

COMUNICADO
TÉCNICO

174

Cruz das Almas, BA
Agosto, 2020

Embrapa

Propagação de mandioca com qualidade fitossanitária em câmara térmica automatizada

Saulo Alves Santos de Oliveira
Elizabeth Alvarez
Juan Manuel Pardo-García
Maria Selma Alves Silva Diamantino
Danilo Almeida Brito
Jocilene dos Santos Pereira

Propagação de mandioca com qualidade fitossanitária em câmara térmica automatizada¹

¹ Saulo Alves Santos de Oliveira, engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. Elizabeth Alvarez, engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colômbia. Juan Manuel Pardo-García, Graduado em Microbiologia Agrícola e Veterinária, mestre em Ciências Agrárias, pesquisador assistente do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colômbia. Maria Selma Alves Silva Diamantino, engenheira-agrônoma, doutora em Ciências Agrárias, bolsista de pós-doutorado (CAPES/EMBRAPA) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. Danilo Almeida Brito, Jocilene dos Santos Pereira, Graduandos em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

Introdução

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, é um dos recursos alimentares mais importantes para os países em desenvolvimento, em especial nos países africanos, latino-americanos e asiáticos, sendo fonte de alimento básico para mais de meio bilhão de pessoas em todo mundo. As raízes tuberosas são muito importantes no setor industrial pelo uso da matéria-prima para a produção de amido, farinha, etanol e biopolímeros em países em desenvolvimento (Suppakul et al., 2013).

No entanto, a ocorrência de doenças, incluindo as causadas por fitoplasmas e vírus, como os patógenos associados ao complexo couro de sapo (CFSD), e os vírus do mosaico das nervuras (*Cassava vein mosaic virus* - CsVMV) e mosaico comum (*Cassava common mosaic virus* - CsCMV) constituem um fator limitante para a sua produção

nos países da América Latina (Freitas Fialho, 2017; Alvarez et al., 2009; Souza et al., 2014).

O “complexo couro de sapo da mandioca” possui etiologia contraditória, e é atribuído simultaneamente a um vírus (*Cassava frogskin associated virus* - CsFSaV) e a fitoplasmas dos subgrupos 16SrIII-A e 16SrIII-L. Além destes patógenos, outras espécies virais também foram encontradas em plantas expressando sintomas dessa doença, sustentando a hipótese de que mais de uma espécie viral podem estar envolvidas nessa doença, como é o caso do *Cassava polero-like virus* (CsPLV), *Cassava new alphaflexivirus* (CsNAV) e *Cassava torrado-like virus* (CsTLV). O couro de sapo caracteriza-se pela presença de sulcos ou lábios nas raízes tuberosas, com diminuição do diâmetro, pois não acumulam amido e tornam-se fibrosas, além do espessamento da periderme e do surgimento de rachaduras

longitudinais, sendo que esta fica com aspecto corticoso e de difícil desprendimento (Figura 1A).

O mosaico comum (CsCMV), que ocorre normalmente em regiões com temperaturas mais amenas, no Sul e no Sudeste do Brasil em algumas áreas dos Tabuleiros Costeiros. Os sintomas são clorose da lâmina foliar e retorcimento dos bordos das folhas, especialmente

em folhas em formação (Figura 1B). Já o mosaico das nervuras (CsVMV) apresenta ampla abrangência geográfica, embora seja particularmente importante nos ecossistemas do Semiárido Nordeste e do Tabuleiros Costeiros, não somente pela severa manifestação produzida. Os sintomas caracterizam-se pela presença de cloroses intensas entre as nervuras primárias e secundárias, nas plantas afetadas (Figura 1C).



Fotos: Saulo Alves Santos de Oliveira

Figura 1. Sintomas de couro de sapo (A), mosaico das nervuras (B) e mosaico comum (C).

A propagação da mandioca é feita de maneira vegetativa, utilizando-se de secções do caule (manivas ou estacas). Essa forma de plantio apresenta a vantagem de utilizar a mesma planta como material propagativo (Mattos; Gomes, 2000). No entanto, é observado que ao longo de plantios sucessivos dos clones, ocorre a redução da qualidade fitossanitária das manivas devido à presença de pragas (ex.: ácaros, moscas-brancas e percevejos de renda) e doenças sistêmicas, as quais se multiplicam pelas gerações, refletindo diretamente na produção dessa cultura (Fukuda et al., 2006). Portanto, a infecção por fitoplasma e/ou vírus em manivas é recorrente, resultando em perdas de rendimento de raízes que podem chegar a 100% (Alvarez et al., 2009).

