

Nota Técnica

Notificação de Nova Doença - ‘Vassoura de Bruxa’ da mandioca causada por *Ceratobasidium theobromae* (*Rhizoctonia theobromae*) no Brasil

Sumário:

O presente documento visa notificar a detecção da doença ‘Vassoura de Bruxa’ da mandioca (*Cassava witches’ broom disease- CWBD*), causada pelo patógeno *Ceratobasidium theobromae* (*Rhizoctonia theobromae*), no Brasil. Este patógeno, que anteriormente vinha afetando países asiáticos como Laos, Camboja, Vietnã, Tailândia, Filipinas e China (Cuellar et al. 2024) foi recentemente identificado no estado do Amapá.

Primeiros relatos e histórico de coleta:

Na XXIX Assembleia de Avaliação e Planejamento dos Povos e Organizações Indígenas do município do Oiapoque, Amapá, realizada nos dias 11 e 12 de março de 2023, houve uma solicitação para que a Embrapa Amapá avaliasse e realizasse ações para amenizar um problema associado à ocorrência de doenças que vem acometendo os plantios de mandioca na região das terras indígenas de Oiapoque.

No período de 21 a 22 de março de 2023, a equipe da Embrapa se deslocou até a região e constatou os sinais compatíveis com a doença ‘Vassoura de Bruxa’ da mandioca nas aldeias indígenas Ahumã, Anawerá, Tuluhi e Tukay. Posteriormente, os mesmos sinais foram detectados nas aldeias Kuahí, Ywawká, Karibuen, Kuai Kuai, Ariramba, Galibi, Lençol, Manga, Zacarias e Japiim.

Por ocasião da detecção dos primeiros sinais da doença, hastes de mandioca infectadas foram transportadas para o laboratório de Proteção de Plantas da Embrapa Amapá visando o isolamento do provável agente etiológico da doença em condições de laboratório.

Nestes procedimentos não foi possível isolar o agente *Ceratobasidium theobromae*, possivelmente porque esse micro-organismo possui crescimento fastidioso em meio de cultura, o que dificulta bastante seu isolamento a partir de tecido infectado.

Com a evolução dos sinais da doença nas terras indígenas do Oiapoque, novas coletas de materiais infectados foram realizadas e os materiais, devidamente acondicionados, foram transportados à Embrapa Mandioca e Fruticultura para detecção agente causal por meio de técnicas moleculares, conforme item “Diagnose molecular do agente causal” descrito na sequência.

