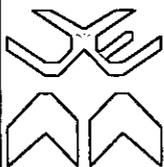
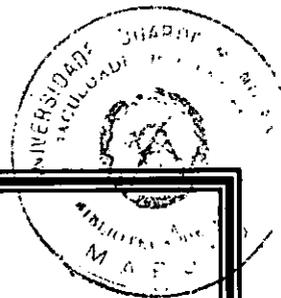


FIS-18



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS**

**Departamento de Física**

Tese de Licenciatura

**RADIAÇÃO E TERMOTERAPIA NO CONTROLO DO  
VÍRUS DO MOSAICO AFRICANO NA MANDIOCA**

***“Manihot esculenta, Crantz”***

**Mário Jorge Basílio**

2004

**Supervisores:**

**Prof. Doutor Boaventura Chongo Cuamba** – Faculdade de Ciências - Departamento de Física

0

**Prof. Doutora Ana Mondjana** - Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal – Departamento de Produção e Protecção Vegetal.

**Co - Supervisor:**

**Eng<sup>a</sup> Anabela Zacarias (MSc)** – Instituto Nacional de Investigação Agronomica

### Dedicatória

À memória da minha mãe Helena Matangue Zacarias, que em vida sempre me deu apoio e ensinou seus valores, estando assim perpetuamente presente em minha vida.

Ao meu irmão Luís Miguel Basílio, ao meu padrasto M. Cabral e a todos os meus avós, tios, primos e sobrinhos.

À minha namorada Iracema de Araújo pelo abraço e carinho que sempre me deu.

*Mário Jorge Basílio*

### **Agradecimentos**

Em primeiro lugar gostava de agradecer aos meus supervisores Prof. Doutora Ana Mondjana, Prof. Doutor Boaventura Chongo Cuamba e Eng<sup>a</sup> Anabela Zacarias pela dedicação na supervisão do presente trabalho.

Ao Director Nacional do Departamento de Radiologia, senhor Dr. João Alexandre, e aos técnicos desta secção de Radiologia do HCM, agradecer também aos técnicos do laboratório de Fitopatologia da FAEF.

A todos os docentes e funcionários da Faculdade de Ciências em especial do Departamento de Física e Meteorologia.

Ao senhor José Chambo pela recolha e análise dos dados referentes à parte da termoterapia.

Aos meus colegas e amigos do curso de Física e Meteorologia que juntos compartilhamos momentos de alegria e tristeza, e a todos aqueles que directa ou indirectamente ajudaram-me na finalização do curso.

**OBRIGADO POR TUDO**

**Declaração de Honra**

O presente trabalho foi completamente realizado com base no material e dados a que ao longo do mesmo se faz referência. As ideias originais nele expressas são da inteira responsabilidade do autor.

Maputo, Setembro de 2004

O autor

MÁRIO JORGE BASÍLIO.....

<b>ÍNDICE</b>	<b>pag.</b>
Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Declaração de Honra.....	iii
Índice.....	iv
Lista de Abreviaturas.....	vi
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Anexos.....	x
Resumo.....	xi
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 Problema de estudo.....	3
<b>2. OBJECTIVOS.....</b>	<b>4</b>
2.1 Objectivos gerais.....	4
2.2 Objectivos específicos.....	4
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
3.1 Origem, distribuição e descrição da mandioca.....	5
3.2 Importância da mandioca.....	6
3.3 Factores limitantes na produção da mandioca em Moçambique.....	6
3.4 Factores climatológicos favoráveis para o cultivo da mandioca.....	7
3.4.1 Clima.....	7
3.4.2 Relevo.....	7
3.4.3 Temperatura.....	7
3.4.4 Precipitação.....	8
3.4.5 Radiação solar.....	8
3.5 Identificação das viroses em Moçambique.....	8
3.5.1 Vírus do mosaico africano na mandioca (ACMV).....	9
3.6 Efeitos da radiação e da termoterapia nas culturas.....	11

3.6.1	A radiação.....	11
3.6.2	A termoterapia.....	15
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
4.1	Localização.....	16
4.2	Tratamentos.....	16
4.3	Metodologia.....	16
4.4	Recolha de dados.....	20
4.4.1	Percentagem de brotação (PB).....	20
4.4.2	Incidência (I).....	20
4.4.3	Severidade (S).....	20
4.4.4	Comprimento dos brotos.....	21
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
5.1	Avaliação dos efeitos da radiação e da termoterapia.....	22
5.1.1	Efeitos da radiação na brotação das estacas.....	22
5.1.2	Efeitos da radiação na incidência do mosaico.....	23
5.1.3	Efeitos da radiação na severidade.....	24
5.1.4	Efeitos da radiação no comprimento dos brotos.....	25
5.1.5	Efeitos dos tratamentos por termoterapia.....	26
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>28</b>
6.1	Conclusões.....	28
6.2	Recomendações.....	30
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....</b>	<b>31</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>33</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

- ACMV – African Cassava Mosaic Virus (*Vírus do Mosaico Africano na Mandioca*)  
ANOVA – Análise de Variância  
CBSD – Cassava Brown Streak Disease (*Doença do Listrado Castanho na Mandioca*)  
°C – Graus Celcius  
DAP – Departamento de Análise Política  
ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay  
EAU – Estação Agrária de Umbeluzi  
FAEF – Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal  
g – Grama  
Gy – Gray  
HCM – Hospital Central de Maputo  
I – Incidência  
INIA – Instituto Nacional de Investigação Agronómica  
J – Joule  
Kg – Kilograma  
KGy – Kilo Gray  
Kv – Kilo Volt  
MADER – Ministério de Agricultura e Desenvolvimento Rural  
mA.s – Mil Ampere Segundo  
M<sub>n</sub> – Planta número n da variedade Munhaça sem sintomas do mosaico africano  
M<sup>+</sup><sub>n</sub> – Planta número n da variedade Munhaça com sintomas do mosaico africano  
N<sup>o</sup> – Número  
OD – Optical Density (*Densidade Óptica*)  
PB – Percentagem de brotação ou pegamento das estacas  
Prob – Probabilidade  
Rem – Röntgen equivalente man  
S – Severidade  
Seg. ou s – Segundos  
SNSV – Serviço Nacional de Sanidade Vegetal

SNAP – Serviço Nacional de Aviso Prévio

W – Watt

% - Percentagem

LISTA DE FIGURAS	Pag.
Figura 1: Mandioca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	5
Figura 2: Mosca Branca ( <i>Bemisia Tabaci</i> ).....	9
Figura 3: Folhas da mandioqueira com sintomas do mosaico africano.....	10
Figura 4: Processo de irradiação de raios gama em sementes.....	13
Figura 5: Poder de penetração dos raios.....	14
Figura 6: Espectro electromagnético.....	14
Figura 7: Leitor ELISA ( <i>modelo easy EIA</i> ).....	18
Figura 8: Percentagem de plantas brotadas.....	22
Figura 9: Percentagem de incidência.....	24
Figura 10: Percentagem de severidade.....	25
Figura 13: Comprimento médio dos brotos.....	26

LISTA DE TABELAS

Pag.

Tabela 1: Esquema da distribuição das plantas no tratamento por termoterapia.....	18
Tabela 2: Esquema da distribuição das plantas no tratamento por radiação (raios x e $\gamma$ ).....	19
Tabela 3: Esquema da distribuição das plantas no tratamento por radiação (micro ondas).....	19
Tabela 4: Resultados da termoterapia em função da temperatura.....	24
Tabela 5: Resultados da termoterapia em função da temperatura.....	24

**LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1: Protocolo DAS ELISA

Anexo 2: Resultados do teste ELISA

Anexo 3: Percentagem de brotação

Anexo 4: Percentagem de incidência

Anexo 5: Percentagem da severidade

Anexo 6: Comprimento médio dos brotos

Anexo 7: Resultados da análise de variância (ANOVA)

Anexo 8: Fichas de registos de dados no campo

Anexo 9: Fotos ilustrativas dos efeitos da radiação e da termoterapia nas plantas ao longo do estudo

## Resumo

Moçambique é um país em vias de desenvolvimento possuindo boas condições edafo-climatológicas para a produção desta cultura em larga escala. Contudo, tem muitos problemas na produção da mandioca. Sendo assim, para se alcançar um desenvolvimento sustentável na produção e comercialização da mandioca, a protecção desta cultura contra as doenças e pragas deve constituir parte integrante do processo produtivo.

O presente trabalho tem como objectivo estudar os efeitos da radiação e termoterapia no controlo do vírus mosaico africano da mandioca. Para a realização deste estudo, foi montado nas estufas do SNSV situado no recinto do INIA, um ensaio usando o delineamento casualizado em que a radiação e a termoterapia constituíam os talhões principais, divididos em sub talhões no qual englobava o tempo de exposição. Cada tempo estava sub-dividido em três repetições e cada uma com duas plantas. Para a concretização dos objectivos foram feitas medições para a brotação das estacas, incidência do vírus do mosaico africano na planta, o nível de severidade (*grau de ataque*) da doença e o comprimento dos brotos.

No talhão para a radiação cujas estacas foram submetidas aos raios x e raios gama ( $\gamma$ ), os tratamentos e os respectivos tempos de exposição afectaram significativamente na brotação das estacas. O tempo de exposição das estacas foi directamente proporcional ao comprimento dos brotos, e os tratamentos influenciaram negativamente na incidência e severidade. Quanto às plantas tratadas por termoterapia, verificou-se que a temperatura e os tempos de exposição influenciam significativamente na brotação e na severidade da doença, e o tempo de exposição é inversamente proporcional ao comprimento dos brotos.

No decorrer do trabalho e depois de feita a análise dos dados, constatou-se que os métodos usados não são eficazes para a redução da incidência do vírus na planta, mas foram observados efeitos no caso da brotação das estacas, nível de severidade da doença e no comprimento dos brotos. De entre as plantas provenientes do campo com sintomas do mosaico, aproximadamente 80% delas teve um nível de incidência elevado.