Diferentes estratégias podem ser utilizadas com o intuito de limpar os genótipos infectados com patógenos sistêmicos, como é o caso do cultivo de meristemas *in vitro* associado a quimioterapia, termoterapia e crioterapia (Nascimento et al., 2003; Milošević et al., 2012; Carvalho et al., 2017). Entretanto, a utilização dessas técnicas exige mão de obra especializada, materiais esterilizados, espaço laboratorial com equipamentos específicos para acompanhar o desenvolvimento meristemático, além dos reagentes utilizados nessas técnicas.

O cultivo de plantas infectadas em temperaturas elevadas reduz significativamente a replicação do vírus, interrompendo a síntese de ácido nucleico, e o mesmo ocorre com outros agentes

patogênicos sistêmicos, como os fitoplasmas. Contudo a temperatura ótima para a inibição da replicação é altamente variável em diferentes agentes patogênicos (Milošević et al., 2012).

Considerando a falta de relatos de variedades resistentes ao CFSD e a dificuldade em reconhecer os sintomas de plantas infectadas antes da colheita, assim como a redução significativa da produtividade e da qualidade de raiz tuberosa, é fundamental o desenvolvimento de estratégias de limpeza e coeficientes com aplicabilidade prática e possibilidade de realização em escala *on farm* (na propriedade produtora). Portanto, a proposta da aplicação da termoterapia com o uso de câmara térmica automatizada apresenta-se como um procedimento eficiente na limpeza de plantas e na indexação de variedades com ausência de agentes patogênicos. Além disso, constitui-se em uma alternativa acessível ao produtor de mudas, desde a montagem até o manejo, e possibilita produção em larga escala de material propagativo (manivas), utilizando pouco espaço da propriedade.

Desta forma, a seguir serão apresentados os aspectos técnicos para a montagem das câmaras térmicas e a metodologia de limpeza das doenças sistêmicas, como: couro de sapo (CFSD), mosaico das nervuras (CsVMV) e mosaico comum (CsCMV), baseada no cultivo de manivas-sementes de genótipos de mandioca infectados em câmara térmica automatizada com as três doenças (CsCMV, CsVMV e CFSD).

Montagem da câmara térmica automatizada

A câmara térmica da Embrapa Mandioca e Fruticultura é uma estufa da marca Van der Hoeven que ocupa um espaço de 25 m² (dimensões largura, profundidade e altura?). Sua estrutura é construída de aço galvanizado toda coberta com plástico, selado hermeticamente com a finalidade de obter altas temperaturas por períodos determinados para o tratamento de patógenos de sementes. Entretanto, a estrutura da câmara térmica pode ser feita de diferentes materiais: madeira/bambu, ferro ou aço galvanizado. A durabilidade da câmara térmica depende dos materiais empregados na construção e que, em média, duram

de 10 a 20 anos; já o plástico transparente necessita de manutenção periódica, com durabilidade de 3 a 10 anos.

A estrutura da câmara térmica de aço galvanizado foi montada em cima de uma parede de 20 cm de concreto armado (Figura 2: A, B, C, D, E, F, G). A cobertura do teto e das laterais foi feita com plástico apropriado, de polietileno de baixa densidade com 150 micras, para que possa atingir a temperatura máxima desejada para eliminação dos patógenos, além de impedir a entrada de insetos, principalmente os afídeos, e o chão foi coberto com uma lona de plástico para uma melhor retenção de umidade (Figura 2: H, I, J, L, M), em seguida foi adicionada uma camada 15 cm de substrato areia: vermiculita, na proporção de 3:1 m³.

Fotos: Saulo Alves Santos de Oliveira



Figura 2. Montagem da câmara térmica de crescimento na Embrapa Mandioca e Fruticultura, para limpeza clonal e multiplicação rápida de mandioca.