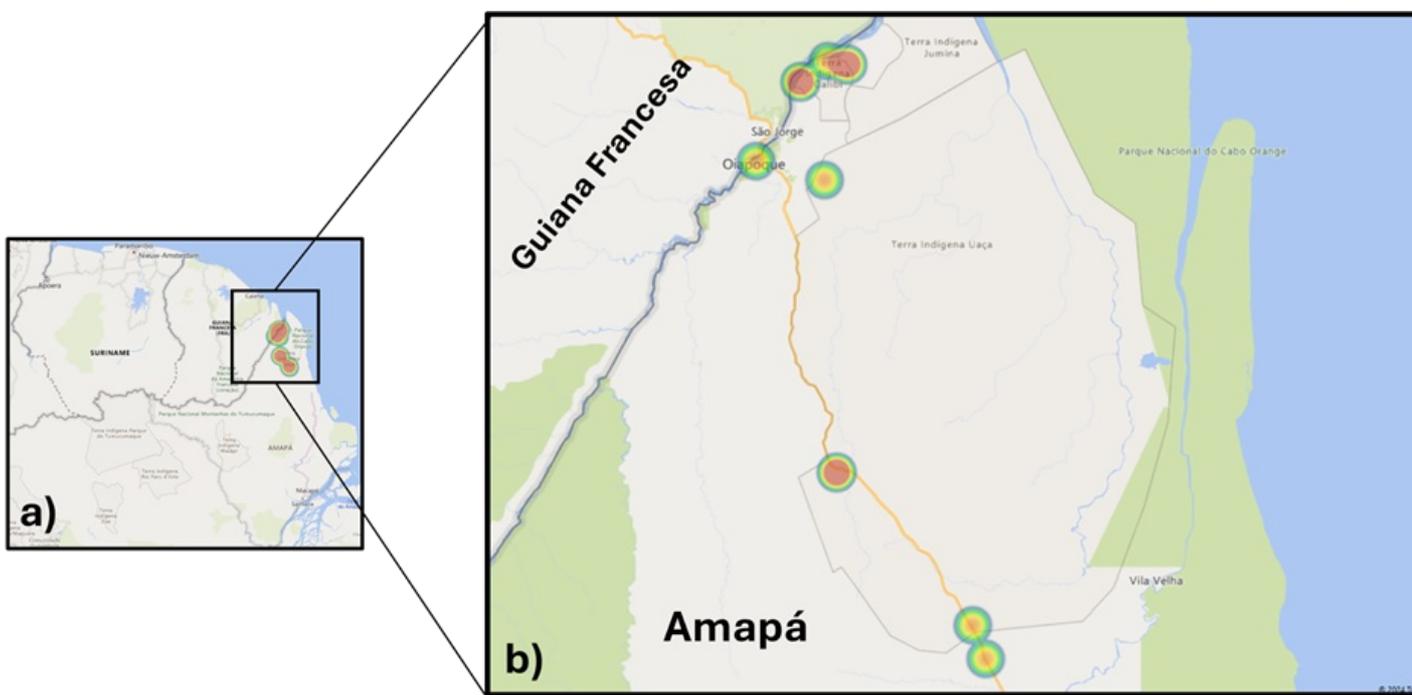


Figura 1. Mapa com a distribuição das amostras coletadas nas aldeias Kuai Kuai, Ariramba, Galibi, Lençol, Ahumã, Anawerá e Yanawaká. Os pontos indicam os locais de coletas. As cores representam o número de amostras analisadas por localidade.

Sintomatologia:

A “Vassoura de Bruxa” é caracterizada pelo crescimento anormal de brotos, resultando em deformidades que lembram uma vassoura. Este patógeno pode causar uma significativa redução na produtividade das plantas afetadas, além de comprometer a qualidade dos produtos agrícolas.

Os sinais característicos da ‘vassoura de bruxa’ da mandioca incluem nanismo e proliferação de brotos fracos e finos nos caules da

mandioca, resultando na formação de "vassouras", daí o nome. Os caules da mandioca desenvolvem então entrenós curtos e necrose vascular nas partes afetadas. Com a evolução da doença é comum a ocorrência de clorose, murcha e seca das folhas, morte apical e morte descendente das plantas (Figura 2).



Figura 2. Aspecto de lavoura de mandioca afetada por enfermidade com sinais compatíveis com a doença detectada nas áreas indígenas do Oiapoque no distrito de Carnot (Calçoene-AP) (A). Plantas com sinais característicos da doença (B e C). Detalhe dos sinais da doença nas hastes de mandioca (D e E). Fotos: Adilson Lopes Lima

Embora os sinais de 'vassoura de bruxa' (superbrotamento) já tenham sido relatados no Brasil associados à infecções por fitoplasma (Flores et al., 2013), estes novos surtos epidêmicos se diferem pela necrose vascular e morte descendente. Recentemente no ano de 2023 (Leiva et al., 2023), um novo patógeno foi descrito como capaz de induzir os sintomas de vassoura de bruxa na mandioca, cujos sinais coincidem com os observados em campo. Outros patógenos também podem induzir sinais de vassoura-de-bruxa.

Diagnose molecular do agente causal:

Visando a determinação do agente etiológico deste novo surto epidêmico no estado do Amapá amostras de plantas infectadas foram coletadas nas propriedades descritas acima, cadastradas no SISGEN (AFB8348) e levadas para o Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas-BA.

