

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

**IMPACTO DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM E DO MOSAICO  
DAS NERVURAS DA MANDIOCA: DETERMINAÇÃO DAS  
PERDAS POTENCIAIS E VALIDAÇÃO DO USO DE CÂMARAS  
TÉRMICAS NA LIMPEZA VARIETAL**

**Leiliane Oliveira dos Santos**

**CRUZ DAS ALMAS - BA  
NOVEMBRO 2025**

**IMPACTO DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM E DO MOSAICO  
DAS NERVURAS DA MANDIOCA: DETERMINAÇÃO DAS  
PERDAS POTENCIAIS E VALIDAÇÃO DO USO DE CÂMARAS  
TÉRMICAS NA LIMPEZA VARIETAL**

Leiliane Oliveira dos Santos  
Bacharel em Engenharia Agrônômica

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestra em Ciências Agrárias (Área concentração: Agricultura tropical).

**Orientador:** Prof. Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira  
**Coorientadora:** Dra. Maria Selma Alves Silva Diamantino

**CRUZ DAS ALMAS - BA  
NOVEMBRO 2025**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S237i

Santos, Leiliane Oliveira dos

Impacto dos vírus do mosaico comum e do mosaico das nervuras da mandioca: determinação das perdas potenciais e validação do uso de câmaras térmicas na limpeza varietal / Leiliane Oliveira dos Santos. – Cruz das Almas, BA, 2026.  
80f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira

Co-Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Selma Alves Silva Diamantino

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias.

1.Mandioca – doenças e pragas. 2.Mandioca – manejo. 3. *Manihot esculenta Crantz* – diagnóstico molecular .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 – Patrícia Verônica Nascimento Dias Fernandes (Bibliotecário – CRB-5 /1353).  
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico)

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


**IMPACTO DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM E DO  
MOSAICO DAS NERVURAS DA MANDIOCA: DETERMINAÇÃO  
DAS PERDAS POTENCIAIS E VALIDAÇÃO DO USO DE  
CÂMARAS TÉRMICAS NA LIMPEZA VARIETAL**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de  
Leiliane Oliveira dos Santos  
Aprovada em 10 de novembro de 2025

Prof. Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Orientador

Documento assinado digitalmente  
 **MILEIDE DOS SANTOS FERREIRA**  
Data: 13/03/2026 17:37:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Dra. Mileide Ferreira**  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Examinadora interna

Documento assinado digitalmente  
 **LUCAS LENIN RESENDE DE ASSIS**  
Data: 13/03/2026 15:50:13-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Dr. Lucas Lenin Resende de Assis**  
Sebrae - Unidade Viçosa  
Examinador externo

## **AGRADECIMENTOS**

Com o coração cheio de gratidão, expresso meu sincero obrigado a todos que tornaram esta jornada possível.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), meu muito obrigado por me abrir as portas da Pós-Graduação, proporcionando um ambiente acolhedor, rico e desafiador que moldou minha formação.

Aos professores, minha profunda admiração: o conhecimento que vocês compartilharam foi a base sólida que me sustentou.

Um agradecimento especial à Embrapa Mandioca e Fruticultura pela valiosa parceria e por me conceder a oportunidade de desenvolver parte vital deste trabalho em seu Laboratório de Biologia Molecular. Estendo meu reconhecimento à Dra. Andresa Ramos, analista do laboratório, cuja colaboração, paciência e ajuda imprescindível em todas as análises fizeram toda a diferença. E, em especial, à minha coorientadora, Dra. Maria Selma Diamantino: sua dedicação incansável e o acompanhamento minucioso deste trabalho, feito com um cuidado e uma atenção admiráveis, foram essenciais. Por fim, um agradecimento de coração às minhas queridas colegas de curso, Polyana Silva e Vanessa Pieirote.

## **EPÍGRAFE**

Para que todos vejam, e saibam, e considerem, e juntamente entendam que a mão do Senhor fez isso (Isaías 41:20).

# IMPACTO DOS VÍRUS DO MOSAICO COMUM E DO MOSAICO DAS NERVURAS DA MANDIOCA: DETERMINAÇÃO DAS PERDAS POTENCIAIS E VALIDAÇÃO DO USO DE CÂMARAS TÉRMICAS NA LIMPEZA VARIETAL

## RESUMO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) destaca-se como matéria-prima fundamental para a indústria e comunidades, sendo a base para a produção de farinha, fécula e uma gama de subprodutos aplicados nos setores alimentício, cosmético e de ração animal. A sustentabilidade dessa cadeia produtiva, no entanto, é comprometida por viroses de caráter negligenciado, como o vírus do mosaico comum (CsCMV) e o vírus do mosaico das nervuras (CsVMV). A disseminação silenciosa desses patógenos, via material de propagação infectado, é agravada pela escassez de dados quantitativos robustos sobre os prejuízos reais que impõem à cultura, dificultando o estabelecimento de estratégias eficazes de manejo e a garantia de materiais sadios para o setor produtivo. Diante desse cenário, este estudo buscou avaliar os impactos do CsCMV e do CsVMV em genótipos de mandioca e testar a termoterapia em câmaras térmicas como estratégia para a limpeza varietal. Para a avaliação de impacto, utilizaram-se duas variedades comerciais com aptidão industrial, 'BRS Novo Horizonte' e 'BRS Poti Branca'. Já para os experimentos de termoterapia, incluiu-se também sete acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O diagnóstico molecular inicial revelou uma alta incidência viral nos acessos do BAG, com 71,4% positivos para CsCMV e 28,6% para CsVMV, enquanto a indexação do total de genótipos analisados (BAG + Genótipo BRS Novo Horizonte) mostrou que 12,5% apresentaram infecção mista (CsCMV + CsVMV), cenário este verificado especificamente na 'BGM 1371'. Na avaliação de impacto sob infecção simples pelo CsCMV, a variedade 'BRS Poti Branca' destacou-se por ser a mais produtiva, superando a 'BRS Novo Horizonte' em 12,51% na produtividade média de raízes. Contudo, sob a condição de infecção mista, a 'BRS Novo Horizonte' registrou uma redução de -15,6% na produtividade de raízes em comparação com o seu Controle Sadio. Os resultados reforçam a importância de utilizar material de propagação livre de patógenos e de incorporar o diagnóstico molecular e a termoterapia como rotina em programas de multiplicação de mandioca.

**Palavras-chave:** *Manihot esculenta* Crantz, *Cassava common mosaic virus* (CsCMV), *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV).

# IMPACT OF CASSAVA COMMON MOSAIC AND CASSAVA VEIN MOSAIC VIRUSES: DETERMINATION OF POTENTIAL LOSSES AND VALIDATION OF THERMAL CAMERAS FOR VARIETAL CLEANING

## GENERAL ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) stands out as a fundamental raw material for industry and local communities, serving as the basis for the production of flour, starch, and a wide range of by-products applied in the food, cosmetic, and animal feed sectors. The sustainability of this production chain, however, is compromised by neglected viral diseases, such as *Cassava common mosaic virus* (CsCMV) and *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV). The silent dissemination of these pathogens through infected propagation material is exacerbated by the scarcity of robust quantitative data on the actual losses they impose on the crop, hindering the establishment of effective management strategies and the assurance of healthy planting material for the production sector. In this context, this study aimed to evaluate the impacts of CsCMV and CsVMV on cassava genotypes and to test thermotherapy in thermal chambers as a strategy for varietal sanitation. For impact assessment, two commercial varieties with industrial aptitude, 'BRS Novo Horizonte' and 'BRS Poti Branca', were used. For the thermotherapy experiments, seven accessions from the Cassava Active Germplasm Bank (AGB) of Embrapa Cassava and Fruits were also included. Initial molecular diagnosis revealed a high viral incidence among the AGB accessions, with 71.4% testing positive for CsCMV and 28.6% for CsVMV, while indexing of the total set of analyzed genotypes (AGB + the BRS Novo Horizonte genotype) showed that 12.5% presented mixed infection (CsCMV + CsVMV), a scenario specifically observed in 'BGM 1371'. In the impact assessment under single CsCMV infection, the 'BRS Poti Branca' variety stood out as the most productive, surpassing 'BRS Novo Horizonte' by 12.51% in mean root yield. However, under mixed infection conditions, 'BRS Novo Horizonte' showed a -15.6% reduction in root yield compared with its healthy control. These results reinforce the importance of using pathogen-free propagation material and of incorporating molecular diagnosis and thermotherapy as routine practices in cassava multiplication programs.

**Keywords:** *Manihot esculenta* Crantz; *Cassava common mosaic virus* (CsCMV); *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV).

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

- Tabela 1.** Resultados da análise de variância (ANOVA) para variáveis agronômicas, de produtividade e qualidade de raízes de mandioca.....37
- Tabela 2.** Médias obtidas no teste de Tukey referentes ao desdobramento do fator variedade para as variáveis que apresentam diferenças significativas.....39
- Tabela 3.** Impacto do CsCMV em tratamentos de Mandiplus - Diferenças percentuais entre plantas infectadas vs. Sadias (controle) com MandiPlus.....39
- Tabela 4.** Impacto da Coinfecção CsCMV+CsVMV em Todos os Parâmetros Avaliados (Tratamento 16MP - BRS Novo Horizonte).....46

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Comparativo do diagnóstico inicial e final dos vírus CsCMV e CsVMV nas variedades de mandioca ..... 36
- Figura 2.** Impacto da infecção simples por CsCMV nas variedades BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca.....39
- Figura 3.** Análise Comparativa por Parâmetro: Impacto do CsCMV e do Tratamento MandiPlus.....42
- Figura 4.** Boxplots parcela com coinfeção (CsCMV+CsVMV).....44

### CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Diagrama de Venn da detecção de CsCMV e CsVMV por ELISA, PCR convencional e qPCR.....66
- Figura 2.** Eficiência média de limpeza ao longo dos ciclos de termoterapia para os vírus CsCMV, CsVMV e coinfeção
- Figura 3.** Progressão do número de plantas ao longo das etapas de multiplicação por miniestacas em câmara térmica.....69
- Figura 4.** Expressão de sintomas de CsVMV em genótipos expostos a altas temperaturas em câmara térmica automatizada.....71

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>12</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>13</b>
2.1 Principais viroses da mandioca no contexto brasileiro .....	13
2.2 Sintomatologia e limitações do diagnóstico visual .....	15
2.3 Métodos de diagnóstico .....	16
2.4 Termoterapia e limpeza viral .....	17
2.5 Variedades BRS Poti Branca e BRS Novo Horizonte .....	19
2.6 Tratamento químico de manivas de mandioca com inseticidas e fungicidas sistêmicos .....	20
<b>3. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>21</b>
<b>Capítulo 1</b> .....	<b>26</b>
1 <b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>29</b>
2 <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
3 <b>RESULTADOS</b> .....	<b>36</b>
4. <b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>50</b>
5. <b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>52</b>
6. <b>REFERENCIAS</b> .....	<b>52</b>
<b>Capítulo 2</b> .....	<b>55</b>
1 <b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>58</b>
2 <b>METODOLOGIA</b> .....	<b>59</b>
3 <b>RESULTADOS</b> .....	<b>66</b>
4 <b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>74</b>
5 <b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>77</b>
6 <b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>78</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) possui grande importância alimentar e socioeconômica, sobretudo em países de clima tropical e em desenvolvimento (COLLAVINO et al., 2021; BORKU, 2025). Sua relevância está associada tanto ao papel como fonte primária de carboidratos para milhões de pessoas quanto à contribuição para a geração de trabalho e renda em comunidades rurais. Apesar disso, a produtividade da cultura é frequentemente limitada por fatores fitossanitários, destacando-se as infecções virais entre os principais entraves à produção (SOUZA et al., 2024; WATANABE et al., 2024; ZANINI et al., 2025).

Esses patógenos promovem alterações nas estruturas foliares e interferem em processos metabólicos essenciais, comprometendo a eficiência fotossintética e o crescimento das plantas (ZANINI et al., 2020b). A propagação vegetativa por manivas, amplamente adotada pela facilidade de multiplicação e pela manutenção das características genéticas, constitui também uma via eficiente de disseminação desses agentes quando o material inicial se encontra infectado (WATANABE et al., 2024). Nesse contexto, uma única estaca contaminada pode originar novas áreas doentes, favorecendo a perpetuação de vírus sistêmicos ao longo dos ciclos produtivos (ZANINI et al., 2018; COLLAVINO et al., 2021).

Os efeitos das infecções virais na cultura da mandioca são amplamente descritos na literatura, especialmente aqueles associados ao complexo dos mosaicos. No Brasil, a ocorrência do *Cassava common mosaic virus* (CsCMV) e do *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV) encontra-se bem documentada (WATANABE et al., 2024). Entretanto, apesar dos avanços nos estudos voltados à detecção e identificação desses patógenos, ainda são escassas as informações quantitativas sobre os impactos agrônômicos que essas infecções impõem à cultura em condições nacionais.

Trabalhos recentes indicam que tanto infecções simples quanto mistas por CsCMV e CsVMV podem reduzir de forma significativa a produtividade e intensificar a expressão de sintomas foliares (ZANINI et al., 2018; WATANABE et al., 2024; ZANINI et al., 2025). Assim como observado em outras espécies vegetais, a coinfeção viral tende a desencadear efeitos sinérgicos, agravando as perdas produtivas. Diante desse cenário, o uso de material de propagação comprovadamente sadio é reconhecido como a principal estratégia para evitar a

disseminação desses patógenos, sendo a limpeza de plantas-matrizes, seguida da multiplicação de manivas livres de vírus, uma etapa fundamental para a manutenção da qualidade sanitária e da sustentabilidade da produção (COLLAVINO et al., 2021; ROCHA et al., 2021).

Esta dissertação foi organizada em dois capítulos: O Capítulo 1 aborda os impactos agrônômicos provocados por CsCMV e CsVMV, isoladamente e em coinfeção, a partir de parâmetros visuais e produtivos. O Capítulo 2 apresenta a aplicação prática de um protocolo de termoterapia associado ao diagnóstico molecular para a limpeza viral. O objetivo geral do estudo é quantificar os efeitos dessas infecções virais e propor um método eficiente de saneamento, contribuindo de forma aplicada e estratégica para a produção de material de plantio de alta qualidade e para a redução das perdas causadas por vírus na cultura da mandioca.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Principais viroses da mandioca no contexto brasileiro

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivada predominantemente em regiões tropicais da África, América Latina e Ásia, onde desempenha papel central na segurança alimentar e na geração de renda. Em sistemas produtivos baseados na propagação vegetativa, como ocorre nessa cultura, vírus fitopatogênicos tendem a se perpetuar e a se disseminar com facilidade entre ciclos de cultivo, favorecendo a manutenção de viroses de forma endêmica. Nesse contexto, as doenças virais da mandioca apresentam elevada relevância epidemiológica em escala global, com diferentes espécies e grupos virais predominando conforme a região produtora, o que reforça a necessidade de estratégias contínuas de monitoramento, diagnóstico e uso de material propagativo sanitariamente certificado (LEGG et al., 2015).

O Vírus do mosaico comum da mandioca (*Cassava common mosaic virus* – CsCMV) foi relatado pela primeira vez no sul do Brasil (SILBERSCHMID, 1938; COSTA, 1940) e permanece, até o momento, como a virose de maior relevância econômica para a cultura no país. Atualmente, são reconhecidos três principais vírus filogeneticamente relacionados ao gênero *Potexvirus* capazes de infectar a mandioca: o CsCMV, o Vírus X da Mandioca (*Cassava virus X* – CsVX) e o Novo Alfalexivírus da Mandioca (*Cassava new alphalexivirus* – CsNAV). Estudos baseados em bioensaios e análises de sequenciamento genético demonstraram

que apenas o CsCMV, cujo genoma apresenta o arranjo típico de potexvírus, é capaz de induzir sintomas visuais expressivos em infecções simples, enquanto CsVX e CsNAV geralmente permanecem associados a infecções latentes, sem manifestação sintomática evidente, em diferentes cultivares de mandioca (LOZANO et al., 2017).

No Brasil, as principais viroses que acometem a cultura da mandioca são o Vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV) e o Vírus do mosaico das nervuras da mandioca (*Cassava vein mosaic virus* – CsVMV), ambos associados a reduções na produtividade e na qualidade das raízes e do material de propagação. O CsCMV é um vírus de RNA de fita simples, pertencente ao gênero *Potexvirus* e à família *Alphaflexiviridae* (HAMIDOU et al., 2025), apresentando elevada incidência em áreas produtoras do país. Estudos conduzidos com variedades brasileiras demonstraram perdas de rendimento causadas pelo CsCMV variando de 30% a 60%, evidenciando seu impacto agrônomo significativo (VENTURINI et al., 2016; ZANINI et al., 2020a).

O CsVMV, por sua vez, é um vírus de DNA de dupla fita circular, pertencente ao gênero *Badnavirus* e à família *Caulimoviridae*, sendo amplamente distribuído no Nordeste brasileiro e reconhecido há várias décadas na cultura da mandioca. Apesar de sua ocorrência frequente, especialmente em plantas assintomáticas ou com sintomas discretos, ainda são escassos os estudos que quantificam de forma direta as perdas econômicas associadas à infecção pelo CsVMV, o que limita uma avaliação mais precisa de seu impacto produtivo quando comparado ao CsCMV (WATANABE et al., 2024).

O CsCMV apresenta elevada capacidade de infecção e persistência nos tecidos do hospedeiro, bem como em ferramentas agrícolas e materiais de propagação vegetativa, fatores que favorecem sua ampla disseminação e manutenção nas principais regiões produtoras de mandioca do Brasil (SILVA et al., 2011; VENTURINI et al., 2016). Essa característica reforça a importância do diagnóstico fitossanitário e da produção de material propagativo livre de vírus como estratégias centrais no manejo das viroses da cultura.

No Brasil, estudos com plantas-mãe de mandioca previamente selecionadas como livres de vírus, com base em testes de ELISA indireto para detecção de CsCMV, demonstraram que apenas duas, dentre sete cultivares inoculadas com o

vírus, apresentaram reduções significativas na altura das plantas, variando entre 7% e 9,2%. No entanto, em seis dessas cultivares, observou-se redução significativa da massa fresca da parte aérea das plantas inoculadas, com valores entre 13,5% e 30,2%, evidenciando o impacto negativo do CsCMV sobre o crescimento vegetativo da mandioca, mesmo na ausência de sintomas severos (VENTURINI et al., 2016).

## 2.2 Sintomatologia e limitações do diagnóstico visual

O Vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV) induz um conjunto variável de sintomas foliares, cuja expressão depende do genótipo da planta, da idade do tecido infectado e das condições ambientais. De modo geral, a infecção se inicia com a entrada do vírus nas células vegetais, seguida pela replicação do genoma viral e movimentação célula a célula e a longa distância via floema, processo que compromete a organização celular e o funcionamento fisiológico da planta hospedeira (ZANINI et al., 2018; TUO et al., 2020).

Os sintomas mais frequentes incluem mosaico verde-claro e amarelo, manchas cloróticas irregulares e deformações em folhas jovens, resultantes da distribuição desigual da clorofila e da desorganização dos tecidos foliares. Do ponto de vista fisiológico, a infecção pelo CsCMV está associada à alteração da estrutura dos cloroplastos, redução da eficiência fotossintética e perturbações no metabolismo do carbono, o que culmina em menor acúmulo de biomassa e prejuízos ao crescimento vegetativo da mandioca (ZANINI et al., 2020b; ZANINI et al., 2021). Além disso, o vírus pode provocar clareamento das nervuras, mosaico clorótico difuso e redução da área foliar funcional, afetando diretamente o teor de amido nas raízes (VENTURINI et al., 2016; COLLAVINO et al., 2021; HAMIDOU et al., 2025).

O Vírus do mosaico das nervuras da mandioca (CsVMV), pertencente à família *Caulimoviridae*, apresenta comportamento distinto. Os sintomas visuais geralmente se concentram nas nervuras das folhas, manifestando-se como mosaico discreto, amarelecimento localizado ou padrões cloróticos pouco evidentes, o que dificulta sua identificação em avaliações de campo (CALVERT et al., 1995; NASIM; DEY, 2022). Em alguns casos, plantas infectadas podem

apresentar descoloração marginal, redução da lâmina foliar e, em estágios mais avançados, deformações estruturais, embora a expressão sintomática seja frequentemente intermitente ou atenuada ao longo do ciclo da cultura (KOCHKO et al., 1998; MARMEY; FAUQUET, 2006).