## 1. INTRODUÇÃO

Embora o início do uso dos métodos físicos no controlo de doenças em plantas tenha sido contemporâneo, nota-se que os métodos químicos tiveram um desenvolvimento expressivo quando comparados aos modestos avanços conseguidos com os métodos físicos. A acentuada evolução dos pesticidas, entre outros factores deveu-se principalmente ao facto de o controlo químico ser um produto de comercialização, despertando assim interesses económicos (Carvalho, 1996).

Actualmente, com o crescente interesse na redução dos impactos negativos da agricultura ao meio ambiente, grande ênfase vem sendo dada a outros métodos de controlo das doenças nas plantas, para além dos métodos químicos. Neste contexto de controlo vários agentes físicos são usados para reduzir o desenvolvimento da doença, sendo os principais a termoterapia, a radiação, a ventilação e a luz (Carvalho, 1996).

A mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) constitui uma das mais importantes culturas desenvolvidas no continente africano (Casimiro, 1968), sendo amplamente cultivada em vários países da região sub-Sahariana, incluindo o Madagascar (Ikotun & Osiky, 1990).

A cultura de mandioca é de extrema importância para os países em vias de desenvolvimento, e as suas múltiplas vantagens explicam a sua rápida difusão em quase toda a África tropical pelo facto de se adaptar às condições edafo-climáticas e ser tolerante à seca, à baixa fertilidade dos solos, não requerendo muitos cuidados durante o crescimento e uma mão-de-obra relativamente baixa comparada com outras culturas (Fresco, 1986).

Em Moçambique, a mandioca é considerada cultura de segurança alimentar, constituindo assim base de alimentação para as populações das províncias de Niassa, Cabo Delegado, Nampula e Zambézia. Os camponeses cultivam a mandioca em áreas inferiores a 2 hectares (Zacarias, 2003).

Apesar do rendimento sob boas condições edafo-climáticas ser alto e ter um desempenho melhor do que outras culturas em condições óptimas, os rendimentos da mandioca a nível

mundial variam entre 8 a 9 toneladas por hectare, considerados muito a baixo do potencial da cultura (Jimenez *et al*, 1998). O rendimento médio da mandioca em África é de cerca de 6.4 toneladas por hectare, bem inferior à média mundial (Iokotun & Osiky, 1990). Em Moçambique, avaliações feitas em diferentes zonas de cultivo da mandioca mostraram que o rendimento varia entre 4 a 10 toneladas por hectare, com o rendimento médio a nível nacional situado entre 5 a 6 toneladas por hectare (Jimenez *et al*, 1988).

Vários factores concorrem para os baixos níveis de rendimento, dentre os quais se destacam as doenças, a prevalência do uso de práticas agronómicas inadequadas, a susceptibilidade das variedades a diferentes pragas e doenças (Casimiro, 1968), solos pobres, época de plantio tardia, secas, não utilização de estacas frescas, entre outros (Jimenez *et al*, 1988). Dentre os vários factores que limitam a produção da mandioca pode-se destacar a acção de alguns vírus causadores de doenças como é o caso do mosaico africano e o listrado castanho. A cultura é também afectada por doenças causadas por bactérias e fungos. Dentre estas doenças as de origem viral são as que mais danos causam à cultura (Silvestre *et al*, 1983).

Os esforços para aumentar a produção devem basear-se no entendimento dos problemas a fim de eliminá-los ou contê-los (Iokotun & Osiky, 1990). Reconhecendo a importância que tem a mandioca para o quotidiano da população, torna-se de vital importância o controlo aos agentes que causam doenças a culturas, em particular aos vírus que causam danos económicos.

O combate às doenças de origem viral é complexo, podendo envolver diferentes métodos, desde o abate da mandioqueira até à aplicação dos mais sofisticados métodos para a erradicação do vírus (Alaux & Fauquet, 1987). A radiação e a termoterapia são alguns dos métodos recomendados em muitas culturas para a resolução destes problemas.

No presente estudo, foi utilizada a variedade *Munhaça*, por ser a variedade mais susceptível ao vírus do mosaico africano. Os tratamentos usados incluíram os seguintes métodos: irradiação de raios x e raios gama (*esterilização a frio*), micro-ondas e

termoterapia (*tratamento com calor*). Estacas de mandioca provenientes de plantas sem sintomas e doentes foram submetidas a diferentes níveis dos métodos mencionados.

### **1.1 Problema de estudo**

Diversas zonas de Moçambique estão a passar por ciclos de seca severa devido à variabilidade temporal e espacial da precipitação, o que faz com que seja fundamental a investigação em culturas tolerantes a estas situações extremas. A cultura da mandioca considerada de segurança alimentar é tecnicamente uma das recomendadas para fazer face a estas situações extremas que o país atravessa, e representa fonte importante de receita para as mulheres da zona rural, uma vez que grandes mercados rurais têm se desenvolvido na época de colheita da mandioca, fazendo com que os homens se tornem mais envolvidos na produção desta cultura em larga escala (DAP, 2000).

Esta cultura apesar de ser desenvolvida em pequena escala por todo o país pelas famílias rurais, ela alimenta cerca de 60% da população rural dada a sua estabilidade e uso como alimento disponível na época seca para além de produzir alimento em curto tempo (Jimenez *et al*, 1988). Dada a importância que a mandioca tem para Moçambique, país em vias de desenvolvimento, torna-se de vital importância a realização de estudos envolvendo esta cultura.

Segundo Alaux & Fauquet (1987), o mosaico africano causa perdas no rendimento da mandioca na ordem dos 20 a 80%, e o vector do vírus do mesmo, é a mosca branca (*Bemisia tabaci*) que geralmente aparece em grande número na época chuvosa. Este insecto pode também colonizar as folhas de outras plantas, mas o vírus do mosaico africano somente infecta a mandioqueira.

Dados estes factores, há necessidade de se fazer um estudo profundo sobre a problemática na produção da mandioca no nosso país.

## **2. OBJECTIVOS**

### **2.1 Objectivo geral**

- ✓ Estudar os efeitos da radiação e da termoterapia no controlo do vírus mosaico africano da mandioca.

### **2.2 Objectivos específicos**

- ✓ Avaliar os efeitos da radiação e da termoterapia na viabilidade do material de propagação vegetativo.
- ✓ Avaliar os efeitos da radiação e da termoterapia na severidade, incidência do vírus do mosaico africano e no comprimento dos brotos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

#### 3.1 Origem, distribuição e descrição da mandioca

Esta cultura foi introduzida em África na segunda metade do século XVI, proveniente da América do Sul, e talvez da América Central, onde se acredita que tenha a sua origem (Silvestre *et al.*, 1983). A mandioca já era cultivada pelos Índios, por ocasião da descoberta do Brasil. Hoje em dia, ela é explorada em varias regiões do mundo cujo clima é tropical e subtropical. É cultivada com maior frequência nas Filipinas, no Ceilão, na Tailândia, em grande parte da África e em Madagáscar (<http://criareplantar.com.br/institucional/parceiros/detalheshtm> <2004/06/09>). Em termos de produção nacional, as províncias de Cabo Delgado, Nampula e Zambézia são as maiores produtoras, fazendo 88% da produção total (SNAP/MADER, 2002).

A mandioca é uma planta dicotiledónea da família *Euphorbiaceae* género *Manihot* (figura 1). Este género compreende várias espécies, e a principal diferença botânica existente entre as espécies reside no fruto que pode se apresentar na forma doce e amarga respectivamente. A polpa da mandioca deve apresentar cor branca ou amarelada uniforme e a casca soltar-se com facilidade. Mas, mesmo de boa qualidade, convém conservar a mandioca por apenas dois dias quando fresca. No entanto, descascada e coberta com água num vasilhame de vidro, ela dura por mais tempo, assim como, depois de cozida (<http://criareplantar.com.br/institucional/parceiros/detalhes.htm> <2004/06/09>).



Figura 1: Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

Fonte: <http://criareplantar.com.br/institucional/parceiros/detalhes.htm> <2004/06/09>

### 3.2 Importância da mandioca

A importância económica desta cultura deriva do facto das suas raízes feculentas<sup>(1)</sup>, grossas e tuberosas<sup>(2)</sup> serem uma fonte valiosa de calorias baratas especialmente nos países em vias de desenvolvimento, onde é generalizada a deficiência de calorias e a subnutrição. Em certas regiões da África, as folhas e os brotos da mandioqueira também são consumidos como verduras (Casimiro, 1968). Contém ainda, razoáveis quantidades de vitaminas do complexo B, principalmente niacina que estimula o apetite, promove o crescimento e conserva a saúde da pele. Seus sais minerais como o cálcio, fósforo e ferro participam da formação dos ossos, dentes e sangue (<http://criareplantar.com.br/institucional/parceiros/detalhes.htm> <2004/06/09>).

O emprego da mandioca como fonte de etanol e combustível, energia, em forragem para animais, e ainda para a indústria tem aumentado significativamente. A mandioca constitui um dos principais alimentos energéticos para cerca de 500 milhões de pessoas, sobretudo nos países em vias de desenvolvimento, onde é cultivada em pequenas áreas utilizando um baixo nível tecnológico. Mais de 80 países produzem mandioca, sendo que Moçambique participa com um pouco mais de 7% da produção mundial. Moçambique é considerado o 6<sup>o</sup> maior produtor da mandioca á nível do continente africano e o 10<sup>o</sup> a nível mundial (Casimiro, 1968).

A mandioca constitui uma das mais importantes fontes de alimentação da população Moçambicana, sendo que aproximadamente 1/3 da população cultiva a mandioca usando técnicas e instrumentos de produção com pouca eficiência, e 88 % desta produção está concentrada no norte, particularmente na província de Nampula (Casimiro, 1968).