As amostras foram então liofilizadas e preservadas em -80 °C para as análises de sequenciamento profundo (*Deep sequencing*) em sequenciadores de alta performance (*High-Throughput Sequencing*) em plataformas Illumina e Nanopore, em parceria com a Coleção Alemã de Microorganismos e Culturas Celulares (*Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen -DSMZ*), na Alemanha.

Visando a otimização dos recursos, procedeu-se o sequenciamento de amostras conjuntas (*pools*) com base nos diferentes tecidos

coletados (folhas, pecíolos e hastes), e a comparação entre os patógenos com maior concordância entre estes, presença de patógenos endêmicos e de importância para a cultura, bem como de potenciais patógenos não relatados no Brasil.

Um conjunto grande de patógenos e organismos endofíticos foi detectado pela técnica empregada e que sabidamente estão associados à cultura, mas nunca relatados associados aos sinais observados *in loco*, exceto para o *Ceratobasidium theobromae* (*Rhizoctonia theobromae*), um fungo nunca antes relatado no continente Americano (Figura 3).

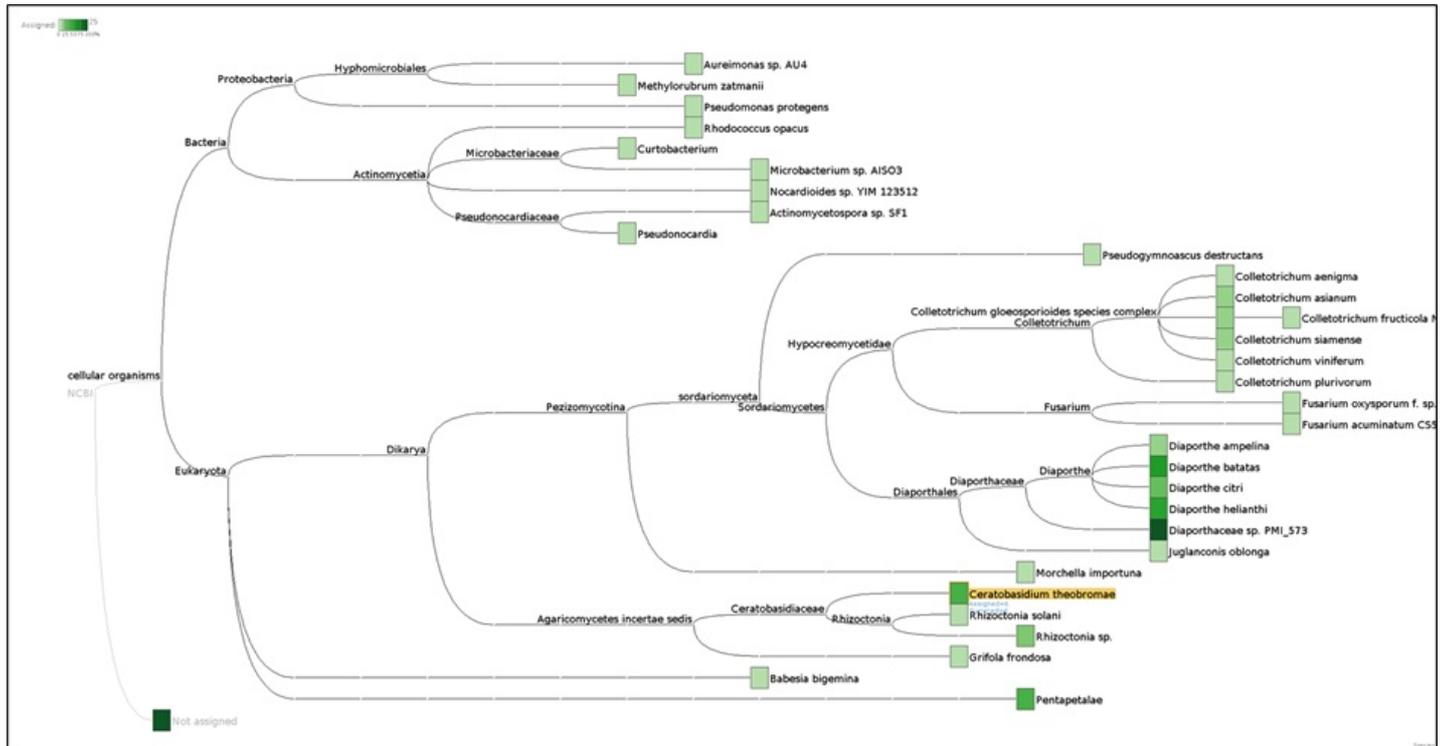


Figura 3. Árvore “metafilogenética” de gêneros e espécies encontradas em hastes de mandioca afetadas pelo sintoma de ‘vassoura de bruxa’.

Isolamento do Patógeno:

Até o momento, não foi possível isolar o fungo no Brasil devido ao seu caráter fastidioso, que exige o isolamento a partir de materiais frescos e apresenta grande dificuldade de crescimento em meio de cultura. No entanto, pesquisadores do CIRAD (França), em parceria com o CIAT (Colômbia), conseguiram coletar e isolar *Ceratobasidium theobromae* em áreas afetadas com sinais similares na Guiana Francesa, próximas à fronteira com o Brasil e o Suriname. Esses dados de detecção ainda não foram publicados.

Confirmação:

