq r \leq -0,5$), GLI ($r = 0,4 \leq r \leq 0,4$), PSRI ($r = -0,4 \leq r \leq -0,5$) correlacionaram-se com o vigor das plantas a 40 m e 60 m de altura, respectivamente.

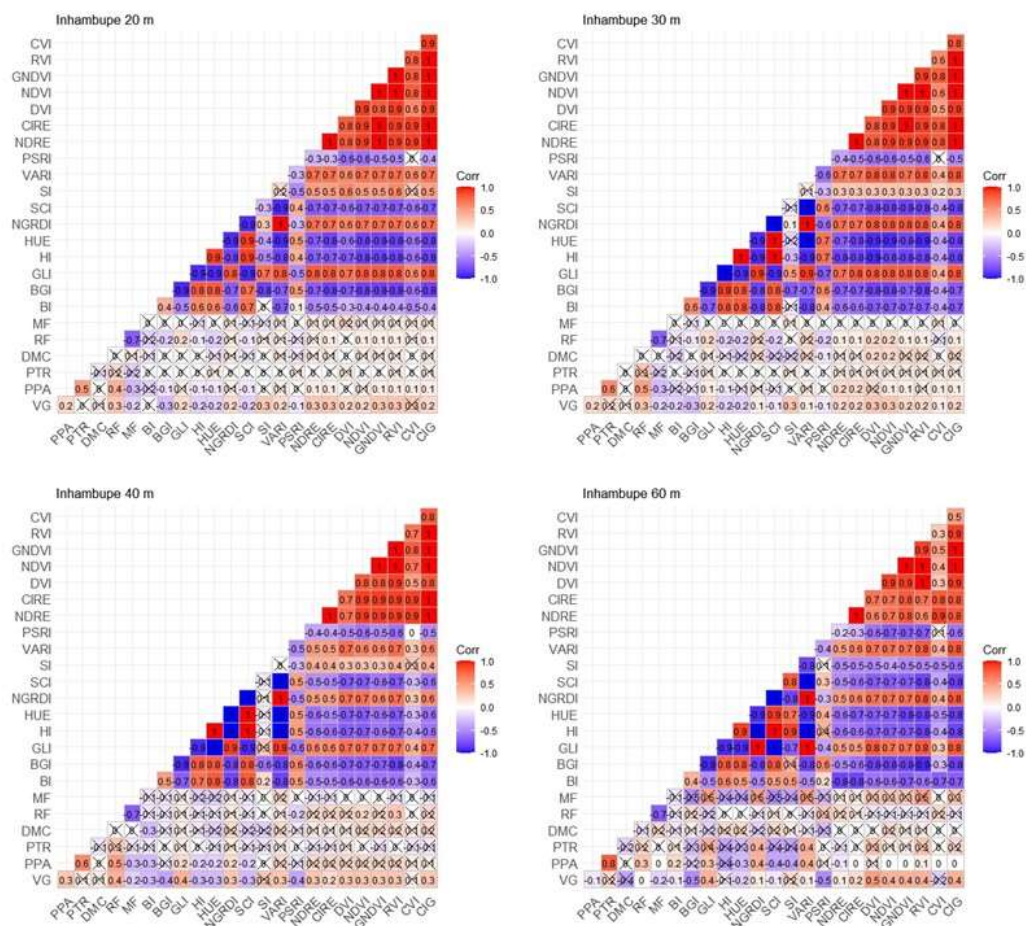


Figura 2. Correlações entre índices vegetativos obtidos por meio de imagens aéreas derivadas de câmeras multiespectrais capturados por aeronave remotamente pilotada (ARP) a 20 m; 30 m; 40 m e 60m de altura de voo, com as características agrônômicas. VG: vigor das plantas; PPA: produtividade da parte aérea; PTR: produtividade de raízes frescas; DMC: teor de matéria seca nas raízes; RF: retenção foliar; MF: resistência a manchas foliares. O símbolo x nos valores indica que a correlação não foi significativa pelo teste t a 5% de probabilidade.

As estimativas de correlação entre os índices vegetativos obtidos das imagens capturadas por meio da câmera RGB apresentaram correlações de magnitudes moderadas para as características de vigor das plantas, retenção foliar, teor de matéria seca e produtividade de raízes frescas (Figura 3). O vigor das plantas apresentou correlação moderada com os índices vegetativos BI ($r = -0,40$), BGI ($r = -0,40$) e PSRI ($r = -0,51$). Da mesma forma, a característica

retenção foliar apresentou correlação com os índices BI ($r = -0,40$) e CIRE ($r = 0,50$), enquanto, teor de matéria seca ($r = -0,40$) e produtividade de raízes frescas ($r = 0,40$) apresentaram correlações moderadas com o índice HUE. Todas essas correlações foram identificadas pela análise das imagens obtidas a 60 m de altura. Entretanto, o índice vegetativo HUE também apresentou correlação de magnitude moderada ($r = -0,40$) a 30 m de altura com as variáveis de retenção foliar e teor de matéria seca.

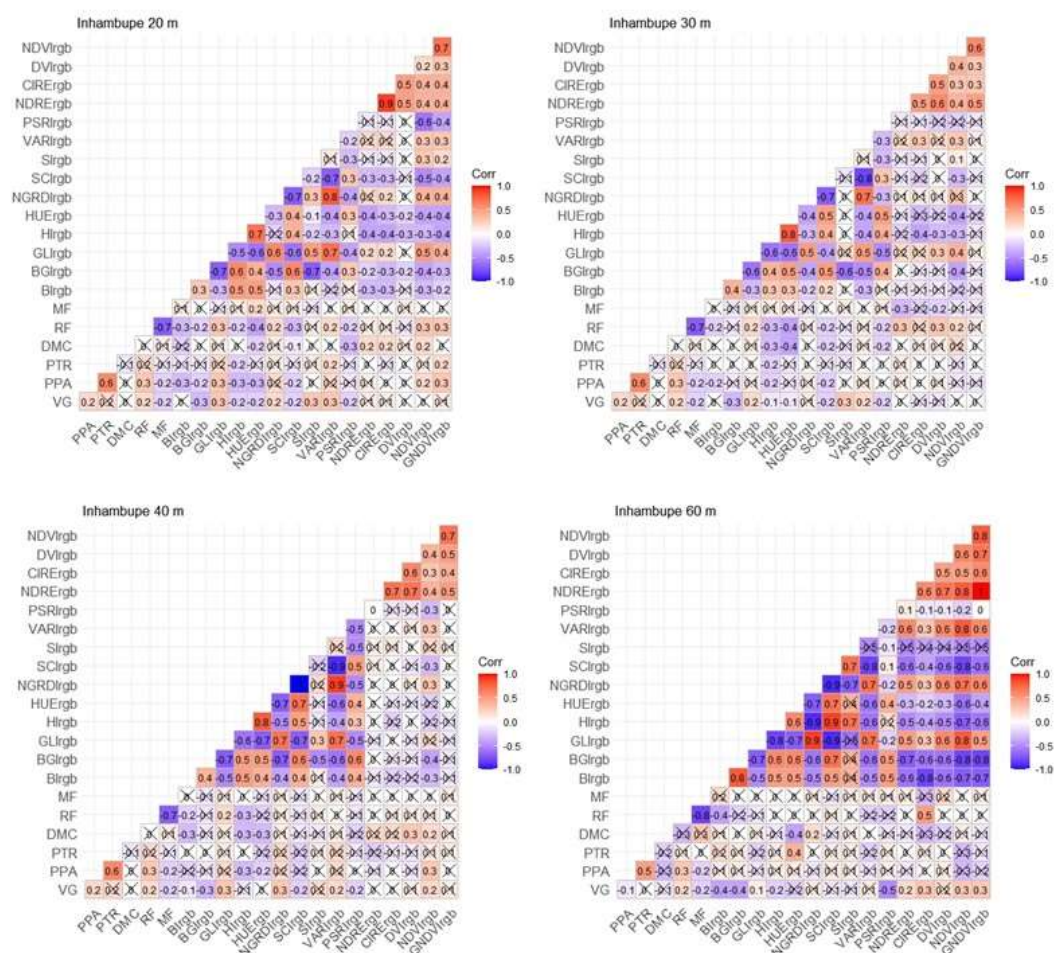


Figura 3. Correlações entre índices vegetativos obtidos por meio de imagens aéreas derivadas de câmera RGB (Red, Green, Blue) capturadas por aeronave remotamente pilotada (ARP) a 20; 30; 40 e 60m de altura com as características agrônômicas. VG: vigor das plantas; PPA: produtividade da parte aérea; PTR: produtividade de raízes frescas; DMC: teor de matéria seca nas raízes; RF: retenção foliar; MF: resistência a manchas foliares. O símbolo × nos valores indica que a correlação não foi significativa pelo teste t a 5% de probabilidade.

As estimativas de herdabilidade (H^2_{Cullis}) para os dezoito índices obtidos por meio da câmara multiespectral, em quatro alturas de voo distintas (20 m, 30 m, 40 m e 60 m), tiveram valores de magnitude moderada ($H^2_{Cullis} = 0,30$ a $0,60$) a alta ($H^2_{Cullis} \geq 0,60$) (Figura 4). Dentre os índices vegetativos, o CIRE ($H^2_{Cullis}=0,82$) e HI ($H^2_{Cullis}=0,92$) apresentaram as mais expressivas magnitudes de herdabilidade a 20 m e 60 m, respectivamente. Além disso, índices como GNDVI, NDVI, VARI, CIG, GLI e CIRE exibiram herdabilidade de alta magnitude ($0,60 \leq H^2_{Cullis} \leq 0,82$) quando mensurados a 20 m de altura. Nas demais alturas de voo, também foram observadas magnitudes elevadas de herdabilidade ($0,57 \leq H^2_{Cullis} \leq 0,76$), como nos índices SCI, SI, RVI e DVI a 30 m, BGI ($H^2_{Cullis}=0,61$) e BI ($H^2_{Cullis}=0,56$) a 40 m, e HUE, NGRDI, PSRI, CVI, NDRE e HI ($0,59 \leq H^2_{Cullis} \leq 0,92$) a 60 m de altura.

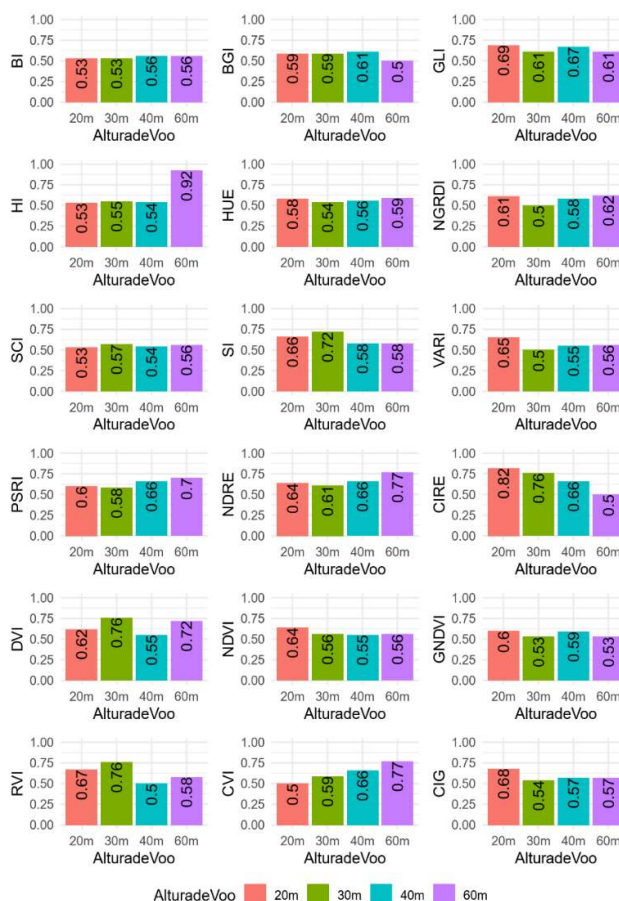


Figura 4. Estimativas de herdabilidade no sentido amplo (H^2_{Cullis}) para 18 índices vegetativos obtidos com base na análise de imagens aéreas de câmeras multiespectrais com auxílio de aeronave remotamente pilotada (ARP) em diferentes alturas de voo (20m, 30m, 40m e 60m).