### 3.3 Factores limitantes na produção da mandioca em Moçambique

As limitações na produção da mandioca são as tradicionais práticas culturais, a estrutura e funcionamento dos sistemas de cultivo que a mandioca sofre no fim da rotação, o uso de técnicas de cultivo com baixos rendimentos combinados com a ausência de insumos tais como os fertilizantes, a grande preferência por variedades que não se adaptam bem ao

---

(1) Que contém fecula (*amido: materiais que se precipitam dos sucos vegetativos*)

(2) Que tem tuberosidade (*saliências em forma de tubérculo*)

clima e são muito sensíveis a doenças e pestes, o rápido decréscimo da fertilidade do solo referentes à forma como são geridos, entre outros (Alaux & Fauquet, 1987). Dentre os vários factores limitantes as doenças constituem um potencial risco na produção da mandioca. Esta cultura é afectada pelas seguintes doenças: virais (*mosaico africano e listrado castanho*), mancha bacteriana, podridão radicular, manchas foliares e outras (Silvestre *et al*, 1983).

Segundo Fresco (1986), para o controlo das viroses, usam-se várias estratégias como introdução de clones resistentes, uso de estacas não infectadas, boas práticas culturais (*data de plantio, densidade, compasso, forma das parcelas*).

### **3.4 Factores climatológicos favoráveis para o cultivo da mandioca**

#### **3.4.1 Clima**

Originária da região tropical, a mandioca encontra condições favoráveis para o seu desenvolvimento em todos os climas tropicais e subtropicais. Ela é cultivada na faixa compreendida entre os 30° de latitudes Norte e Sul, embora a concentração de plantio da mandioca esteja entre as latitudes 20° Norte e 20° Sul (<http://sistemas.producao.cnptia.embrapada.br/mandiocapara/autores.htm><2004/06/09>).

#### **3.4.2 Relevo**

Esta cultura suporta altitudes que variam desde o nível do mar até cerca de 2.300 metros, admitindo que as regiões baixas ou com altitude que variam entre os 600 e 800 metros são as mais favoráveis (<http://sistema.producao.cnptia.embrapada.br/mandiocapara/autores.htm><2004/06/09>).

#### **3.4.3 Temperatura**

As temperaturas ideais para o cultivo da mandioca situam-se entre os 23 e 27 °C, podendo a planta crescer bem entre os 16 e 38 °C. As temperaturas baixas, em torno dos 15 °C, retardam a brotação das gemas e diminuem ou mesmo paralisam a sua actividade vegetativa entrando em fase de dormência (<http://sistema.producao.cnptia.embrapada.br/mandiocapara/autores.htm><2004/06/09>).

#### 3.4.4 Precipitação

A faixa de precipitação mais adequada para o cultivo da mandioca está compreendida entre 1.000 e 1.500 mm/ano. Em regiões tropicais com índices pluviométricos até 4.000 mm/ano e sem estação seca em nenhum período do ano há produção da mandioca. Nesse caso é importante que os solos sejam bem drenados, pois o encharcamento favorece a podridão das raízes. É também muito cultivada em regiões semi-áridas, com 500 a 700 mm de chuva por ano ou menos. Nestas condições, é importante adequar a época de plantio para que não ocorra deficiência de água nos primeiros cinco meses de cultivo (*período de estabelecimento da cultura*), o que prejudicaria na produção ([http://sistemas.producao.cnptia.embrapa.br/Mandioca/mandioca\\_para/autores.htm<2004/06/09>](http://sistemas.producao.cnptia.embrapa.br/Mandioca/mandioca_para/autores.htm<2004/06/09>)).

#### 3.4.5 Radiação solar

O período de luz solar (*radiação solar*) ideal para desenvolvimento e crescimento desta cultura está em torno de 12 horas/dia. Dias com períodos de luz mais longos (*verão*) favorecem o crescimento de parte aérea e reduzem o desenvolvimento das raízes tuberosas, enquanto que os períodos diários de luz mais curtos (*inverno*) promovem o crescimento das raízes tuberosas e reduzem o desenvolvimento dos ramos. (<http://sistema.producao.cnptia.embrapada.br/mandiocapara/autores.htm<2004/06/09>>).

Visto que Moçambique está dentro dos parâmetros acima mencionados, poderemos concluir que fornece elevados requisitos para se considerar um potencial produtor desta cultura.

### 3.5 Identificação das viroses em Moçambique

As culturas de propagação vegetativa são susceptíveis ao ataque de vírus e a mandioca não é uma excepção à regra. Pelo menos 17 diferentes tipos de viroses da mandioca já foram identificadas, das quais 8 ocorrem em África (Thresh *et al*, 1994).

Em Moçambique, a maior atenção é para as seguintes viroses: o mosaico africano (*ACMV – African Cassava Mosaic Virus*) e o listrado castanho da mandioca (*CBSD – Cassava Brown Streak Disease*). O ACMV é ligeiramente a mais difundida e a que mais danos causa à cultura, isto em relação ao CBSD (Silvestre *et al*, 1983). Estas duas

viroses são as mais comuns no nosso território, sendo que o listrado castanho da mandioca concentra-se somente nas províncias de Zambézia, Nampula e Cabo Delgado, enquanto que o mosaico africano encontra-se em todo o país (Zacarias & Cuambe, 2002).

Para suprir com as dificuldades existentes na produção da mandioca, é necessário que se desenvolvam técnicas capazes de obter variedades da mandioca resistentes às doenças. (Casimiro, 1968).

### 3.5.1 Vírus do mosaico africano na mandioca (ACMV)

Relatado pela primeira vez na África Oriental em 1894, o mosaico africano é a virose mais generalizada na África tropical e na Índia. Embora em 1906 tenha sido postulado que o organismo era um vírus, somente em 1983 é que se confirmou definitivamente a etologia desta doença (INIA, 1994).

Segundo Silvestre *et al* (1983), o organismo causador desta virose é um *Geminivirus* conhecido como vírus do mosaico africano na mandioca (ACMV). Ele é transmitido de uma planta para outra por via de um insecto denominado *mosca branca* (*Bemisia Tabaci*) (figura 2) que aparece em grande número na estação chuvosa. Também se propaga entre lavouras e de uma região para outra pelo uso de material de plantio infectado. Este vírus do mosaico africano predomina em toda a África.



Figura 2: Mosca branca (*Bemisia Tabaci*)

Fonte: <http://www.mosca-branca.CATL.htm>

A mosca branca pode ser encontrada em todas as regiões onde há produção da mandioca. A planta da mandioca não é a única hospedeira deste insecto. Ela também coloniza as folhas das plantas do algodão, de tabaco e da batata doce, mas o vírus do mosaico

africano somente infecta a mandiocqueira. A reprodução e as actividades da mosca branca são encorajadas por alta precipitação pluviométrica, uma faixa de temperatura que varia de 25 á 27<sup>0</sup> C e alta intensidade de luz solar (*radiação solar*). Em condições de campo, a propagação do vírus ocorre sobretudo nos meses de Outubro a Fevereiro, no caso de Moçambique (Silvestre *et al*, 1983).

Os sintomas desta virose na planta da mandioca são manchas características verde-claras, amarelas ou brancas, entremeadas de maneira irregular. As áreas cloróticas podem ser pequenas pintas ou manchas, ou podem cobrir toda a extensão da folha. A matrização por vezes é acompanhada pela deformação da folha e de uma atrofiação geral da planta. Nas plantas atrofiadas, as folhas doentes são pequenas e apresentam desenvolvimento assimétrico dos lóbulos (Jimenez *et al*, 1988).

As folhas ficam reduzidas, deformadas e torcidas, com áreas cloróticas separadas por áreas verdes impedindo a absorção total da radiação solar pela planta. Esta radiação é importante no processo de fotossíntese da planta. A não absorção da radiação solar pela planta da mandioca provoca-lhe raquitismo, e os lóbulos podem apresentar um padrão de mosaico quase uniforme (Fresco, 1986).



**Figura 3:** Folhas da mandiocqueira com sintomas do mosaico africano

Fonte: M. Basílio (2004)

O mosaico africano ataca todos cultivares, ainda que o grau de susceptibilidade varie de um cultivar para outro. Em cada país produtor a presença do mosaico africano está relacionada com a densidade populacional da mandioca e com as características climáticas. Regiões de muita humidade parecem ser as mais afectadas. O efeito do mosaico africano é muito mais notável em plantas jovens (novas) que nas adultas (Alaux & Fauquet, 1987).

### **3.6 Efeitos da radiação e da termoterapia nas culturas**

#### **3.6.1 A Radiação**

**Radiação** é a energia que se propaga através da matéria ou do espaço em forma de onda ou partícula. O termo **Irradiação** é a exposição de um objecto ou um corpo à radiação, o que pode ocorrer a uma certa distância sem a necessidade de contacto. Os termos radiação e irradiação são todavia, na maioria das vezes confundidos e usados indistintamente como sinónimos (Pitorri, 1993).

O fenómeno da radioactividade foi descoberto pelo Físico Francês **Henri Becquerel**. Ele realizou diversos estudos verificando assim que sais de urânio emitiam radiação semelhante à dos raios x, impressionando chapas fotograficas (Yavorski & Deltaf, 1963).

A descoberta da radioactividade artificial e o desenvolvimento dos métodos de produção de radioisótopos em grande escala estimularam muitos pesquisadores no estudo de sua aplicação em diferentes ramos da Ciência. Essas pesquisas levaram a grandes progressos principalmente na agricultura, indústria e medicina. Dessa forma, ela é aplicada na agricultura para obter plantas resistentes às doenças, proporcionando uma maior produtividade e por vezes com um curto período de amadurecimento do seu produto final (*figura 4*). O emprego da irradiação proporciona as plantas uma estabilidade química e microbiológica, impedindo a multiplicação de micro-organismos que causam a deterioração da planta, tais como os vírus, as bactérias e os fungos (Bushong, 1999).

#### **Procedimento para irradiação de raios nas plantas:**

As plantas a serem irradiadas são colocadas em recipientes, e através de um monotrilha são conduzidas para o interior da câmara de irradiação onde recebem a dose de radiação

programada. Operadores qualificados controlam e monitoram electronicamente a fonte de radiação e o tratamento do material através de um computador situado fora da câmara de irradiação (<http://www.irra.alim/resumo.br/rad.<.25/08/03>>).