Em genótipos suscetíveis, a infecção viral tende a resultar em sintomas mais intensos, como mosaico pronunciado, clorose severa, deformações foliares acentuadas e, ocasionalmente, necrose sistêmica. Essas alterações comprometem a interceptação de luz, reduzem a capacidade fotossintética e afetam o desempenho fisiológico da planta, refletindo-se em perdas produtivas significativas (SSERUBOMBWE et al., 2001; TUO et al., 2023). No entanto, a ausência ou suavização dos sintomas visuais em determinados genótipos ou condições ambientais não garante a sanidade viral das plantas, evidenciando as limitações do diagnóstico visual como ferramenta isolada e reforçando a necessidade do uso de métodos de diagnóstico molecular para a detecção precisa dessas viroses (ZANINI et al., 2018; WATANABE et al., 2024; ZANINI et al., 2025).

### 2.3 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico do CsCMV e CsVMV pode ser realizado por meio de técnicas sorológicas e moleculares, cuja escolha depende das características biológicas de cada vírus, da disponibilidade de reagentes específicos e do objetivo da análise. Entre as abordagens sorológicas, o teste ELISA indireto destaca-se como método clássico e amplamente empregado para a detecção do CsCMV, especialmente em programas de triagem fitossanitária (SILVA et al., 2011; ZANINI et al., 2018).

O uso do ELISA para o diagnóstico do CsCMV é favorecido pela disponibilidade de antissoros específicos desenvolvidos e validados a partir de isolados brasileiros, o que confere boa sensibilidade e confiabilidade à técnica (SILVA et al., 2011). Além disso, o método apresenta vantagens como baixo custo, facilidade de execução e possibilidade de análise de grande número de amostras, sendo amplamente utilizado em levantamentos epidemiológicos e na seleção de material propagativo livre de vírus (MEHETRE et al., 2021).

Entretanto, a eficiência do ELISA depende diretamente da qualidade e da especificidade dos anticorpos empregados, podendo ocorrer resultados falso-

positivos ou falso-negativos quando esses requisitos não são plenamente atendidos. Ademais, a produção de antissoros altamente purificados demanda tempo, infraestrutura e recursos financeiros, o que pode limitar sua aplicação em determinados contextos e em programas de larga escala (TABATABAEI et al., 2021; KANAPIYA et al., 2024). Ainda assim, o ELISA permanece como método de referência para triagens iniciais, em razão de sua boa sensibilidade, praticidade e custo relativamente reduzido (KANAPIYA et al., 2024).

Para o CsVMV, vírus de DNA pertencente ao gênero *Badnavirus* (família *Caulimoviridae*), o diagnóstico sorológico apresenta limitações adicionais. Desde os primeiros estudos sobre esse vírus, a literatura tem apontado dificuldades na obtenção e validação de antissoros específicos para uso rotineiro, além da ocorrência frequente de infecções latentes e baixa concentração viral nos tecidos vegetais. Assim, técnicas moleculares têm sido recomendadas como abordagem mais confiável para sua detecção, com destaque para a reação em cadeia da polimerase (PCR) (CALVERT et al., 1995).

Entre as metodologias moleculares disponíveis, destacam-se a PCR convencional, a PCR aninhada, a PCR multiplex, a RT-PCR e, mais recentemente, a PCR quantitativa em tempo real (qPCR), que permite a detecção e a quantificação da carga viral com elevada sensibilidade e especificidade (WANG et al., 2022; KANAPIYA et al., 2024). A qPCR apresenta vantagens adicionais, como a redução do tempo de análise, a eliminação da etapa de eletroforese em gel e a minimização do risco de contaminação cruzada, consolidando-se como uma ferramenta essencial em estudos de diagnóstico preciso e monitoramento fitossanitário (HEMA; KONAKALLA, 2021)

## 2.4 Termoterapia e limpeza viral

A termoterapia baseia-se na diferença de tolerância térmica entre os vírus e os tecidos vegetais, utilizando o calor como agente para inibir a replicação viral e restringir o movimento do patógeno nos tecidos da planta. No presente estudo, a termoterapia foi aplicada em plantas inteiras, mantidas em câmara térmica automatizada, sem o emprego de técnicas de cultivo *in vitro*, caracterizando uma

abordagem com elevada aplicabilidade prática em sistemas de produção e saneamento vegetal (NAKABONGE et al., 2020; ANIKINA et al., 2023).

O uso de câmaras térmicas automatizadas permite maior controle da temperatura, da umidade relativa e do período de exposição, favorecendo a redução da carga viral sem comprometer o desenvolvimento fisiológico das plantas tratadas. Essa estratégia tem sido adotada em programas de saneamento vegetal por possibilitar a aplicação do tratamento em grande número de plantas, mantendo a integridade dos tecidos e reduzindo a necessidade de infraestrutura laboratorial complexa quando comparada a técnicas baseadas em cultivo *in vitro* (OLIVEIRA et al., 2020; BETTONI et al., 2022).

Em estudos recentes, Ouedraogo et al. (2025) observaram que a cultivar BFM260 apresentou taxa de regeneração significativamente superior sob tratamento térmico ( $60,9 \pm 12,58\%$ ) em comparação ao controle ( $34,5 \pm 10,93\%$ ), além de maior formação de nós e caules por planta, indicando resposta positiva ao procedimento e evidenciando o potencial da termoterapia aplicada em plantas inteiras como estratégia de saneamento.

Embora outras técnicas de eliminação viral sejam descritas na literatura, como a cultura de meristemas, a quimioterapia e a crioterapia, essas metodologias apresentam maior complexidade técnica, custos elevados e dependência de infraestrutura especializada. Nesse contexto, a escolha da termoterapia neste trabalho justifica-se por sua viabilidade operacional, menor custo e potencial de aplicação em programas de produção de material propagativo em escala comercial, especialmente em instituições de pesquisa e extensão agrícola.

Apesar da eficácia comprovada, a eficiência da termoterapia pode variar conforme o tipo de vírus, a duração e a intensidade do tratamento térmico, a resposta fisiológica do genótipo e a capacidade de recuperação das plantas tratadas (WANG et al., 2018; NAKABONGE et al., 2020). Vírus com elevada estabilidade estrutural ou agentes patogênicos mais simples, como viroides, apresentam maior tolerância ao calor, o que pode dificultar sua eliminação completa apenas pelo tratamento térmico, conforme demonstrado em estudos com *Tobacco mosaic virus* (TMV) (WANG et al., 2018; SARROPOULOU et al., 2024).

Dessa forma, a validação da eficiência da limpeza viral deve incluir métodos moleculares sensíveis, como a PCR quantitativa em tempo real (qPCR), uma vez

que a ausência de sintomas visuais não assegura a eliminação total do patógeno. A integração entre a termoterapia aplicada em plantas mantidas em câmara térmica e o diagnóstico molecular constitui, portanto, uma estratégia confiável para a obtenção de material propagativo com elevado padrão fitossanitário (WANG et al., 2022; KANAPIYA et al., 2024; BENNYPAUL et al., 2025)

## 2.5 Variedades BRS Poti Branca e BRS Novo Horizonte

As cultivares BRS Poti Branca e BRS Novo Horizonte foram desenvolvidas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, com foco em alta produtividade e adaptação regional.

A BRS Poti Branca destaca-se pela qualidade culinária, elevado teor de fécula e bom rendimento de raízes, sendo amplamente cultivada em sistemas familiares do Nordeste (CARVALHO et al., 2014; SANTIAGO et al., 2017; GONÇALVES et al., 2021). Segundo Sampaio et al. (2023), essa variedade apresentou desempenho agrônomo expressivo, com 73,06% da contribuição total para a proximidade em relação ao ideótipo, destacando sua produtividade e estabilidade.

A BRS Novo Horizonte originou-se do cruzamento entre os acessos BGM0116 e BGM1727, realizado em 1998, sendo posteriormente selecionada pela Embrapa por seu alto rendimento de raízes e teor de matéria seca (SOUZA; LIMA-PRIMO, 2022). Apresenta boa adaptação a sistemas mecanizados, estabilidade produtiva e potencial industrial, sendo indicada para regiões quentes e secas (OLIVEIRA et al., 2020; SOUZA; LIMA-PRIMO, 2022).

Estudos multilocacionais demonstraram que BRS Poti Branca e BRS Novo Horizonte exibem desempenho consistente e alta estabilidade em diferentes ambientes (SAMPAIO et al., 2023). Venturini et al. (2015; 2016) verificaram que ambas as cultivares mantêm produtividade elevada mesmo após inoculação experimental com o CsCMV, com rendimentos superiores a 32 t ha<sup>-1</sup> de raízes e 9 t ha<sup>-1</sup> de amido. Esses resultados indicam que, apesar da infecção, as cultivares preservam o desempenho produtivo e industrial, sugerindo possível tolerância ao vírus.

Apesar da importância econômica e social dessas variedades, ainda há carência de estudos que explorem sua interação com os vírus CsCMV e CsVMV.

Essa lacuna reforça a necessidade de pesquisas que avaliem o impacto combinado desses patógenos sobre o desempenho fisiológico e produtivo das principais cultivares brasileiras, especialmente nas regiões produtoras do Nordeste, onde seu cultivo é amplamente difundido.

## 2.6 Tratamento químico de manivas de mandioca com inseticidas e fungicidas sistêmicos

O tratamento químico de manivas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) tem sido relatado como uma prática associada à melhoria da qualidade fitossanitária do material propagativo, especialmente no contexto do manejo integrado de pragas e doenças. De acordo com Amour et al. (2025) e Nguyen, Duong e Nguyen (2024), a aplicação prévia de inseticidas e fungicidas sistêmicos pode contribuir para a proteção inicial das plantas, reduzindo a interferência de organismos prejudiciais ainda nas fases iniciais de desenvolvimento.

Na literatura, o uso de inseticidas sistêmicos no tratamento de manivas é frequentemente relacionado ao controle de insetos vetores de viroses, como a mosca-branca (*Bemisia tabaci*). Amour et al. (2025) observaram que a imersão de manivas em solução contendo tiametoxam promoveu redução significativa da população do inseto, refletindo na diminuição dos sintomas da mosaicose da mandioca. Essa abordagem é destacada pelos autores como uma estratégia eficiente para proteção precoce da cultura.

Além disso, o tratamento químico também tem sido associado ao controle de patógenos fúngicos presentes no material propagativo. Nguyen, Duong e Nguyen (2024) verificaram que o uso de formulações contendo fungicidas, isoladamente ou em combinação com inseticidas, contribuiu para a redução do progresso de doenças e melhoria no desempenho agrônomo das plantas.

No presente estudo, foi utilizado o tratamento de manivas com produto comercial contendo fungicidas e inseticida sistêmicos, aplicado por meio de imersão antes do plantio, conforme descrito na metodologia. Essa forma de aplicação é compatível com os protocolos relatados na literatura, que indicam a imersão como uma estratégia eficiente para promover a absorção dos compostos

e garantir proteção inicial das plantas (AMOUR et al., 2025; NGUYEN; DUONG; NGUYEN, 2024).

Entretanto, destaca-se que as viroses avaliadas neste trabalho não estão associadas à transmissão por insetos vetores, sendo disseminadas principalmente por meio de material propagativo infectado. Dessa forma, o uso do inseticida sistêmico não teve como finalidade o controle direto da mosca-branca ou de outros vetores. Assim, com base nas abordagens descritas na literatura, o tratamento químico das manivas foi adotado como uma medida preventiva, visando reduzir a interferência de fatores bióticos, como insetos-praga e patógenos oportunistas, e garantir condições experimentais mais controladas, permitindo maior confiabilidade na interpretação dos resultados obtidos.

### 3. REFERÊNCIAS

- AMOUR, M.; ISSA, K. A.; WOSULA, E. N.; NDALAHWA, M. Stem-cutting dipping in insecticides and biopesticide application for the control of *Bemisia tabaci* whitefly in cassava. **Frontiers in Agronomy**, v. 3, p. 1623632, 2025. DOI: 10.3389/fagro.2025.1623632.
- ANIKINA, I.; KAMAROVA, A.; ISSAYEVA, K.; MUSTAFAYEVA, N.; INSBAYEVA, M.; MUKHAMEDZHANOVA, A.; HHAN, S. M.; AHMAD, Z.; LHO, L. H.; HAN, H.; RAPOSO, A. Plant protection from virus: a review of different approaches. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1–12, 2023.
- BENNYPAUL, H. S.; ST-JACQUES, S.; SCHMIDT, I.; NAKATA, J.; SANDERSON, D.S. Development of a one-step RT-qPCR assay for the detection of Citrus concave gum-associated virus in apples. **Journal of Virological Methods**, v. 338, p. 115211, 2025.
- BETTONI, J. C.; FAZIO, G.; COSTA, L. C.; HURTADO-GONZALES, O. P.; RWAHNIH, M. A.; NEDROW, A.; VOLK, G. M. Thermotherapy Followed by Shoot Tip Cryotherapy Eradicates Latent Viruses and Apple Hammerhead Viroid from In Vitro Apple Rootstocks. **Plants**, v. 11, n. 5, P. 582, 2022.
- BORKU, A. W. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz): its nutritional composition insights for future research and development in Ethiopia. **Discov Sustain**, v. 6, p. 404, 2025.
- CALVERT, L. A.; OSPINA, D.; SHEPHERD, R. J. Characterization of cassava vein mosaic virus: a distinct plant pararetrovirus. **Journal of General Virology**, v. 76 n. 5, p. 1271-1278, 1995.
- CARVALHO, H. W. L.; RANGEL, M. A. S.; SANTOS, V. S.; OLIVEIRA, I. R.; PINHO, J. L. N.; ALVES, M. C. S.; SILVA, A. D. A.; OLIVEIRA, T. R. A.; RODRIGUES, C.

R.; CASTRO, C. R.; MARQUES, M. G.; MENEZES, V. M. M.; SANTOS, D. L.; MOITINHO, A. C.; SANTOS, M. L. Desempenho de Cultivares de Mandioca no Nordeste Brasileiro na Safra 2009/2010. Embrapa Tabuleiros Costeiros, **Boletim de pesquisa e Desenvolvimento** 84, 1-26, 2014.

COLLAVINO, A.; ZANINI, A. A.; MEDINA, R.; SCHALLER, S.; FEO, L. D. Cassava common mosaic virus infection affects growth and yield components of cassava plants (*Manihot esculenta*) in Argentina. **Plant Pathology**, v. 71, p. 980–989, 2021.

COSTA, A. S. Observações sobre o mosaico comum e o mosaico das nervaduras da mandioca (*Manihot utilissima* Pohl.). **Journal de Agronomia**, v. 3, p. 239-251, 1940.

GONÇALVES, Z. S.; LIMA, L. K.; BORGES, C. V.; ROCHA, A. J.; GONÇALVES, Z. S. Avaliação agrônômica e qualidade de farinha em cultivares de mandioca sob condições de campo. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 9, n. 2, p. 192-200, 2021.

HEMA M.; KONAKALLA, N. C. Recent developments in detection and diagnosis of plant viruses. Recent developments. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 2, p. 163–180, 2021.

KANAPIYA, A.; AMANBAYEVA, U.; TULEGENOVA, Z.; ABASH, A.; ZHANGAZIN, S.; DYUSSEMBAYEV, K.; MUKIYANOVA, G. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1451790, 2024.

KOCHKO, A.; VERDAGUER, B.; TAYLOR, N.; CARCAMO, R.; BEACHY, R. N. Cassava vein mosaic virus (CsVMV), type species for a new genus of plant double stranded DNA viruses? **Arch Virol**, v. 143, n. 5, p. 945-62, 1998.

LEGG, J. P.; LAVA KUMAR, P.; MAKESHKUMAR, T.; TRIPATHI, L.; FERGUSON, M.; KANJU. E.; NTAWURUHUNGA, P.; CUELLAR, W. Cassava virus diseases: biology, epidemiology, and management. **Advances in Virus Research**, v. 91, n. 1, p. 85–142, 2015.

LOZANO, I.; LEIVA, A. M.; JIMENEZ, J.; FERNANDEZ, E.; CARVAJAL-YEPES, M.; CUERVO, M.; CUELLAR, W. J. Resolution of cassava-infecting alphaflexiviruses: molecular and biological characterization of a novel group of potexviruses lacking the TGB3 gene. **Virus Research**, v. 241, p. 53–61, 2017.

MARMEY, P.; FAUQUET, C. M. Cassava vein mosaic virus. **Descriptions of Plant Viruses**, n. 413, 2006.

MEHETRE, G. T.; LEO, V. V.; SINGH, G.; SOROKAN, A.; MAKSIMOV, I.; YADAV, M. K.; UPADHYAYA, K.; HASHEM, A.; ALSALEH, A. N.; DAWOUD, T. M.; ALAARY, K. S.; SINGH, B. P. Current developments and challenges in plant viral diagnostics: A systematic review. **Viruses**, v. 13, p. 412, 2021.

NAKABONGE, G.; NANGONZI, R.; TUMWEBAZE, B. S.; KAZIBWE, A.; SAMUKOYA, C.; BAGUMA, Y. Production of virus-free cassava through hot water

therapy and two rounds of meristem tip culture. **Cogent Food Agriculture**, v. 6, n. 1, p. 1800923, 2020.

NASIM, N.; DEY, N. Pararetroviruses: plant infecting dsDNA viruses. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 40, n. 1, p. 106-118, 2022.

NGUYEN, K.; DUONG, T. T. T.; NGUYEN, V.-T. Influence of chemical elicitors on induced defence system in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) caused by Sri Lankan Cassava Mosaic Virus. **Research on Crops**, v. 25, n. 4, p. 1120-1127, 2024. DOI: 10.31830/2348-7542.2024.roc-1120.

OUEDRAOGO, C. W. I.; ALGUNS, K.; NANA, R.; TIENDREBEOGO, F.; TIAMA, D.; SORO, M.; BERTHÉ, O. Effect of thermotherapy on meristem culture response of two local cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars from Burkina Faso. **Disciver Plants**, v. 2, n. 1, p. 79, 2025.

OLIVEIRA, E. J.; FUKUDA, W. M. G.; OLIVEIRA, S. A. S.; RINGENBERG, R.; SILVA, M. R.; SOUZA, A. S.; SILVA, A. L. L.; OLIVEIRA FILHO, M. S.; FARIA, M. L.; SILVA, R. J. S. BRS Novo Horizonte – a new cassava variety for industrial use. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 2, p. e28882028, 2020.

OLIVEIRA, S. A. S.; ALVAREZ, E.; PARDO-GARCÍA, J. M.; DIAMANTINO, M. S. A. S.; BRITO, D. A.; PEREIRA, J. S. Propagação de mandioca com qualidade fitossanitária em câmara térmica automatizada. Embrapa Mandioca e Fruticultura, **Comunicado Técnico**, **174**, p. 1-11, 2020.

ROCHA, H. S.; SILVEIRA, H. F.; SOUZA, A. S.; OLIVEIRA, S. A. S.; OLIVEIRA, E. J.; SOUZA, B. D. L.; GONÇALVES, H. A.; PACHECO JÚNIOR, R. G.; ALMEIDA, N. M.; LIMA, S. A. Miniestacas de mandioca: nova alternativa de material de plantio. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, **Comunicado Técnico**, **179**, p. 1- 24, 2021.

SANTIAGO, A. D.; MORAIS, L. K.; SANTOS, L.; CARVALHO, H. W. L. Desempenho e Recomendação da Cultivar de Mandioca BRS Poti Branca para a Mesorregião do Agreste Alagoano. Embrapa, **Comunicado Técnico** **208**, p. 1-5, 2017.

SARROPOULOU, V.; GRIGORIDOU, K.; MALIOGKA, V. I.; SASSALOU, C.; ZIGOGAS, V. The Elimination of Viroids through *In Vitro* Thermotherapy and a Meristem Tip Culture from a New Limonime Hybrid (*Citrus x limon* var. limon (L.) Burm. f. x *Citrus latifolia* var. latifolia). **BioTech**, v. 13, n. 3, p. 37, 2024.