Funcionamento da câmara térmica

A câmara térmica possui um painel de controle automatizado (Figura 2N), ou seja, a temperatura é controlada por meio de um sistema combinado de irrigação e ventilação, o que garante que as plantas não sofram com estresse devido a altas temperaturas. O primeiro consiste em um sistema de nebulização (Figura 2O) que promove a pulverização de água, resfriando o ambiente interno da câmara; este último consiste em uma janela zenital composta por duas válvulas de gaveta que ativam automaticamente ao atingirem as temperaturas máximas e mínimas pré-definidas, que são monitoradas internamente por dois termômetros industriais. Conforme a variação da temperatura dentro da câmara, a válvula abre-se ou fecha-se. Para plantas de mandioca, a temperatura ideal para abrir e fechar a janela é 55 °C e 50 °C, respectivamente (Alvarez et al., 2015). Tudo é monitorado e controlado por meio de controlador lógico programável (CLP), que cumpre o papel de temporizador do sistema e controla a abertura e o fechamento motorizado da janela zenital, bem como a abertura da válvula solenoide para colocar o sistema de irrigação em funcionamento (Figura 2: P e Q).

A programação da irrigação é independente das temperaturas atingidas dentro da câmara térmica. O sistema de irrigação compreende 14 nebulizadores, que são colocados a 2 m acima do nível

do solo; tubulação de PVC de meia polegada; e um injetor de Venturi de meia polegada. Um tubo Venturi foi adaptado no início do sistema de irrigação para permitir a incorporação de solução fertilizante no sistema de irrigação. Visando à redução do potencial de reinfecção e disseminação de doenças dentro da câmara térmica, deve haver um pedilúvio na entrada da câmara com cal virgem ou amônia quaternária (1,25 %), bem como todas as ferramentas e os materiais cortantes e de poda devem ser lavados com auxílio de esponja e solução de amônia quaternária (1,25 %).

Preparo do material de plantio

Neste sistema de cultivo, utiliza-se apenas uma mistura de areia lavada e vermiculita em uma proporção de três partes de areia para uma parte de vermiculita (3:1 v/v). Como há uma grande diferença de densidade entre os materiais, essa proporção é realizada com base em volume de areia/substrato.

As manivas são cortadas em fragmentos de 5 a 8 cm (mínimo de 3 gemas) e plantadas diretamente em leiras (camalhões 10 x 20 cm) levantadas no substrato areia:vermiculita (Figura 3A). O espaçamento utilizado deve ser de 0,15 m entre linhas (leiras/camalhões) e 0,20 m entre plantas. As plantas mantidas na câmara térmica devem ser submetidas a dois ciclos de cultivo, que

consistem na aclimatização do material (planta matriz), ocasionando redução das partículas virais e morte dos fitoplasmas pela sensibilidade térmica, proporcionando um desenvolvimento da área meristemática, originando células assintomáticas, seguido de obtenção do material propagativo para o próximo ciclo (Figura 3B).

Para a realização do primeiro corte, as hastes das plantas devem atingir entre 40 e 70 cm de altura e possuir diâmetro de 0,6 a 0,8 cm (Figura 3B); como comparativo, pode-se considerar o diâmetro de um lápis. As hastes devem ser cortadas com três gemas, aproximado de 15 cm de comprimento, seguido de corte de todas as folhas e pecíolos (Figura 3 C).



Fotos: Maria Selma Alves Silva Diamantino

Figura 3. Primeiro ciclo de cultivo de mandioca na termoterapia. Leiras (camalhões) levantadas diretamente no substrato que compõe a fundo da câmara térmica (A). Plantas submetidas ao tratamento térmico 60 dias após o plantio (B). Ilustração do corte do material de plantio (C).

As miniestacas obtidas (0,6 a 0,8 cm de diâmetro \times ~15 cm comprimento) devem ser desinfestadas com amônia quaternária (1,25% do i.a.) e, em seguida, plantadas nas leiras (camalhões), em posição vertical (em pé), com as gemas voltadas para cima e dispostas lado a lado com espaçamento de 5 cm entre plantas (Figura 4). Para tanto, as leiras (camalhões) para o segundo ciclo

de tratamento devem ser levantadas com aproximadamente 20 cm de largura na parte superior, com distância de 15 cm entre cada leira. As miniestacas devem ser dispostas em quatro linhas com espaçamento de 5 cm entre elas, mantendo-se uma distância de cerca de 3 cm da borda da leira, com um total de 4 linhas de miniestacas por leira (Figura 4 e 5).