As estimativas de herdabilidade dos índices extraídos com base na câmera RGB apresentaram magnitudes semelhante àqueles extraídos da câmera multiespectral com variação de moderada a alta magnitude (Figura 5). Os índices PSRI ($H^2_{Cullis} = 0,94$) e HUE ($H^2_{Cullis} = 0,97$). Outros índices com elevada herdabilidade foram o NDVI e GNDVI ($H^2_{Cullis}=0,83$ e $H^2_{Cullis} = 0,88$, respectivamente) quando mensurados a 20 m de altura. Para a altura de 30 m, os índices NDRE, SI, SCI, HI e GLI apresentaram elevadas magnitudes ($0,88 \leq H^2_{Cullis} \leq 0,94$), enquanto, a 40 m de altura elevadas herdabilidade foram identificadas apenas para o índice CIRE ($H^2_{Cullis} = 0,83$). Os demais índices apresentaram alta magnitude de herdabilidade ($0,80 \leq H^2_{Cullis} \leq 0,93$) quando mensurados a 60 m de altura. Também foram identificadas altas magnitudes de herdabilidade para todas as características agrônômicas ($H^2_{Cullis} > 0,90$) (Tabela 3).

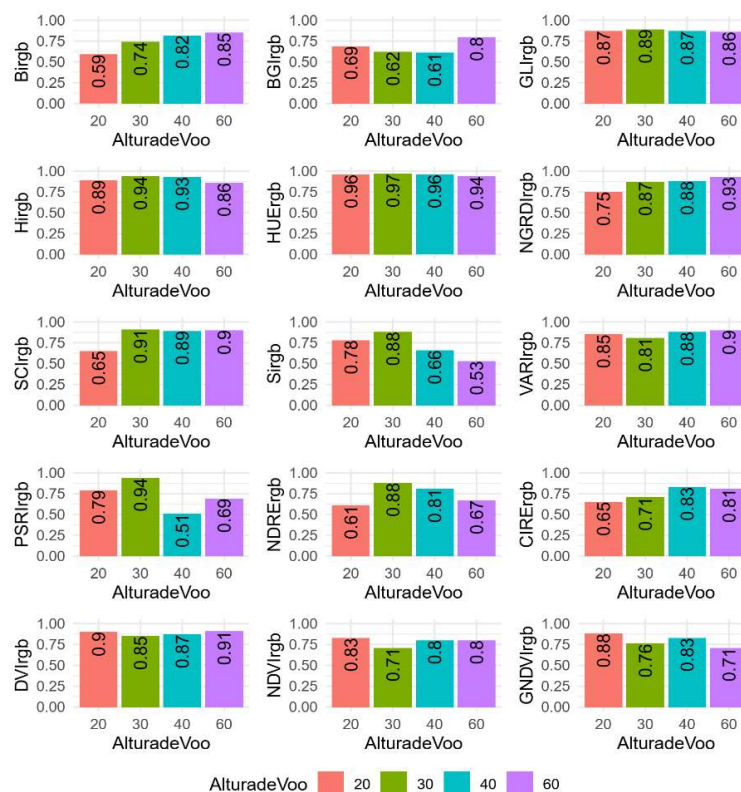


Figura 5. Estimativas de herdabilidade no sentido amplo (H^2_{Cullis}) para 15 índices vegetativos obtidos com base na análise de imagens aéreas de câmeras RGB (Red, Green, Blue) com auxílio de aeronaves remotamente pilotada (ARP) em diferentes alturas de voo (20m, 30m, 40m e 60m).

Tabela 3. Estimativas de herdabilidade no sentido amplo (H^2_{Cullis}) para as principais características agrônômicas na cultura da mandioca.

Característica	VG	PPA	PTR	DMC	RF	MF
H^2_{Cullis}	0,93	0,98	0,98	0,99	0,98	0,98

VG: vigor das plantas; PPA: produtividade da parte aérea; PTR: produtividade de raízes frescas; DMC: teor de matéria seca nas raízes; RF: retenção foliar; MF: resistência a manchas foliares.

3.2. Índices vegetativos obtidos de imagens em diferentes alturas de voo

De modo geral, houve diferença significativa nos valores dos índices de vegetação extraídos de imagens multiespectrais nas diferentes alturas (Figura 6). As médias dos índices vegetativos SI, HUE, HI, NDRE e CIRE medidos a 20 m de altura foram significativamente superiores ($p \leq 0,05$) as demais alturas de voo. Resultados semelhantes foram obtidos a 40 m de altura onde os índices BI, BGI, DVI, NDVI, GNDVI, RVI, CIG, CVI e PSRI apresentaram maiores médias ($p \leq 0,05$) em comparação com as demais alturas de voo. Além disso, as médias do índice vegetativo BGI foram superiores ($p \leq 0,05$) nas imagens obtidas a 30 m e 40 m de altura. Por outro lado, as médias dos índices GLI, NGRDI, SCI e VARI foram semelhantes nas quatro alturas avaliadas.

No caso dos índices vegetativos extraídos da câmera RGB, as médias dos índices vegetativos SI, HI, HUE e PSRI foram superiores aos demais ($p \leq 0,001$) nas imagens obtidas a 20 m de altura, enquanto os índices SCI, BI e BGI foram superiores ($p \leq 0,05$) quando medidos a 30 m e 40 m de altura, respectivamente (Figura 7). Por fim, as médias dos índices GLI, NGRDI, VARI, NDRE, CIRE, NDVI, GNDVI e DVI medidos a 60 m de altura foram significativamente superiores quando comparados com as demais alturas de voo.

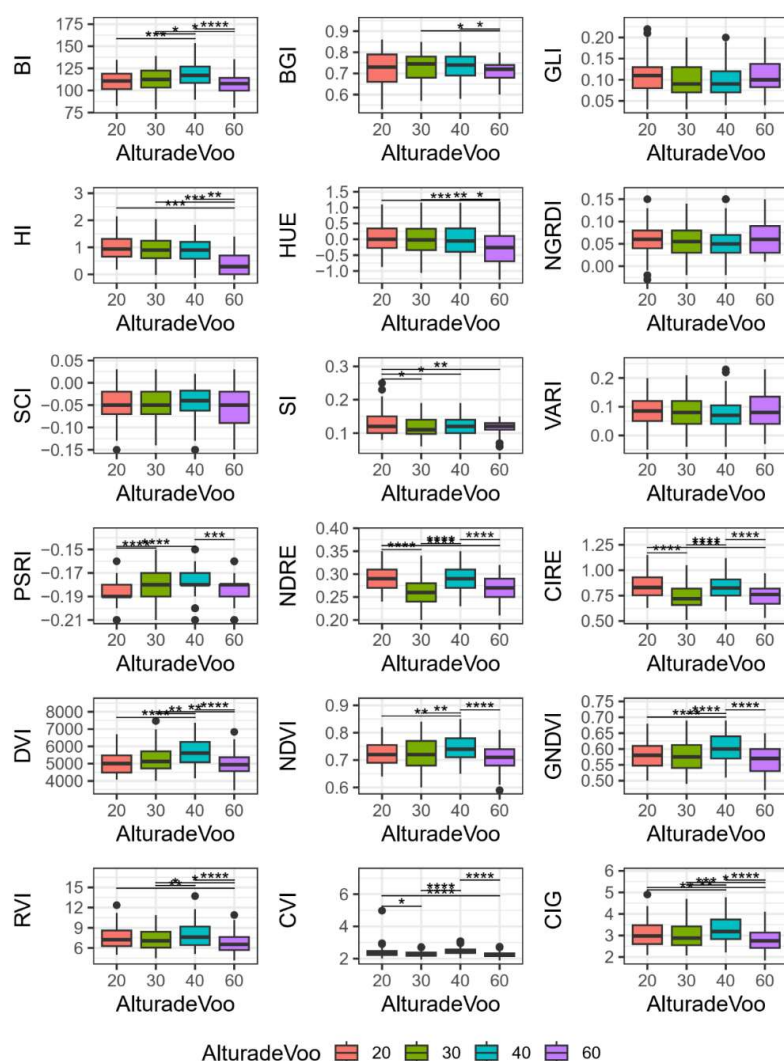


Figura 6: Boxplot dos índices vegetativos obtidos por meio de imagens aéreas obtidas com uso de câmeras multiespectrais, em ensaios de campo de mandioca em diferentes alturas de voo. *, **, *** e **** indica diferenças significativas entre médias de cada índice obtido nas diferentes alturas pelo teste Tukey HSD em nível de 5; 1; 0,1 e 0,01% de probabilidade, respectivamente.

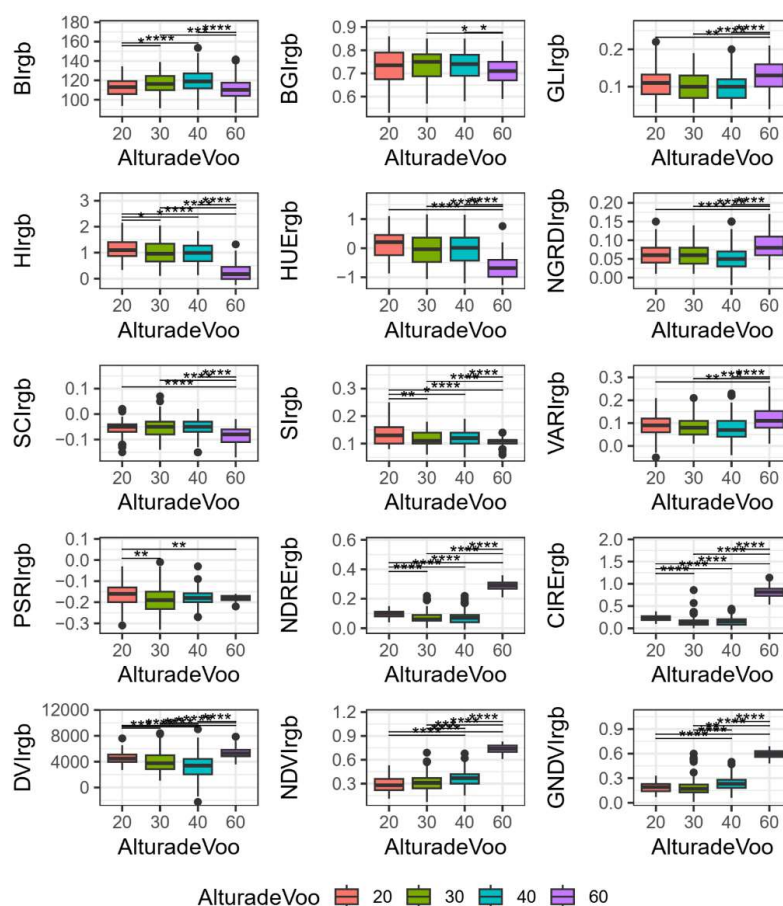


Figura 7: Box plot dos índices vegetativos obtidos com uso de câmeras RGB (Red, Green, Blue) em ensaios de campo de mandioca em diferentes alturas de voo. *, **, *** e **** indica diferenças significativas entre médias de cada índice obtido nas diferentes alturas pelo teste Tukey HSD em nível de 5; 1; 0,1 e 0,01% de probabilidade, respectivamente.

3.3. Predição de características agrônômicas com base em índices de vegetação

O desempenho dos modelos de predição para as características agrônômicas da mandioca, utilizando imagens multiespectrais e RGB capturadas pelo ARP foi avaliado por meio de validação cruzada e seleção de variáveis com base na importância dos índices para predição. Os valores de R^2 para diferentes alturas de voo indicaram baixa acurácia de predição para as variáveis agrônômicas com variação entre $0,05 \leq R^2 \leq 0,34$ (Tabela 4).