SAMPAIO FILHO, J. S.; OLIVOTO, T.; CAMPOS, M. S.; 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.

SILVA, J. M.; CARNELOSSI, P. R.; BIJORA, T.; FACCO, C. U.; PICOLI, M. H. S.; SOUTO, E. R.; OLIVEIRA, A. J. B.; ALMEIDA, A. M. R. Immunocapture-RT-PCR detection of Cassava common mosaic virus in cassava obtained from meristem-tip culture in Paraná state. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 5, p. 271-275, 2011.

SOUZA, E. D.; LIMA-PRIMO, H. E. BRS Novo Horizonte: Cultivar de Mandioca de Indústria Indicada para Plantio em Roraima. Embrapa, **Comunicado Técnico**, v. 98, 2022.

SOUZA, I. F.; MACIEL, S. S.; CABRAL NETO, O. Prejuízos que as pragas e doenças causam na cultura da mandioca. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v. 11, 2024.

SSERUBOMBWE, W. S.; THRESH, J. M.; OTIM-NAPE, G. W.; OSIRU, D. O. S. Progress of cassava mosaic virus disease and whitefly vector populations in single and mixed stands of four cassava varieties grown under epidemic conditions in Uganda. **Annals of Applied Biology**, v. 138, p. 161–70, 2001.

SILBERSCHMIDT, K. O mosaico da mandioca. **O Biológico**, v.4, p.177-182, 1938.

TABATABAEI, M. S.; ISLAM, R.; AHMED, M. Applications of gold nanoparticles in elisa, pcr, and immuno-pcr assays: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1143, p. 250–266, 2021.

TUO, D. C.; ZHAO, P.; YAN, P.; LI, R. M.; CHEN, X.; WANG, W. Q.; LI, X. Y.; YAO, Y.; CUI, H. G.; SHEN, W. T.; ZHOU, P. First Report of Cassava common mosaic virus Infecting Cassava in Mainland China. **Plant Disease**, v. 104, n. 3, 2020.

TUO, D.; YAO, Y.; YAN, P.; CHEN, X.; QU, F.; XUE, W.; LIU, J.; KONG, H.; GUO, J.; CUI, H.; DAI, Z.; SHEN, W. Development of cassava common mosaic virus-based vector for protein expression and gene editing in cassava. **Plant Methods**, v. 19, p. 78, 2023.

VENTURINI, M. T.; ARAÚJO, T.; ABREU, E. F. M.; ANDRADE, E. C. D.; SANTOS, V.; SILVA, M. R.; OLIVEIRA, E. J. Crop losses in Brazilian cassava varieties induced by the *Cassava common* mosaic virus. **Scientia Agricola**, v. 73, n. 6, p. 520-524, 2016.

WANG, M.; CUI, Z.; LI, J.; HAO, X.; ZHAO, L.; WANG, Q. In vitro thermotherapy-based methods for plant virus eradication. **Plant Methods**, v. 14, n. 87, 2018.

WANG, Y. M.; OSTENDORFT, B.; GAUTAM, D.; HABIL, N.; PAGAY, V. Plant Viral Disease Detection: From Molecular Diagnosis to Optical Sensing Technology—A Multidisciplinary Review. **Remote Sens**, v. 14, n. 7, p. 1542, 2022.

WATANABE, L. F. M.; RIBEIRO-JUNIOR, M. R.; PORTILHO, A. M. N.; MARUBAYASHI, J. M.; SILVA, F. B.; UZAN, J.; FAVARA, G. M.; KRAUSE-SAKATE, R. High incidence of cassava common mosaic virus in cassava plants and complete genome sequence of a distinct isolate from Brazil. **Tropical Plant Pathology**, p. 1–6, 2024.

ZANINI, A. A.; CUELLAR, W.J.; CELLI, M.G.; LUQUE, A.V.; MEDINA, R. D.; CONCI, V.C.; del V. Di FEO, L. Distinct strains of the re-emergent Cassava common

mosaic virus (genus: *Potexvirus*) infecting cassava in Argentina. **Plant Pathology**, v. 67, p. 1814–1820, 2018.

ZANINI, A.; COLLAVINO, A.; MEDINA, R.; CELLI, M.; CONCI, V.; DI FEO, L. Influencia de Cassava common mosaic virus (CsCMV) en la producción de raíces de plantas de *Manihot esculenta*. **Revista Investigación, Ciencia y Universidad**, v. 3, p. 99, 2020a.

ZANINI, A. A.; FEO, L. D. F.; LUNA, D. F.; PACCIORETTI, P.; COLLAVINO, A.; RODRIGUEZ, M. S. Cassava common mosaic virus infection causes alterations in chloroplast ultrastructure, function, and carbohydrate metabolism of cassava plants. **Plant Pathology**, v. 70, p. 195-205, 2020b.

ZANINI, A. A.; DI FEO, L.; LUNA, D. F.; PACCIORETTI, P.; COLLAVINO, A.; RODRIGUEZ, M. S. Cassava common mosaic virus infection causes alterations in chloroplast ultrastructure, function, and carbohydrate metabolism of cassava plants. **Plant Pathology**, v. 70, p. 195–205, 2021.

ZANINI, A. A.; DOMINGUEZ, M. C.; RODRÍGUEZ, M. S. Exploring sugar allocation and metabolic shifts in cassava plants infected with Cassava common mosaic virus (CsCMV) under long-day photoperiod: diel changes in source and sink leaves. **Journal of Plant Research**, v. 138, n. 1, p. 131-145, 2025.

## **CAPÍTULO 1**

**Impacto do vírus do mosaico comum e do mosaico das nervuras da mandioca, na produção de variedades sob infecção simples e mista**

## **Impacto do Vírus do mosaico comum e do mosaico das nervuras da mandioca, na produção de variedades sob infecção simples e mista**

**RESUMO:** O estudo partiu da necessidade de quantificar as perdas associadas às viroses que afetam a cultura, diante da escassez de informações quantitativas. O diagnóstico viral foi conduzido por ELISA indireto para o CsCMV e PCR convencional para o CsVMV, complementado por qPCR para confirmação dos resultados. Os dados revelaram alta frequência de infecção por CsCMV, com média de 63% a 66% nas duas variedades avaliadas, enquanto o CsVMV apresentou ocorrência extremamente baixa (0,6%), detectado apenas em uma amostra da 'BRS Novo Horizonte'. Apesar da baixa presença do CsVMV, sua inclusão analítica foi essencial para identificar possíveis efeitos combinados com o CsCMV. As avaliações agrônomicas mostraram que o CsCMV influenciou negativamente nos parâmetros de crescimento e produtividade, refletindo reduções significativas em altura de planta, vigor das hastes e produtividade de raízes nas plantas infectadas, com variação conforme a variedade avaliada. A BRS Poti Branca apresentou desempenho produtivo mais estável entre os tratamentos, enquanto a BRS Novo Horizonte mostrou reduções mais acentuadas sob infecção. A hipótese de efeito sinérgico sob coinfeção foi parcialmente confirmada, uma vez que a combinação CsCMV + CsVMV, ainda que rara, esteve associada a reduções mais expressivas de produtividade em relação às infecções simples. Esses resultados reforçam a importância do uso de material propagativo livre de vírus e da integração de diagnósticos moleculares em programas de multiplicação, prevenindo perdas econômicas e garantindo sanidade varietal.

**Palavras-chave:** Diagnóstico, coinfeção, viroses.

## **Impact of the Cassava Common Mosaic Virus and Cassava Vein Mosaic Virus on the production of varieties under single and mixed infections**

**ABSTRACT:** Chapter 1 investigated the impact of the Cassava common mosaic virus (CsCMV) and the Cassava vein mosaic virus (CsVMV), individually and in coinfection, on the agronomic performance of the varieties BRS Poti Branca and BRS Novo Horizonte. The study addressed the need to quantify yield losses caused by viral diseases affecting cassava, given the scarcity of quantitative data in Brazil. Viral detection was carried out through indirect ELISA for CsCMV and conventional PCR for CsVMV, complemented by qPCR to confirm the results. The results revealed a high frequency of CsCMV infection, with an average incidence of 63–66 % across both varieties, whereas CsVMV showed an extremely low occurrence (0.6 %), detected in only one sample of 'BRS Novo Horizonte'. Although CsVMV was minimal, its inclusion was essential to assess possible combined effects with CsCMV. Agronomic evaluations demonstrated that CsCMV negatively affected growth and productivity parameters, leading to significant reductions in plant height, stem vigor, and root yield in infected plants, with variations between the two varieties. BRS Poti Branca maintained more stable performance among treatments, while BRS Novo Horizonte exhibited more pronounced reductions under infection. The hypothesis of a synergistic effect under coinfection was partially confirmed, as the CsCMV + CsVMV combination, though rare was associated with greater productivity losses compared to single infections. These findings highlight the importance of using virus-free propagation material and integrating molecular diagnostics into multiplication programs, as essential measures to prevent economic losses and ensure varietal health.

**Key words:** Diagnosis, Dual infection, viruses.

## 1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) ocupa posição de destaque entre as principais culturas agrícolas do Brasil, desempenhando papel essencial na segurança alimentar e na geração de renda em diversas regiões produtoras. O cultivo dessa espécie é realizado, predominantemente, por meio da multiplicação vegetativa de hastes ou miniestacas, prática que assegura a conservação das características genéticas das variedades cultivadas. Entretanto, quando o material propagativo não é proveniente de plantas saudáveis, essa estratégia também se torna uma via importante de disseminação de agentes patogênicos (COLLAVINO et al., 2021; WATANABE et al., 2024).

Entre os problemas fitossanitários mais relevantes da mandioca, destacam-se as viroses, especialmente as causadas pelo *Cassava common mosaic virus* (CsCMV) e pelo *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV). Esses vírus têm sido relatados em diferentes regiões produtoras do país e utilizam a propagação vegetativa como principal forma de transmissão (VENTURINI et al., 2016; COLARICCIO et al., 2020; WATANABE et al., 2024). O CsCMV está relacionado a reduções no crescimento e na produtividade, interferindo em processos fisiológicos e bioquímicos como a fotossíntese, o acúmulo de biomassa e o teor de amido nas raízes (LEGG et al., 2015; ZANINI et al., 2020a; HAMIDOU et al., 2025). Já o CsVMV, embora descrito na literatura, ainda carece de investigações mais profundas sobre seus efeitos na fisiologia e no desempenho agrônomo da mandioca.

Mesmo com os avanços observados nas últimas décadas, o impacto real das viroses sobre a cultura da mandioca no Brasil continua sendo subestimado. A maior parte das pesquisas existentes limita-se à caracterização de sintomas e à descrição da ocorrência dos vírus, sem a quantificação precisa das perdas fisiológicas e econômicas associadas à infecção (VENTURINI et al., 2016). De acordo com Collavino et al. (2021), apesar do CsCMV ter sido recentemente registrado, ainda há carência de informações sobre os efeitos das infecções virais no metabolismo e na produtividade da cultura.

A determinação do dano efetivamente causado por vírus e outros patógenos é fundamental para subsidiar estratégias de manejo mais adequadas. No caso específico dos vírus CsCMV e CsVMV, torna-se essencial avaliar separadamente e em coinfecção o impacto sobre variáveis fisiológicas e produtivas, de modo a compreender a magnitude dos prejuízos associados a cada situação. Parte-se da hipótese de que as infecções simultâneas por CsCMV e CsVMV exercem um efeito sinérgico sobre as plantas, resultando em perdas mais acentuadas no crescimento e na produção de raízes do que as infecções individuais.

Para testar essa hipótese, os objetivos específicos deste estudo consistem em: (i) registrar a presença e a intensidade dos sintomas visuais característicos de cada tratamento; (ii) quantificar os efeitos dos vírus sobre variáveis de crescimento, como a altura das plantas; e (iii) avaliar parâmetros produtivos, comparando o desempenho entre tratamentos para estimar a magnitude e o tipo de interação entre os vírus. Assim, o presente capítulo busca contribuir para o entendimento dos impactos isolados e combinados de CsCMV e CsVMV sobre o desempenho agrônomo da mandioca, oferecendo subsídios técnicos para o aprimoramento de programas de manejo e multiplicação de material sadio.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

Para o diagnóstico do vírus do mosaico das nervuras da mandioca (CsVMV) e do vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV), foram identificadas e marcadas 80 plantas assintomáticas e 80 plantas sintomáticas, baseando-se nos sintomas característicos de cada variedade (BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca). A coleta do material foi realizada no campo de multiplicação de mandioca da Empresa Podium, localizado na Rodovia BR-101, Km 279, em Laje, Bahia (SIRGAS 2000 UTM, Fuso 24 L: E= 469668 m / N= 8548978 m

Amostras de folhas de cada planta foram coletadas em sacos de papel filtro e acondicionadas em sacos plásticos *zip lock* contendo sílica gel, sendo colocadas para secar em ambiente natural no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura. As sílicas foram trocadas até que estabilizassem sua

coloração, e as amostras foram guardadas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento das extrações.

## 2.2 Extração de DNA Total

A extração de DNA foi realizada com o Promega Genomic DNA/RNA Purification Kit, adaptado às particularidades da espécie. Foram coletados cerca de 40 mg de tecido foliar das variedades BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca, macerados em pó fino com esferas de aço inoxidável no TissueLyser LT (QIAGEN). O material foi submetido à lise (ex.: Nuclei Lysis Solution) com 600 µL de tampão específico e incubado a 65 °C por 15 minutos. Em seguida, adicionaram-se 3 µL de RNase, com incubação a 37 °C por 15 minutos.

Após resfriamento, 200 µL de solução de precipitação de proteínas foram incorporados, e o lisado centrifugado a 13.000 × g para separação do sobrenadante. A precipitação do DNA foi realizada com 600 µL de isopropanol, seguida de centrifugação. O *pellet* resultante foi lavado com 600 µL de etanol 70%, seco ao ar e ressuspenso em 100 µL de tampão de reidratação.

A qualidade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com GelRed® e visualizado sob luz UV. As amostras foram diluídas e padronizadas para 25 ng/µL e armazenadas a -80 °C até o uso.

## 2.3 Detecção molecular por PCR

A detecção do Vírus do mosaico das nervuras da mandioca (CsVMV) foi realizada por PCR convencional, utilizando os primers específicos CsVMV-SST-FW (5'-TGA GCA GGT ACA ATTCAT CTG ATA CTGA-3') e CsVMV-SST-RE (5'-CTT CGT ATT CTG GCA GTA TAG G-3'). As reações foram conduzidas em volume final de 25 µL, contendo 2 µL de DNA (20 ng), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,2 µL de Taq polimerase, 2,5 µL de tampão (10x), 1,5 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 Mm), 0,5 µL de cada primer (10Mm) e 16,3 µL de água.

O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial a 94 °C por 3 min; 36 ciclos de 94 °C por 45 s, 55 °C por 30 s e 72 °C por 30 s; seguidos de

extensão final a 72 °C por 7 min. As amostras foram analisadas em gel de agarose a 1%, corados com GelRed® e visualizados em transluminador de luz UV.

#### 2.4 Detecção do vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV)

O diagnóstico do vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV) foi realizado pelo teste ELISA indireto, conforme descrito por Mowat & Dawson (1987), em protocolo de três dias. No primeiro dia, tubos de microcentrífuga contendo 18 discos foliares (controles positivo e negativo, além das amostras) foram preparados, totalizando aproximadamente 0,17 g de tecido por tubo. Cada amostra recebeu tampão carbonato com 1% de PVP e duas esferas de aço inoxidável, seguido de maceração em TissueLyser. Após centrifugação, 100 µL do sobrenadante foram transferidos para a placa de ELISA previamente identificada e incubada durante a noite, a 4–6 °C, em câmara úmida.

No segundo dia, a placa foi lavada com PBS-Tween (0,05%) e, em seguida, incubada por 1 h em solução bloqueadora (PBS + 3% albumina de soro bovino) sob agitação leve, à temperatura ambiente. Após nova lavagem com TBS-Tween, adicionou-se o antissoro específico para CsCMV, diluído a 1:6000. A placa foi novamente incubada durante a noite, a 4–6 °C. No terceiro dia, após sucessivas lavagens com PBS-Tween, adicionou-se 100 µL do antissoro conjugado goat-anti-rabbit com fosfatase alcalina (1:20.000), mantendo a placa a 37 °C por 4 h. Na etapa final, aplicou-se tampão contendo p-nitrofenil fosfato, com incubação no escuro por 60 min. Amostras foram consideradas positivas quando as absorbâncias superaram 2,5 vezes a média dos controles negativos.

#### 2.5 Experimento

Experimento em campo foi delineado para avaliar o impacto do vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV) e do vírus do mosaico das nervuras da mandioca (CsVMV) em Campo, baseando-se em resultados de indexações prévias. O ensaio foi conduzido no município de Laje, Bahia, em uma área de 408,24 m<sup>2</sup>, localizada especificamente nas instalações da Podium Alimentos, Rodovia BR-101, Laje - BA, CEP 45.490-000.

## 2.6 Características do Local

O experimento foi instalado no município de Laje, Bahia, situado no Recôncavo Sul Baiano, área reconhecida pela aptidão agrícola e pela presença de unidades industriais voltadas ao processamento de mandioca, como a antiga Bahia Amido, atual Podium Alimentos. As condições ambientais da região, incluindo clima quente e úmido e solos adequados ao desenvolvimento inicial da cultura, têm favorecido a condução de ensaios agrônômicos e a avaliação de cultivares destinadas ao uso industrial, conforme observado em estudos realizados no estado (OLIVEIRA et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2023). Por integrar um polo produtivo importante no Recôncavo, Laje tem sido utilizada como ambiente representativo para validação de materiais genéticos e tecnologias aplicadas à cultura da mandioca, justificando sua escolha como local experimental neste trabalho.

## 2.7 Delineamento Experimental e Condução

O experimento foi instalado em setembro de 2024, utilizando delineamento em blocos casualizados, com três repetições. Cada parcela experimental foi composta por três linhas de plantio, com 4,2 m de comprimento, adotando-se espaçamento de 0,90 m entre linhas e 0,70 m entre plantas. Os tratamentos foram definidos a partir da combinação de duas variedades de mandioca (BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca), duas condições sanitárias do material propagativo (manivas sadias e infectadas) e três formas de preparo das manivas: manivas de 8 cm tratadas com MandiPlus, manivas de 16 cm tratadas com MandiPlus e manivas de 16 cm sem tratamento químico (controle).

O tratamento químico consistiu na utilização do produto comercial MandiPlus, composto por fungicidas sistêmicos (mefenoxam e tiabendazol) e inseticida sistêmico (tiametoxam), aplicado na dose de 400 mL de produto comercial por hectare. As manivas tratadas foram submetidas à imersão em solução do produto por 3 minutos, acondicionadas em sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) com malha tipo Raschel, e posteriormente mantidas à secagem

em temperatura ambiente por aproximadamente 8 horas antes do plantio. No total, foram avaliadas 36 parcelas experimentais.

## 2.8 Parâmetros de Avaliação

As avaliações do experimento foram iniciadas aos cinco meses após o plantio para monitorar o desenvolvimento inicial e a manifestação de sintomas. Neste período, foram registrados o número de plantas estabelecidas, a presença ou ausência de sintomas das viroses, a altura das plantas e o diâmetro da haste. Essas análises permitiram acompanhar a progressão da doença e o crescimento vegetativo ao longo do período experimental.