Quando a planta é atravessada por qualquer forma de radiação ionizante, pares de iões são produzidos e os átomos assim como as moléculas são excitados de forma que uma parte dessa energia transferida seja absorvida. Estes pares de iões podem ter energia suficiente para produzir novas ionizações e excitações. Estas excitações são responsáveis pelos efeitos biológicos das radiações sobre essa planta. Neste método, a planta ou parte dela fica exposta à radiação (*que não afecta negativamente o poder germinativo*) por um tempo determinado. Este tratamento aumenta a possibilidade de se obter plantas livres de vírus ou com um índice de severidade muito reduzido (<http://www.irra.alim/resumo.br/rad.<.25/08/03>>).

A sua eficiência técnica já foi comprovada em culturas como do mamão (*papaia*), cenoura, feijão, laranja, cebola, cana-de-açúcar, repolho, batata, alho, a videira e outros vegetais que foram tratados com raios gama possibilitando a obtenção de plantas resistentes as doenças e com maior rendimento (<http://www.irra.alim/resumo.br/rad.<.25/08/03>>).

Segundo Carvalho (1996), o produto final nunca entra em contacto com o material radioactivo, somente recebe as radiações. Ele pode ser manipulado ou consumido imediatamente após a irradiação sem perigo para a saúde humana. Em alguns casos, o valor nutritivo do alimento originado das culturas submetidas a estes tratamentos é melhorado através do seu teor de proteínas.

Ao contrário do processo térmico, a radiação precisa de pouca energia para aumentar a energia térmica das moléculas que a absorvem. Para ser feita a esterilização por radiação a energia necessária é cerca de 50 vezes menor do que a requerida para a esterilização por calor. Por este motivo, ela é chamada de "*esterilização a frio*" (<http://www.irra.alim/resumo.br/rad.<.25/08/03>>).

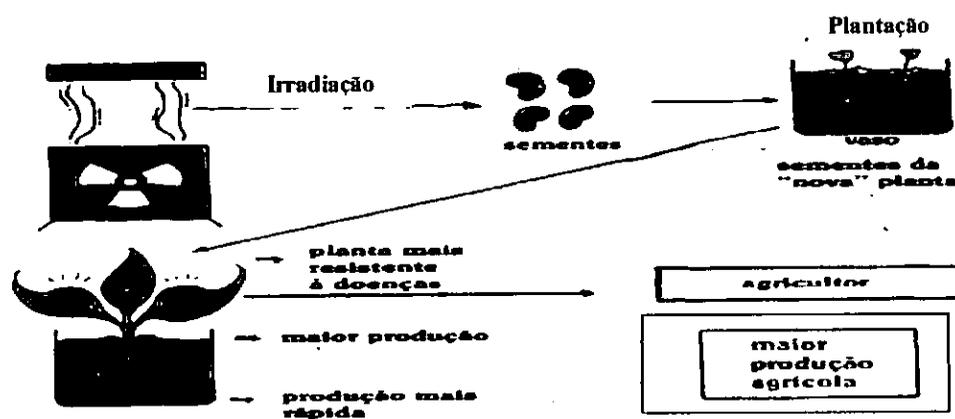


Figura 4: Processo de irradiação de raios gama em sementes

Fonte: <http://www.cena.usp.br/irradiação> <2004/02/20>

A radiação é uma forma de energia e como tal é expressa em ergs ou Joule ( $1 \text{ J} = 10^7$  ergs). A unidade de energia absorvida é o Gray (Gy), que equivale a 1 Joule por quilograma (ou 10.000 ergs/g) da matéria. Seu múltiplo mais usado é o kiloGray (KGy) (Yavorski & Detlaf, 1984).

$$\left( \begin{array}{l} 10000 \text{ ergs/g} = 10000 \cdot 10^{-7} \text{ J}/10^{-3} \text{ kg} = 1 \text{ J/kg} = 1 \text{ Gy} \end{array} \right. \quad (1)$$

$$\left( \begin{array}{l} 1 \text{ J/kg} = 1 \text{ Gy/s} \end{array} \right. \quad (2)$$

Segundo Yavorski & Detlaf (1984), a dose de radiação pode ser determinada também pela sua acção biológica, valendo-se pelo equivalente biológico do Röntgen (*rem* – *Röntgen equivalente man*), nome dado à energia absorvida da radiação, biologicamente equivalente a um Rontgen.

$$1 \text{ rem} = 10^{-2} \text{ J/kg} = 10^{-2} \text{ Gy} \quad (3)$$

Pode-se ainda acrescentar que existem diferentes tipos de radiação. A radiação alfa é semelhante ao átomo de hélio, sem os dois electrões na camada externa e não é capaz de atravessar uma folha de papel. As radiações beta são basicamente mais penetrantes que a alfa, e não são capazes de atravessar uma folha de alumínio. A radiação gama é altamente penetrante, podendo atravessar um bloco de chumbo de pequena espessura. Os raios x são relativamente menos penetrantes que a raios gama (*figura 5*), tendo como inconveniente o baixo rendimento em sua produção, pois somente de 3 a 5% da energia aplicada é efectivamente convertida em raios x (<http://www.cena.usp.br/irradiação/espectro.thm>.<2004/01/15>).

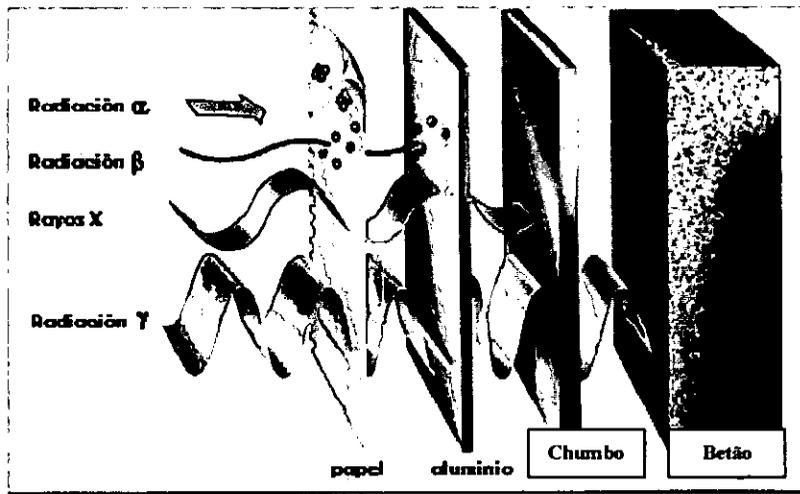


Figura 5: Poder de penetração dos raios

Fonte: <http://www.cena.usp.br/irradiacao/espectro.htm> <2004/01/15>

Os raios x e os raios gama fazem parte do espectro electromagnético, e estão localizados na faixa de curto comprimento de onda e alta energia. Eles têm as mesmas propriedades e os mesmos efeitos sobre os materiais a serem irradiados, diferenciando apenas na sua origem. Os raios micro ondas estão localizados na faixa do longo comprimento de onda e baixa frequência (figura 6). É importante dizer, que das várias ondas electromagnéticas (radiação gama, raio x, microondas, luz visível, etc.), apenas os raios gama são emitidos pelos núcleos atômicos (Herz, 1969).

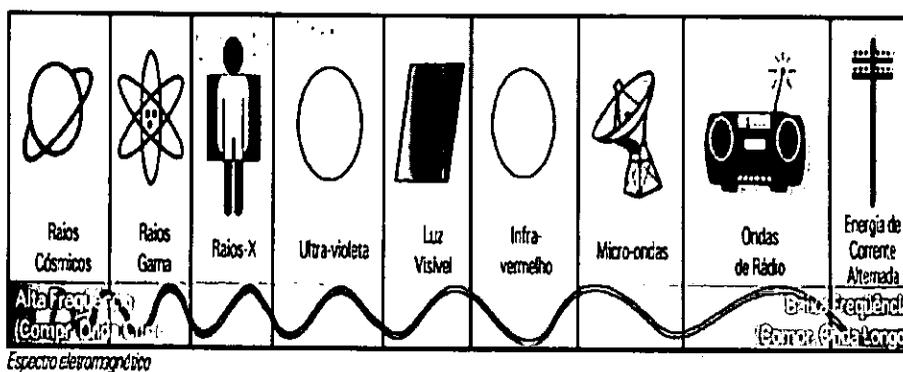


Figura 6: Espectro electromagnético

Fonte: Factos sobre irradiação de alimentos

### 3.6.2 A Termoterapia

O tratamento por calor recebe o nome de **termoterapia**, e consiste na exposição da planta ou parte dela a altas temperaturas por um período de tempo determinado (<http://www.fisioterapia.htm> <2003/08 /10>)

Este tratamento aumenta a possibilidade de se obter plantas livres de vírus e sua eficiência técnica já foi comprovada em alguns países, usando culturas tais como a cana-de-açúcar, a cenoura, a ameixeira a batata, o alho e a mandioca. Nos estudos realizados, foram usadas temperaturas que variavam entre 30 a 40 °C por períodos de 4 a 6 semanas, variando de cultura para cultura. No caso da mandioca por exemplo, usa-se a temperatura de 40 e 35 °C durante o dia e a noite, respectivamente, por um período de 3 a 4 semanas (<http://www.ib.usp.br/rmsuzuki/limpeza.htm> <2003/10/08>).

A aplicação da termoterapia no controlo e erradicação de doenças virais nas plantas já foi demonstrado no Brasil. Um exemplo disso é o estudo de Moraes *et al.* (2001), mostrando que o material de ameixeira contaminada com *Xylella fastidiosa* tornou-se seronegativo após ter sido submetido ao tratamento de vapor (*banho maria*) à temperatura de 50 °C por diferentes tempos (<http://www.ib.usp.br/rmsuzuki/limpeza.htm> <2003/10/08>).

Silvestre *et al.* (1983), falam ainda da possibilidade de se obter plantas de mandioca sem os sintomas do mosaico africano a partir de plantas doentes. Neste caso, o tratamento por termoterapia à temperatura de 37° C reprime a expansão da doença.