No geral, os modelos apresentaram melhor desempenho na predição das características de vigor das plantas e teor de matéria seca, especialmente ao

empregar índices de vegetação capturados a 20 m de altura. Os modelos PLS e KNN demonstraram uma capacidade preditiva mais elevada para o vigor das plantas ($R^2=0,30$), enquanto para teor de matéria seca o PLS resultou em $R^2=0,34$. Em relação à retenção foliar, o modelo GLMSS apresentou o melhor desempenho preditivo ($R^2=0,29$), também empregando índices de vegetação capturados a 20 m de altura.

Tabela 4. Acurácia e erro de predição de algumas características agrônômicas em mandioca utilizando índices vegetativos obtidos em diferentes alturas de voo de veículo aéreo não tripulado.

Características	Modelo ¹	Altura de voo (m)							
		20		30		40		60	
		RMSE	R^2	RMSE	R^2	RMSE	R^2	RMSE	R^2
Vigor das plantas	GLMSS	0,84	0,19	0,94	0,13	0,83	0,20	0,97	0,13
	KNN	0,80	0,30	0,91	0,13	0,80	0,26	0,91	0,09
	PLS	0,82	0,30	0,86	0,18	0,82	0,22	0,85	0,19
	SVM	0,84	0,20	1,12	0,14	0,84	0,25	1,07	0,18
Retenção foliar	GLMSS	0,77	0,29	0,69	0,27	0,84	0,18	0,92	0,03
	KNN	0,80	0,15	0,74	0,21	0,83	0,09	0,80	0,13
	PLS	0,79	0,13	0,69	0,27	0,76	0,05	0,77	0,11
	SVM	0,95	0,13	0,71	0,21	0,86	0,14	0,94	0,14
Produtividade da parte aérea	GLMSS	7,66	0,15	7,49	0,12	7,26	0,13	6,64	0,11
	KNN	7,29	0,11	7,37	0,09	7,30	0,06	6,83	0,11
	PLS	6,94	0,08	6,96	0,17	6,92	0,17	6,83	0,12
	SVM	8,70	0,09	8,47	0,07	8,87	0,11	7,98	0,22
Produtividade total de raízes	GLMSS	7,33	0,08	7,12	0,11	7,58	0,07	7,39	0,16
	KNN	7,29	0,09	7,18	0,17	7,26	0,06	7,18	0,06
	PLS	6,83	0,11	6,93	0,08	6,72	0,12	6,82	0,15
	SVM	8,43	0,14	8,23	0,04	8,36	0,15	8,41	0,08
Teor de matéria seca	GLMSS	1,81	0,24	1,81	0,29	1,98	0,24	2,00	0,25
	KNN	1,84	0,20	1,83	0,25	1,94	0,18	1,86	0,24
	PLS	1,78	0,34	1,76	0,27	1,90	0,16	2,04	0,10
	SVM	1,78	0,25	1,77	0,27	5,25	0,10	3,11	0,07
Manchas foliares	GLMSS	1,04	0,10	0,70	0,12	0,76	0,12	0,68	0,09
	KNN	0,70	0,11	0,67	0,16	0,71	0,15	0,67	0,11
	PLS	0,67	0,05	0,65	0,20	0,67	0,09	0,67	0,05
	SVM	0,74	0,14	0,92	0,08	0,85	0,13	0,77	0,09

¹Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support Vector Regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). RMSE: Erro quadrático médio, R^2 : Coeficiente de determinação.

Em relação a resistência às manchas foliares e produtividade de raízes e

parte aérea, os melhores resultados de predição foram identificados empregando índices de vegetação obtidos em alturas de voos de 60 m e 30 m. Para produtividade da parte aérea e de raízes, os modelos SVM ($R^2=0,22$) e GLMSS ($R^2=0,16$) foram os que apresentaram a maior acurácia de predição utilizando índices de vegetação obtidos em voos a 60 m de altura, respectivamente. No caso das manchas foliares, o melhor desempenho preditivo foi identificado no modelo PLS ($R^2=0,20$) utilizando imagens aéreas a 30 m de altura.

As Figuras de 8 a 13 apresentam a relação média entre os valores observados e preditos. Para o vigor das plantas, os modelos KNN mostraram ajustes de $R^2= 0,50$ e $R^2= 0,47$, usando imagens obtidas a 20 m e 40 m de altura, respectivamente (Figura 8). Apesar dos modelos apresentarem ajustes variados, a maioria das regressões foi significativa ($p\leq 0,01$), indicando uma relação entre os valores observados e preditos.

Quanto à produtividade da parte aérea, os modelos tiveram ajustes baixos ($0,01 \leq R^2 \leq 0,24$), com melhores resultados para o modelo GLMSS usando imagens a 30 m ($R^2= 0,24$), 20 m ($R^2= 0,23$) e 40 m de altura ($R^2= 0,14$) (Figura 9). No caso da produtividade de raízes também houve acurácia variada e de baixa magnitude ($R^2= 0,01$ a $R^2= 0,30$), com maior destaque para o modelo GLMSS a 60 m ($R^2= 0,30$) e 30 m de altura ($R^2= 0,25$) que apresentou os melhores ajustes na regressão (Figura 10).

A variação na acurácia da predição do teor de matéria seca foi bastante ampla ($R^2= 0,01$ a $R^2= 0,44$), com melhoria ao aumentar a altura dos voos, especialmente com o modelo GLMSS (Figura 11). Nesse caso, a acurácia de predição aumentou de $R^2=0,26$ (20 m) para $R^2=0,44$ (60 m).

Já para retenção foliar, as predições foram de baixa magnitude, com os modelos GLMSS e KNN apresentando as maiores acurácias, mas em diferentes alturas de voo (Figura 12). Novamente, os modelos GLMSS e KNN possibilitaram as maiores acurácias de predição, $R^2 = 0,31$ e $R^2 = 0,40$, respectivamente, mas em diferentes alturas de voo (40 e 30 m, respectivamente). Os modelos PLS e SVM, captaram apenas marginalmente a relação entre os dados reais e preditos, com R^2 variando entre 0,01 e 0,26.

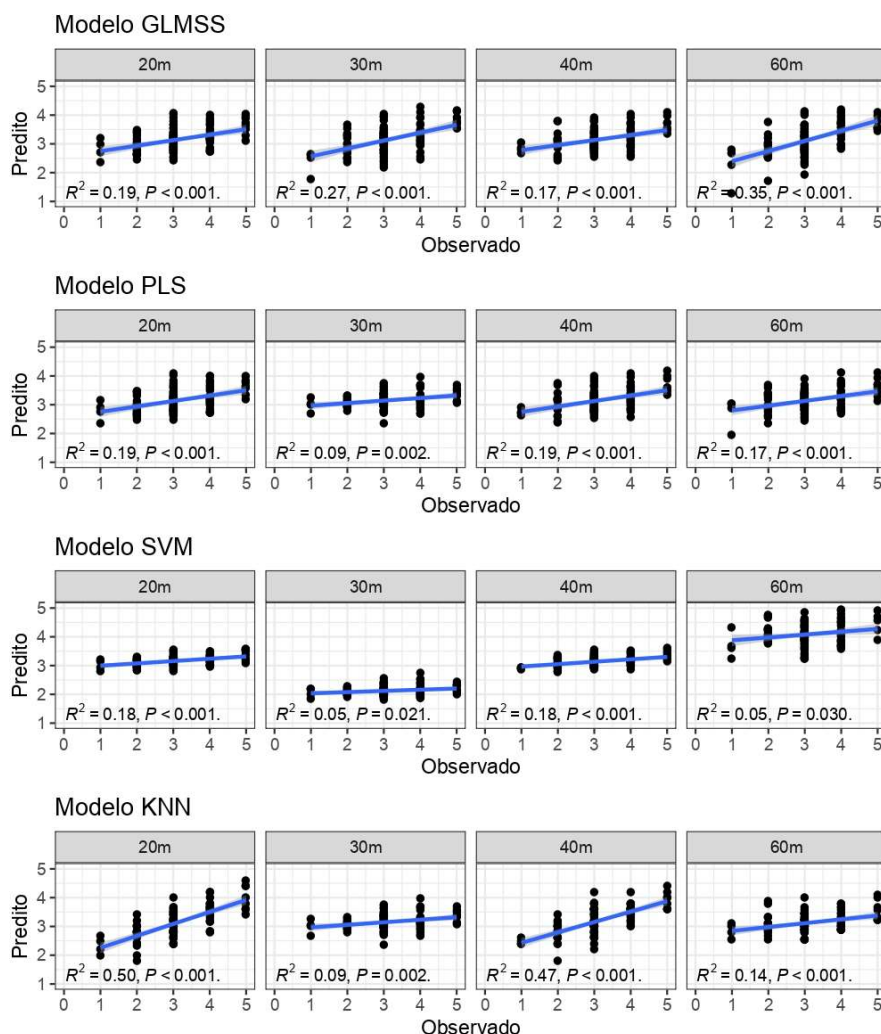


Figura 8. Relação entre valores observados e preditos para a característica vigor das plantas de mandioca. A predição foi realizada com base em quatro modelos de predição, utilizando esquema de validação cruzada e seleção dos melhores índices de vegetação extraídos de câmeras RGB (Red, Green, Blue) e multiespectrais. Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support Vector Regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). R^2 : coeficiente de determinação.

Em relação à predição de doenças da parte aérea (manchas foliares), a maioria dos modelos e alturas de voo foram pobremente associados (Figura 13). A maioria das predições ficaram abaixo de 0,20, exceto quando se utilizou o modelo GLMSS na altura de voo de 20 m ($R^2=0,27$) e modelo KNN na altura de 30 m ($R^2=0,23$). Os modelos PLS e SVM não chegaram a apresentar $R^2 \geq 0,10$.

para nenhuma altura de voo.

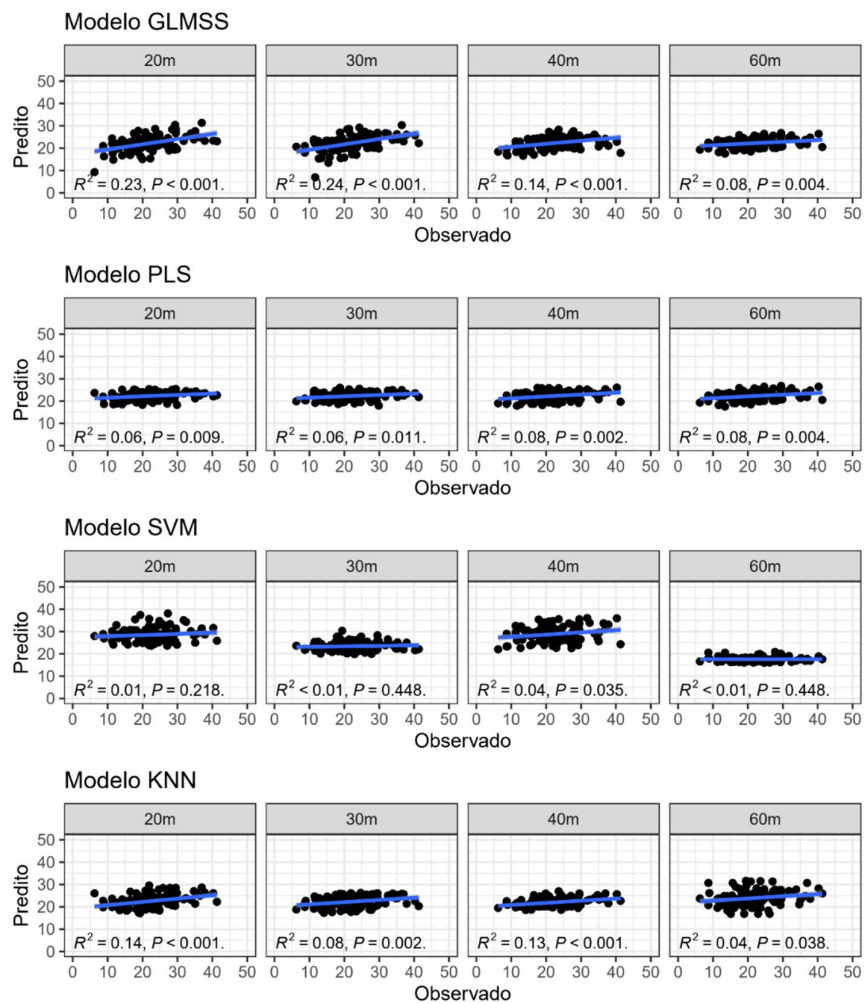


Figura 9. Relação entre valores observados e preditos para a característica produtividade da parte aérea de mandioca. A predição foi realizada com base em quatro modelos de predição, utilizando esquema de validação cruzada e seleção dos melhores índices de vegetação extraídos de câmeras RGB (Red, Green, Blue) e multiespectrais. Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support vector regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). R^2 : coeficiente de determinação.