Ao término do experimento, no momento da colheita, foram realizadas as seguintes medições e determinações:

- Altura das plantas (m): Medida da base do solo até a inserção da folha mais jovens.
- Peso das raízes: Mensurado separadamente, calculando o peso total das raízes por parcela.
- Vigor das hastes (Escala 1-5): 1: Desenvolvimento ruim e baixo vigor; 2: desenvolvimento e vigor intermediário; 3: ótimo desenvolvimento e vigor; 4: excelente desenvolvimento e vigor; 5: máximo desenvolvimento e vigor.
- Altura das hastes: Medida de comprimento do caule por planta com uso potencial para a produção de material propagativo.
- Diâmetro do caule: medido do caule principal
- Sintomas: Presença ou ausência

## 2.9 Determinação do Teor de Matéria Seca das Raízes (MS%)

Para determinar o teor de matéria seca das raízes, amostras foram coletadas de cada variedade e tratamento. As raízes foram pesadas inicialmente no ar (massa inicial, PI) e, em seguida, submersas em um recipiente com água para obter a massa das raízes

submersas (massa final, PF). Os valores foram estimados utilizando a equação proposta por Kawano, Fukuda e Cenpukdee (1987):

$$MS(\%) = [158,3 * \frac{(PI - PF)}{PI}] - 142$$

**PI:** corresponde à massa inicial da amostra (pesada no ar);

**PF:** corresponde à massa obtida na balança após submersão das raízes na água.

### **Produtividade e Qualidade das Raízes**

- **Produtividade das Raízes (PR):** Foi estimada pela pesagem das raízes obtidas de cinco plantas por parcela, com os resultados expressos em toneladas por hectare (t/ha).
- **Teor de Amido (AMD%):** Foi calculado pela subtração do fator 4,65 do valor do teor de matéria seca (MS%), conforme descrito por Rangel et al. (2021).
- **Produtividade de Amido (PAM):** Foi determinada pela multiplicação da produtividade de raízes (PR) pelo teor de amido das raízes (em valor decimal), também expressa em toneladas por hectare (t/ha). Esta métrica permitiu avaliar a viabilidade e o potencial econômico da cultura sob as condições do experimento.

#### 2.10 Análise de Dados

Para a análise dos dados coletados, foi utilizado o software Rstudio.

- **Análise Descritiva:** Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva completa, incluindo o cálculo de médias, desvios padrão e intervalos de confiança para cada parâmetro avaliado. Esta etapa proporcionou uma visão inicial da distribuição e variabilidade dos dados.
- **Análise de Variância (ANOVA):** Em seguida, foi conduzida uma Análise de Variância (ANOVA) para identificar diferenças estatisticamente significativas entre

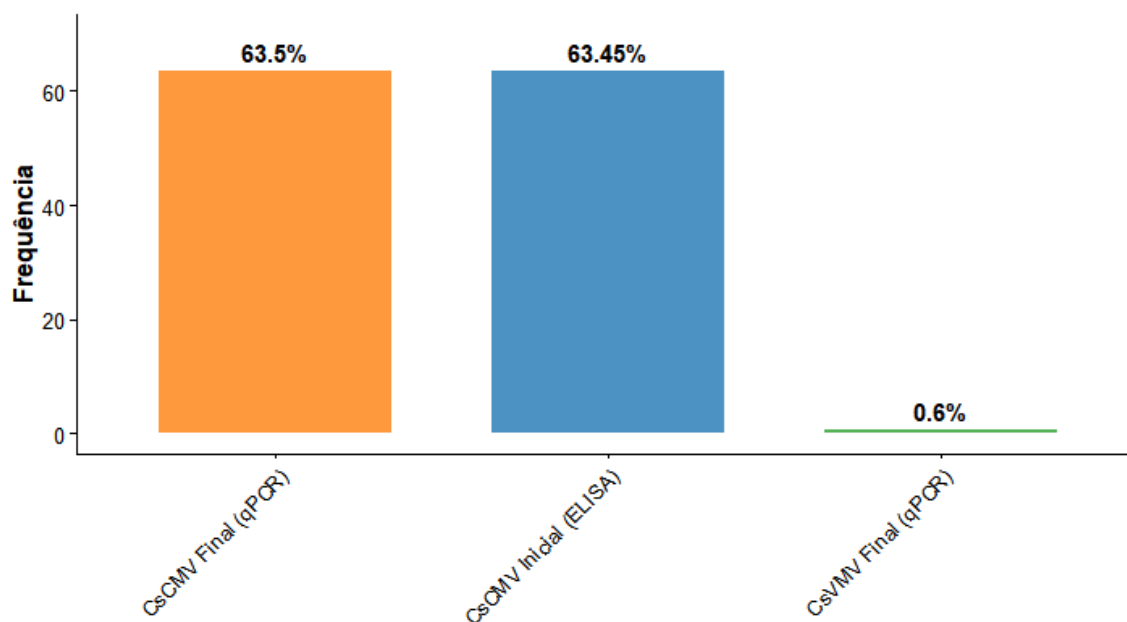
os tratamentos (impacto do CsCMV). Os resultados da ANOVA foram apresentados em tabelas contendo os valores de F e os p-valores correspondentes. O coeficiente de variação (CV) foi calculado para cada parâmetro, servindo como uma medida da variabilidade em relação às médias.

- Testes de Comparação Múltipla: Caso a ANOVA tenha indicado diferenças significativas entre os tratamentos, foi aplicado o teste de Tukey para comparações múltiplas. Este teste permitiu identificar quais tratamentos específicos apresentaram diferenças estatísticas entre si.
- Testes de comparação por média: para casos específicos foram realizadas análises de comparação e percentual por média de parcela infectada e sadia.

### 3 RESULTADOS

A avaliação fitossanitária inicial foi realizada por ELISA indireto (CsCMV) e PCR convencional (CsVMV), em um total de 320 plantas, sendo 160 de cada variedade (80 sadias e 80 infectadas, de acordo com a presença ou ausência de sintomas no momento da coleta). Para confirmar e refinar estes resultados, foi realizado um diagnóstico final por qPCR, método mais sensível e específico, cujos resultados estão apresentados na Figura 1.

**Figura 1.** Comparativo entre o diagnóstico inicial e final dos vírus CsCMV e CsVMV em variedades de mandioca, obtido por teste imunoenzimático (ELISA indireto).



qPCR = PCR quantitativo em tempo real

O CsVMV foi detectado em apenas uma amostra (0.6% de frequência) exclusivamente no diagnóstico final por qPCR na variedade BRS Novo Horizonte. Já o CsCMV apresentou alta frequência de infecção, sendo identificado em aproximadamente 66% das plantas da BRS Poti Branca e 61% da BRS Novo Horizonte. Esse resultado mostrou que parte das plantas classificadas como "sadias" no campo também estava infectada, revelando a ocorrência de infecção assintomática. A Figura 1 apresenta a frequência total de detecção dos vírus CsCMV e CsVMV considerando o conjunto das variedades avaliadas, ilustrando os resultados gerais obtidos por diferentes métodos de diagnóstico (ELISA e qPCR).

### 3.1 Impacto da infecção simples (CsCMV) no desempenho agrônomo

Para a avaliação dos parâmetros de desenvolvimento, foram consideradas as plantas infectadas com base no diagnóstico final por qPCR em tempo real, método mais sensível cujos oligonucleotídeos (primers e sondas) foram cedidos pelo Leibniz Institute DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH (Alemanha), validando os resultados. Para quantificar o impacto da condição sanitária final (limpas vs. infectadas) no estabelecimento e desenvolvimento das plantas, foram realizadas duas avaliações.

A análise de variância não detectou interações significativas triplas ou

duplas entre os fatores (condição sanitária × variedade × tratamento) para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 1). No entanto, observou-se efeito principal significativo do fator variedade em cinco variáveis relacionadas ao estabelecimento e produção, na tabela a seguir:

**Tabela 1.** Resultados da análise de variância (ANOVA) para variáveis agrônômicas, de produtividade e qualidade de raízes de mandioca.

Variável	Condição Sanitária	variedade	Tratamento	Condição x Variedade x Tratamento
Vigor das plantas (150 DAP)	7.260	3.658	9.114	4.765
Altura das plantas (150 DAP)	8.139	9.231	9.634	5.369
Número de plantas estabelecidas (150 DAP)	2.246	0.0153*	9.818	4.907
Diâmetro do caule (150 DAP)	7.077	9.856	8.710	9.702
Vigor das plantas (300 DAP)	8.300	3.853	9.230	5.186
Altura das plantas (300 DAP)	7.816	9.405	9.575	4.375
Altura das hastes (300 DAP)	7.058	8.540	6.946	4.770
Número de plantas estabelecidas (300 DAP)	5.61	0.0113*	8.385	5.185
MS (%)	2.520	0.0181*	6.715	4.497
AMD (%)	2.520	0.0181*	6.715	4.497
PR (t ha <sup>-1</sup> )	9.320	0.0476*	8.064	4.777

PAM (t ha<sup>-1</sup>)      7.671                      1.937                      6.132                      4.759

Valores correspondem ao p-valor da ANOVA. \*Significativo a 5% de probabilidade. DAP = dias após o plantio, Condição sanitária: plantas sadias e infectadas, MS = matéria seca; AMD = teor de amido; PR = produtividade de raízes; PAM = produtividade de amido.

Diante da ausência de interações, procedeu-se com o desdobramento do fator variedade para identificar diferenças específicas entre as cultivares (Tabela 2).

**Tabela 2.** Médias obtidas no teste de Tukey referentes ao desdobramento do fator variedade para as variáveis que apresentaram diferenças significativas.

Variável	BRS-Novo- Horizonte (Média)	BRS-Poti- Branca (Média)	Valor-p	Grupos de Significância
Número de plantas estabelecidas (150 DAP)	97,90	94,90	0,01528	A vs B
Número de plantas estabelecidas (300 DAP)	97,90	94,90	0,01128	A vs B
MS (%)	35,45	31,78	0,01808	A vs B
AMD (%)	35,45	31,78	0,01808	A vs B
PR (t ha <sup>-1</sup> )	11,00	9,83	0,04756	A vs B

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

O desdobramento do fator variedade revelou diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre BRS-Novo-Horizonte e BRS-Poti-Branca em cinco variáveis importantes:

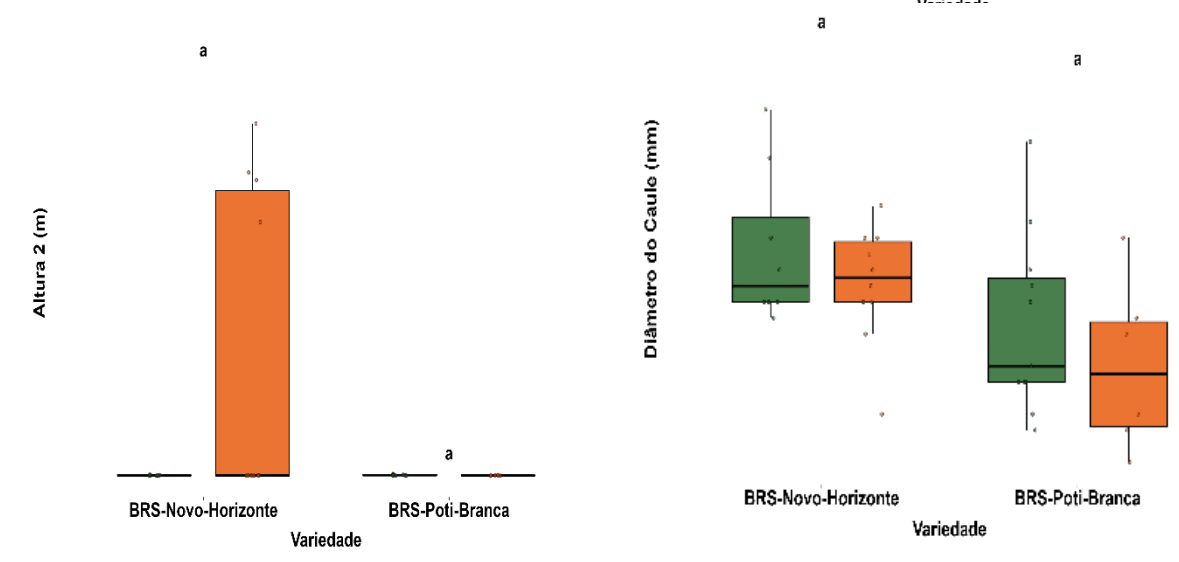
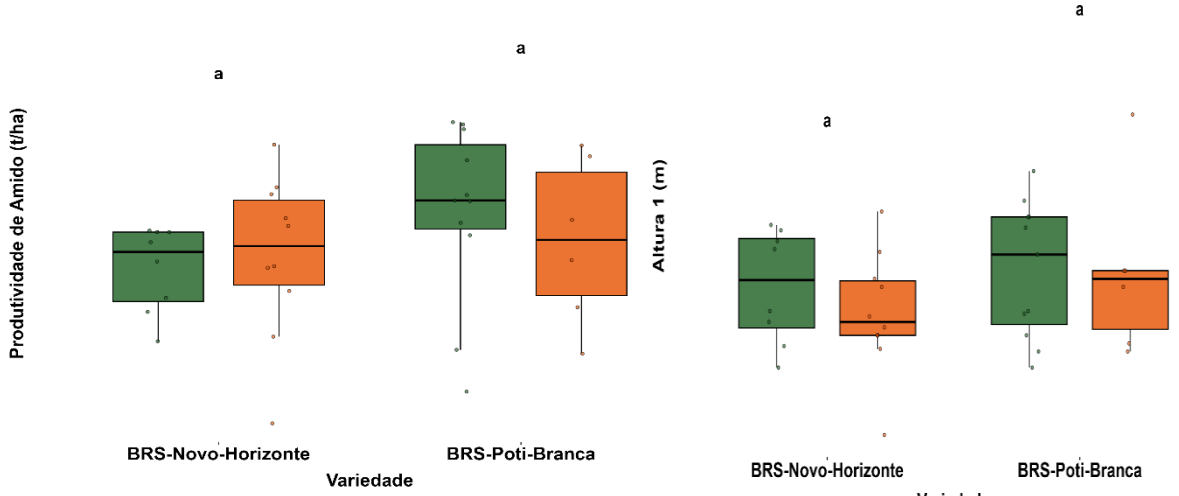
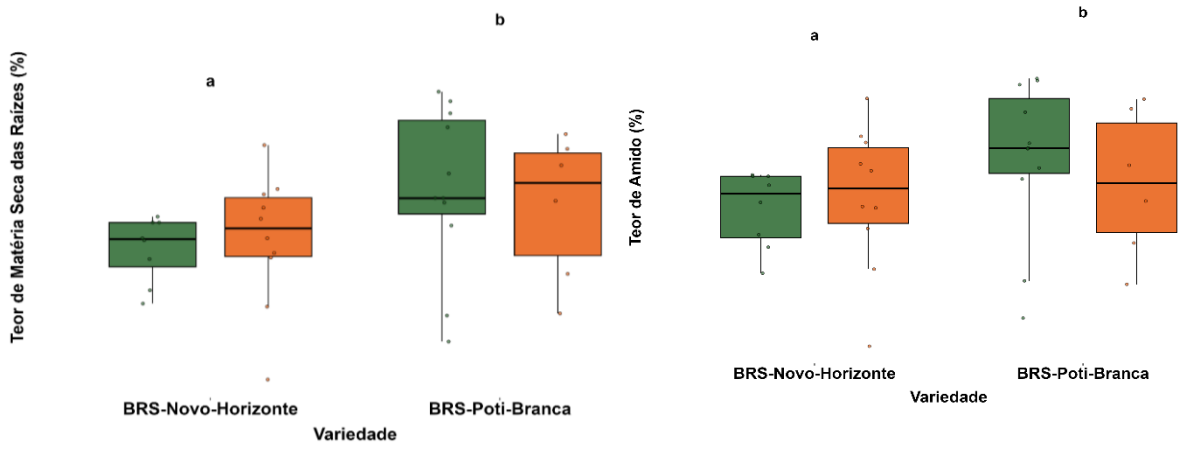
Número de plantas estabelecidas: A BRS-Novo-Horizonte apresentou médias ajustadas significativamente superiores em plantas estabelecidas no início da avaliação (97,90 vs 94,90;  $p = 0,01528$ ) e final (97,90 vs 94,90;  $p = 0,01128$ ), demonstrando melhor estabelecimento e sobrevivência das plantas.

Qualidade das Raízes: Para matéria seca (35,45 vs 31,78;  $p = 0,01808$ ) e teor de amido (35,45 vs 31,78;  $p = 0,01808$ ), a BRS-Novo-Horizonte mostrou valores significativamente maiores, indicando melhor qualidade tecnológica das raízes.

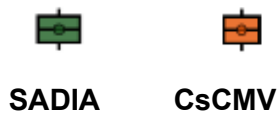
Produtividade: Na produtividade de raízes (11,00 vs 9,83;  $p = 0,04756$ ), a BRS-Novo-Horizonte também superou a BRS-Poti-Branca, refletindo em maior rendimento por área.

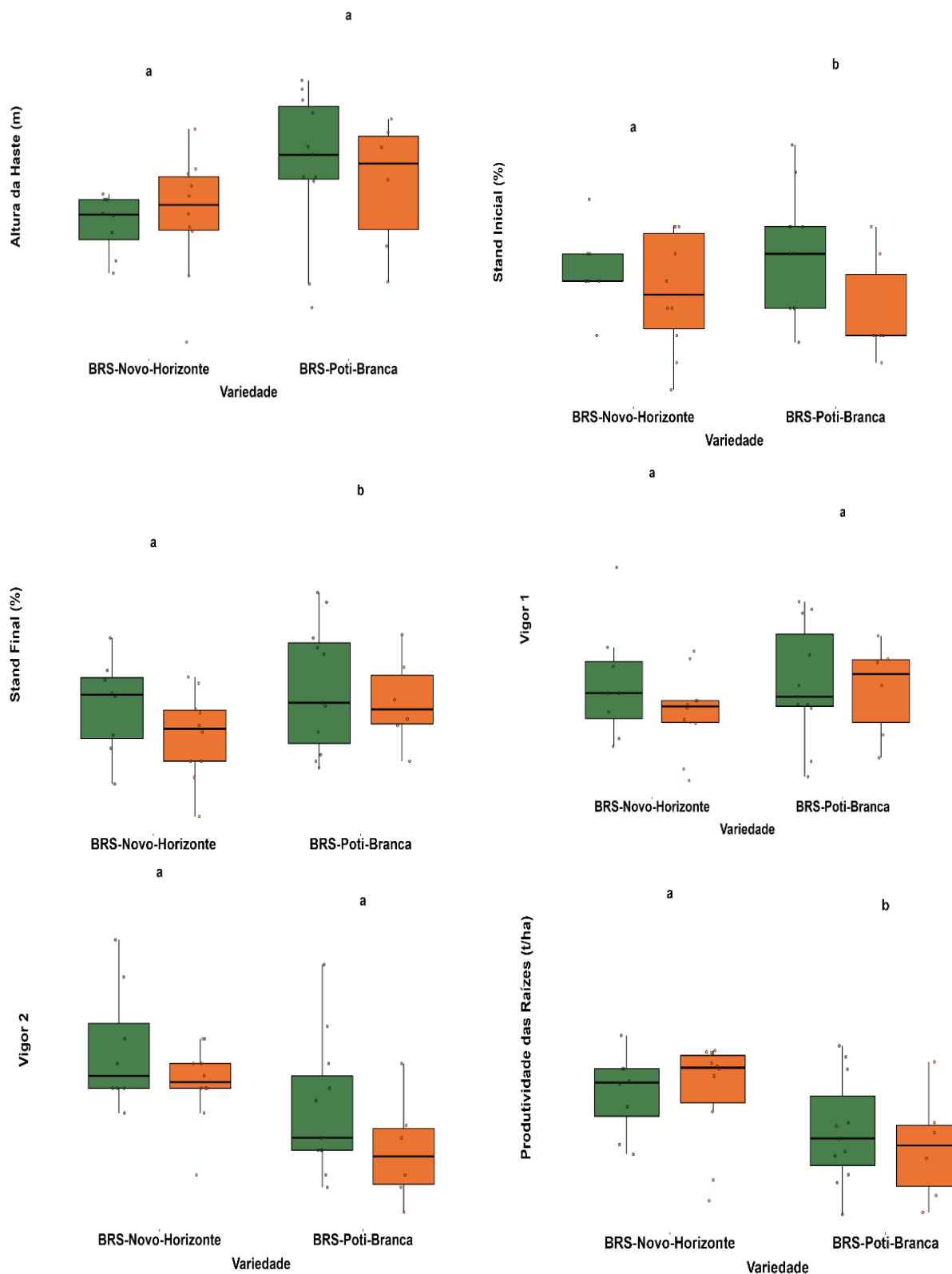
A Figura 2 apresenta os doze gráficos de boxplot ilustrando o desempenho das variedades BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca nos diferentes parâmetros avaliados. Condição sanitária (limpas vs. infectadas) apresentado apenas para visualização, as letras de significância referem-se exclusivamente ao efeito principal da variedade, conforme desdobramento do teste de Tukey.