No estudo realizado por Renomenjanahary *et al.* (1980) sobre a combinação de termoterapia e métodos de detenção sensíveis, estacas da planta de mandioca foram submetidas a tratamento por termoterapia em água à temperatura de 47° C durante 30 minutos.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Localização

O ensaio foi montado nas estufas de quarentena do Serviço Nacional de Sanidade Vegetal (SNSV), situadas no recinto do Instituto Nacional de Investigação Agronómica (INIA) em Maputo.

### 4.2 Tratamentos

Os tratamentos de termoterapia foram feitos no laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal (*tratamentos à temperaturas de 40 e 50°C*) e no laboratório da estação de quarentena dos SNSV (*tratamentos à temperaturas de 35 e 45°C*) (Chambo, 2004). Os tratamentos por radiação de micro-ondas foram feitos na FAEF, os de raio x no laboratório de radiologia do Hospital Central de Maputo (HCM) e os de raios gama ( $\gamma$ ) no laboratório de esterilização a frio, na MOZAL.

As estacas tratadas por micro-ondas foram submetidas a dose de 900 w/kg (*equivalente à 900 Gy/s*). Para os tratamentos por raios x e gama a dose foi de 50 kv/kg em 280 mA.s.

### 4.3 Metodologia

O presente trabalho foi realizado em colaboração com o Instituto Nacional de Investigação Agronómica (INIA) e a Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal (FAEF), onde foram feitos os tratamentos por termoterapia. Esta parte do trabalho foi feita por um estudante da referida Faculdade. Apenas a recolha de dados e análise estatística foram feitos envolvendo as duas Faculdades.

Para alcançar os objectivos, foi seleccionada de entre as várias variedades de mandioca, aquela que mais susceptibilidade mostra ao mosaico africano (*para este estudo foi a variedade Munhaça*). De seguida foram identificadas as parcelas com mandioqueiras desta variedade que apresentavam plantas sem sintomas de mosaico e outras com plantas apresentando sintomas de mosaico com um grau de ataque (*severidade*) de nível 5, segundo escala de Alaux & Frauquet (1987).

Dentro de cada parcela identificou-se e marcou-se plantas que se apresentavam sem sintomas ( $M^-$ ) e com sintomas ( $M^+$ ), após a identificação das plantas, foram recolhidas amostras das mesmas e submetidas ao teste ELISA (*anexo 1*) para se medir a densidade óptica (*OD*) e a presença do vírus nas plantas seleccionadas. Os resultados do teste estão apresentados no anexo 2. Depois de testadas, foram escolhidas aquelas plantas que apresentaram maiores valores de *OD* (plantas com sintomas) e plantas com menores valores de *OD* (plantas sem sintomas).

Para o caso das plantas sem sintomas foram seleccionadas as plantas  $M^-_4$ ,  $M^-_6$  e  $M^-_8$  e as com sintomas foram seleccionadas as plantas  $M^+_6$ ,  $M^+_9$  e  $M^+_{10}$ . Por fim, submetidas ao tratamento por radiação; isto é, irradiação de raios gama, (micro ondas e raios X, respectivamente. Segundo Chambo (2004), quanto ao tratamento por termoterapia foram seleccionadas as plantas  $M^-_3$ ,  $M^-_5$ ,  $M^-_7$  e  $M^-_{10}$  sem sintomas, e as plantas com sintomas seleccionou-se as plantas  $M^+_1$ ,  $M^+_2$ ,  $M^+_8$  e  $M^+_7$  submetidas ao tratamento termoterapêutico à 50°C, 45°C, 40°C e 35°C, respectivamente.

A **Densidade Óptica** é a medida da transparência nos meios transparentes e medida da refractância nos meios opacos. Nos meios transparentes a luz emergente é a luz que o atravessa e nos meios opacos a luz emergente é a luz difundida por ele (<http://www.glossário.CATI.com.<2004/09/15>>)

Esta densidade óptica é medida com base em um aparelho conhecido por Leitor ELISA (*figura 7*). A leitura em alguns casos pode ser feita visualmente, caso se deseje saber se o vírus em estudo é "*positivo*" ou "*negativo*", e este tipo de observações é normalmente chamado de **ELISA qualitativo**. Ainda neste caso, podem ser definidas amostras "*duvidosas*" ou "*indeterminadas*" que talvez possam ser submetidas a outro tipo de teste para a sua confirmação. Para resultados mais precisos, com instrumentos de leitura como um espectrofotômetro ou uma leitora de microplacas por absorbância (*Leitor ELISA*), pode-se obter até mesmo a concentração do vírus na planta. Esta análise é denominada **ELISA quantitativo**, em que normalmente deve-se possuir padrões, com valores de concentração conhecido (<http://www.ELISA.eader.procediment.com.<2004/09/15>>).

O *ELISA* é um teste muito sensível que serve para a identificação de qualquer vírus. Para este estudo, em que se pretendia estudar a mandioca, o teste serviu para identificar o vírus do mosaico africano da mandioca (*ACMV – African Cassava Mosaic Virus*). No anexo 2 está representada a densidade óptica dos testes *ELISA*.

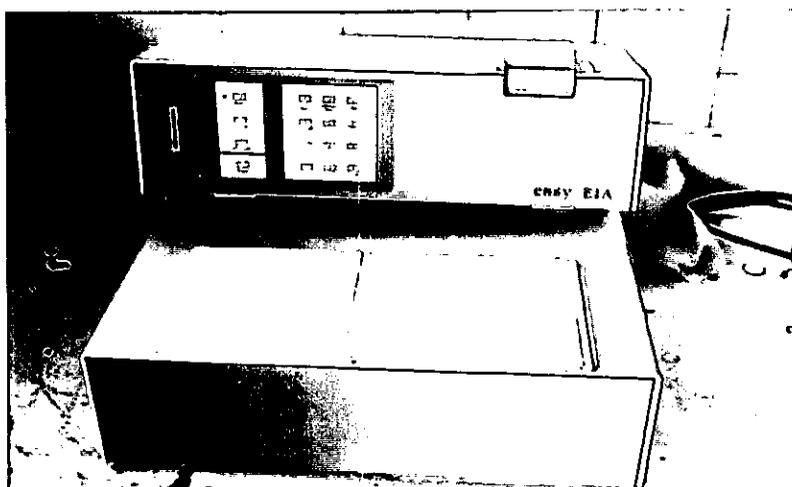


Figura 7: Leitor *ELISA* (*ELISA reader - modelo easy EIA*)

Fonte: M.Basílio (2004)

Por cada planta foram retiradas 26 estacas (24 para os tratamentos e 2 sem tratamento que serviram de controlo); os tratamentos estavam assim distribuídos:

- Termoterapia (4 variações da temperaturas, cada uma em 4 tempos diferentes), como se pode ver na tabela 1.
- Radiação (3 tipos de radiações, cada uma com 4 tempos diferentes); como se pode ver em resumo nas tabelas 2 e 3.

Tabela 1: Esquema de distribuição para estacas submetidas à termoterapia

Tempo (horas)	Temperaturas (°C)			
	35	40	45	50
12	6M <sup>-</sup> <sub>10</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>7</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>7</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>8</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>5</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>2</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>3</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>1</sub>
24	6M <sup>-</sup> <sub>10</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>7</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>7</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>8</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>5</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>2</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>3</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>1</sub>
48	6M <sup>-</sup> <sub>10</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>7</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>7</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>8</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>5</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>2</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>3</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>1</sub>
72	6M <sup>-</sup> <sub>10</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>7</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>7</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>8</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>5</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>2</sub>	6M <sup>-</sup> <sub>3</sub> + 6M <sup>+</sup> <sub>1</sub>

Fonte: J.Chambo,2004

6M<sup>-</sup><sub>n</sub>: 6 estacas da variedade *Munhança*, planta número n, sem sintomas;

6M<sup>+</sup><sub>n</sub>: 6 estacas da variedade *Munhança*, planta número n, com sintomas.

**Tabela 2:** Esquema de distribuição para estacas submetidas à radiação (*raios x e gama*)

Tempo (segundos)	Tipo de radiação	
	Raios gama ( $\gamma$ )	Raios X
0.5	$6M_4^- + 6M_6^+$	$6M_8^- + 6M_{10}^+$
1.0	$6M_4^- + 6M_6^+$	$6M_8^- + 6M_{10}^+$
1.5	$6M_4^- + 6M_6^+$	$6M_8^- + 6M_{10}^+$
2.0	$6M_4^- + 6M_6^+$	$6M_8^- + 6M_{10}^+$

$6M_n^-$ : 6 estacas da variedade *Munhança*, planta número n, sem sintomas;

$6M_n^+$ : 6 estacas da variedade *Munhança*, planta número n, com sintomas.

**Tabela 3:** Esquema de distribuição para estacas submetidas a radiação (*micro-ondas*)

Tempo (segundos)	Tipo de radiação
	Micro-ondas
60	$6M_6^- + 6M_9^+$
120	$6M_6^- + 6M_9^+$
180	$6M_6^- + 6M_9^+$
240	$6M_6^- + 6M_9^+$

$6M_n^-$ : 6 estacas da variedade *Munhança*, planta número n, sem sintomas;

$6M_n^+$ : 6 estacas da variedade *Munhança*, planta número n, com sintomas.

Depois de tratadas, as estacas foram plantadas em bolsas plásticas enchidas de solo previamente esterilizado a 105 °C e colocadas em estufas.

Para a análise foi usado o delineamento casualizado com talhões subdivididos, no qual o tipo de radiação e a temperatura pertenciam ao talhão principal, os tempos de exposição constituíam os sub-talhões, cada um com três repetições e cada repetição tinha duas plantas, no qual foram avaliados os efeitos da radiação, temperatura e tempo de exposição sobre as variáveis brotação das estacas, incidência do vírus mosaico africano, nível de severidade da doença e o comprimento dos brotos.