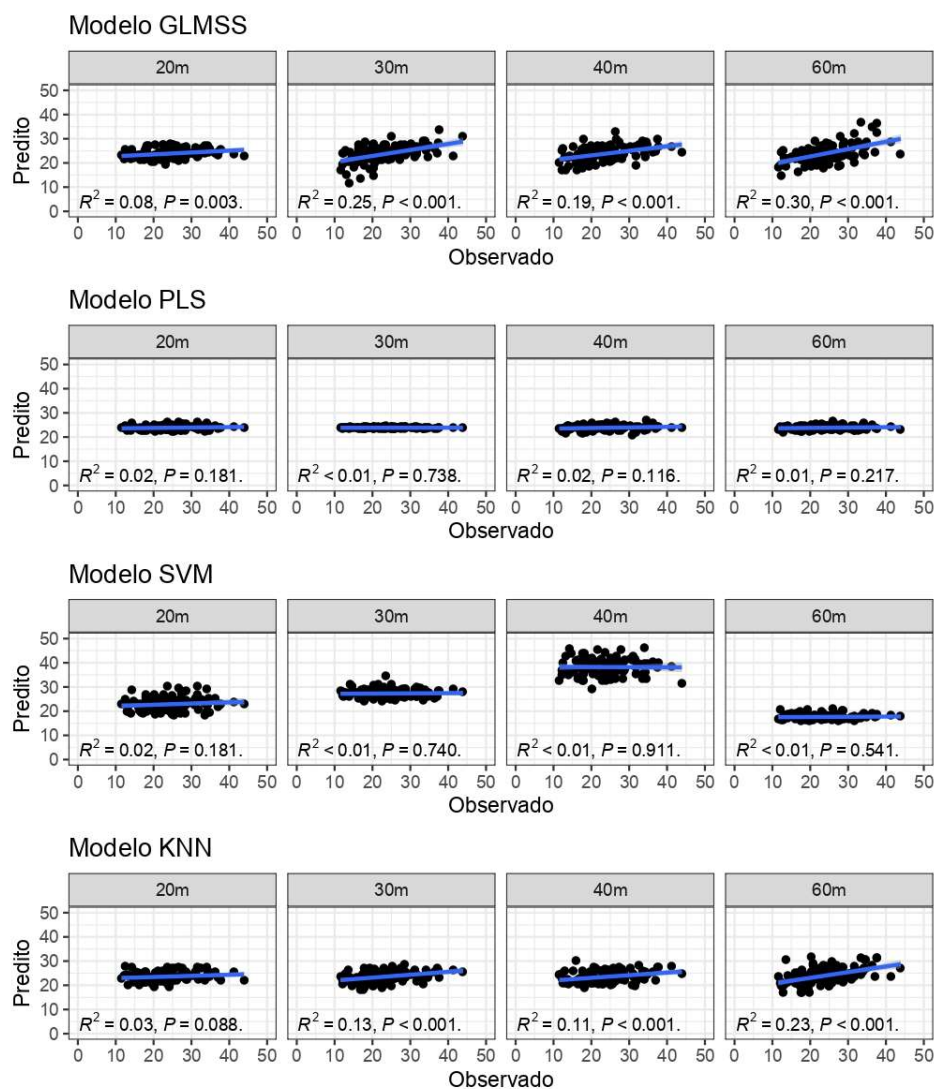


Figura 10. Relação entre valores observados e preditos para a característica produtividade de raízes de mandioca. A predição foi realizada com base em quatro modelos de predição, utilizando esquema de validação cruzada e seleção dos melhores índices de vegetação extraídos de câmeras RGB (Red, Green, Blue) e multiespectrais. Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support Vector Regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). R^2 : coeficiente de determinação.

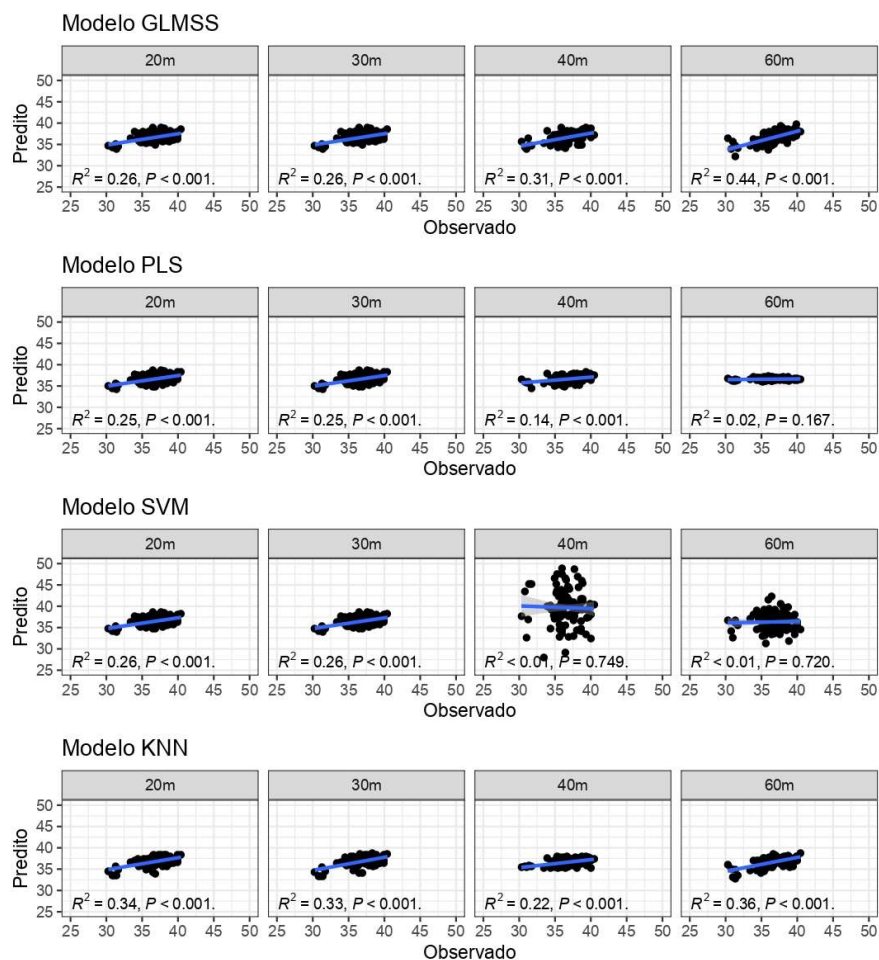


Figura 11. Relação entre valores observados e preditos para a característica teor de matéria seca nas raízes de mandioca. A predição foi realizada com base em quatro modelos de predição, utilizando esquema de validação cruzada e seleção dos melhores índices de vegetação extraídos de câmeras RGB (Red, Green, Blue) e multiespectrais. Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support Vector Regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). R^2 : coeficiente de determinação.

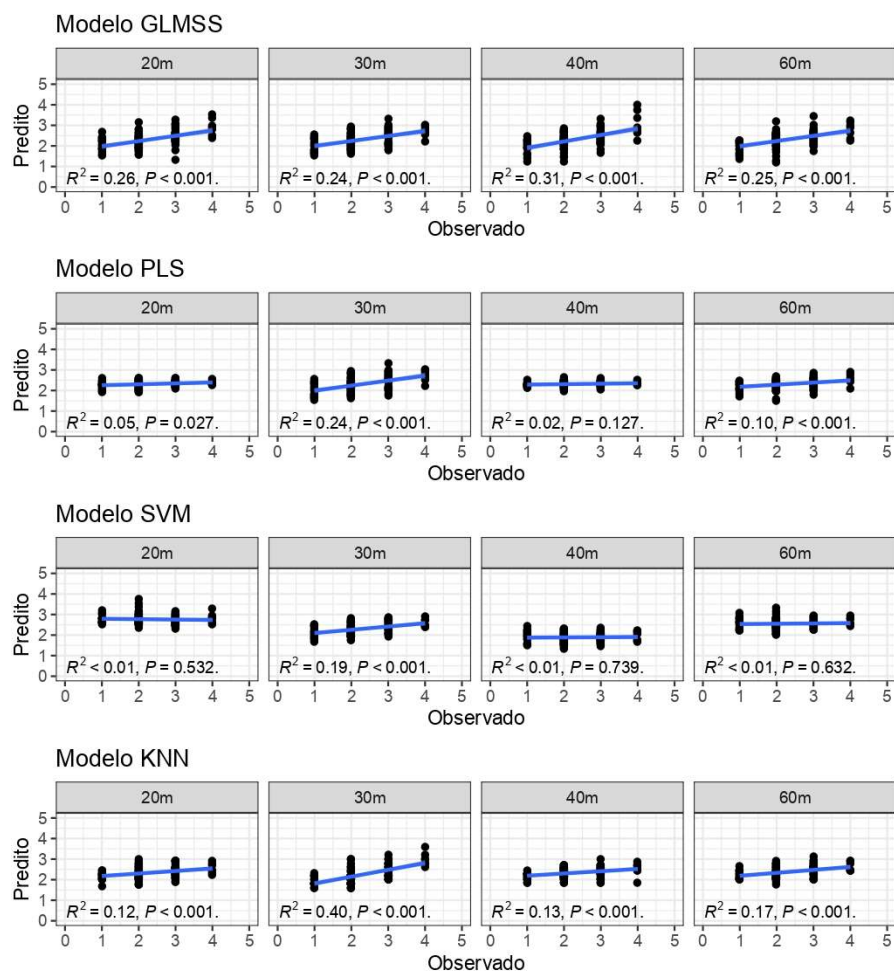


Figura 12. Relação entre valores observados e preditos para a característica retenção foliar em mandioca. A predição foi realizada com base em quatro modelos de predição, utilizando esquema de validação cruzada e seleção dos melhores índices de vegetação extraídos de câmeras RGB (Red, Green, Blue) e multiespectrais. Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support Vector Regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). R^2 : coeficiente de determinação.