**Figura 2.** Impacto da infecção simples por CsCMV nas variedades BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca



**Legenda:**





*Nota:* Os termos “1” e “2” indicam avaliações aos 150 e 300 dias após o plantio, respectivamente, para as variáveis altura, vigor e stand (Número de plantas estabelecidas).

A variedade BRS Novo Horizonte apresentou desempenho superior em cinco das doze variáveis analisadas. Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para número de plantas estabelecidas aos 150 DAP ( $p = 0,01528$ ), indicando melhor estabelecimento inicial; número de plantas estabelecidas aos 300 DAP ( $p = 0,01128$ ), evidenciando maior manutenção das plantas ao longo do ciclo; MS (%) ( $p = 0,01808$ ), com maior teor de matéria seca nas raízes; AMD (%) ( $p = 0,01808$ ), com teor de amido superior; e PR ( $t\ ha^{-1}$ ) ( $p = 0,04756$ ), com maior produtividade de raízes.

Por outro lado, não foram observadas diferenças estatísticas significativas para altura da haste, vigor das plantas aos 150 e 300 DAP, altura das plantas aos 150 e 300 DAP e diâmetro do caule.

Ao comparar a distribuição das variáveis entre as variedades, verificou-se que, para número de plantas estabelecidas aos 150 e 300 DAP, teor de matéria seca, teor de amido e produtividade de raízes, a variedade BRS Novo Horizonte apresentou valores superiores em relação à BRS Poti Branca (Figura 2).

### 3.2 Análises Especiais: Comparações Diretas entre Tratamentos

#### 3.2.1 Análise Especial: impacto da infecção por CsCMV em plantas tratadas com MandiPlus

Considerando que, após a análise por qPCR, apenas uma amostra apresentou resultado positivo para o CsVMV, as análises subsequentes foram conduzidas com foco na infecção isolada por CsCMV, permitindo uma avaliação mais precisa dos efeitos desse vírus sobre o desempenho agrônômico das plantas. Para avaliar o impacto específico do CsCMV em condições controladas, foi realizada uma análise comparativa direta entre parcelas com infecção confirmada por CsCMV e parcelas sadias submetidas aos mesmos tratamentos com MandiPlus, considerando os tratamentos 16MP, 8MP e 16 (Tabela 3).

**Tabela 3.** Impacto do CsCMV em tratamentos de Mandiplus - Diferenças percentuais entre plantas infectadas vs. Sadias (controle) com MandiPlus

Variável	16SMP	8MP	16MP
<b>Vigor das plantas % (300 DAP)</b>	<b>-34.29%</b>	<b>-2.27%</b>	+2.75%
Diâmetro do caule (cm)	-32.38%	-1.82%	+12.95%
Número de plantas estabelecidas % (150 DAP)	-16.00%	-13.21%	+1.54%
Altura das Hastes (m)	-13.60%	+2.16%	+8.47%
MS (%)	-13.61%	+6.90%	+8.48%
AMD (%)	-13.24%	+3.20%	+10.81%
PAM (t ha <sup>-1</sup> )	-13.24%	+3.20%	+10.81%
Altura das plantas (m) (300 DAP)	-7.85%	-5.83%	-5.58%
Número de plantas estabelecidas (%) (300 DAP)	-7.17%	-5.81%	-0.80%
Altura das plantas (m) (150 DAP)	+9.97%	-11.35%	-8.00%
Vigor das plantas (%)	+0.62%	-10.40%	-1.43%
PR (t ha <sup>-1</sup> )	-0.14%	+0.93%	+2.35%

Valores em **negrito** indicam redução pelo CsCMV. MP= MandiPlus, SMP = Sem MandiPlus; DAP = dias após o plantio; MS = matéria seca; AMD = teor de amido; PR = produtividade de raízes (t ha<sup>-1</sup>); PAM = produtividade de amido (t ha<sup>-1</sup>).

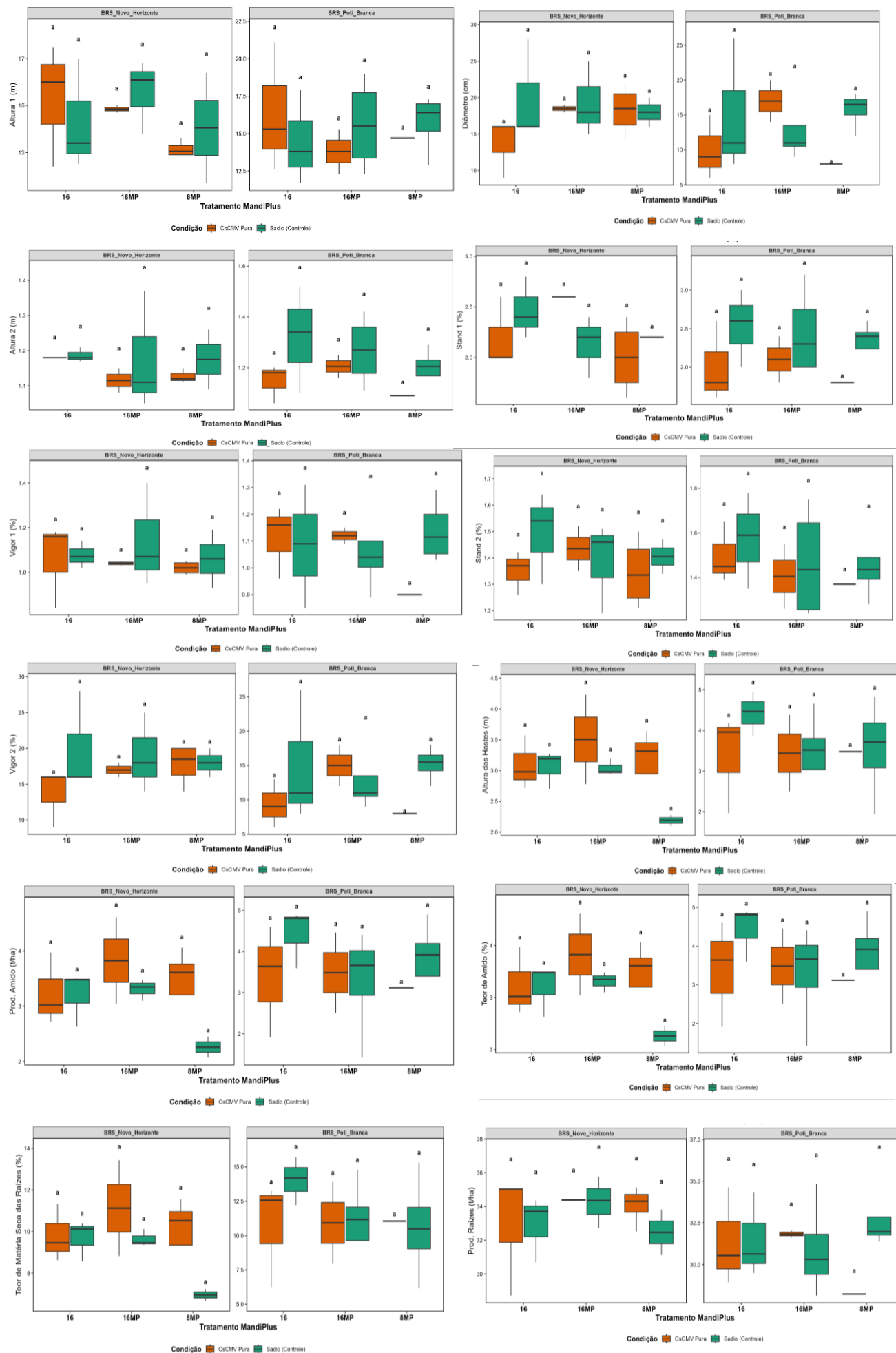
A análise dos resultados demonstra uma clara influência do tratamento com MandiPlus na manifestação dos efeitos do CsCMV sobre as variedades de mandioca BRS Novo Horizonte e BRS Poti Branca. Os dados indicam que plantas provenientes de manivas tratadas com MandiPlus, especialmente no tratamento com manivas de 16 cm (16MP), apresentaram melhor desempenho agrônômico quando comparadas ao controle não tratado sob condição de infecção viral, em ambas as variedades avaliadas. Os maiores prejuízos foram observados no tratamento controle (manivas de 16 cm sem MandiPlus), que apresentou reduções mais acentuadas em variáveis de desenvolvimento, como vigor das plantas (-34,29%), diâmetro do caule (-32,38%) e número de plantas estabelecidas (-16,00%). Em contraste, o tratamento 16MP não apenas evitou essas reduções, como também promoveu incrementos nesses parâmetros, com aumento de 2,75%

no vigor, 12,95% no diâmetro do caule e 1,54% no número de plantas estabelecidas.

Os efeitos positivos do tratamento 16MP também foram evidentes nas variáveis relacionadas à produtividade e à qualidade das raízes. Enquanto a produtividade de raízes no tratamento controle permaneceu praticamente estável (-0,14%), o tratamento 16MP proporcionou aumento de 2,35%. Além disso, foram observados incrementos no teor de matéria seca (+8,48%), no teor de amido (+10,81%) e na produtividade de amido por hectare (+10,81%), indicando maior acúmulo de reservas nas plantas tratadas.

O tratamento com manivas de 8 cm (8MP) também apresentou efeitos positivos em relação ao controle, especialmente para variáveis relacionadas à qualidade, como teor de amido, embora com magnitude inferior ao tratamento 16MP. De modo geral, a aplicação do MandiPlus, principalmente em manivas de 16 cm, favoreceu a resposta das plantas à infecção por CsCMV nas variedades avaliadas, resultando em melhor desempenho vegetativo e em ganhos na produtividade e qualidade das raízes (Figura 3).

**Figura 3.** Análise Comparativa por Parâmetro: Impacto do CsCMV e do Tratamento MandiPlus



Observa-se uma comparação direta do impacto relativo do vírus sobre cada variável, evidenciando os contrastes de desempenho entre o tratamento controle (manivas de 16 cm sem MandiPlus) e os tratamentos com MandiPlus (8MP e 16MP) (Figura 3). A representação gráfica permite visualizar como o tratamento, especialmente com manivas de 16 cm, contribuiu para atenuar os efeitos negativos da infecção viral e favorecer o desempenho produtivo e a qualidade das raízes. A análise dos gráficos (Figura 3) evidencia tendências visuais entre plantas sadias e infectadas com CsCMV nos diferentes tratamentos, embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). No tratamento 16MP, observam-se variações percentuais distintas: o diâmetro do caule (+12,95%) e a produtividade de raízes (+2,35%) apresentaram tendência de aumento nas plantas infectadas, enquanto a altura das plantas aos 150 DAP (-8,00%) e o vigor das plantas aos 300 DAP (-5,58%) indicaram tendência de redução.

Essas respostas indicam que o tratamento 16MP pode ter contribuído para atenuar os efeitos negativos do CsCMV em determinadas variáveis, mantendo desempenho semelhante ao observado em plantas sadias em outras características. No tratamento 8MP, destacam-se aumentos no teor de amido (+3,20%) e na produtividade de amido (+3,20%) nas plantas infectadas em comparação às sadias.

#### Análise Especial: parcela mista (CsCMV + CsVMV) no tratamento 16MP

**Tabela 4.** Impacto da Coinfecção CsCMV+CsVMV em Todos os Parâmetros Avaliados (Tratamento 16MP - BRS Novo Horizonte)

Parâmetro	Controle Sadio	Coinfecção CsCMV+CsVMV	Redução (%)
PR (t ha <sup>-1</sup> )	35,06	29,60	-15,6
PAM (t ha <sup>-1</sup> )	3,42	1,01	-70,4
AMD (%)	3,42	1,01	-70,4
MS (%)	9,75	3,43	-64,8
Altura da Haste (m)	3,07	1,08	-64,8
Diâmetro do Caule (cm)	21,50	20,00	-7,0
Altura das plantas (150 DAP) (m)	14,95	9,20	-38,5
Altura das plantas (300 DAP) (m)	1,21	0,68	-44,2
Número de plantas	2,10	1,40	-33,3

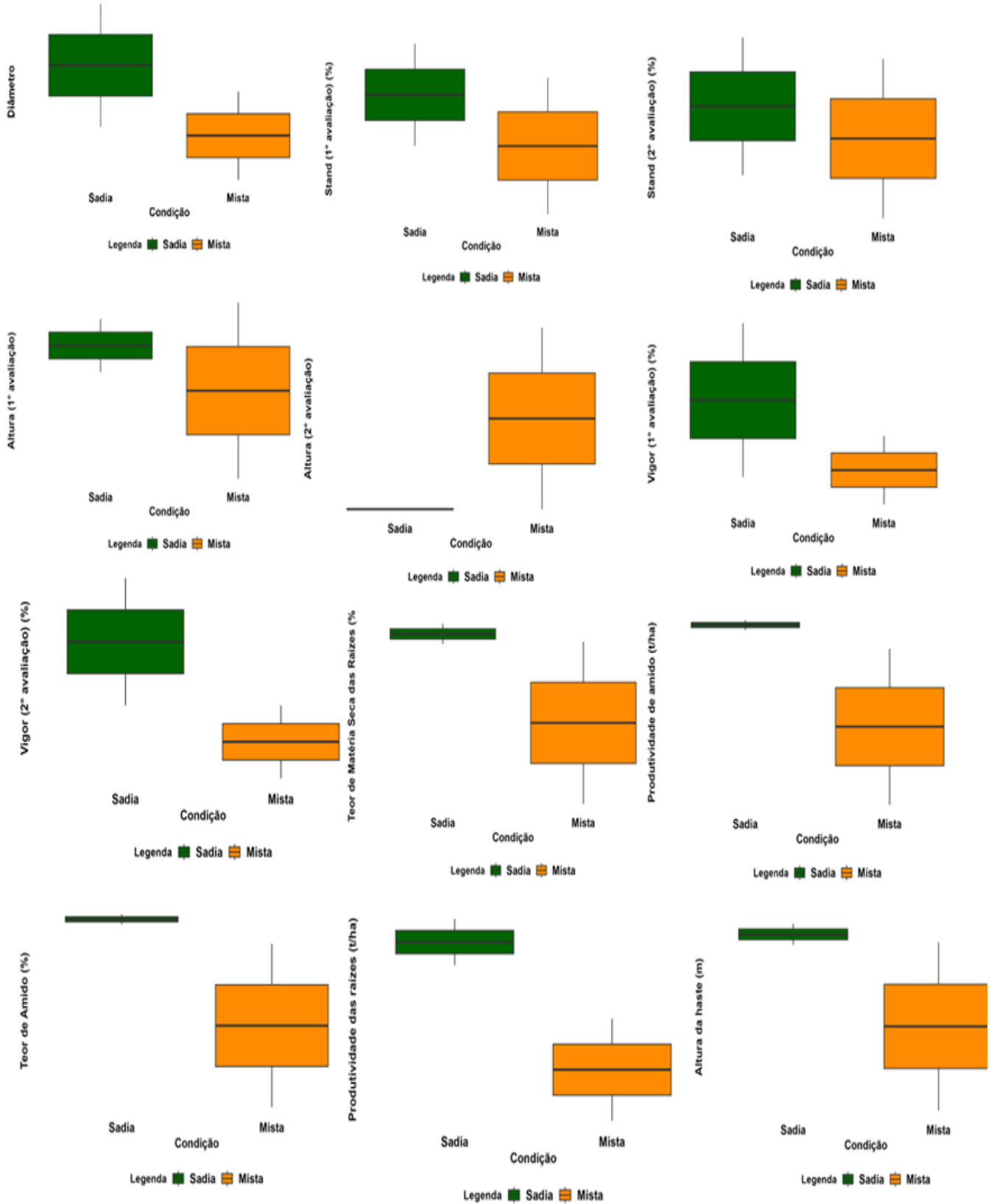
estabelecidas (150 DAP)(%)			
Número de plantas estabelecidas (300 DAP %)	1,35	1,09	-19,3
Vigor das plantas (150 DAP)(%)	1,17	0,87	-26,0
Vigor das plantas (300 DAP) (%)	21,50	18,00	-16,3

Valores mediano comparativos entre plantas sadias e sob coinfecção CsCMV+CsVMV no tratamento 16MP da variedade BRS Novo Horizonte, expressos em percentual de redução.

A coinfecção por CsCMV e CsVMV no tratamento 16MP da variedade BRS Novo Horizonte resultou em reduções expressivas em todos os parâmetros avaliados. A produtividade de raízes foi reduzida em 15,6%, enquanto a produtividade de amido e o teor de amido apresentaram reduções de 70,4%. A matéria seca das raízes e a altura das hastes diminuíram em 64,8%, e o diâmetro do caule apresentou redução mais discreta (7%). As variáveis de altura das plantas, número de plantas estabelecidas e vigor também apresentaram reduções variando entre 16,3% e 44,2%, indicando menor desenvolvimento das plantas sob coinfecção em comparação ao controle sadio.

De modo geral, a coinfecção por CsCMV + CsVMV promoveu reduções acentuadas no crescimento e na produção, reforçando o impacto negativo da presença simultânea dos dois vírus. Os gráficos apresentados na Figura 4 ilustram, de forma comparativa, essas reduções nos principais parâmetros avaliados, destacando as diferenças entre plantas sadias e aquelas sob coinfecção no tratamento 16MP.

**Figura 4.** Boxplots parcela com coinfecção (CsCMV+CsVMV), a seguir:



#### 4. DISCUSSÃO

A análise diagnóstica revelou padrões distintos de ocorrência viral nas cultivares avaliadas. A alta frequência de infecção por CsCMV nas duas variedades confirma a ampla disseminação desse vírus em áreas produtoras, conforme já relatado na literatura. Além disso, a elevada ocorrência de infecção assintomática observada evidencia a dificuldade de identificação visual da doença, reforçando a importância do diagnóstico molecular como ferramenta complementar. Esse comportamento já foi descrito por Manzatti da Silva (2011) e Collavino et al. (2021), que destacam a capacidade do vírus de se manter em plantas aparentemente saudáveis, favorecendo sua disseminação por material propagativo.

A progressão dos sintomas ao longo do ciclo, com aumento da proporção de plantas sintomáticas entre as avaliações, demonstra que a expressão da doença não é estática, sendo influenciada por fatores fisiológicos e ambientais. Esse padrão também foi observado por Venturini et al. (2015), que relatam variações na manifestação dos sintomas ao longo do desenvolvimento da planta, reforçando que a ausência de sintomas não garante ausência de infecção.

Os resultados da análise de variância indicaram ausência de interação significativa entre os fatores avaliados, evidenciando que os efeitos observados ocorreram de forma independente. No entanto, o fator variedade apresentou influência significativa sobre variáveis importantes relacionadas ao estabelecimento e à produção, como número de plantas estabelecidas, teor de matéria seca, teor de amido e produtividade de raízes. O desdobramento desse fator confirmou o melhor desempenho da cultivar BRS Novo Horizonte em relação à BRS Poti Branca, indicando maior adaptação ou menor impacto da infecção viral sobre suas características agronômicas.

As diferenças observadas entre os tratamentos também podem ser atribuídas ao tamanho das manivas utilizadas. O melhor desempenho das manivas de 16 cm está relacionado à maior quantidade de reservas acumuladas e ao maior número de gemas viáveis, o que favorece o estabelecimento inicial das plantas. Estudos experimentais demonstram que manivas mais longas apresentam maior

taxa de emergência e melhor desenvolvimento inicial, refletindo em maior produtividade (Cardoso et al., 2004; Eloy et al., 2000; Yan et al., 2015).

Em relação ao tratamento químico, o efeito observado com o uso do MandiPlus não está associado diretamente ao controle da infecção viral, mas sim ao favorecimento do desenvolvimento inicial das plantas. A proteção das manivas contra patógenos e pragas de solo pode reduzir o estresse nos estágios iniciais, contribuindo para um estabelecimento mais uniforme e maior vigor das plantas, mesmo sob infecção. Dessa forma, o tratamento atua indiretamente na mitigação dos efeitos do vírus. As diferenças entre as cultivares evidenciam a importância da base genética na resposta à infecção viral. Cultivares distintas apresentam diferentes níveis de tolerância, o que se reflete na capacidade de manter o desempenho agrônomico mesmo na presença do vírus. Estudos recentes demonstram que essa tolerância está associada a alterações na expressão gênica e no perfil proteico, permitindo limitar a multiplicação viral e reduzir seus efeitos fisiológicos (RAMULIFHO e REY, 2021; AMUGE et al., 2024; CHAOWONGDEE et al., 2024).