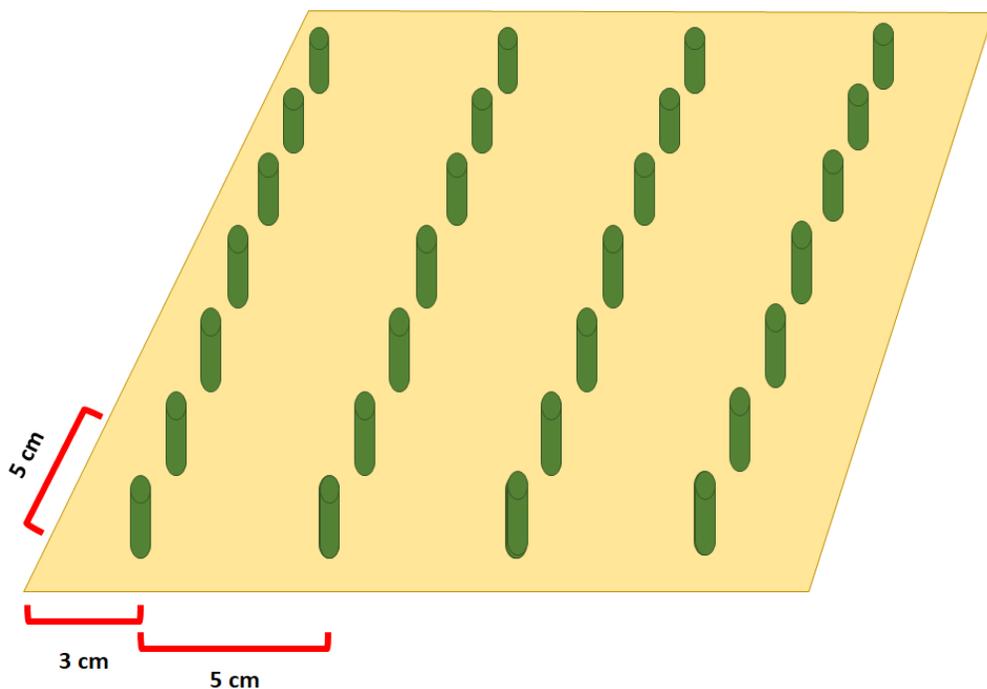


Figura 4. Representação esquemática do plantio das miniestacas durante o segundo ciclo de tratamento térmico.



Fotos: Maria Selma Alves Silva Diamantino

Figura 5. Segundo ciclo de cultivo de mandioca na termoterapia. Disposição das miniestacas plantadas em camalhões (A). Plantas produzidas a partir de miniestacas em câmara térmica automatizada (B). Realização das etapas de poda e corte nas miniestacas (C).

Ciclo de tratamento térmico

Conforme anteriormente mencionado, a temperatura e a umidade são controladas por um sistema de sensores que identificam a necessidade de irrigação para manutenção da umidade e abertura da janela zenital para controle de

temperatura. Deste modo, os níveis térmicos são mantidos entre 45 °C e 55 °C nas horas mais quentes do dia (11h30 às 13h30) e a umidade à 65%. Durante os ciclos de cultivo em câmaras térmicas, existe a possibilidade de superexpressão de sintomas, sendo mais comum para o vírus do mosaico das nervuras (CsVMV), sendo necessário o descarte dos materiais sintomáticos (*roguing*).

Obtenção de mudas e confirmação da limpeza

Sessenta dias após o segundo ciclo, realiza-se o corte das miniestacas, com as mesmas dimensões descritas anteriormente (0,6 a 0,8 cm de diâmetro × ~15 cm comprimento), seguido de desinfestação com amônia quaternária (1,25 % do i.a.), por meio da imersão por 1 minuto na solução e plantio em sacos plásticos de polietileno de 2 kg contendo o substrato: terra vegetal, areia lavada e fibra de coco, na proporção de 2:1:1 e mantidas em casa de vegetação.

A eficiência da limpeza varietal deve ser avaliada por meio de indexação para as principais doenças sistêmicas, como mosaico comum, mosaico das nervuras, couro de sapo e superbrotamento. Visando à identificação do vírus do mosaico comum (CsCMV), o teste sorológico ELISA indireto é o mais indicado. Para os demais patógenos (vírus e fitoplasma), as reações baseadas na amplificação em cadeia da polimerase (PCR) no caso de DNA e RT-PCR para os vírus de RNA.