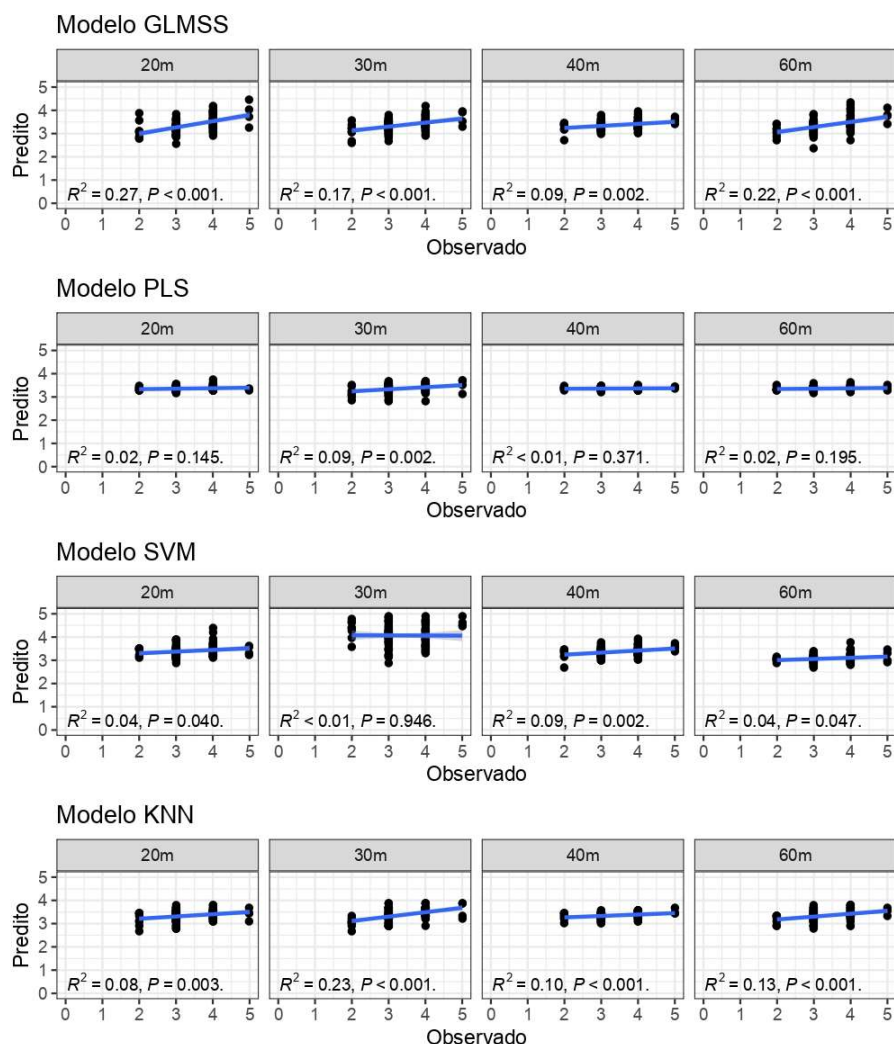


Figura 13. Relação entre valores observados e preditos para a característica manchas foliares em mandioca. A predição foi realizada com base em quatro modelos de predição, utilizando esquema de validação cruzada e seleção dos melhores índices de vegetação extraídos de câmeras RGB (Red, Green, Blue) e multiespectrais. Generalized Linear Model with Stepwise Feature Selection (GLMSS), Partial Least Squares (PLS), Support Vector Regression (SVR), K-Nearest Neighbor (KNN). R^2 : coeficiente de determinação.

4. DISCUSSÃO

4.1. Eficiência da mensuração da altura das plantas de mandioca via modelo digital de elevação

No presente estudo, a correlação apresentou alta precisão das estimativas da altura da planta pelo modelo digital de elevação construído a partir

das imagens obtidas pelo ARP ($r = 0,99$). Resultados similares foram observados em outros estudos em mandioca, onde foi relatada uma alta correlação ($r = 0,83$) entre as medições da altura das plantas usando ARP a 30 m e 40 m de altura com as medições no solo (SELVARAJ et al., 2020). Apesar de apresentar concordância entre as alturas mensuradas via nuvem de pontos e manualmente, voos mais baixos apresentam menores viés em comparação com alturas de voo mais elevadas.

Do ponto de vista prático, alturas de voo mais baixas levam a um maior número de imagens coletadas e consequentemente uma maior confiabilidade nos resultados obtidos. (TORRES-SÁNCHEZ et al., 2018). Portanto, com base nos nossos resultados para a característica altura de plantas em mandioca, recomenda-se a realização de voos a 20 m de altura de forma a manter a capacidade de captura dos valores reais de altura da planta.

4.2. Índices de vegetação × dados agronômicos em mandioca

O uso de ARPs vem ganhando relevância na fenotipagem de alto rendimento em diferentes culturas, sobretudo em programas de melhoramento genético na qual muitos indivíduos devem ser avaliados de forma rápida para inúmeras características. Entretanto, apesar do elevado potencial dos ARP, as magnitudes de correlação entre os índices vegetativos e as características agronômicas, variaram de baixas a moderadas ($-0,1 \leq r \leq 0,5$) nas diferentes alturas de voo. Quando foram empregados índices vegetativos derivados de sensores multiespectrais, as magnitudes de correlação tenderam a ser superiores em comparação com os sensores RGB. No entanto, a maioria das magnitudes das correlações ainda foi baixa, principalmente nas menores alturas de voo (20 m e 30 m). De fato, as imagens obtidas de sensores multiespectrais são valiosas para a agricultura de precisão devido à informação espectral adicional adquirida em comparação com as imagens RGB, que apresentam resoluções e cores inferiores (ZHAO et al., 2022). Em arroz, Zhou et al. (2017) verificaram a relação entre o índice de área foliar e índices vegetativos nos diferentes estádios fenológicos da cultura e reportaram que diversos índices obtidos de imagens multiespectrais apresentaram correlações mais elevadas (variação de 0,63 a 0,79) em comparação com índices derivados de imagens RGB (variação de 0,36 a 0,38).

De maneira geral, as maiores correlações dos índices de vegetação ($-0,4 \leq r \leq 0,5$) foram identificadas para as características vigor das plantas, produtividade da parte aérea e produtividade total de raízes e teor de matéria seca, sobretudo com índices derivados de imagens multiespectrais a 40 m e 60 m de altura. Particularmente nestes casos, os índices de vegetação BGI, CIRE, DNVI, GLI, GNDVI, NDVI, NGRDI, PSRI, SCI, SI e VARI possibilitaram a identificação das maiores correlações para as características previamente mencionadas.

Os tipos de fenotipagens variam de acordo com as diferentes espécies vegetais, mas de modo geral visam a seleção para atributos de vigor e crescimento vegetal ou mesmo para atributos produtivos (grãos, frutos, raízes, etc...). Exemplos de literatura mostram correlações intermediárias entre o índice GNDVI e cobertura vegetal ($0,64 \leq r \leq 0,66$) e área foliar ($0,40 \leq r \leq 0,59$), respectivamente, ao analisarem ensaios de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) cultivados sob diferentes tratamentos de irrigação (LIPOVAC et al., 2022). Outros exemplos, mostram correlação dos índices de vegetação NDVI ($0,36 \leq r \leq 0,53$) e GNDVI ($r = 0,42 \leq r \leq 0,56$) com rendimento de grãos em trigo durum (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) (KYRATZIS et al., 2017). Em outros estudos na cultura da mandioca, os índices NDRE, NDVI, GNDVI também apresentaram alta correlação com a produtividade da parte aérea, cobertura vegetal e matéria fresca de raízes (SELVARAJ et al., 2020).

Índices vegetativos também mostraram alta correlação entre diferentes alturas de voo com características agronômicas em outras culturas, a exemplo do estudo realizado por Avtar et al. (2020), onde foram avaliados os índices NDVI e NDRE em diferentes alturas de voo (20 m, 60 m e 80 m). Esses autores reportaram que voos a 60 m de altura apresentaram boa correlação com características como diâmetro da copa e altura de plantas de dendezeiro (*Elaeis guineensis*), enquanto índices obtidos de imagens a 60 m e 80 m de altura apresentaram alta correlação com vigor das plantas.

Rattanasopa et al. (2022) utilizaram ARPs para estimar características agronômicas na cultura da mandioca em três diferentes períodos (5, 6 e 7 meses após o plantio), empregando imagens multiespectrais. Os resultados revelaram alta correlação ($r = 0,95$, $r = 0,91$ e $r = 0,96$) entre os índices vegetativos NDVI, RVI e CIRE com características agronômicas como área foliar, altura do dossel

e massa fresca total. Embora alguns autores mencionem que os índices supracitados sejam considerados indispensáveis na avaliação ou classificação da cobertura do solo, detecção de alterações climáticas e monitoramento de déficit de solo (GLENN et al., 2008; RATTANASOPA et al., 2022); no presente estudo, correlações significativas entre os índices de vegetação NDVI, RVI e CIRE e as variáveis de vigor e retenção foliar em ensaios de avaliação de genótipos de mandioca foram identificadas, embora com magnitudes baixas.

4.3. Influência das alturas de voos nos índices de vegetação

Diferentes alturas do voo podem afetar as resoluções espaciais das imagens e consequentemente a obtenção e construção dos ortomosaicos. Além disso, a diminuição na altura do voo reduz a área mapeada, o que implica um aumento tanto no número de imagens como também no tempo de processamento dos dados para geração dos ortomosaicos (GÓMEZ-CANDÓN et al., 2014). Portanto, a otimização da altura de voo é de extrema importância, principalmente em áreas onde fatores ambientais, como brilho solar, cobertura constante de nuvens, podem dificultar as missões prejudicando a obtenção de imagens de qualidade.

Os resultados do presente estudo mostram que os valores dos índices de vegetação podem variar de acordo com a altura de voo independentemente do tipo de sensor utilizado. Alguns autores reportaram que o aumento da altura de voo pode prejudicar a precisão das informações derivadas das imagens devido à perda de detalhes (WHITEHEAD et al., 2014), enquanto voos em menores alturas (entre 15 e 30 metros) tendem a proporcionar imagens mais nítidas e detalhadas (SEIFERT et al., 2019). Apesar disso, Mesas-Carrascosa et al. (2015) reportaram não haver diferenças significativas nos valores dos índices de vegetação, como o NDVI, em imagens capturadas em altitudes mais elevadas.

No geral, nossos estudos demonstraram que houve maior variação nos índices de vegetação entre as alturas de voo utilizando sensores RGB em comparação com os índices obtidos de imagens multiespectrais. Uma possível explicação para isso é o fato de que as imagens da vegetação da mandioca exibem imagens RGB razoavelmente homogêneas, embora a variação espacial obtida dos voos a diferentes alturas possa alterar as propriedades de refletância e com isso impactar na qualidade das imagens no espectro visível. Por outro

lado, as imagens capturadas por câmeras multiespectrais mostram mudanças atenuadas devido ao processo de calibração radiométrica, realizado antes do processamento dos ortomosaicos (ASSMANN et al., 2018; AASEN e BOLTEN 2018; STOW et al., 2019), o que faz com que haja menor variação nos índices de vegetação calculados com base nas imagens multiespectrais. De modo geral, o ângulo solar, horário do dia, refletância bidirecional e o tipo de cultura são fatores que podem influenciar os valores dos índices vegetativos. Até o momento, a pesquisa sobre esses fatores tem sido limitada, exigindo uma avaliação mais abrangente para entender completamente os resultados observados.

A escolha da altura de voo é geralmente definida com base no objetivo do estudo e nas características alvo das inferências. Atualmente uma gama de estudos vem avaliando a influência da altura de voo no cálculo dos índices de vegetação e sua correlação com características de interesse em diversas culturas. Alguns autores como Perroy et al. (2017) e Quirós e Khot (2016) reportaram que o aumento na altura de voo resultou em baixa resolução espacial e má detecção do dossel em plantas de *Miconia calvescens* e na avaliação do estande em plantas de macieira (*Malus domestica* Borkh), respectivamente. Por outro lado, no presente estudo houve um aumento nos valores nos índices de vegetação em mandioca quando se analisou imagens oriundas de maiores alturas de voo. De modo geral, a altura de voo de 60m proporcionou maior correlação com a maioria das características agrônômicas avaliadas, a exemplo do teor de matéria seca, produtividade total de raízes, produtividade de parte aérea e vigor e, portanto, tem alto potencial para uso em novos imageamentos aéreos.

4.4. Herdabilidade dos índices de vegetação e caracteres agrônômicos

Independente do sensor utilizado (RGB ou multiespectral), as herdabilidade no sentido amplo estimadas para os índices de vegetação obtidos em diferentes alturas de voo foram classificadas como de magnitudes moderadas e altas ($0,51 \leq H_{Cullis}^2 \leq 0,94$). Os índices PSRI ($H_{Cullis}^2 = 0,94$) e HUE ($H_{Cullis}^2 = 0,97$) extraídos de sensores RGB apresentaram as maiores magnitudes de herdabilidade mensurada a 30 m de altura, enquanto os índices dos sensores

multiespectrais CIRE ($H^2_{Cullis}=0,82$) e HI ($H^2_{Cullis} \leq 0,92$) apresentaram as maiores magnitudes com base em imagens obtidas a 20 m e 60 m de altura. Similarmente aos resultados reportados em nosso estudo, Silva et al. (2024) avaliaram a eficiência da seleção indireta de genótipos de trigo por meio de fenotipagem de alto rendimento utilizando ARPs. Com base em índices vegetativos extraídos de câmeras multiespectrais estes autores também reportaram altos valores médios de herdabilidade quando os genótipos foram avaliados no estágio de maturação da cultura (0,87).