Nesse contexto, a manutenção do desempenho produtivo em plantas infectadas pode ser interpretada como um indicativo de tolerância. Plantas tolerantes apresentam menor impacto no crescimento e na produtividade, mesmo quando infectadas. Esse comportamento está relacionado à ativação de mecanismos de defesa induzidos após a infecção, classificados como respostas pós-formadas, que incluem a ativação de genes de defesa e vias metabólicas capazes de restringir a replicação e a movimentação do vírus nos tecidos vegetais.

Os resultados obtidos para a infecção simples por CsCMV indicam impacto moderado sobre as variáveis agrônomicas, especialmente quando comparados aos efeitos observados no tratamento controle. Já sob condição de coinfeção por CsCMV e CsVMV, foram observadas reduções expressivas em todos os parâmetros avaliados, evidenciando um efeito mais severo da associação entre os vírus. Esse comportamento sugere interação sinérgica entre os patógenos, intensificando os danos fisiológicos e comprometendo o desenvolvimento das plantas.

De forma geral, os resultados demonstram que a resposta da mandioca à infecção viral depende de múltiplos fatores, incluindo a cultivar, a qualidade do

material propagativo e as condições de manejo adotadas. A presença de infecções assintomáticas reforça a necessidade de uso de técnicas de diagnóstico molecular, enquanto o desempenho diferenciado entre cultivares destaca a importância da escolha de materiais mais tolerantes. Além disso, práticas de manejo que favoreçam o estabelecimento inicial das plantas podem contribuir para reduzir os impactos da infecção ao longo do ciclo produtivo.

## **5. CONCLUSÕES**

O CsCMV apresentou alta frequência nas variedades avaliadas, com elevada proporção de plantas assintomáticas, confirmando seu comportamento de infecção latente e a limitação da avaliação visual para detecção da doença.

A coinfeção por CsCMV e CsVMV resultou nas maiores perdas de produtividade e qualidade, com reduções superiores a 70% na produção de amido, evidenciando efeito sinérgico entre os vírus. As variedades apresentaram respostas distintas à infecção viral, indicando influência da base genética: a BRS Novo Horizonte apresentou maior expressão de sintomas ao longo do ciclo, enquanto a BRS Poti Branca manteve menor variação sintomática.

O tratamento com MandiPlus contribuiu para atenuar os efeitos do CsCMV, especialmente quando aplicado em manivas de 16 cm, promovendo maior vigor, diâmetro do caule e produtividade em comparação ao controle sem tratamento. Embora o CsCMV isoladamente cause perdas moderadas, sua ocorrência em materiais propagativos infectados representa um risco contínuo de disseminação e de redução gradual da produtividade ao longo dos ciclos.

A utilização de plantas-mãe sadias, associada ao diagnóstico molecular e ao manejo adequado de manivas, é fundamental tanto para a produção comercial quanto para a conservação de materiais em bancos de germoplasma, contribuindo para a manutenção da sanidade e da sustentabilidade da cultura da mandioca.

## **6. REFERENCIAS**

AMUGE, T.; BERGER, D. K.; KATARI, M. S.; MYBURG, A. A.; GOLDMAN, S. L. A time series transcriptome analysis of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties challenged with Ugandan cassava brown streak virus. 2024. DOI: 10.60692/b0gfd-w7922.

CARDOSO, E. T.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; FORSTHOFFER, E. L.; SUHRE, E. Brotção e produção de raízes de mandioca em função do comprimento da maniva, em dois ambientes. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 2004.

CHAOWONGDEE, A.; VANNATIM, P.; MALICHAN, P.; KUNCHAROEN, T.; TONGYOO, P. Comparative transcriptomics analysis reveals defense mechanisms of *Manihot esculenta* Crantz against Sri Lanka Cassava Mosaic Virus. *BMC Genomics*, 2024. DOI: 10.1186/s12864-024-10315-0.

COLARICCIO, A.; RIVAS, E. B.; BONFIM JUNIOR, M. F.; PERUCH, L. A. M. Ocorrência do Cassava common mosaic virus (CsCMV) e Cassava vein mosaic virus (CsVMV) em cultivares de mandioca em Santa Catarina, Brasil. *O Biológico*, v. 82, n. 1, p. 1–9, 2020.

COLLAVINO, A.; ZANINI, A. A.; MEDINA, R.; SCHALLER, S.; FEO, L. D. Cassava common mosaic virus infection affects growth and yield components of cassava plants (*Manihot esculenta*) in Argentina. ***Plant Pathology***, v. 71, p. 980–989, 2022.

ELOY, A.; VIANA, S.; SEDIYAMA, T.; LOPES, S. C.; ROCHA, V. S. Effects of length in stem cutting and its planting position on cassava. 2000.

HAMIDOU, A. A.; CHEN, Y.; WANG, H.; MAHAMAN, M. A.; CHEN, F.; CHEN, Y. Cassava common mosaic virus (CsCMV): recent advances and future directions. ***Tropical Plants***, v. 4, e027, 2025.

KOCHKO, A.; VERDAGUER, B.; TAYLOR, N.; CARCAMO, R.; BEACHY, R. N.; FAUQUET, C. Cassava vein mosaic virus (CsVMV), type species for a new genus of plant double stranded DNA viruses? ***Archives of Virology***, v. 143, p. 945–962, 1998. DOI: 10.1007/s007050050350.

MOWAT, W. P.; DAWSON, S. An improved ELISA test for plant viruses. ***Annals of Applied Biology***, v. 110, p. 207–212, 1987.

OLIVEIRA, E. J.; FUKUDA, W. M. G.; OLIVEIRA, S. A. S.; RINGENBERG, R.; SILVA, M. R.; SOUZA, A. S.; SILVA, A. L. L.; OLIVEIRA FILHO, M. S.; FARIA, M. L.; SILVA, R. J. S. BRS Novo Horizonte – a new cassava variety for industrial use. ***Crop Breeding and Applied Biotechnology***, v. 20, n. 2, p. e28882028, 2020.

OYELAKIN, O.; OPABODE, J. T.; RAJI, A. A.; INGELBRECHT, I. L. Cassava vein mosaic virus (CsVMV) promoter: An alternative strong constitutive promoter for cassava biotechnology. ***Plant Cell Reports***, v. 34, n. 10, p. 1729–1741, 2015. DOI: 10.1007/s00299-015-1823-0.

RANGEL, M. A. S.; FUKUDA, W. M. G.; CENPUKDEE, U. Metodologia para determinação do teor de matéria seca e amido em raízes de mandioca. ***Embrapa Mandioca e Fruticultura***, 2021.

RAMULIFHO, E.; REY, M. E. C. Proteome mapping of South African cassava mosaic virus-infected susceptible and tolerant landraces of cassava. *Proteomes*, v. 9, n. 4, 2021. DOI: 10.3390/proteomes9040041.

SILVA, J. M. **Detecção sorológica e molecular do Cassava common mosaic virus em mandioca na região noroeste do Paraná.** 2011. 64 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

VENTURINI, M. T.; ARAÚJO, T. S.; ABREU, E. F. M.; ANDRADE, C.; SANTOS, V. S. Crop losses in Brazilian cassava varieties induced by the Cassava common mosaic virus. *Scientia Agricola*, v. 73, p. 520-524, 2016.

WATANABE, L. F. M.; RIBEIRO-JUNIOR, M. R.; PORTILHO, A. M. N.; MARUBAYASHI, J. M.; SILVA, F. B.; UZAN, J.; FAVARA, G. M.; KRAUSE-SAKATE, R. High incidence of cassava common mosaic virus in cassava plants and complete genome sequence of a distinct isolate from Brazil. *Tropical Plant Pathology*, p. 1–6, 2024.

YAN, W.; LIU, G.; LI, Y.; LIU, Q.; DUAN, C. Experiment on vertically inserting cultivation of cassava in Yunnan. 2015. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2015.12.003.

ZANINI, A. A.; FEO, L. D.; LUNA, D. F.; PACCIORETTI, P.; COLLAVINO, A.; RODRIGUEZ, M. S. Cassava common mosaic virus infection causes alterations in chloroplast ultrastructure, function, and carbohydrate metabolism of cassava plants. *Plant Pathology*, v. 70, p. 195–205, 2021.

## **CAPÍTULO 2**

**Limpeza dos vírus do mosaico comum e do mosaico das nervuras da mandioca por meio de termoterapia em câmara térmica automatizada**

**Limpeza dos vírus do mosaico comum e do mosaico das nervuras da mandioca por meio de termoterapia em câmara térmica automatizada**

**RESUMO:** Foram analisados oito genótipos, incluindo acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) e variedades comerciais. O diagnóstico molecular inicial indicou alta ocorrência viral nos acessos do BAG, com 71,4% positivos para CsCMV e 28,6% para CsVMV. Entre os genótipos avaliados, CsVMV foi detectado em BGM 0318 e BGM 1371, sendo este último também coinfectado por CsCMV. A termoterapia foi aplicada em três ciclos de repicagem, e a eficiência de limpeza foi avaliada exclusivamente por qPCR. A eficiência variou entre os genótipos e ao longo dos ciclos, alcançando valores superiores a 80% de eliminação viral em alguns materiais. Esses resultados demonstram que a termoterapia é uma ferramenta promissora para a obtenção de plantas saudáveis, especialmente quando aliada ao diagnóstico molecular, e reforçam a importância do monitoramento sistemático da sanidade em programas de multiplicação de mandioca.

**Palavras-chave:** Fitossanidade, multiplicação, propagação vegetativa.

## **Elimination of Cassava Common Mosaic Virus and Cassava Vein Mosaic Virus through Thermotherapy in an Automated Thermal Chamber**

**ABSTRACT:** Chapter 2 evaluated the efficiency of thermotherapy in automated thermal chambers for the elimination of the CsCMV and CsVMV viruses in cassava genotypes. Eight genotypes were analyzed, including accessions from the Active Germplasm Bank (BAG) and commercial varieties. The initial molecular diagnosis indicated a high viral incidence among the BAG accessions, with 71.4% positive for CsCMV and 28.6% for CsVMV. Among the evaluated genotypes, CsVMV was detected in BGM 0318 and BGM 1371, the latter also coinfecting with CsCMV. Thermotherapy was applied over three subculture cycles, and the cleaning efficiency was assessed exclusively by qPCR. The efficiency varied among genotypes and across cycles, reaching values above 80% viral elimination in some materials. These results demonstrate that thermotherapy is a promising tool for obtaining virus-free plants, especially when combined with molecular diagnostics, and highlight the importance of systematic health monitoring in cassava multiplication programs.

**Key-words:** Multiplication, phytosanitation, vegetative propagation.

## 1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das principais culturas alimentares dos países tropicais, desempenhando papel fundamental na segurança alimentar e na geração de renda, especialmente em sistemas de agricultura familiar. O Brasil destaca-se entre os maiores produtores mundiais, com produção anual superior a 18 milhões de toneladas (FAO, 2023; IBGE, 2023).

A propagação da mandioca é realizada predominantemente de forma vegetativa, por meio de hastes ou miniestacas. Embora esse método preserve as características genéticas das variedades, também favorece a perpetuação de patógenos sistêmicos ao longo dos ciclos de cultivo, especialmente quando não há controle fitossanitário rigoroso do material propagativo (COLLAVINO et al., 2021).

Entre os principais problemas fitossanitários da cultura destacam-se os vírus sistêmicos, como o Cassava common mosaic virus (CsCMV) e o Cassava vein mosaic virus (CsVMV), que comprometem o desenvolvimento das plantas e reduzem significativamente a produtividade (COLARICCIO et al., 2020; ROCHA et al., 2021). A disseminação desses patógenos ocorre de forma silenciosa, uma vez que plantas infectadas podem não apresentar sintomas visíveis, dificultando a identificação no campo e contribuindo para a propagação de material contaminado.

A avaliação visual, isoladamente, não é suficiente para garantir a sanidade das plantas, devido à ocorrência de infecções assintomáticas. Dessa forma, o uso de métodos moleculares sensíveis, como a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), torna-se essencial para a detecção precisa dos patógenos, reduzindo a ocorrência de falsos negativos e aumentando a confiabilidade do diagnóstico (LEGG et al., 2015).

Nesse contexto, a termoterapia tem sido amplamente utilizada como estratégia para o saneamento de material propagativo em culturas de multiplicação vegetativa, promovendo a redução ou eliminação de vírus por meio da exposição a temperaturas elevadas em condições controladas (WANG et al., 2018; OUEDRAOGO et al., 2025). O princípio da técnica baseia-se na maior sensibilidade dos vírus ao calor em comparação aos tecidos vegetais, permitindo a obtenção de plantas livres de infecção sem comprometer sua viabilidade.

O uso de câmaras térmicas automatizadas representa um avanço em relação aos métodos convencionais, pois possibilita o controle preciso da temperatura e da umidade, reduzindo o estresse fisiológico e aumentando a eficiência do processo (BETTONI et al., 2022). Além disso, a termoterapia apresenta vantagens como ausência de resíduos químicos, aplicabilidade em larga escala e compatibilidade com programas de certificação fitossanitária, sendo considerada uma das estratégias mais promissoras para produção de mudas sadias.

Após o saneamento, a utilização da multiplicação por miniestacas potencializa a produção de mudas, permitindo a rápida expansão de material propagativo com qualidade sanitária superior (CONCEIÇÃO et al., 2023).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivos: (i) avaliar a eficiência da termoterapia em câmaras automatizadas na eliminação de Cassava common mosaic virus (CsCMV) e Cassava vein mosaic virus (CsVMV); (ii) confirmar a ausência de infecção viral por meio de qPCR qualitativo; e (iii) analisar o desempenho inicial das plantas submetidas ao tratamento, contribuindo para o desenvolvimento de protocolos voltados à produção de mudas livres de vírus e ao fortalecimento da cadeia produtiva da mandioca.

## 2 METODOLOGIA

O material vegetal para este estudo, proveniente de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), foi coletado em dois sítios distintos no estado da Bahia, Brasil. O primeiro foi no município de Laje, no Recôncavo Sul. Esta área, com clima subúmido e vegetação de Mata Atlântica (IBGE, 2025), está a cerca de 217 km de Salvador e possui uma indústria de processamento de mandioca. A variedade BRS Novo Horizonte foi amostrada nesse local. A segunda amostragem foi realizada no campo experimental da UFRB, em Cruz das Almas, com a coleta de sete genótipos do Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca (BAG-Mandioca), da Embrapa mandioca e Fruticultura (BGM1371BAG (BGM1371, BGM0318, BGM0570, BGM0803, BGM2232, BGM0157 e BGM2116). As amostras foliares foram acondicionadas em sacos de papel filtro e desidratadas com sílica gel, no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A sílica gel

foi trocada até que a cor se estabilizasse, garantindo a completa desidratação. Posteriormente, as amostras foram estocadas em um ultrafreezer aguardando a etapa de extração de DNA.

## 2.1 Extração de DNA total

A extração de DNA total foi realizada utilizando o kit Promega (Genomic DNA/RNA Purification Kit), conforme o protocolo do fabricante, com adaptações para mandioca. As amostras consistiram em folhas de mandioca dos genótipos de mandioca BRS Novo Horizonte, BGM 1371, BGM 0318, BGM 0570, BGM 0803, BGM 2232, BGM 0157, BGM 2116. Aproximadamente 40mg de tecido foliar foram macerados com o tampão de extração fornecido no kit, utilizando o equipamento TissueLyser LT (QIAGEN) com esferas de aço inoxidável em microtubos de 2 mL. Em seguida, foram adicionados 600 µL da solução de lise de núcleos (Nuclei Lysis Solution), com a mistura sendo incubada a 65°C por 15 minutos para liberar o DNA. Após essa etapa, 3 µL da solução de RNase foram adicionados à amostra para degradação de RNA contaminante, com incubação 37°C por 15 minutos, seguida de resfriamento à temperatura ambiente por 5 minutos.

Para a precipitação de proteínas e reidratação do DNA, foram adicionados 200 µL da solução de precipitação de proteínas (Protein Precipitation Solution) ao lisado, que foi homogeneizado em vórtex por 20 segundos. A mistura foi centrifugada a 13.000 × g por 3 minutos, e o sobrenadante contendo o DNA foi cuidadosamente transferido para um tubo limpo contendo 600 µL de isopropanol à temperatura ambiente.

Após a homogeneização por inversão, a solução foi centrifugada a 13.000 × g por um minuto. O sobrenadante foi descartado, e o pellet de DNA foi lavado com 600 µL de etanol a 70% à temperatura ambiente. Uma nova centrifugação foi realizada a 13.000 × g por 1 minuto, seguida da aspiração do etanol. O pellet de DNA foi seco ao ar livre e reidratado com 100 µL da solução de reidratação de DNA (DNA Rehydration Solution). A amostra foi incubada a 65°C por um hora ou armazenada a 4°C durante a noite para completa reidratação. O DNA extraído foi quantificado por eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com GelRed®, e visualizado em transluminador de luz ultravioleta. As amostras foram padronizadas para uma concentração de 25 ng/µL antes das análises subsequentes.

## 2.2 Diagnóstico viral

Uma etapa crítica da metodologia, anterior à aplicação do tratamento térmico, consistiu no diagnóstico minucioso dos vírus nas plantas-mãe. Foram feitos testes de indexação para identificar a presença do Vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV) e do Vírus do Mosaico das Nervuras da Mandioca (CsVMV) (Manter esse padrão pra todo documento). A triagem inicial de cada patógeno seguiu protocolos específicos: enquanto o CsCMV foi identificado por meio de ELISA indireto, o CsVMV demandou uma abordagem molecular, sendo detectado por PCR convencional. Nas etapas subsequentes, após a aplicação da termoterapia, o diagnóstico viral de ambos os patógenos foram realizados exclusivamente por PCR em tempo real (qPCR).

## 2.3 Detecção molecular por PCR-Convencional

Para a detecção do Vírus do Mosaico das Nervuras da Mandioca (CsVMV) por PCR, foram utilizados os primers CsVMV-SST-FW (5'-TGAGCAGGTACAATTCATCTGATACTGA-3') e CsVMV-SST-RE (5'-CTTCGTATTCTGGCAGTATAGG-3'). As reações foram preparadas em um volume final de 25 µL, contendo 2 µL de DNA (20 ng), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,2 µL de Taq polimerase, 2,5 µL de tampão, 1,5 µL de MgCl<sub>2</sub>, 0,5 µL de cada primer e 16,3 µL de água livre de nucleases.

O programa de amplificação consistiu em uma desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 36 ciclos compostos por desnaturação a 94 °C por 45 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos, finalizando com uma extensão final a 72 °C por 7 minutos. Os fragmentos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com GelRed® e visualizados em transluminador de luz ultravioleta, confirmando a presença do CsVMV.

## 2.4 Detecção do Vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV) – teste sorológico

O diagnóstico do Vírus do Mosaico Comum da mandioca (CsCMV) foi

conduzido em um protocolo de três dias, utilizando o teste ELISA indireto, conforme descrito por Mowat & Dawson (1987). No primeiro dia, foram preparados tubos de microcentrífuga contendo 18 discos foliares de mandioca (controles positivo e negativo, além das amostras), totalizando cerca de 0,17 g de material vegetal por tubo. A cada tubo foram adicionados tampão carbonato com 1% de PVP e duas esferas de aço inoxidável, seguidos de maceração no TissueLyser para garantir homogeneidade.

Após centrifugação, 100 µL do sobrenadante de cada amostra foram transferidos para a placa de ELISA, identificada previamente, e incubados durante a noite a 4-6°C em uma câmara úmida. No segundo dia, as lavagens da placa foram realizadas com PBS-Tween (0,05%), e cada lavagem foi seguida de uma batida suave da placa sobre papel toalha, para remover completamente os resíduos. Em seguida, foi aplicada uma solução bloqueadora (PBS com 3% de albumina de soro bovino), mantida em agitação leve por 1 hora à temperatura ambiente.