As observações e medições tiveram o seu início 14 dias depois do plantio, e foram feitas de 7 em 7 dias. Para a análise estatística dos dados foi recomendado o uso do SAS, no qual foi feita a análise de variância ANOVA (anexo 7) com o objectivo de se encontrarem as diferenças significativas entre os tipos de radiações, temperaturas e os tempos de exposição. Estes factores foram submetidos ao teste de Duncan ( $\alpha = 5\%$ ).

#### 4.4 Recolha de dados

##### 4.4.1 Percentagem de brotação (PB)

Obtém-se a percentagem de plantas brotadas contando o número de plantas brotadas por tratamento dividido pelo total de plantas, de acordo com a seguinte fórmula:

$$PB = (\text{Número de plantas brotadas} / \text{Total de plantas}) * 100\% \quad (4)$$

##### 4.4.2 Incidência (I)

Obtém-se a percentagem de plantas com sintomas contando o número de plantas com sintomas dividindo pelo número de plantas germinadas, com base na seguinte fórmula:

$$I = (\text{Número de plantas com sintomas} / \text{Plantas germinadas}) * 100\% \quad (5)$$

##### 4.4.3 Severidade (S)

A severidade de ataque será obtida usando a escala de distribuição de sintomas segundo Alaux & Fauquet (1987):

0 – Sem sintomas.

1 – Mancha amarela cobrindo 1/5 da folha.

2 – Leve distorção na base dos lóbulos, enquanto a parte restante dos lóbulos parece verde e saudável.

3 – Forte padrão do mosaico na folha inteira, estreitamento e distorção do terço inferior dos lóbulos e redução geral do tamanho da folha.

4 – Mosaico acentuado, distorção de 2/3 dos lóbulos e redução geral do tamanho da folha.

5 – Mosaico acentuado, distorção de 4/5 ou mais dos lóbulos, folhas torcidas e disformadas.

O grau de ataque (*severidade*) do vírus na planta é determinado pela seguinte fórmula:

$$S = (P_0 * n_0 + P_1 * n_1 + P_2 * n_2 + P_3 * n_3 + P_4 * n_4 + P_5 * n_5) / N * n_{max} * 100\% \quad (6)$$

Onde :

$P_{0,1,2,\dots,n}$  – Número de plantas atacadas com os níveis 0,1,2,...,n

$n_{0,1,2,\dots,n}$  – Níveis de ataque

N – Número total de plantas atacadas

$n_{max}$  – Nível de ataque máximo

#### **4.4.4 Comprimento dos brotos**

Com uma régua graduada ou um paquímetro mediu-se o comprimento dos brotos para cada planta, e registou-se na respectiva ficha de campo (anexo 8). As plantas que apresentavam dois ou mais brotos tomou-se em consideração o broto com maior comprimento, isto para melhor uniformizar os dados. Nas tabelas do anexo 6, estão ilustrados os comprimentos médios para todos tratamentos por radiação e por termoterapia.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação dos efeitos da radiação e da termoterapia

Durante a realização do estudo, foram feitas várias observações tais como a brotação das estacas, a incidência do vírus do mosaico africano, a severidade da doença na planta e o comprimento dos brotos. Estas observações foram feitas tanto para as estacas submetidas ao tratamento por radiação (*raios x, raios gama e micro ondas*), por termoterapia (*temperaturas que variam dos 35 á 50 °C*) e as que serviram de controlo (sem tratamento).

#### 5.1.1 Efeitos da radiação na brotação das estacas

Em termos de percentagem de brotação para as estacas provenientes de plantas mãe com sintomas e tratadas com radiação, verificou-se que os tratamentos com raios x e raios gama tiveram uma percentagem de brotação igual a 100 %, enquanto que as tratadas por micro ondas não brotaram. Uma das causas da morte das estacas tratadas por micro ondas poderá ser devido ao tempo de exposição, uma vez que as micro ondas emitem energia em forma de calor térmico (*figura 8*).

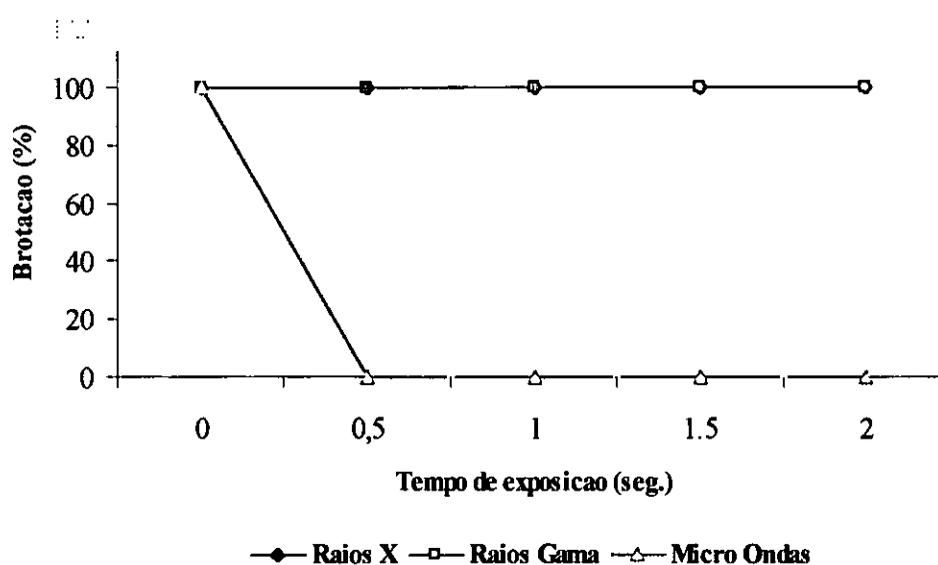


Figura 8: Percentagem de plantas brotadas

Duma forma geral, os resultados da análise de variância (anexo 7) para as plantas inicialmente com sintomas, mostram que os tratamentos por radiação influenciam significativamente na brotação das estacas, podendo observar que o número de plantas brotadas para o caso dos tratamentos por raios x e raios gama não difere significativamente entre si, mas tem efeito significativo quando comparadas com as tratadas com micro ondas.

Para o caso de estacas provenientes de planta mãe sem sintomas, verificou-se que há brotação de estacas em todos os tratamentos, atingindo assim o limite máximo de 100% para as estacas tratadas com os raios x e raios gama. Verificou-se ainda que para o tratamento com micro ondas, apenas estacas expostas a 60 segundos brotaram, obtendo-se assim uma percentagem de 33.3 (anexo 7). Fazendo uma comparação com as plantas infectadas e tratadas com micro ondas que praticamente não brotaram, verifica-se que os tratamentos influenciam no poder de brotação das estacas.

Contudo, comparando estas observações com os resultados dos estudos já realizados em outra culturas, pode-se concluir que os resultados encontrados são aceitáveis, visto que em outros estudos a radiação tem efeitos significativos quanto ao poder de brotação.

### **5.1 2 Efeitos da radiação na incidência do mosaico**

No que diz respeito ao tratamento por radiação para as plantas provenientes de estacas com sintomas podemos constatar que todas elas brotaram e apresentavam sintomas. As tratadas pelos raios x apresentaram a incidência de 79.15% muito inferior comparando com as tratadas com os raios gama que apresentavam 100% de incidência (figura 9), como as estacas tratadas com micro ondas não brotaram, temos assim 0% de incidência. Todas as plantas que brotaram mostram sintomas do mosaico, mas com graus de ataque diferentes, exceptuando as com tratamento de raios x em 1.0 e 1.5 segundos de exposição.

No caso das plantas provenientes de clones não infectados, podemos constatar que os tratamentos com radiação e os respectivos tempos de exposição influenciam significativamente na incidência da virose.

A análise de variância (*anexo 7*), mostra que as percentagens de incidência para as plantas tratadas com os raios x e os raio gama não apresentam diferenças significativas, mas diferem das tratadas com micro ondas, isto porque as submetidas às micro ondas não brotaram.

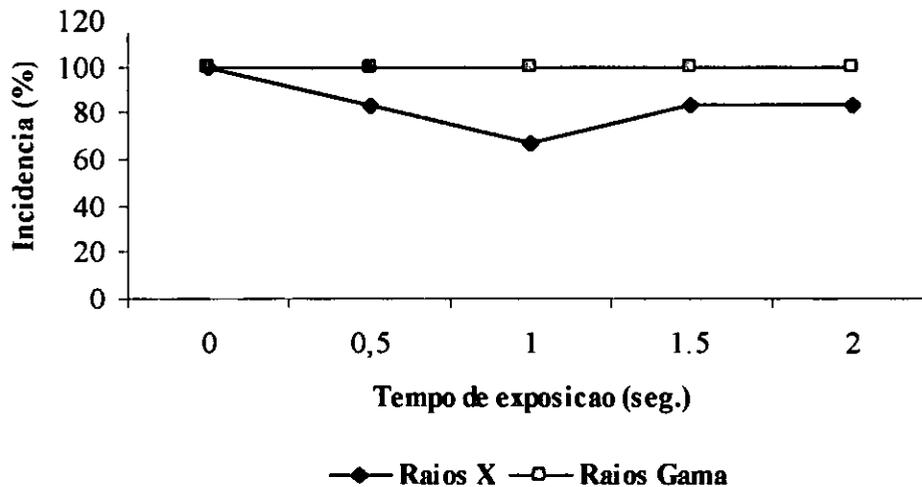


Figura 9: Percentagem de incidência

Segundo estudos anteriormente realizados usando os raios gama, foi possível observar que o tratamento resultaram na obtenção de plantas livres de vírus ou com um nível de incidência reduzido. Neste estudo não foi possível verificar tal situação, visto que os dados acima apresentados mostram uma elevada incidência das plantas depois de tratadas.

### 5.1 3 Efeitos da radiação na severidade do mosaico

Quanto ao tratamento por radiação tomando em conta as plantas provenientes de clones infectados, podemos constatar que todas as plantas que brotaram apresentavam sintomas do mosaico, mas as tratadas com raios x apresentaram 43.3 % de severidade. Este resultado é inferior quando comparado com as submetidas aos raios gama que apresentaram 80% de severidade (*Figura 10*). A análise de variância (*anexo 7*), mostra que as percentagens de severidade para as plantas tratadas com os raios x e raios gama não apresentam diferenças significativas, mas diferem das tratadas com micro ondas; isto porque as submetidas ao tratamento por micro ondas não brotaram.