Embora esses altos valores de herdabilidade sugiram que os índices vegetativos podem ser uma ferramenta poderosa para a seleção indireta de características de interesse, a exemplo de atributos produtivos, em programas de melhoramento (EL-HENDAWY et al., 2020), existem alguns relatos de literatura que demonstram sucesso relativamente limitado na obtenção de alta herdabilidade dos índices de vegetação. Um exemplo disso, é o trabalho de Tao et al. (2021), que investigaram as variações no crescimento e nos índices vegetativos do pinheiro (*Pinus elliottii*) em dois locais distintos, e constataram que as estimativas de herdabilidade obtidas por meio de câmeras RGB e multiespectrais foram muito baixas para os índices vegetativos *Landsat Soil Adjusted Vegetation Index* (SAVI), GNDVI e NDVI (~0,11 no primeiro local e variação de 0,23 a 0,27 no segundo local).

Similarmente aos índices de vegetação, as características agronômicas apresentaram elevadas herdabilidade ($0,93 \leq H^2_{Cullis} \leq 0,99$), possivelmente devido à análise de ensaios em fases finais de validação agronômica (UYT) na qual existe um maior número de plantas na parcela, e, portanto, maior uniformização das plantas avaliadas nas diferentes repetições. Resultados similares foram apresentados por Filho et al. (2023) ao reportarem H^2_{Cullis} para produtividade da parte aérea, raízes frescas e teor de matéria seca de 0,94, 0,94 e 0,93, respectivamente. Conceição et al. (2023) também reportaram valores de $H^2_{Cullis} = 0,84$ e 0,72, para as características retenção foliar e vigor, respectivamente.

4.5. Desempenho dos modelos baseados nos índices de vegetação para predição de características agronômicas em mandioca

Modelos de predição baseados em índices vegetativos são uma ferramenta importante para capturar relações essenciais entre os dados de sensoriamento remoto observado e os parâmetros de interesse (WANG et al., 2019), a exemplo de dados de produtividade, índice de área foliar e biomassa (GANEVA et al., 2023). A capacidade preditiva depende do conjunto de dados em análise e por esse motivo é importante avaliar diferentes abordagens a fim de explorar diferenças nos algoritmos que podem beneficiar as predições (CARMO et al., 2020).

No presente estudo, a capacidade preditiva dos modelos de aprendizado de máquina para diversas características agronômicas em mandioca variou de baixa a moderada ($0,01 \leq R^2 \leq 0,50$). Os melhores ajustes dos modelos foram observados, sobretudo, para as características vigor de plantas e teor de matéria seca, utilizando os modelos GLMSS e KNN. Em relação ao vigor das plantas a acurácia de predição variou de $R^2=0,50$ e $R^2=0,47$ do modelo KNN utilizando imagens obtidas a 20 m e 40 m de altura, respectivamente. Para teor de matéria seca houve um aumento da capacidade preditiva em função da altura de voo no modelo GLMSS, ou seja, em 20 m e 60 m de altura de voo as acurácias de predição foram de $R^2=0,26$ e $R^2=0,44$, respectivamente.

De modo geral, o modelo PLS apresentou os menores valores de R^2 para predição das características agronômicas. Estes resultados são contrastantes a alguns relatos de literatura, pois de acordo com Wang et al. (2018), o modelo PLS é uma alternativa aos métodos de regressão que oferece melhor desempenho para diversas variáveis. Adicionalmente, embora Li et al. (2022) tenham reportado alta capacidade preditiva do modelo SVM para produtividade de trigo na fase de enchimento de grãos ($R^2= 0,73$ e $RMSE = 0,87 \text{ t-ha}^{-1}$), utilizando imagens hiperespectrais, nossos estudos em mandioca identificaram baixa capacidade preditiva ($0,01 \leq R^2 \leq 0,26$) desse modelo para a maioria das características em estudo.

A busca por metodologias de fenotipagem rápida tem sido prioridade em programas de melhoramento de mandioca, portanto, vários grupos de pesquisa têm buscado alternativas para encurtar os ciclos de seleção, aumentar o número de genótipos avaliados e diminuir custos associados com a fenotipagem de características que são difíceis de mensuração. Mesmo com a implementação de metodologias de fenotipagem rápida, poucos estudos têm se dedicado à

validação dos modelos de predição de características associadas à qualidade das raízes, a exemplo do teor de matéria seca em mandioca com base em análise de imagens. Portanto, uma capacidade preditiva de 0,44, já é um bom ponto de partida para a seleção precoce de plantas no programa de seleção, especialmente considerando que programas de seleção mais sofisticados como a seleção genômica tem capacidades preditivas bastante similares aos valores encontrados nesse imageamento aéreo (WOLFE et al., 2017; TORRES et al., 2019)

4.6. Aplicações do imageamento aéreo no melhoramento de mandioca

O grande volume de dados obtidos pelas ARPs, especialmente quando equipadas com sensores que capturam conjuntos de dados extensos, apresentam desafios de processamento e entrega rápida dos resultados (BONGOMIN et al., 2024). Muitos estudos recentes buscam validar índices espectrais vegetativos na fenotipagem de plantas em escala de campo, sendo que grande parte dessas medições é realizada de forma proximal (CHIVASA et al., 2019), que está associada aos desafios mencionados anteriormente. Apesar disso, os estudos baseados em ARP tem apresentado melhorias que visam superar as limitações atuais e maximizar o potencial desta ferramenta na agricultura. Além disso, embora o sensoriamento remoto com base em ARPs enfrente desafios significativos, incluindo condições climáticas adversas, calibração do sensor e estabilidade da ARP, fatores que impactam diretamente na confiabilidade e precisão dos dados capturados (HERZIG et al., 2021; BONGOMIN et al., 2024), espera-se que essa abordagem se torne uma ferramenta importante para auxiliar os programas de melhoramento e os agricultores a obterem e utilizarem dados confiáveis da agricultura de precisão na tomada de decisão.

Os programas de melhoramento têm explorado o desenvolvimento de tecnologias e algoritmos de sensores para aumentar a exatidão e precisão dos dados capturados. Isso inclui a detecção e quantificação do crescimento das plantas, teor de clorofila nas folhas, altura da planta, vigor e técnicas analíticas de última geração. No caso específico do programa de melhoramento de mandioca, demonstrou-se a viabilidade da fenotipagem via ARPs para estimar altura de planta. Entretanto, a predição de características agronômicas via

fenotipagem por imageamento aéreo nos diferentes ensaios de um programa de melhoramento genético, pode ser aprimorada para seleção de indivíduos em grandes populações.

As correlações entre as características agronômicas e os índices de vegetação nas imagens extraídos de sensores RGB e multiespectrais variando de magnitude baixa e mediana nas diferentes alturas de voo certamente contribuíram para identificação de modestas acurácias de predição para os atributos agronômicos para a maioria das características avaliadas. Em particular, os modelos de predição podem ser aprimorados incorporando características espaciais, o que pode nivelar o desempenho entre os sistemas de câmeras. Herzig et al. (2021), observaram resultados semelhantes entre os sistemas de câmera RGB e multiespectral ao utilizarem modelos de predição para estimar a produtividade de grãos de cevada. No entanto, devido aos custos mais baixos e à simplicidade no processamento de imagens, os autores indicaram que o sistema de câmera RGB pode ser preferível ao sistema multiespectral.

Além disso, alguns aspectos devem ser levados em conta para que o imageamento aéreo possa vir a ser útil na rotina de seleção nos programas de melhoramento de mandioca. Uma alternativa a ser implementada é o imageamento dos ensaios de campo ao longo do ciclo da cultura, para que seja possível captar variações ambientais que possam influenciar nos atributos produtivos, e consequentemente permitir a obtenção de índices de vegetação mais robustos para as análises e padronização da área de estudo a fim de capturar imagens de elevada qualidade.

5. CONCLUSÃO

O imageamento aéreo foi bastante eficiente para estimar a altura das plantas ($r = 0,99$), independentemente da altura de voo. Boa concordância é verificada entre o imageamento aéreo e a mensuração manual sobretudo utilizando voos a 20 m de altitude. Também houve alta eficácia na predição de características agronômicas, a exemplo do vigor das plantas, onde a acurácia variou de $R^2 = 0,50$ e $R^2 = 0,47$ para o modelo KNN nas alturas de 20 e 40m, respectivamente. Quanto ao teor de matéria seca, observou-se um aumento na capacidade preditiva, com $R^2 = 0,26$ e $R^2 = 0,44$ para as alturas de 20 e 60m,

respectivamente.

De modo geral, a altura de voo de 60 m tem maior potencial para uso generalizado nas avaliações fenotípicas dos programas de melhoramento de mandioca, devido às maiores herdabilidades e correlações entre os índices vegetativos e as características agrônômicas mensuradas. Além disso, voos realizados a essa altura demandam um baixo consumo de bateria, menos tempo de voo e processamento de imagens reduzido, possibilitando a avaliação de um maior número de indivíduos/ensaios durante uma única missão.

No geral, o modelo de predição KNN demonstrou as melhores acurácias preditivas, indicando alto potencial de mensuração indireta de características associadas à produtividade e qualidade das raízes de mandioca. Dessa forma, verificou-se que o imageamento aéreo é, portanto, uma ferramenta importante para ajudar na fenotipagem em campo, otimizando o tempo e proporcionando resultados mais rápidos para ajudar os melhoristas de mandioca na tomada de decisão sobre quais genótipos devem seguir no *pipeline* de seleção.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASEN, H., & BOLTON, A. Multi-temporal high-resolution imaging spectroscopy with hyperspectral 2D imagers—From theory to application. **Remote sensing of environment**, v. 205, p. 374-389, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2017.10.043>
- ADU, M. O.; ASARE, P. A.; ASARE-BEDIAKO, E.; AMENORPE, G.; ACKAH, F. K.; AFUTU, E.; YAWSON, D. O. Characterising shoot and root system trait variability and contribution to genotypic variability in juvenile cassava (*Manihot esculenta* Crantz) plants. **Heliyon**, v.4, n.6, e00665, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018. e00665>
- ANDRADE, L. R. B. D.; SOUSA, M. B. E.; OLIVEIRA, E. J.; RESENDE, M. D. V. D.; AZEVEDO, C. F. Cassava yield traits predicted by genomic selection methods. **PLoS One**, v.14, n.11, p.1-22, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224920>
- ASSMANN, J. J., KERBY, J. T., CUNLIFFE, A. M., MYERS-SMITH, I. H.