Após uma nova lavagem com tampão TBS-Tween, foi adicionado o antissoro específico para CsCMV, diluído na proporção exata de 1:6000. A placa foi incubada novamente durante a noite, protegida e refrigerada a 4-6°C. No terceiro e último dia, foram realizadas mais lavagens com PBS-Tween, sempre acompanhadas do cuidadoso uso do papel toalha para garantir a secagem adequada. Em seguida, 100 µL de antissoro conjugado goat-anti-rabbit com fosfatase alcalina (diluição 1:20.000) foram adicionados, com a placa incubada a 37°C por 4 horas.

Para a etapa final, foi aplicado um tampão contendo p-nitrofenil fosfato, garantindo rapidez para minimizar a exposição à luz. A placa foi protegida e mantida no escuro enquanto as reações eram monitoradas ao longo de 60 minutos. Absorbâncias acima de 2,5 vezes a média dos controles negativos foram consideradas positivas.

## 2.5 Extração de RNA total com Trizol

Para as reações de qPCR, o RNA total foi extraído a partir de tecidos foliares macerados diretamente no reagente TRIzol® (Invitrogen™), utilizando o equipamento TissueLyser II (QIAGEN®), operando a 30 Hz por 2 minutos. Em cada amostra, foram adicionadas duas esferas metálicas (uma de tamanho médio e uma pequena) em tubos apropriados para extração. Aproximadamente um terço do

volume de tubos de 1,5 mL foi preenchido com tecido foliar, ao qual se adicionou 1 mL de TRIzol®. As amostras foram então homogeneizadas em vortex e incubadas por 5 minutos à temperatura ambiente (25 °C), seguindo protocolo adaptado para tecidos vegetais.

Em seguida, foram adicionados 200 µL de clorofórmio PA, com homogeneização por 30 segundos e repouso por 3 minutos à 25 °C. A mistura foi centrifugada a 12.000 g por 15 minutos, e o sobrenadante (600–650 µL) cuidadosamente transferido para novos tubos de 1,5 mL. Para a precipitação do RNA, adicionaram-se 500 µL de isopropanol gelado, seguido de homogeneização suave e incubação por 3 minutos a 25 °C. Após esse período, procedeu-se à centrifugação a 12.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado, e o pellet resultante lavado com 1 mL de etanol 70% gelado, homogeneizado até sua completa soltura. As amostras foram novamente centrifugadas a 11.500 g por 10 minutos, e o sobrenadante removido. O pellet foi então seco em estufa a 37 °C por 15 minutos. Posteriormente, o RNA foi ressuscitado em 30–40 µL de água tratada com DEPC.

Para garantir a completa solubilização, as amostras foram incubadas em banho-maria a 65 °C por 10 minutos. As alíquotas de RNA obtidas foram armazenadas a –80 °C até a realização das análises subsequentes.

## 2.6 Análises de qPCR

O diagnóstico inicial da infecção viral na cultura foi estabelecido com base na observação de sintomas característicos e validado por métodos sorológicos (ELISA) para o CsCMV e por PCR convencional para o CsVMV. Embora sejam técnicas consagradas, estes métodos iniciais possuem sensibilidade limitada, sendo mais eficazes para detectar infecções com carga viral relativamente alta.

Para confirmar com elevada sensibilidade a presença ou ausência do material genético viral, assegurando a eficácia dos tratamentos de limpeza viral, foi empregada a metodologia de PCR em tempo real (qPCR) com sondas TaqMan®, abordagem reconhecidamente mais sensível e específica do que os métodos anteriores (ELISA e PCR convencional), permitindo a detecção confiável da presença do patógeno que poderiam passar despercebidas nas técnicas iniciais.

A alta confiabilidade dos resultados de qPCR, é diretamente dependente da especificidade dos primers e sondas utilizados. Para garantir a máxima precisão neste trabalho, foram utilizados oligonucleotídeos específicos e de alta qualidade, gentilmente cedidos pelo prestigiado Leibniz Institute DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, da Alemanha.

A quantificação absoluta dos vírus foi realizada por meio de PCR em tempo real (qPCR) utilizando sondas TaqMan®, no equipamento Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System (formato de 96 poços). O método adotado foi baseado em curva padrão (standard curve). As reações foram conduzidas em duplicata biológica, com volume final de 12 µL por poço, contendo 2,85 µL de água livre de nucleases, 0,25 µL de primer forward, 0,25 µL de primer reverse, 0,25 µL de sonda TaqMan® específica, 0,15 µL de transcriptase reversa MLV, 6,25 µL de Master Mix 2X e 2,50 µL de RNA total.

A amplificação dos vírus foi realizada com o uso de primers e sondas específicos. Para o vírus CsVMV, foram utilizados o primer forward CsVMV\_Taq\_for (5'-cccatgatatcctgcgtgtg-3'), o primer reverse CsVMV\_Taq\_8032rev (5'-gctattgtctgatagaaaacaagtratag-3') e a sonda CsVMV\_Taq\_PROBE (FAM-agaccatgtgtgctggtttgtatgggcatga-BHQ1). Para o vírus CsCMV, foram empregados o primer forward CsCMV\_for (5'-TCCACCCGAGGCTCTACA-3'), o primer reverse CsCMV\_rev (5'-TTCCCAAATATTCAGTCCATCA-3') e a sonda CsCMV\_P (FAM-CCAGGTGGCCATGCTGGAGCT-BHQ1).

As condições de amplificação consistiram em uma etapa inicial de transcrição reversa a 43 °C por 30 minutos, seguida de desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos. Em seguida, realizaram-se 40 ciclos compostos por desnaturação a 95 °C por 15 segundos, anelamento a 60 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. O tempo total de cada corrida foi de aproximadamente 2 horas.

## 2.7 Câmara térmica

Conforme Oliveira et al. (2020), a estufa utilizada (25 m<sup>2</sup>; Van der Hoeven) possui estrutura metálica revestida por plástico de polietileno e sistema automatizado de ventilação e nebulização. Neste trabalho, empregou-se a mesma instalação para a condução dos tratamentos térmicos, com temperatura máxima

ajustada a 55 °C e umidade relativa de aproximadamente 65%, controladas por um painel automático que aciona a abertura das janelas superiores e o sistema de nebulização conforme a variação térmica interna.

## 2.8 Cultivo

O substrato foi preparado com uma mistura de areia lavada e vermiculita na proporção de 3:1 (v.v.). Minimanivas de 8 cm de comprimento, contendo pelo menos três gemas viáveis, foram plantadas verticalmente em camalhões, com espaçamento de 40 cm entre linhas e 20 cm entre plantas. As plantas foram cultivadas em câmara térmica, sob condições ambientais monitoradas, inicialmente, foram implantadas 11 minimanivas de cada variedade estudada (8 amostras).

## 2.9 Avaliação das mudas e critérios de repicagem

Em cada ciclo de termoterapia, foram coletadas novas amostras foliares para o diagnóstico molecular dos CsCMV e CsVMV, utilizando o método de qPCR em tempo real. As repicagens foram realizadas quando as plantas atingiam entre 40 e 70 cm de altura e diâmetro de caule entre 0,6 e 0,8 cm, nos cortes as manivas e materiais foram desinfetados com água sanitária. Além dessas medidas, considerou-se o número de gemas ativas como critério principal para o replantio. Foram selecionadas mudas com três gemas, por apresentarem melhor potencial de propagação.

Em cada ciclo, as plantas foram avaliadas aos 30 e 45 dias, considerando as variáveis vigor (escala visual), diâmetro do caule (mm) e altura (cm). Essas medições serviram para acompanhar o desenvolvimento das mudas e orientar o momento das repicagens seguintes. Os sintomas foram avaliados em cada repicagem de ciclo, considerando presença e ausência.

## 2.10 Análise de dados

Os dados obtidos foram analisados considerando a natureza das variáveis avaliadas e a estrutura experimental adotada, para as variáveis quantitativas contínuas (altura de plantas, diâmetro do caule e vigor), foi realizada análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando observada significância, com o objetivo de comparar as médias entre ciclos e genótipos.

A verificação dos pressupostos da ANOVA foi conduzida por meio dos testes de Shapiro-Wilk, para avaliação da normalidade dos resíduos, e de Levene, para homogeneidade das variâncias. Para as variáveis expressas em porcentagem, como eficiência de limpeza, os dados foram analisados de forma comparativa entre ciclos, sendo os resultados interpretados à luz da tendência observada e do comportamento biológico do sistema, considerando a limitação do número de unidades experimentais.

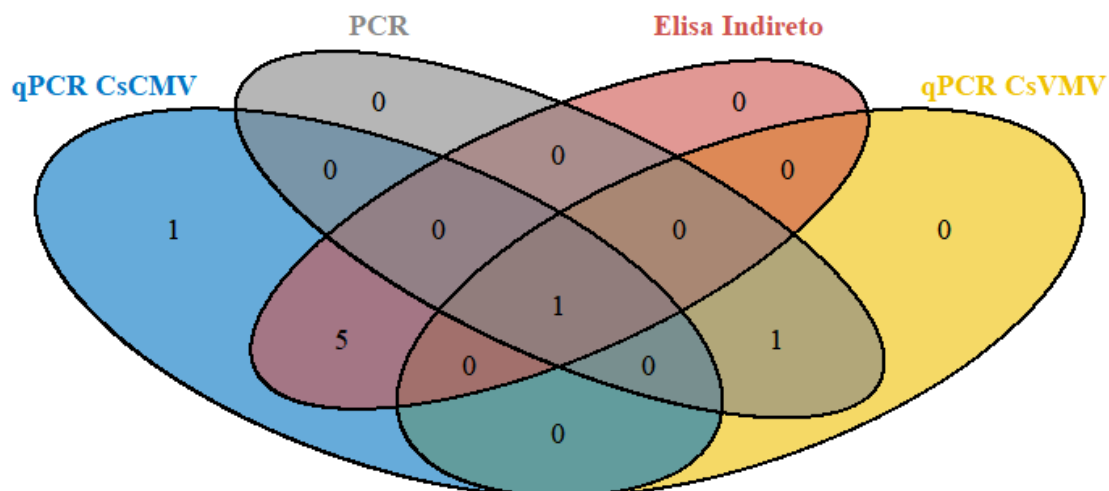
A taxa de multiplicação foi calculada como a razão entre o número de plantas obtidas ao final do ciclo e o número inicial de plantas, sendo expressa em porcentagem. Essa variável foi utilizada como indicador descritivo do desempenho dos genótipos ao longo das fases de propagação. Devido à natureza exploratória de parte dos dados e à variação no número de unidades experimentais entre as etapas, a interpretação dos resultados foi realizada de forma integrada, considerando tanto os testes estatísticos quanto a coerência biológica dos padrões observados.

Todas as análises foram realizadas no ambiente R (RStudio, versão 4.3.3), utilizando pacotes estatísticos apropriados.

### 3 RESULTADOS

A avaliação da sensibilidade dos métodos de diagnóstico (PCR convencional, ELISA e qPCR) para os *vírus cassava common mosaic virus* (CsCMV) e *cassava vein mosaic virus* (CsVMV) foi realizada a partir de um conjunto de 8 amostras positivas, Figura 1.

**Figura 1.** Diagrama de Venn da detecção de CsCMV e CsVMV por ELISA, PCR convencional e qPCR



O método de qPCR para CsCMV se destacou como o mais sensível, detectando 6 das 8 amostras (75%). Deste total, 5 amostras (62,5% do total) foram detectadas exclusivamente por esta técnica, demonstrando sua capacidade em identificar infecções com baixa concentração viral que passariam despercebidas por outros métodos, onde o genótipo BGM 2232 testou negativa pelo método Elisa indireto e positiva pelo método qPCR, confirmada por manifestação de sintomas posteriormente. Em contrapartida, o qPCR para CsVMV detectou 2 amostras positivas (25%). As técnicas convencionais apresentaram sensibilidade significativamente menor: o ELISA para CsCMV identificou apenas 2 amostras (25%), enquanto a PCR convencional para CsVMV detectou apenas 1 amostra (12,5%). Notavelmente, nenhuma amostra foi detectada de forma exclusiva pelo ELISA ou pela PCR convencional, sublinhando o seu limite de detecção menos sensível.

A análise de intersecções confirmou a ocorrência de infecções mistas, ainda que em baixa frequência. Foi observada 1 amostra (12,5%) positiva simultaneamente para qPCR-CsCMV e qPCR-CsVMV. Adicionalmente, 1 amostra (12,5%) foi co-detectada por três métodos: ELISA (CsCMV), qPCR (CsVMV) e PCR convencional (CsVMV).

### 3.1 Condição fitossanitária inicial das plantas-mãe

O diagnóstico molecular das oito plantas-mãe que ingressaram no ensaio de termoterapia revelou que 100% (8/8) estavam infectadas por pelo menos um dos vírus analisados, não havendo plantas livres de infecção no início do tratamento.

O *Cassava common mosaic virus* (CsCMV) foi detectado em 87,5% (7/8) das plantas, enquanto o *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV) foi identificado em 25% (2/8). Uma planta (12,5%) apresentou coinfeção por ambos os vírus (BGM 1371).

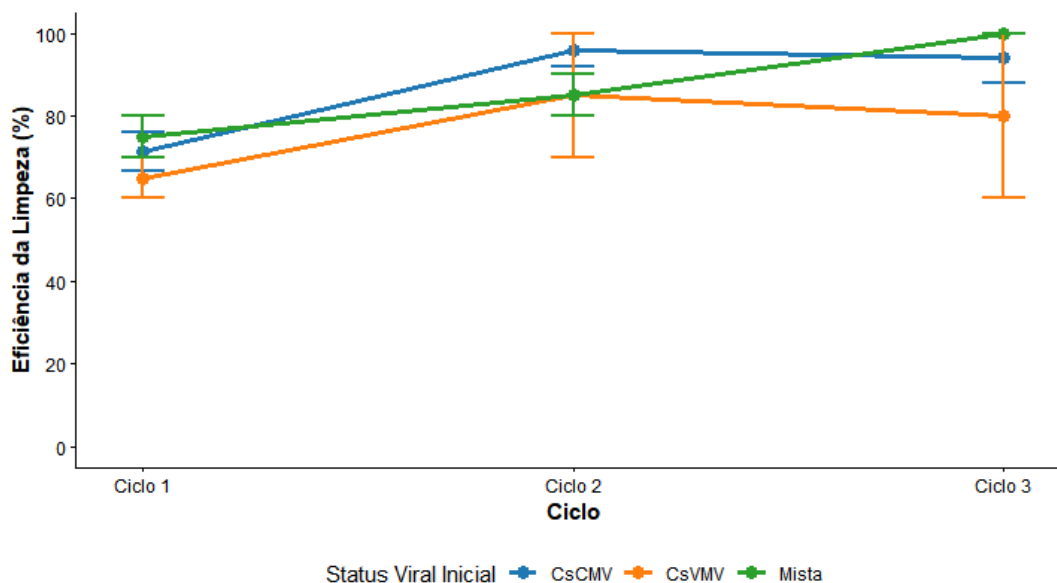
Em relação à sintomatologia, 87,5% (7/8) das plantas apresentaram sintomas visíveis característicos de infecção viral. Apenas uma planta (12,5%), infectada exclusivamente por CsCMV, foi classificada como assintomática (BGM 2232), evidenciando a limitação da avaliação visual na identificação de plantas infectadas.

### 3.2 Condições térmicas do experimento

O monitoramento térmico na casa de vegetação revelou variações consistentes ao longo do período experimental. A temperatura mínima variou entre 20 °C e 32 °C, com tendência de aumento até meados de fevereiro, seguida de leve redução. A temperatura máxima manteve-se entre 45 °C e 55 °C, com picos pontuais acima desse valor, especialmente entre novembro e janeiro. A temperatura média oscilou entre 35 °C e 45 °C, mantendo-se relativamente estável, porém mais elevada nos dois primeiros ciclos.

Esses resultados indicam que os ciclos iniciais foram conduzidos sob maior intensidade térmica, condição que pode ter influenciado diretamente a eficiência do processo de saneamento.

**Figura 2.** Eficiência média de limpeza ao longo dos ciclos de termoterapia para os vírus CsCMV, CsVMV e coinfeção



Os valores apresentados correspondem às médias observadas por ciclo. Não foram incluídas medidas de dispersão, como erro padrão, devido ao número reduzido de unidades experimentais, sendo a interpretação baseada na tendência dos dados ao longo dos ciclos.

Observou-se aumento progressivo da eficiência de limpeza ao longo dos ciclos, indicando efeito cumulativo da termoterapia na redução da carga viral. No Ciclo 3, os valores atingiram níveis superiores a 90%, chegando a 100% em alguns casos. Esse comportamento pode ser explicado pela exposição contínua das plantas a temperaturas elevadas, que interfere na replicação viral e no movimento sistêmico dos vírus, favorecendo a obtenção de material livre de infecção ao longo dos ciclos sucessivos.

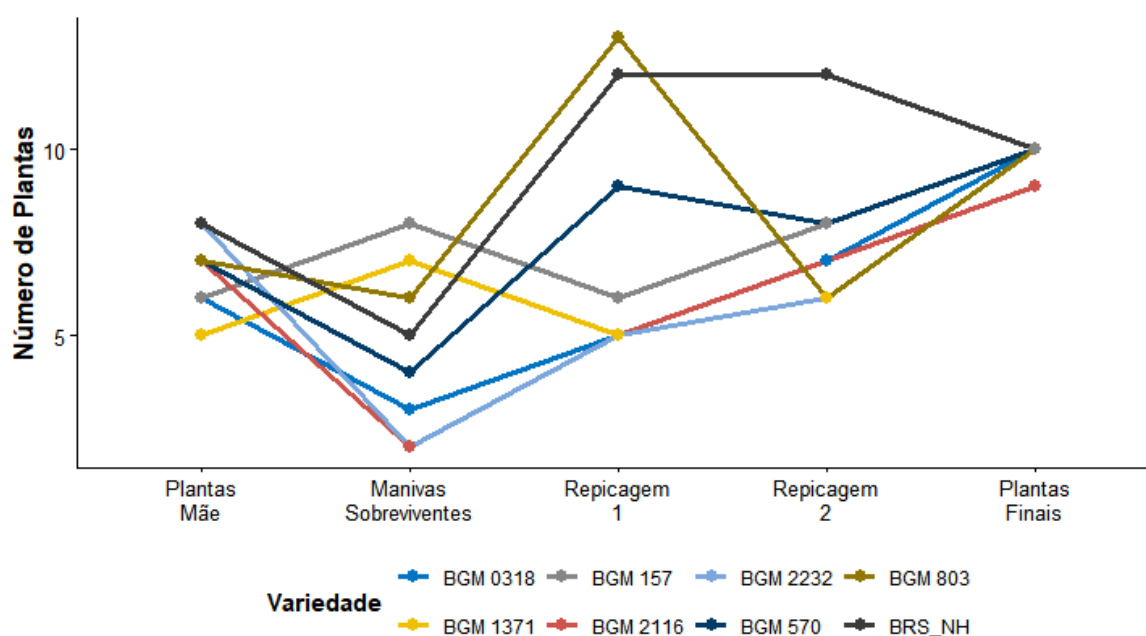
As premissas da análise paramétrica foram atendidas (teste de Levene:  $F = 1,16$ ;  $p = 0,37$ ; teste de Shapiro-Wilk:  $W = 0,94$ ;  $p = 0,12$ ). Foi observado efeito significativo do fator ciclo ( $F = 10,11$ ;  $p = 0,002$ ), enquanto o fator condição inicial ( $F = 1,54$ ;  $p = 0,25$ ) e a interação entre os fatores ( $F = 0,49$ ;  $p = 0,74$ ) não apresentaram significância estatística.

O teste de Tukey indicou que os ciclos 2 e 3 (91,1% e 92,2%, respectivamente) não diferiram entre si, mas foram significativamente superiores ao ciclo 1 (70,8%).

Para infecções mistas, a eficiência de limpeza aumentou de aproximadamente 75% no Ciclo 1 para 100% no Ciclo 3. Para infecções exclusivas por CsCMV, os valores evoluíram de cerca de 70% para 94%. Já para CsVMV, a eficiência aumentou de 65% para 80%, indicando menor sensibilidade ao tratamento térmico.

De forma geral, os resultados indicam que a eficiência da termoterapia está associada ao número de ciclos e às características biológicas dos vírus, com o CsVMV apresentando maior persistência ao tratamento.