Em estudos anteriormente realizados usando a radiação, observou-se que o tratamento influencia na brotação de plantas livres do vírus ou com um índice de severidade reduzido, o que não é possível observar neste estudo, visto que os dados acima apresentados mostram um elevado índice de severidade das plantas depois de tratadas. Este facto não era de esperar segundo o princípio de estudo uma vez que estacas provenientes de clones sem sintomas apresentaram elevado grau de severidade. Contudo, os resultados podem ter sido derivados do facto de as estufas não possuírem as condições de isolamento desejadas, fazendo com que o vector de transmissão do vírus possa ter entrado na estufa e transmitido a contaminação da virose entre as plantas.

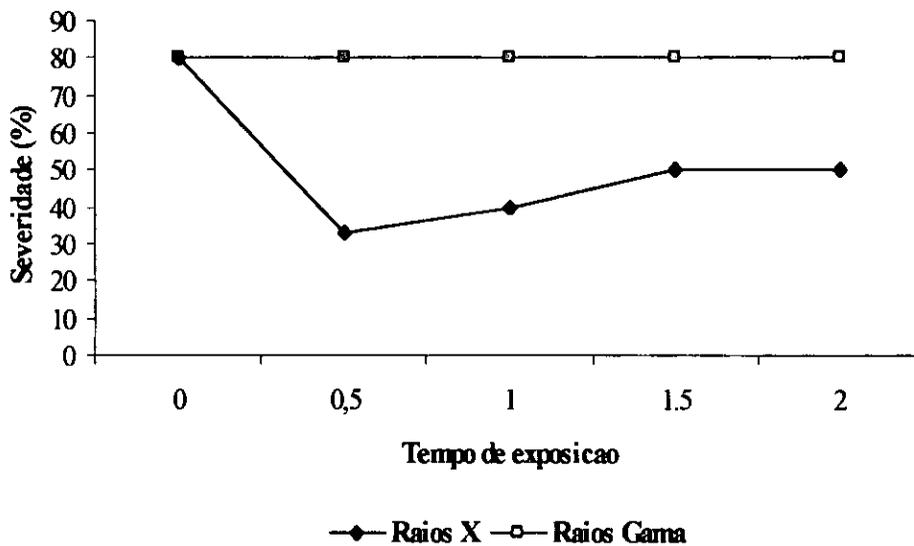


Figura 10: Percentagem de severidade

#### 5.1 4 Efeitos da radiação no comprimento dos brotos

Podemos verificar que as plantas tratadas pelos raios x apresentaram maiores comprimentos dos brotos quando comparadas com as tratadas com os raios gama, isto verifica-se tanto para as plantas provenientes de clone infectados assim como as plantas não infectadas pelo vírus. Os resultados da análise de variância mostram que o tempo de exposição das estacas tem efeito significativo no comprimento dos brotos. Podemos ainda verificar que o comprimento dos brotos é directamente proporcional ao tempo de exposição, como se pode constatar na Figura 11.

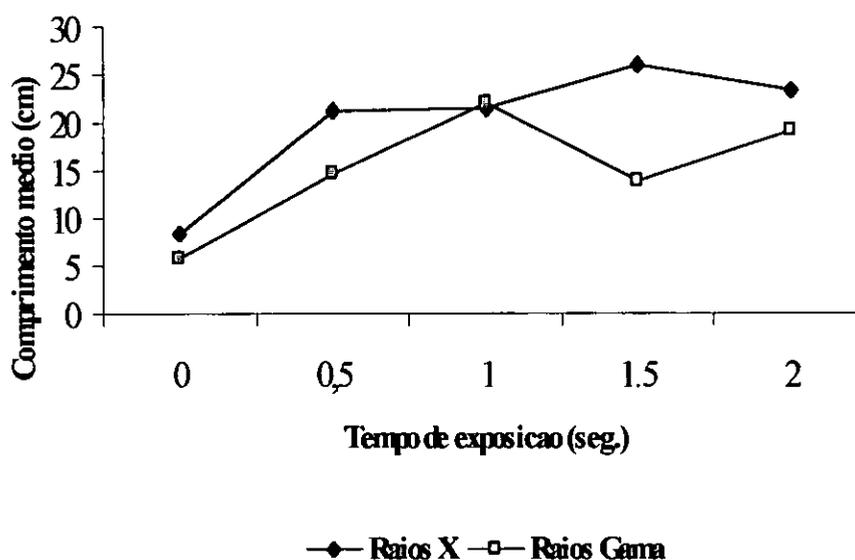


Figura 11: Comprimento médio dos brotos

#### 5.1.5 Efeitos dos tratamentos por termoterapia

As tabelas 4, e 5, mostram de uma forma resumida todos os dados da análise de variância referentes aos tratamentos por termoterapia. Com base nas tabelas, é possível analisar os efeitos significativos que as temperaturas e os respectivos tempos de exposição apresentam em relação aos parâmetros estudados.

Foi possível constatar que plantas expostas a 50 °C não brotaram, e as de 40 e 45 °C não atingiram os 100 % de brotação. Quanto a incidência do mosaico, plantas com sintomas apresentam valores acima dos 50 %. A severidade foi reduzida para todas as plantas que brotaram, com a exceção das plantas sem tratamentos que serviram de controlo. Os comprimentos dos brotos são inversamente proporcionais ao tratamento e ao tempo de exposição, tanto para as plantas com e sem sintomas, respectivamente.

Os resultados da análise de variância poderão ser vistos no anexo 7. Esta análise referente aos tratamentos por termoterapia foi feita em parceria com a FAEF.

**Tabela 4:** Resultados da termoterapia em função da temperatura

<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Amostra</i>	<i>Brotação (%)</i>	<i>Incidência (%)</i>	<i>Severidade (%)</i>	<i>Comprimento médio (cm)</i>
0 S/t	M -	100	50.0	20.0	17.9
	M +	100	100	80.0	9.6
35	M -	100	62.5	19.2	15.4
	M +	100	100	75.6	13.8
40	M -	100	20.8	4.2	17.3
	M +	58.3	81.2	40.6	11.2
45	M -	66.7	0.0	0.0	19.1
	M +	20.8	66.7	61.1	13.4
50	M -	0.0	0.0	0.0	0.0
	M +	0.0	0.0	0.0	0.0

Fonte: J. Chambo (2004)

**Tabela 5:** Resultados da termoterapia em função do tempo de exposição

<i>Tempo (horas)</i>	<i>Amostra</i>	<i>Brotação (%)</i>	<i>Incidência (%)</i>	<i>Severidade (%)</i>	<i>Comprimento médio (cm)</i>
0 (S/t)	M -	100	50.0	20.0	17.9
	M +	100	100	83.3	9.6
12	M -	91.7	50.0	10.0	23.2
	M +	66.7	86.7	51.0	15.6
24	M -	75.0	41.7	11.7	20.0
	M +	70.8	86.7	55.9	14.5
48	M -	66.7	50.0	16.7	12.7
	M +	33.3	86.7	66.7	10.4
72	M -	50.0	50.0	13.4	8.1
	M +	25.0	100	75.0	8.5

Fonte: J. Chambo (2004)

## 6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

### 6.1 Conclusões

- Todas as estacas sem tratamento brotaram, manifestando sintomas do mosaico com grau de ataque entre 4 e 5; e tiveram comprimento dos brotos inferior ao das estacas tratadas.
- Os tratamentos por radiações, raios x e gama, não influenciaram no número de estacas brotadas e na incidência do mosaico.
- O tratamento com micro ondas influenciou negativamente na brotação das estacas.
- Plantas tratadas com raios x manifestaram sintomas da doença embora tenham apresentado um grau de ataque inferior as sem tratamento.
- Os tratamentos com raios x e raios gama influenciaram nos comprimentos dos brotos das plantas.
- Os raios gama não reduziram o grau de ataque do mosaico nas plantas.
- Os tratamentos por raios x reduziram a incidência do mosaico.
- Para o tratamento por raios x, o comprimento dos brotos é directamente proporcional ao tempo de exposição, e para os raios gama é inversamente proporcional.
- Os tratamentos com os raios gama não influenciaram na severidade da virose nas plantas, mas os raios x tiveram efeitos significativos na severidade.
- Os tratamentos por termoterapia e os respectivos tempos de exposição influenciaram significativamente na brotação das estacas e na severidade da doença.
- Os tratamentos com termoterapia afectaram o poder de brotação das estacas, numa forma inversamente proporcional.
- A termoterapia não teve efeitos significativos na incidência do mosaico.
- A termoterapia reduziu o grau de ataque (severidade) principalmente nos tratamentos a 40 °C.
- O tempo de exposição influenciou no comprimento dos brotos das estacas que brotaram principalmente a 12 e 24 horas.

- Para a termoterapia constatou-se que o comprimento dos brotos é inversamente proporcional ao tempo de exposição.
- Existe redução do nível de severidade e da incidência do vírus do mosaico africano no tratamento por termoterapia à temperatura de 40 °C.
- A temperatura teve influência no número de plantas brotadas principalmente a 45 e 50°C.