Vegetation monitoring using multispectral sensors—best practices and lessons learned from high latitudes. **Journal of Unmanned Vehicle Systems**, v. 7, n. 1, p. 54-75, 2018. <https://doi.org/10.1139/juvs-2018-0018>

AVTAR, R.; SUAB, S. A.; SYUKUR, M. S.; KOROM, A.; UMARHADI, D. A.; YUNUS, A. P. Assessing the influence of UAV altitude on extracted biophysical parameters of young oil palm. **Remote Sensing**, v.12, n.18, p.3030, 2020. <https://doi.org/10.3390/rs12183030>

BALLESTEROS, R.; ORTEGA, J. F.; HERNANDEZ, D.; DEL CAMPO, A.; MORENO, M. A. Combined use of agro-climatic and very high-resolution remote sensing information for crop monitoring. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v.72, p.66-75, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.05.019>

BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **Journal of Statistical Software**. v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1406.5823>

BERNARDI, A. C. D. C.; RABELLO, L. M.; INAMASU, R. Y.; GREGO, C. R. ANDRADE, R. G. Variabilidade espacial de parâmetros físico-químicas do solo e biofísicos de superfície em cultivo do sorgo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 623-630, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662014000600009>

BLAND, J. M., & ALTMAN, D. G. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical methods in medical research*, v. 8, n. 2, p. 135-160, 1999. <https://doi.org/10.1177/096228029900800204>

BONGOMIN, O.; LAMO, J.; GUINA, J. M.; OKELLO, C.; OCEN, G. G.; OBURA, M.; OJOK, S. UAV image acquisition and processing for high-throughput phenotyping in agricultural research and breeding programs. **The Plant Phenome Journal**, v. 7, n. 1, p. e20096, 2024. <https://doi.org/10.1002/ppj2.20096>

BURNS, A.; GLEADOW, R.; CLIFF, J.; ZACARIAS, A.; CAVAGNARO, T. Cassava: the drought, war and famine crop in a changing world. **Sustainability**,

v. 2, n. 11, p. 3572-3607, 2010. <https://doi.org/10.3390/su2113572>

CARMO, C. D.; SOUSA, M. B.; PEREIRA, J. D. S.; CEBALLOS, H.; OLIVEIRA, E. J. Identification of waxy cassava genotypes using fourier-transform near-infrared spectroscopy. **Crop Science**, v. 60, n. 2, p. 883-895, 2020. <https://doi.org/10.1002/csc2.20102>

CHAWADE, A.; VAN HAM, J.; BLOMQUIST, H.; BAGGE, O.; ALEXANDERSSON, E.; ORTIZ, R. High-throughput field-phenotyping tools for plant breeding and precision agriculture. **Agronomy**, v.9, n.5, p.258, 2019. <https://doi.org/10.3390/agronomy9050258>

CHIVASA, W., MUTANGA, O., & BIRADAR, C. Phenology-based discrimination of maize (*Zea mays* L.) varieties using multitemporal hyperspectral data. **Journal of Applied Remote Sensing**, v. 13, n. 1, p. 017504-017504, 2019. <https://doi.org/10.1117/1.JRS.13017504>

CONCEIÇÃO, L. V. D.; CORTES, D. F. M.; OLIVEIRA, E. J. New protocol for rapid cassava multiplication in field conditions: a perspective on speed breeding. **Frontiers in Plant Science**, v.14, p.1258101, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1258101>

CULLIS, B. R.; SMITH, A. B.; COOMBES, N. E. On the design of early generation variety trials with correlated data. **Journal of agricultural, Biological, and Environmental Statistics**, v.11, n.4, p.381-393, 2006. <https://doi.org/10.1198/108571106X154443>

ELBASI, E.; ZAKI, C.; TOPCU, A. E.; ABDELBAKI, W.; ZREIKAT, A. I.; CINA, E.; SAKER, L. Crop prediction model using machine learning algorithms. **Applied Sciences**, v. 13, n. 16, p. 9288, 2023. <https://doi.org/10.3390/app13169288>.

EL-HENDAWY, S.; AL-SUHAIBANI, N.; AL-ASHKAR, I.; ALOTAIBI, M.; TAHIR, M.U.; SOLIEMAN, T.; HASSAN, W.M. Combining genetic analysis and multivariate modeling to evaluate spectral reflectance indices as indirect selection tools in wheat breeding under water deficit stress conditions. **Remote Sensing**, v.12, 1480, 2020. <https://doi.org/10.3390/rs12091480>

ESCADAFAL, R. Soil spectral properties and their relationships with environmental parameters-examples from arid regions. In: Imaging spectrometry—A tool for environmental observations. **Dordrecht: Springer Netherlands**, 1994. p. 71-87. https://doi.org/10.1007/978-0-585-33173-7_5

FAO. FAOSTAT. [<http://faostat3.fao.org/home/index.html>]. Accessed on 2 April (2022).

FILHO, J.S.S.; OLIVOTO, T.; CAMPOS, M. D. S.; OLIVEIRA, E. J. Multi-trait selection in cassava multi-trait selection in multi-environments for performance and stability in cassava genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1282221, 2023. <http://doi.org/10.3389/fpls.2023.1282221>

FORMAGGIO, A. R.; SANCHES, I. D. **Sensoriamento Remoto em agricultura. São Paulo: Oficina de textos**, 2017. 288p.

FU, Y.; YANG, G.; WANG, J.; SONG, X.; FENG, H. Winter wheat biomass estimation based on spectral indices, band depth analysis and partial least squares regression using hyperspectral measurements. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 100, p. 51-59, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.10.010>

GANEVA, D.; ROUMENINA, E.; DIMITROV, P.; GIKOV, A.; JELEV, G.; DYULGENOVA, B.; BOZHANOVA, V. Remotely sensed phenotypic traits for heritability estimates and grain yield prediction of barley using multispectral imaging from UAVs. **Sensors**, v.23, n.11, p. 5008, 2023. <https://doi.org/10.3390/s23115008>

GITELSON, A. A.; KAUFMAN, Y. J.; MERZLYAK, M. N. Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS. **Remote sensing of Environment**, v. 58, n. 3, p. 289-298, 1996. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(96\)00072-7](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(96)00072-7)

GITELSON, A. A.; KAUFMAN, Y. J.; STARK, R.; RUNDQUIST, D. Novel algorithms for remote estimation of vegetation fraction. **Remote sensing of Environment**, v. 80, n. 1, p. 76-87, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(01\)00289-9](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(01)00289-9)

GITELSON, A. A.; VIÑA, A.; ARKEBAUER, T. J.; RUNDQUIST, D. C.; KEYDAN, G.; LEAVITT, B. Remote estimation of leaf area index and green leaf biomass in maize canopies. **Geophysical Research Letters**, v. 30, n. 5, 2003. <https://doi.org/10.1029/2002GL016450>

GITELSON, A.; & MERZLYAK, M. N. Quantitative estimation of chlorophyll-a using reflectance spectra: Experiments with autumn chestnut and maple leaves. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 22, n. 3, p. 247-252, 1994. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(93\)06963-4](https://doi.org/10.1016/1011-1344(93)06963-4)

GLENN, E. P.; HUETE, A. R.; NAGLER, P. L.; NELSON, S. G. Relationship between remotely-sensed vegetation indices, canopy attributes and plant physiological processes: What vegetation indices can and cannot tell us about the landscape. **Sensors**, v.8, n.4, p.2136-2160, 2008. <https://doi.org/10.3390/s8042136>

GÓMEZ-CANDÓN, D.; DE CASTRO, A. I.; LÓPEZ-GRANADOS, F. Assessing the accuracy of mosaics from unmanned aerial vehicle (UAV) imagery for precision agriculture purposes in wheat. **Precision Agriculture**, v. 15, p. 44-56, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11119-013-9335-4>

HABOUDANE, D.; MILLER, J. R.; PATTEY, E.; ZARCO-TEJADA, P. J.; STRACHAN, I. B. Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: Modeling and validation in the context of precision agriculture. **Remote Sensing of Environment**, v. 90, n. 3, p. 337-352, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2003.12.013>

HARMSE, C. J., GERBER, H., & VAN NIEKERK, A. Evaluating several vegetation indices derived from sentinel-2 imagery for quantifying localized overgrazing in a semi-arid region of south africa. **Remote Sensing**, v. 14, n. 7, p. 1720, 2022. <https://doi.org/10.3390/rs14071720>

HERZIG, P.; BORRMANN, P.; KNAUER, U.; KLÜCK, H. C.; KILIAS, D.; SEIFFERT, U.; MAURER, A. Evaluation of RGB and multispectral unmanned aerial vehicle (UAV) imagery for high-throughput phenotyping and yield prediction

in barley breeding. **Remote Sensing**, v.13, n.14, p.2670, 2021. <https://doi.org/10.3390/rs13142670>

HORMHUAN, P.; VIBOONJUN, U.; SOJIKUL, P.; NARANGAJAVANA, J. Enhancing of anthracnose disease resistance indicates a potential role of antimicrobial peptide genes in cassava. **Genetic**, v. 148, n. 3, p. 135-148, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10709-020-00097-0>

HU, P.; GUO, W.; CHAPMAN, S. C.; GUO, Y.; ZHENG, B. Pixel size of aerial imagery constrains the applications of unmanned aerial vehicle in crop breeding. **Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 154, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2019.05.008>

HUNT, E. R.; CAVIGELLI, M.; DAUGHTRY, C. S.; MCMURTREY, J. E.; WALTHALL, C. L. Evaluation of digital photography from model aircraft for remote sensing of crop biomass and nitrogen status. **Precision Agriculture**, v. 6, p. 359-378, 2005. <https://doi.org/10.1007/s11119-005-2324-5>

JANSSON C, WESTERBERGH A, ZHANG J, HU X, SUN C. Cassava, a potential biofuel crop in (the) People's Republic of China. **Applied Energy**, v. 86, p. S95-S99, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.05.011>

JARVIS, A.; RAMIREZ-VILLEGAS, J.; HERRERA CAMPO, B. V.; NAVARRO-RACINES, C. Is cassava the answer to African climate change adaptation. **Tropical Plant Biology**, v. 5, p. 9-29, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12042-012-9096-7>

JORDAN, C. F. Derivation of leaf-area index from quality of light on the forest floor. **Ecology**, v. 50, n. 4, p. 663-666, 1969. <https://doi.org/10.2307/1936256>

KASSAMBARA A . *ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots*. R package version 0.6.0, <https://rpkgs.datanovia.com/ggpubr/>. 2023.

KAWANO, K.; FUKUDA, W.M.G.; CENPUKDEE, U. Genetic and environmental effects on dry matter content of cassava root. **Crop Science**, v. 26, p. 69-74, 1987. <https://doi.org/10.2135/cropsci1987.0011183X002700010018x>

KUHN, M. Building predictive models in r using the caret package. **Journal of**

statistic software, v.28, n.i.5, p. 1-26, 2008.
<https://doi.org/10.18637/JSS.V028.I05>

KYRATZIS, A. C.; SKARLATOS, D. P.; MENEXES, G. C.; VAMVAKOUSIS, V. F.; KATSIOTIS, A. Assessment of vegetation indices derived by UAV imagery for durum wheat phenotyping under a water limited and heat stressed Mediterranean environment. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.267511, 2017.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01114>

LI, Z.; CHEN, Z.; CHENG, Q.; DUAN, F.; SUI, R.; HUANG, X.; XU, H. UAV-based hyperspectral and ensemble machine learning for predicting yield in winter wheat. **Agronomy**, v.12, n.1, p.202, 2022.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12010202>

LIANG, L.; DI, L.; ZHANG, L.; DENG, M.; QIN, Z.; ZHAO, S.; LIN, H. Estimation of crop LAI using hyperspectral vegetation indices and a hybrid inversion method. **Remote Sensing of Environment**, v. 165, p. 123-134, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.rse.2015.04.032>

LIPOVAC, A.; BEZDAN, A.; MORAVČEVIĆ, D.; DJUROVIĆ, N.; ĆOSIĆ, M.; BENKA, P.; STRIČEVIĆ, R. Correlation between ground measurements and UAV sensed vegetation indices for yield prediction of common bean grown under different irrigation treatments and sowing periods. **Water**, v. 14, n. 22, p. 3786, 2022. <https://doi.org/10.3390/w14223786>

LOUHAICHI, M.; BORMAN, M M E JOHNSON, DE. Spatially located platform and aerial photography for documentation of grazing impacts on wheat. **Geocarto Internacional**, v.1, p.65-70, 2001. <https://doi.org/10.1080/10106040108542184>

MARESMA, Á.; ARIZA, M.; MARTÍNEZ, E.; LLOVERAS, J.; MARTÍNEZ-CASASNOVAS, J. A. Analysis of vegetation indices to determine nitrogen application and yield prediction in maize (*Zea mays* L.) from a standard UAV service. **Remote Sensing**, v.8, n.12, p.973, 2016.
<https://doi.org/10.3390/rs8120973>

MATHIEU, R.; POUGET, M.; CERVELLE, B.; ESCADAFAL. Relationships between satellite-based radiometric indices simulated using laboratory

reflectance data and typic soil color of an arid environment. **Remote Sensing of Environment**, v. 66, n. 1, p. 17-28, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(98\)00030-3](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(98)00030-3)

MATIAS FI, CARAZA-HARTER MV, ENDELMAN JB. FIELDImageR: An R package to analyze orthomosaic images from agricultural field trials. **The Plant Phenome Journal**, v. 3, n. 1, p. 200-205, 2020. <https://doi.org/10.1002/ppj2.20005>

MERZLYAK, M. N.; GITELSON, A. A.; CHIVKUNOVA, O. B.; RAKITIN, V. Y. Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, v.106, n.1, p.135-141, 1999. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1999.106119.x>

MESAS-CARRASCOSA, F. J.; NOTARIO GARCÍA, M. D.; MEROÑO DE LARRIVA, J. E.; GARCÍA-FERRER, A. An analysis of the influence of flight parameters in the generation of unmanned aerial vehicle (UAV) orthomosaicks to survey archaeological areas. **Sensors**, v.16, n.11, p.1838, 2016. <https://doi.org/10.3390/s16111838>

MESAS-CARRASCOSA, F. J.; TORRES-SÁNCHEZ, J.; CLAVERO-RUMBAO, I.; GARCÍA-FERRER, A.; PEÑA, J. M.; BORRA-SERRANO, I.; LÓPEZ-GRANADOS, F. Assessing optimal flight parameters for generating accurate multispectral orthomosaicks by UAV to support site-specific crop management. **Remote Sensing**, v. 7, n. 10, p. 12793-12814, 2015. <https://doi.org/10.3390/rs71012793>

PEARSON, R. L.; & MILLER, L. D. **Remote spectral measurements as a method for determining plant cover**. 1972.