**Figura 3.** Progressão do número de plantas ao longo das etapas de multiplicação por miniestacas em câmara térmica.



Os valores representam o número de plantas em cada fase do processo (plantas-mãe, manivas sobreviventes, repicagens e plantas finais). O número inicial de plantas variou entre os genótipos, em função da disponibilidade de material propagativo.

Observou-se aumento no número total de plantas ao longo das etapas de multiplicação, evidenciando a eficiência do método de miniestacas. No entanto, essa progressão não ocorreu de forma linear, sendo diretamente influenciada pela sobrevivência das manivas e pela capacidade de regeneração em cada fase.

A etapa de manivas sobreviventes representou o principal ponto crítico do processo, com redução no número de plantas em relação ao total inicial, indicando que o estabelecimento inicial das estacas constitui a fase de maior sensibilidade.

O número inicial de plantas-mãe variou entre os genótipos avaliados, em função da disponibilidade de material propagativo, o que influenciou diretamente a dinâmica de multiplicação observada. Dessa forma, a comparação entre genótipos foi realizada com base na taxa de multiplicação, considerada um indicador mais adequado por expressar a relação entre o número de plantas finais e iniciais.

Embora o fator varietal tenha apresentado tendência à significância ( $F(7,21) = 2,257$ ;  $p = 0,0703$ ), observou-se que, ao final do processo, os genótipos apresentaram número semelhante de plantas, indicando padronização do sistema de produção.

A taxa de multiplicação refletiu diferenças entre os genótipos, evidenciando variações na capacidade de enraizamento, brotação e adaptação às condições de termoterapia. Genótipos como BGM 2232 e BRS Novo Horizonte apresentaram taxas de multiplicação de aproximadamente 125%, indicando bom desempenho, porém com maiores perdas nas fases iniciais.

Por outro lado, as variedades BGM 1371 e BGM 157 destacaram-se pelos maiores índices de sobrevivência das manivas, com sete e oito unidades, respectivamente, e manutenção do crescimento ao longo das repicagens. Ambas atingiram cerca de dez plantas ao final do processo.

A taxa de multiplicação de 200% observada para o genótipo BGM 1371 está associada à maior taxa proporcional de multiplicação, uma vez que esse material apresentou menor número inicial de plantas e elevada capacidade de regeneração ao longo das repicagens. Esse resultado evidencia que a taxa de multiplicação é fortemente influenciada pela relação entre o número inicial e final de plantas, e não apenas pelo crescimento absoluto.

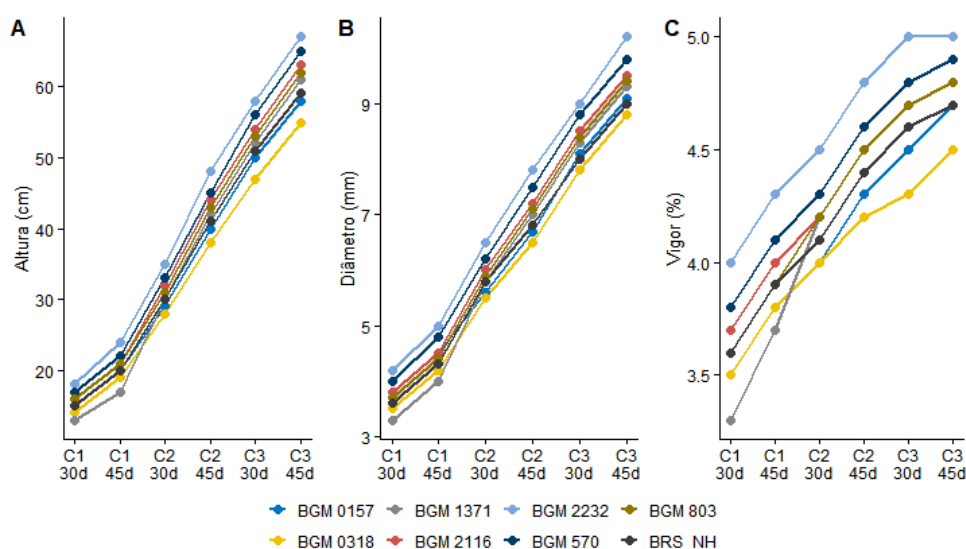
O genótipo BGM 803 apresentou comportamento distinto, com elevada produção inicial de plantas na primeira repicagem, seguida de redução nas etapas subsequentes, sugerindo menor estabilidade ao longo do processo.

Ao final do experimento, observou-se convergência no número de plantas entre os genótipos, indicando padronização do sistema de multiplicação, independentemente das diferenças iniciais.

Além disso, a taxa de multiplicação pode ser influenciada por fatores ambientais, como temperatura, umidade e condições de manejo. No entanto, o uso de câmara térmica automatizada contribui para a padronização dessas condições, aumentando a confiabilidade dos resultados e a reprodutibilidade do experimento.

A distribuição estatística de variáveis de crescimento importantes em dois momentos específicos após o plantio das miniestacas em câmara térmica, pode ser observada na figura 5.

**Figura 4.** Avaliação dos parâmetros de crescimento: altura de plantas (cm) (A), diâmetro do caule (mm) (B) e vigor vegetativo (C) ao longo dos ciclos de cultivo.



Os parâmetros de crescimento apresentaram aumento progressivo ao longo dos ciclos, evidenciando o desenvolvimento das plantas submetidas à termoterapia e ao processo de multiplicação por miniestacas.

Para a variável altura (Figura 5A), os genótipos BGM 2232 e BGM 2116 apresentaram as maiores médias ao longo do experimento, indicando maior vigor vegetativo. Em contraste, os genótipos BGM 0157 e BGM 0318 exibiram menores valores, especialmente nos estágios iniciais, embora tenham apresentado crescimento contínuo ao longo dos ciclos. No diâmetro do caule (Figura 5B), observou-se incremento de aproximadamente 3,7 mm para 9,4 mm. O genótipo BGM 2232 destacou-se estatisticamente (grupo "a"), seguido por BGM 0157

(grupos “a” e “ab”). Por outro lado, BGM 0318 e BRS Novo Horizonte apresentaram os menores valores, enquadrando-se predominantemente nos grupos inferiores.

Para o vigor vegetativo (Figura 5C), verificou-se aumento ao longo do tempo, com valores médios evoluindo de aproximadamente 3,6 para 4,8 (escala visual). O genótipo BGM 2232 apresentou os maiores valores, atingindo o máximo no ciclo 3 aos 45 dias (grupo “a”). Em contraste, BGM 1371 e BRS Novo Horizonte apresentaram menores valores de vigor ao longo da maior parte do experimento.

De forma geral, os genótipos BGM 2232 e BGM 0157 destacaram-se nos grupos estatisticamente superiores (“a” e “ab”) nos ciclos finais, enquanto BGM 0318 apresentou desempenho inferior, sendo frequentemente classificado nos grupos de menor desempenho. Os resultados evidenciam efeito significativo do tempo de cultivo sobre o crescimento das plantas, bem como variabilidade entre os genótipos, associada a diferenças na capacidade de desenvolvimento sob condições de termoterapia. Esse comportamento pode estar relacionado à capacidade diferencial dos genótipos em manter a atividade fisiológica sob estresse térmico, incluindo processos como divisão celular, alongamento e formação de tecidos, o que influencia diretamente o crescimento vegetativo após o tratamento.

#### 3.4 Vantagens da termoterapia aplicada ao Vírus do mosaico das nervuras (CsVMV)

No caso do CsVMV, além da detecção molecular, foi observada uma expressão rápida de sintomas visuais característicos nas folhas (mosaico e cloroses irregulares nas nervuras), os quais confirmam o diagnóstico molecular.

No caso do CsVMV, além da detecção molecular, observou-se a manifestação de sintomas visuais característicos nas folhas, incluindo mosaico e cloroses irregulares nas nervuras. Esses sintomas foram observados em plantas submetidas à termoterapia, apoiando os resultados obtidos por qPCR.

A expressão sintomatológica ocorreu de forma relativamente rápida nos ciclos iniciais, sugerindo que o estresse térmico pode influenciar a dinâmica de replicação e movimentação do vírus nos tecidos vegetais. Esse comportamento pode estar associado a alterações fisiológicas na planta hospedeira, como mudanças no metabolismo celular e na atividade dos tecidos vasculares, que

favorecem a manifestação visível da infecção. Dessa forma, a observação de sintomas foliares constituiu uma ferramenta complementar ao diagnóstico molecular, permitindo o acompanhamento da resposta das plantas ao tratamento térmico ao longo dos ciclos.

**Figura 5.** Expressão de sintomas foliares associados ao CsVMV em genótipos de mandioca submetidos à termoterapia em câmara térmica automatizada.



Autora: Leiliane Oliveira, 2025.

#### 4 DISCUSSÃO

A termoterapia é um método consolidado para o controle de patógenos sistêmicos em plantas de propagação vegetativa, sendo amplamente utilizada para a eliminação de vírus e fitoplasmas em diferentes culturas. Trabalhos conduzidos em espécies como batata, banana, cana-de-açúcar e frutíferas demonstram que a aplicação de calor reduz a disseminação de patógenos e contribui para a produção de mudas com elevada qualidade fitossanitária (Kidulile et al., 2018; Nakabonge et al., 2020; Kung'u et al., 2024). Nessas culturas, a técnica pode ser aplicada por imersão em água quente, cultivo in vitro associado à termoterapia ou uso de câmaras térmicas com controle ambiental.

Na cultura da mandioca, a termoterapia tem sido empregada principalmente por meio de imersão em água quente ou exposição em câmaras térmicas. No entanto, o uso de câmaras térmicas automatizadas apresenta vantagens importantes, como maior controle das condições de temperatura e umidade, redução de danos fisiológicos e possibilidade de aplicação contínua ao longo dos ciclos de multiplicação.

Neste estudo, a termoterapia em câmara térmica automatizada apresentou elevada eficiência de limpeza varietal, com mais de 90% de plantas livres de vírus nos ciclos finais. O aumento progressivo da proporção de plantas sadias ao longo dos ciclos evidencia o efeito cumulativo da exposição térmica, promovendo a redução gradual da carga viral.

As condições térmicas adotadas foram adequadas para o saneamento, mantendo as plantas metabolicamente ativas ao longo do experimento. O regime utilizado foi semelhante ao descrito por Nakabonge et al. (2020), que trabalharam com mandioca e obtiveram elevada eficiência na eliminação de vírus ao submeter estacas a temperaturas entre 45 °C e 50 °C. Nesse estudo, os autores demonstraram que a eficiência do tratamento depende da manutenção de condições térmicas constantes e do tempo de exposição, fatores que favorecem a inativação viral sem comprometer a viabilidade das plantas.

De forma semelhante, Kidulile et al. (2018) observaram que exposições sucessivas ao calor são mais eficazes do que tratamentos únicos, promovendo a redução progressiva da carga viral. Kung'u et al. (2024), por sua vez, destacam que a resposta das plantas pode variar de acordo com o genótipo e as condições ambientais, o que também foi observado neste estudo.

Uma diferença importante entre os trabalhos citados e o presente estudo está no sistema de aplicação da termoterapia. Enquanto alguns autores utilizaram imersão em água quente ou tratamentos pontuais, neste trabalho foi empregada uma câmara térmica automatizada com controle contínuo de temperatura e umidade. Esse sistema proporciona maior estabilidade ambiental e favorece o efeito cumulativo do tratamento.

A eficiência da termoterapia pode ser explicada por mecanismos fisiológicos e moleculares. O calor atua diretamente na replicação viral, promovendo desnaturação de proteínas, instabilidade do material genético e inibição de enzimas

essenciais ao ciclo viral (WANG et al., 2018). Além disso, temperaturas elevadas podem comprometer o transporte sistêmico dos vírus via floema, limitando sua disseminação (BETTONI et al., 2022).

Paralelamente, os meristemas apresentam menor concentração viral e maior capacidade de regeneração, devido à alta taxa de divisão celular e à limitada conexão vascular com tecidos infectados. Isso permite a formação de novos tecidos com baixa ou nenhuma presença viral após sucessivos ciclos de exposição ao calor.

A manutenção da umidade durante o tratamento também desempenha papel fundamental. Ambientes com baixa umidade podem intensificar o estresse hídrico e comprometer a viabilidade das plantas, enquanto a umidade controlada contribui para a manutenção do turgor celular, atividade metabólica e enraizamento das estacas (BETTONI et al., 2022). Dessa forma, a combinação de calor e umidade controlados é essencial para equilibrar a inativação viral e a sobrevivência vegetal.

Entre os vírus avaliados, o CsCMV apresentou maior taxa de eliminação, enquanto o CsVMV demonstrou maior persistência. Essa diferença pode ser atribuída à maior estabilidade térmica e eficiência de movimentação sistêmica do CsVMV, conforme discutido por Kidulile et al. (2018).

Nos estágios iniciais do tratamento, foi observada manifestação precoce de sintomas do CsVMV, como mosaico e clorose das nervuras. Esse comportamento pode ser interpretado como uma resposta transitória ao estresse térmico. O aumento inicial da expressão sintomatológica pode ocorrer devido a alterações fisiológicas induzidas pelo calor, como mudanças na permeabilidade celular, no funcionamento do sistema vascular e na atividade metabólica, que favorecem temporariamente a redistribuição do vírus nos tecidos.

Além disso, o estresse térmico pode interferir em mecanismos de defesa da planta, como o silenciamento gênico, permitindo uma expressão transitória do vírus antes da inibição de sua replicação. Estudos indicam que esse comportamento é seguido por redução progressiva da carga viral ao longo do tratamento (Kidulile et al., 2018), padrão observado também neste trabalho.

O diagnóstico inicial evidenciou que todas as plantas estavam infectadas, sendo a maioria sintomática. No entanto, a presença de uma planta assintomática infectada por CsCMV indica que a ausência de sintomas não garante ausência de

vírus. Esse comportamento pode estar associado à baixa carga viral, à distribuição irregular do patógeno ou à tolerância do genótipo, que limita a expressão dos sintomas sem impedir a infecção (Legg et al., 2015).

O processo de multiplicação demonstrou aumento no número de plantas ao longo das etapas, com diferenças entre genótipos. A maior taxa de multiplicação observada em BGM 1371 pode ser explicada pela relação entre número inicial e final de plantas, indicando maior eficiência de sobrevivência e regeneração. Essas diferenças refletem características genéticas relacionadas à capacidade de enraizamento, brotação e tolerância ao estresse térmico.

Os parâmetros morfológicos acompanharam essa dinâmica, com aumento da altura, diâmetro do caule e vigor das plantas ao longo dos ciclos. Esse comportamento está diretamente relacionado à redução da carga viral, uma vez que infecções virais comprometem processos fisiológicos como fotossíntese, transporte de assimilados e divisão celular (COLLAVINO et al., 2022).

Genótipos como BGM 2232 e BGM 0157 apresentaram melhor desempenho, sugerindo maior capacidade de recuperação fisiológica após o tratamento. Por outro lado, materiais como BGM 0318 apresentaram menor desempenho, possivelmente devido à maior sensibilidade ao estresse térmico ou menor eficiência metabólica.

De forma geral, os resultados indicam que a resposta à termoterapia depende não apenas da eliminação viral, mas também da capacidade fisiológica dos genótipos em tolerar o estresse térmico e retomar o crescimento.

Assim, os resultados obtidos confirmam que a termoterapia, quando aplicada sob condições controladas de temperatura e umidade, é uma estratégia eficaz para a eliminação de vírus em mandioca. O uso de câmaras térmicas automatizadas potencializa esse efeito, garantindo maior controle ambiental, reprodutibilidade do processo e produção de material propagativo com elevada qualidade fitossanitária.

## **5 CONCLUSÕES**

A termoterapia em câmaras térmicas automatizadas foi eficiente na eliminação de vírus da mandioca, alcançando mais de 90% de plantas sadias nos ciclos finais.

O CsCMV apresentou taxa de eliminação próxima de 95%, enquanto o CsVMV mostrou redução para cerca de 80%.

As temperaturas médias entre 35 °C e 45 °C, com picos acima de 50 °C, foram adequadas para inativar os vírus sem causar danos às plantas.

O sistema de nebulização foi essencial para manter a umidade e reduzir o estresse térmico, favorecendo a regeneração e o enraizamento.

A multiplicação por miniestacas possibilitou aumento expressivo do número de plantas saudias, demonstrando a viabilidade do uso combinado da termoterapia com propagação vegetativa.

O protocolo mostrou-se seguro, reprodutível e aplicável em programas de limpeza varietal e certificação fitossanitária da mandioca.

## 6 AGRADECIMENTOS TÉCNICOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, fundamental para a realização deste trabalho. Expresso também minha sincera gratidão à Embrapa Mandioca e Fruticultura pela infraestrutura disponibilizada e pelo suporte técnico durante a condução das análises, contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento desta pesquisa.

## 7 REFERÊNCIAS

BETTONI, J. C.; FAZIO, G.; COSTA, L. C.; HURTADO-GONZALES, O. P.; RWAHNIH, M. A.; NEDROW, A.; VOLK, G. M. Thermoherapy Followed by Shoot Tip Cryotherapy Eradicates Latent Viruses and Apple Hammerhead Viroid from In Vitro Apple Rootstocks. **Plants**, v. 11, n. 5, P. 582, 2022.

COLARICCIO, A.; RIVAS, E. B; BONFIM JUNIOR, M. F.; PERUCH, L. A. M.. Ocorrência do Cassava Common Mosaic Virus (CsCMV) e Cassava Vein Mosaic Virus (CsVMV) em cultivares de mandioca em Santa Catarina, Brasil. **O Biológico**, v. 82, n. 1, p. 1-9, 2020.

COLLAVINO, A.; ZANINI, A. A.; MEDINA, R.; SCHALLER, S.; FEO, L. D. Cassava common mosaic virus infection affects growth and yield components of cassava plants (*Manihot esculenta*) in Argentina. **Plant Pathology**, v. 71, p. 980–989, 2022.

CONCEIÇÃO, L. V.; CORTES, D. F. M.; KLAUSER, D.; ROBINSON, M.; OLIVEIRA, E. J. New protocol for rapid cassava multiplication in field conditions: a perspective on speed breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.

FAO. FAOSTAT Statistical Database. Rome: FAO, 2023

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Cruz das Almas (BA)**. [2025]. disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ba/cruz-das-almas.html>. acesso em: 8 set. 2025.

KIDULILE, C. E.; ATEKA, E. M.; ALAKONYA, A. E.; NDUNGURU, J. C. Efficacy of chemotherapy and thermotherapy in elimination of East African cassava mosaic virus from *Tanzanian cassava* landrace. **Journal of Phytopathology**, v. 166, p. 739–745, 2018.

KUNG’U, G.; NYABOGA, E. N.; REY, C. Reduction of cassava mosaic geminiviruses from infected stem cuttings using thermotherapy. **Journal of Phytopathology**, v. 172, n. 3, p. e13347, 2024.

LEGG, J. P.; LAVA KUMAR, P.; MAKESHKUMAR, T.; TRIPATHI, L.; FERGUSON, M.; KANJU. E.; NTAWURUHUNGA, P.; CUELLAR, W. Cassava virus diseases: biology, epidemiology, and management. **Advances in Virus Research**, v. 91, n. 1, p. 85–142, 2015.

MOWAT, W. P.; DAWSON, S. Detection of plant viruses by elisa using crude sap extracts and unprocessed antisera. **Journal of Virology Methods**, v. 15, p. 233-247, 1987.

NAKABONGE, G.; NANGONZI, R.; TUMWEBAZE, B. S.; KAZIBWE, A.; SAMUKOYA, C.; BAGUMA, Y. Production of virus-free cassava through hot water therapy and two rounds of meristem tip culture. **African Journal of Biotechnology**, v. 19, n. 10, p. 751–759, 2020.

OLIVEIRA, S. A. S.; ALVAREZ, E.; PARDO-GARCÍA, J. M.; DIAMANTINO, M. S. A. S.; BRITO, D. A.; PEREIRA, J. S. Propagação de mandioca com qualidade fitossanitária em câmara térmica automatizada. *Embrapa Mandioca e Fruticultura. Comunidaco Técnico*, v. 174, p. 1-11, 2020.