Vantagens da utilização da câmara térmica

Esse método de limpeza varietal também é um método de multiplicação de manivas uma vez que proporciona um

grande número de miniestacas/mudas por planta, quando comparado ao método tradicional, além de ser uma alternativa viável quando há necessidade de introdução de novos acessos ou disponibilização de mudas em caso de escassez de manivas-sementes. Para exemplificar, no método convencional, com uma haste de 1 m, o produtor conseguirá cinco manivas-sementes de 20 cm, ou seja, 25 plantas no período de um ano (12 meses), enquanto que, na câmara térmica de crescimento, com 1 m de haste o produtor terá 250 mudas. Com qualidade fitossanitária superior às manivas obtidas em condições de campo, em um período de seis meses. Quando associadas à indexação das plantas pelo produtor de mudas, permitem a produção em larga escala de plantas livres de patógenos.

Referências

- ALVAREZ, E.; MEJÍA, J. F.; LLANO, G. A.; LOKE, J. B.; CALARI, A.; DUDUK, BOJAN.; BERTACINI, A. Characterization of a phytoplasma associated with frogskin disease in cassava. **Plant Disease**, v. 93, p. 1139-1145, 2009.
- ALVAREZ, E.; PARDO, J. M.; MEJÍA, J. F.; OLIVEIRA, S. A. S.; ZACHER, M.; CARDOZO, L.; GÓMEZ, Y. **Manejo del 'cuero de sapo', enfermedad limitante de la yuca**. Cali, CO: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 12p. 2015 (Publicación CIAT, 405).
- CARVALHO, M. J. S.; OLIVEIRA, E. J.; SOUZA, A.S.; PEREIRA, J. S.; DIAMANTINO, M. S. A. S.; OLIVEIRA, S. A. S. Cleaning cassava genotypes infected with cassava frogskin disease via in vitro shoot tip culture. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, p. 1-17, 2017.
- FREITAS FIALHO, J. de; VIEIRA, E. A.; BORGES, A. L. (Ed.). **Cultivo da mandioca para Região do Cerrado**. Brasília: Embrapa, 2017. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Sistema de Produção, 08). Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_

WAR_sistemasdeproducaoif6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=5304&p_r_p_-996514994_topicoid=5747. Acesso em: 19/05/2020.

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

MATTOS, P.L. P.; GOMES, J.C. **O cultivo da mandioca**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2000. 122p. (Circular Técnica n 37).

MILOŠEVIĆ, S; CINGEL, A; JEVREMOVIĆ, S; STANKOVIĆ, I; BULAJIĆ, A; KRSTIĆ, BRANKA; SUBOTIĆ, A. Virus elimination from ornamental

plants using in vitro culture techniques. **Pesticidi i Fitomedicini**, v. 27, p. 203-211, 2012.

NASCIMENTO, L. C; PIO-RIBEIRO, G; WILLADINO, L; ANDRADE, G. P. Stock indexing and potato virus y elimination from potato plants cultivated in vitro. **Scientia Agricolae**, v. 60, p. 525-530, 2003.

SOUZA, A. N; SILVA, F.; BEDENDO, I. P.; CARVALHO, C. M. A phytoplasma belonging to a 16SrIII-A subgroup and dsRNA virus associated with cassava frogskin disease in Brazil. **Plant Disease**, v. 98, p. 771-779, 2014.

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

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Mandioca e Fruticultura
Rua Embrapa, s/n, Caixa Postal 07,
44380-000, Cruz das Almas - Bahia
Fone: (75) 3312-8048
Fax: (75) 3312-8097
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
On-line (2020)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Presidente
Francisco Ferraz Laranjeira
Secretária-Executiva
Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro

Membros
Aldo Vilar Trindade, Ana Lúcia Borges, Eliseth de Souza Viana, Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki, Harllen Sandro Alves Silva, Leandro de Souza Rocha, Marcela Silva Nascimento

Supervisão editorial
Francisco Ferraz Laranjeira

Revisão de texto
Adriana Villar Tullio Marinho

Normalização bibliográfica
Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Anapaula Rosário Lopes

Foto da capa
Saulo Alves Santos de Oliveira