PERROY, R. L.; SULLIVAN, T.; STEPHENSON, N. Assessing the impacts of canopy openness and flight parameters on detecting a sub-canopy tropical invasive plant using a small unmanned aerial system. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v.125, p.174-183, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2017.01.018>

PEZZOPANE, J. R. M.; DE CAMPOS BERNARDI, A. C.; BOSI, C.; CRIPPA, P.

H.; SANTOS, P. M.; NARDACHIONE, E. C. Assessment of Piatã palisadegrass forage mass in integrated livestock production systems using a proximal canopy reflectance sensor. **European journal of agronomy**, v. 103, p. 130-139, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.12.005>

QIAN, C.; SHAO, L.; HOU, X.; ZHANG, B.; CHEN, W.; XIA, X. Detection and attribution of vegetation greening trend across distinct local landscapes under China's Grain to Green Program: A case study in Shaanxi Province. **Catena**, v.183, p. 1-10, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.104182>

QUIRÓS, J. J.; & KHOT, L. R. Potential of low altitude multispectral imaging for in-field apple tree nursery inventory mapping. **IFAC-PapersOnLine**, v. 49, n. 16, p. 421-425, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2016.10.077>

QUIRÓS, J. J.; ZHANG, C.; SMITCHGER, J. A.; MCGEE, R. J.; SANKARAN, S. Phenotyping of plant biomass and performance traits using remote sensing techniques in pea (*Pisum sativum*, L.). **Sensors**, v. 19, n. 9, p. 2031, 2019. <https://doi.org/10.3390/s19092031>

R Core Team. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2023.

RASHID, M.; BARI, B. S.; YUSUP, Y.; KAMARUDDIN, M. A.; KHAN, N. A comprehensive review of crop yield prediction using machine learning approaches with special emphasis on palm oil yield prediction. **IEEE access**, v. 9, p. 63406-63439, 2021. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2021.3075159>

RATTANASOPA, K.; SAENGPRACHATANARUG, K.; WONGPICHET, S.; POSOM, J.; SAIKAEW, K.; UNGSATHITTAVORN, K.; TAIRA, E. UAV-based multispectral imagery for estimating cassava tuber yields. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, v.15, n.1, p.1-12, 2022. https://doi.org/10.37221/eaef.15.1_1

RICCARDI, M.; MELE, G.; PULVENTO, C.; LAVINI, A.; D'ANDRIA, R.; JACOBSEN, S. E. Non-destructive evaluation of chlorophyll content in quinoa and amaranth leaves by simple and multiple regression analysis of RGB image

components. **Photosynthesis Research**, v. 120, p. 263-272, 2014.
<https://doi.org/10.1007/s11120-014-9970-2>

RICHARDSON, A. J.; & WIEGAND, C. L. Distinguishing vegetation from soil background information. **Photogrammetric engineering and remote sensing**, v. 43, n. 12, p. 1541-1552, 1977.

ROSCHER, R.; HERZOG, K.; KUNKEL, A.; KICHERER, A.; TÖPFER, R.; FÖRSTNER, W. Automated image analysis framework for high-throughput determination of grapevine berry sizes using conditional random fields. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.100, p.148-158, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.11.008>

ROUSE, J.W.; HAAS, R.H.; SCHELL, J.A.; DEERING, D.W. Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS (Earth Resources Technology Satellite). In: Proceedings of 3rd Earth Resources Technology Satellite Symposium, Greenbelt, v. 1, p. 309-317, 1973.

SEIFERT, E.; SEIFERT, S.; VOGT, H.; DREW, D.; VAN AARDT, J.; KUNNEKE, A.; SEIFERT, T. Influence of drone altitude, image overlap, and optical sensor resolution on multi-view reconstruction of forest images. **Remote Sensing**, v. 11, n. 10, p. 1252, 2019. <https://doi.org/10.3390/rs11101252>

SELVARAJ, M. G.; VALDERRAMA, M.; GUZMAN, D.; VALENCIA, M.; RUIZ, H.; ACHARJEE, A. Machine learning for high-throughput field phenotyping and image processing provides insight into the association of above and below-ground traits in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant Methods**, v. 16, p. 1-19, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00625-1>

SILVA, C. M.; MEZZOMO, H. C.; RIBEIRO, J. P. O.; SIGNORINI, V. S.; LIMA, G. W.; VIEIRA, E. F. T.; NARDINO, M. Insights on multi-spectral vegetation indices derived from UAV-based high-throughput phenotyping for indirect selection in tropical wheat breeding. **Euphytica**, v.220, n.3, p.35, 2024.
<https://doi.org/10.1007/s10681-024-03299-1>

SILVA, L. L.; PESTANA, K. N.; FERREIRA, C. F.; OLVEIRA, S. A. Differentiation of phylogenetic lineages within the '*Colletotrichum gloeosporioides* species

complex' associated with cassava anthracnose disease by PCR-RFLP. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 194-201, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0218-0>

SILVA, P. P. S.; SOUSA, M. B.; OLIVEIRA, E.J. Prediction models and selection of agronomic and physiological traits for tolerance to water deficit in cassava. **Euphytica**, v. 215, n. 4, p. 73, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2399-0>

STOW, D., NICHOL, C. J., WADE, T., ASSMANN, J. J., SIMPSON, G., HELFTER, C. Illumination geometry and flying height influence surface reflectance and NDVI derived from multispectral UAS imagery. **Drones**, v. 3, n. 3, p. 55, 2019. <https://doi.org/10.3390/drones3030055>

TAO, X.; LI, Y.; YAN, W.; WANG, M.; TAN, Z.; JIANG, J.; LUAN, Q. Heritable variation in tree growth and needle vegetation indices of slash pine (*Pinus elliottii*) using unmanned aerial vehicles (UAVs). **Industrial Crops and Products**, v. 173, p. 114073, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114073>

TOMLINSON, K. R.; BAILEY, A. M.; ALICAI, T.; SEAL, S.; FOSTER, G. D. Cassava brown streak disease: historical timeline, current knowledge and future prospects. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 5, p. 1282-1294, 2018. <https://doi.org/10.1111/mpp.12613>

TORRES, L. G.; VILELA DE RESENDE, M. D.; AZEVEDO, C. F.; FONSECA E SILVA, F.; DE OLIVEIRA, E. J. Genomic selection for productive traits in biparental cassava breeding populations. **PloS one**, v.14, n.7, p. 220-245, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220245>

TORRES-SÁNCHEZ, J.; LÓPEZ-GRANADOS, F.; BORRA-SERRANO, I.; PEÑA, J. M. Assessing UAV-collected image overlap influence on computation time and digital surface model accuracy in olive orchards. **Precision Agriculture**, v. 19, p. 115-133, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11119-017-9502-0>

TUCKER, C. J. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. **Remote Sensing of Environment**, v.8, n.2, p.127-150, 1979.

[https://doi.org/10.1016/0034-4257\(79\)90013-0](https://doi.org/10.1016/0034-4257(79)90013-0)

VERGER, A.; VIGNEAU, N.; CHÉRON, C.; GILLIOT, J. M.; COMAR, A.; BARET, F. Green area index from an unmanned aerial system over wheat and rapeseed crops. **Remote Sensing of Environment**, v. 152, p. 654-664, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2014.06.006>

VINCINI, M.; FRAZZI, E; D'ALESSIO, P. A broad-band leaf chlorophyll vegetation index at the canopy scale. **Precision Agriculture**, v. 9, p. 303-319, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11119-008-9075-z>

WANG, L.; CHANG, Q.; LI, F.; YAN, L.; HUANG, Y.; WANG, Q.; LUO, L. Effects of growth stage development on paddy rice leaf area index prediction models. **Remote Sensing**, v. 11, n. 3, p. 361, 2019. <https://doi.org/10.3390/rs11030361>

WANG, L.; CHANG, Q.; YANG, J.; ZHANG, X.; LI, F. Estimation of paddy rice leaf area index using machine learning methods based on hyperspectral data from multi-year experiments. **PLoS One**, v.13, n.12, p. e0207624, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207624>

WHITEHEAD, K.; HUGENHOLTZ, C. H.; MYSHAK, S.; BROWN, O.; LECLAIR, A.; TAMMINGA, A.; EATON, B. Remote sensing of the environment with small unmanned aircraft systems (UASs), part 2: scientific and commercial applications. **Journal of Unmanned Vehicle Systems**, v. 2, n. 3, p. 86-102, 2014. <https://doi.org/10.1139/juvs-2014-0007>

WICKHAM H, FRANÇOIS R, HENRY L, MÜLLER K, VAUGHAN D. dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version 1.1.4, <https://github.com/tidyverse/dplyr>, <https://dplyr.tidyverse.org>. 2023.

WOLFE, M. D.; DEL CARPIO, D. P.; ALABI, O.; EZENWAKA, L. C.; IKEOGU, U. N.; KAYONDO, I. S.; JANNINK, J. L. Prospects for genomic selection in cassava breeding. **The Plant Genome**, v.10, n.3, p.3-15, 2017. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2017.03.0015>

XUE, J.; SU, B. Significant remote sensing vegetation indices: A review of developments and applications. **Journal of Sensors**, v.10, n.17, p. 1-17, 2017.

<https://doi.org/10.1155/2017/1353691>

ZARCO-TEJADA, P. J.; BERJÓN, A.; LÓPEZ-LOZANO, R.; MILLER, J. R.; MARTÍN, P.; CACHORRO, V.; DE FRUTOS, A. Assessing vineyard condition with hyperspectral indices: Leaf and canopy reflectance simulation in a row-structured discontinuous canopy. **Remote Sensing of Environment**, v. 99, n. 3, p. 271-287, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2005.09.002>

ZHAO, C.; ZHANG, Y.; DU, J.; GUO, X.; WEN, W.; GU, S.; FAN, J. Crop phenomics: current status and perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 714, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00714>

ZHAO, J.; KUMAR, A.; BANOTH, B. N.; MARATHI, B.; RAJALAKSHMI, P.; REWALD, B.; GUO, W. Deep-learning-based multispectral image reconstruction from single natural color RGB image-Enhancing UAV-based phenotyping. **Remote Sensing**, v. 14, n. 5, p. 1272, 2022. <https://doi.org/10.3390/rs14051272>

ZHOU, X.; ZHENG, H. B.; XU, X. Q.; HE, J. Y.; GE, X. K.; YAO, X.; TIAN, Y. C. Predicting grain yield in rice using multi-temporal vegetation indices from UAV-based multispectral and digital imagery. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v.130, p.246-255, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2017.05.003>