Visando a confirmação da ocorrência do fungo nas amostras coletadas, realizou-se a detecção com base em iniciadores (*Primers*) específicos desenvolvidos em parceria entre o CIAT (Colômbia) e o DSMZ (Alemanha) para a amplificação de regiões alvo via reação em cadeia da polimerase (PCR) com os primers específicos CWBD-CIAT-F2 (GGATGAGTTTAATCGCTCTAAC) e CWBD-CIAT-R2 (GCGCTCTGGTGTTCAGTTTG) (Leiva et al. 2023). Por meio deste procedimento foi possível verificar a presença de *Ceratobasidium theobromae* em todas as localidades amostradas.

Vale salientar que esta ferramenta ainda está em desenvolvimento, o que gera uma série de falsos negativos, mas 100% das amostras positivas foram verificadas por sequenciamento (*Sanger*) e continham DNA do fungo-alvo.

Como confirmação adicional, algumas amostras positivas foram sequenciadas via *Nanopore* e estas também continham uma alta frequência de material genético de *C. theobromae* em seu interior, indicando portanto a presença deste novo patógeno.

Deteção na Guiana Francesa:

Simultaneamente, a "Vassoura de Bruxa" também foi detectada na Guiana Francesa, em áreas próximas ao Brasil e Suriname. Lá, a identificação foi realizada por HTS (*Nanopore*), PCR com primers específicos e pelo isolamento do patógeno.

Risco Agrícola:

Este é o primeiro relato da presença de *Ceratobasidium theobromae* no Brasil, representando um risco iminente à cultura da mandioca, uma vez que foi recentemente descrito causando a vassoura de bruxa da mandioca em países da Ásia (Leiva et al., 2023) e também está associado à doença *Vascular Streak Dieback* (VSD) em cacau (*Theobromae cacao*), também na Ásia.

A presença deste patógeno, relatado neste documento pela primeira vez, representa um risco não somente à mandiocultura, mas também a outras culturas de grande importância econômica para o país, como o cacau e outras plantas da mesma família como é o caso do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*).

Estratégias de Manejo:

Para mitigar os impactos desta doença, as seguintes estratégias de manejo são recomendadas:

1. **Monitoramento e Vigilância:** Intensificação do monitoramento das áreas de cultivo para identificação precoce de sintomas.
 - 1.1. Estabelecer protocolo de detecção precoce do patógeno via PCR e/ou via sequenciamento por HTS em suporte às ações de monitoramento e vigilância
 - 1.2. Acreditar laboratórios para a realização do diagnóstico e indexação para patógenos de importância para a cultura
2. **Quarentena:** Implementação de medidas de quarentena para restringir a movimentação de material vegetal de áreas afetadas.
3. **Manivas sadias:** Uso de manivas com comprovada sanidade, e produzidas em regiões sem a doença, ou em condições que não permitam o desenvolvimento do patógeno (ex. câmaras térmicas, viveiros e estufas)
4. **Tratamento Químico:** Uso de fungicidas específicos para controlar a dispersão do patógeno, conforme regulamentações locais.
5. **Práticas Culturais:** Remoção e eliminação por queima de plantas doentes como forma de reduzir o inóculo nas áreas afetadas e diminuir a incidência de novas plantas infectadas.
6. **Assepsia / sanitização de ferramentas** utilizadas para a destruição das plantas com sinais da doença. Lavagem com água e detergente e em seguida a sanitização com solução de hipoclorito de sódio a 1,25%.
7. Realizar o ensacamento e rápida lavagem de roupas, calçados e chapéus e ou bonés utilizados nas visitas em áreas afetadas pela doença, de forma a evitar a disseminação de esporos para outras regiões do país.
8. Elaborar publicações, vídeos e cartazes para o esclarecimento do público em geral sobre os sinais e modos de transmissão da doença.

Dispersão e Disseminação:

A dispersão de *Ceratobasidium theobromae* pode ocorrer através de material vegetal infectado, ferramentas de corte, além de possivelmente pela movimentação de solo e água. A movimentação de plantas e produtos agrícolas entre regiões pode facilitar a dispersão do patógeno, aumentando o risco de infecção em novas áreas.

Conclusão:

A detecção de *Ceratobasidium theobromae* no Brasil requer atenção imediata para evitar a disseminação da doença e proteger as culturas agrícolas vulneráveis. A cooperação entre agentes de ATER, órgãos de defesa vegetal estaduais, pesquisadores, agricultores e autoridades governamentais é crucial para implementar medidas efetivas de contenção, manejo e controle, garantindo a segurança e sustentabilidade da produção agrícola no país.

Saulo Alves Santos de Oliveira

Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Adilson Lopes Lima

Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul

Hermínio Souza Rocha

Analista da Embrapa Pesca e Aquicultura

Jackson de Araújo dos Santos

Analista da Embrapa Amapá

Helton Fleck da Silveira

Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Cristiane Ramos de Jesus

Chefe Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Amapá

Referências:

Cuellar, W. J.; Mwanzia, L.; Lourido, D.; Martinez, A. F.; Rodriguez, R.; Garcia, C. (2024) **Pest Displace**. International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Disponível em: <https://www.pestdisplace.org/>. Acesso em: 21 jun. 2024.

Flôres, D., Haas, I.C., Canale, M.C. *et al.* Molecular identification of a 16SrIII-B phytoplasma associated with cassava witches' broom disease. *Eur J Plant Pathol* **137**, 237–242 (2013). doi.org/10.1007/s10658-013-0250-3

Leiva, A.M., Pardo, J.M., Arinaitwe, W. *et al.* *Ceratobasidium* sp. is associated with cassava witches' broom disease, a re-emerging threat to cassava cultivation in Southeast Asia. *Sci Rep* **13**, 22500 (2023). doi.org/10.1038/s41598-023-49735-5



Documento assinado eletronicamente por **Adilson Lopes Lima, Pesquisador**, em 25/06/2024, às 16:48, conforme art. 6º, parágrafo 1º do Decreto 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Saulo Alves Santos de Oliveira, Pesquisador**, em 25/06/2024, às 16:51, conforme art. 6º, parágrafo 1º do Decreto 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Jackson de Araújo dos Santos, Analista**, em 25/06/2024, às 17:00, conforme art. 6º, parágrafo 1º do Decreto 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Hermínio Souza Rocha, Analista**, em 25/06/2024, às 18:53, conforme art. 6º, parágrafo 1º do Decreto 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Ramos de Jesus, Chefe-Adjunto**, em 25/06/2024, às 20:02, conforme art. 6º, parágrafo 1º do Decreto 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.sede.embrapa.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **10729769** e o código CRC **3EA3D79C**.