## 6.2 Recomendações

Face a estas constatações e dentro dos limites do trabalho, recomenda-se para os que pretendam prosseguir nesta área de investigação, o seguinte:

- Estudos semelhantes a estes devem ser acompanhados da cultura de tecidos, para que os tratamentos sejam efectivos;
- Para a radiação, que se façam estudos ao nível genético no material submetido aos tratamentos com a finalidade de se identificar os efeitos que os raios possam ter causado na planta;
- Voltar a fazer os tratamentos com raios gama, mas reduzindo os tempos de exposição para tempos inferiores a 60 segundos, e para a termoterapia não usar tempos de exposição das estacas superiores a 48 horas;
- Estudos sobre a irradiação e termoterapia no controle de doenças nas cultura, tomando em consideração os seguintes parâmetros:
  - O número de nós e de folhas em cada broto ou ramificação;
  - Efeitos da estufa no seu crescimento e desenvolvimento;
  - Uma análise genética, mais concretamente no que diz respeito ao número de cromossomas;
- Repetição deste estudo e trabalhar com os raios x e à temperatura de 40°C, visto que estes tratamentos não apresentam maiores graus de severidade;
- A realização de estudos semelhantes, considerando a redução do tempo de exposição para cada tratamento;
- Repetição do estudo e trabalhando com as mesmas estacas, desta feita submetê-las aos mesmos tempos de exposição;
- Realização do teste ELISA para as estacas tratadas, com a finalidade de se obter o nível de concentração do vírus nas plantas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Alaux, P. J. e Fauquet, C., 1987.** African cassava mosaic disease. CTA, Universa, Wettem Belgica, 50pp.
- **Bushong, S.C., 1999.** Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology and Protection (IRD/CNEN) <http://www.cena.usp.br/irradiacao/espectro.htm>. <2004/01/15> pp 247
- **Carvalho, Jorge M., 1996.** A Energia Nuclear e a Agricultura. IAC, Universidade de Coimbra, 3ª Edição.
- **Casimira, J. F., 1968.** Produção agrícola em Moçambique. Revista de ciências agrárias, Universidade de Moçambique, vol. 1.
- **Chambo, 2004.** Uso de métodos físicos no controle do mosaico africano na mandioca. Tese de Licenciatura em Agronomia, *in press*.
- **DAP, 2000.** Culturas tolerantes as condições edafoclimáticas em Moçambique. INIA, Relatório Anual. Maputo, Moçambique.
- **Fresco, L. O., 1986.** Cassava in shifting cultivation. Royal Tropical Institute.
- **Herz, R.H., 1969.** The phoyographic action of ionizing radiations x and  $\gamma$  rays.
- <http://www.cena.usp.br/irradiacao/espectro.htm>. <2004/01/15>
- <http://www.cfu.ufsc.br/canltan/introd/radiacao/> <2003/09/>
- <http://www.criareplantar.com.br/institucional/parceiros/detalhes.htm> <2004/06/09>
- <http://www.ELISA.eader.procediment.com>. <2004/09/15 >
- <http://www.fisioterapia.htm> <2003/08/10>
- <http://www.glossário.CATI.com>. <2004/09/15>
- <http://www.ib.usp.br/rmsuzuki/limpeza.htm> <2003/10/08
- <http://www.sistemasprodução.cnptia.embrapa.br/Mandioca/mandiocaparautores.htm> <2004/06/09>.
- **Ikotun, T. & Osiky, D.S.O. 1990.** Mandioca na Africa Tropical – ITTA, Nigeria.
- **INIA, 1994.** Cultura da mandioca – Curso de formação em sistemas de produção consociado, 4/6 – 08/09/1994. INIA – DASP.
- **INIA, 2003.** Relatório anual 2001/2002. Relatório da Mandioca. Maputo.

- **Jimenez et al. 1988.** Primeiro Seminário Nacional de Investigação Agrária. Doc. 8 e 9, Maputo. 7 pp.
- **Pitorri, Roberto C., 1993.** Apostila do curso de físicas das radiações e qualidade de imagem radiológica.
- **Renomenjanahary et al., 1980.** Thermotherapy in plant disease.
- **Silvestre et al., 1983.** Le manioc. G-P Maisonneuve et Larose et A.C.C.T. Paris.
- **SNAP/MADER, 2002.** Departamento de Aviso Prévio para a Segurança Alimentar. Banco de dados. Maputo.
- **Thresh et al., 1994.** Doenças do vírus do mosaico e do listrado castanho da mandioca em África. Newsletter of SARRNET and EARRNET. 4<sup>o</sup> Vol.
- **Yavorski, B.M & Detlaf A.A., 1963.** Prontuário de Física, II Edição, Editora MIR Moscovo.
- **Zacarias, A.M., 2003.** Relatório do curso de melhoramento de mandioca.
- **Zacarias, A.M & Cuambe, C.E., 2002.** Caracterização de variedades tolerantes ao CBSD em Moçambique.

## ANEXOS

## 8. ANEXOS

### ANEXO 1: Protocolo DAS ELISA, alkaline phosphatase label

#### **1º Passo: coating antibody**

— Preparar o coating buffer (pH 9,6):

1 capsula carbonate – bicarbonate (SIGMA) -----100 ml de Água destilada, esterilizada.

— Diluir o anticorpo na solução de coating buffer (1 : 200):

1 µl do anticorpo-----200 µl de solução de coating buffer

Para uma placa

<b>50 µl anticorpo</b> <b>10 ml coating buffer</b>
---

— Incubar em camara humida por 4 horas, temperatura ambiente ou overnight (4°C)

— Lavar a placa, 1º esvaziar os orificios; lavar 4 – 5 vezes com PBS Tween (200 µl); secar a placa virada para baixo num papel absorvente.

#### **2º Passo: Maceração do tecido**

— Diluir o extraction buffer (BIOREBA):

1ml extraction buffer-----10 ml de Água destilada e esterilizada

— Macerar o tecido numa proporção de 1:10

(1 g tecido -----10 ml extraction buffer diluido)

Para uma placa

<b>5 ml extraction buffer</b> <b>50 ml H<sub>2</sub>O destilada e esterilizada</b>
---

— Incubar em camara humida por 2 horas, a temperatura ambiente.

— Lavar a placa com PBS Tween 4 – 5 vezes, (200 µl).

#### **3º Passo: Conjugated antibody (enzima conjugada com anticorpo)**

— Diluir o conjugated buffer (1 : 10):

1 ml conjugated buffer-----10 ml de Água destilada esterilizada

— Diluir o anticorpo – Alk Phos Enzime Conjugate :

1 µl anticorpo – Alk Phos Enzime Conjugate-----200 µl conjugated buffer diluido.

Para uma placa

<b>50 µl α- Alk Phos Enzime Conjugate</b> <b>10 ml conjugate buffer diluido</b>
--

— Incubar em câmara húmida por 2 horas, a temperatura ambiente.

— Lavar a placa com PBS Tween 4 – 5 vezes, (200 µl).

**4º Passo: Substrato**

— Diluir o substrate buffer :

1 ml substrate buffer-----5 ml de Água destilada e esterilizada  
(uma placa)

10 ml de Água destilada e esterilizada-----2 ml de substrate buffer

Para uma placa

**2 comprimidos de PNP**  
**10 ml de substrate buffer diluído**

— Incubar em câmara húmida por 30 – 60 minutos.

Parar a reacção com 50 µl (1 gota) de NaOH 3M por orifício.

**ANEXO 2 : Resultados dos testes ELISA**

**Tabela 1 A2: Resultados do testes ELISA 1 (Amostra, sintomas, OD)**

Amostra	Sintomas (Severidade)	ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)				
		+/-	OD <sub>1</sub>	OD <sub>2</sub>	OD <sub>3</sub>	Valor médio
M <sub>1</sub> <sup>-</sup>	0	--	0043	0039	0045	0042.33
M <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0	--	0042	0060	0040	0047.33
M <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0	---	0038	0033	0043	0038.00
M <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0	----	0034	0033	0038	0035.00
M <sub>5</sub> <sup>-</sup>	0	---	0040	0039	0043	0040.67
M <sub>6</sub> <sup>-</sup>	0	---	0040	0038	0040	0039.33
M <sub>7</sub> <sup>-</sup>	0	----	0029	0041	0040	0036.67
M <sub>8</sub> <sup>-</sup>	0	----	0028	0010	0035	0024.33
M <sub>9</sub> <sup>-</sup>	0	----	0040	0042	0045	0042.33
M <sub>10</sub> <sup>-</sup>	0	---	0039	0038	0042	0039.67
M <sub>1</sub> <sup>+</sup>	5	++	0133	0152	0131	0138.67
M <sub>2</sub> <sup>+</sup>	5	++	0103	0120	0100	0107.67
M <sub>3</sub> <sup>+</sup>	5	+/-	0061	0061	0066	0062.67
M <sub>4</sub> <sup>+</sup>	5	--	0043	0039	0046	0042.67
M <sub>5</sub> <sup>+</sup>	5	--	0043	0040	0045	0042.67
M <sub>6</sub> <sup>+</sup>	5	++	0150	0146	0151	0149.00
M <sub>7</sub> <sup>+</sup>	5	++	0139	0120	0151	0136.67
M <sub>8</sub> <sup>+</sup>	5	++	0134	0115	0147	0132.00
M <sub>9</sub> <sup>+</sup>	5	+	0070	0069	0075	0071.33
M <sub>10</sub> <sup>+</sup>	5	++	0141	0143	0147	0143.67

M<sub>n</sub><sup>-</sup>: planta número n, da variedade **Munhança**, sem sintomas;

M<sub>n</sub><sup>+</sup>: planta número n, da variedade **Munhança**, com sintomas;

Severidade: grau de ataque da doença na planta, numa escala de 0 a 5;

ANEXO 3: Percentagem de plantas brotadas

Tabela 1 A3: Percentagem de plantas brotadas/vivas para a radiação

Radiação	Tempo (seg.)	Amostra	Plantas brotadas / vivas(%)						
			Observações						
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	
Raios X	0.5	M8-	83.3	100	100	100	100	100	
		M10+	100	100	100	100	100	100	
	1.0	M8-	100	100	100	100	100	100	
		M10+	100	100	100	100	100	100	
	1.5	M8-	100	100	100	100	100	100	
		M10+	100	100	100	100	100	100	
	2.0	M8-	100	100	100	100	100	100	
		M10+	100	100	100	100	100	100	
	S/t	M8-	100	100	100	100	100	100	
		M10+	100	100	100	100	100	100	
	Raios Gama ( $\gamma$ )	0.5	M4-	100	100	100	100	100	100
			M6+	100	100	100	100	100	100
1.0		M4-	100	100	100	100	100	100	
		M6+	66.7	100	100	100	100	100	
1.5		M4-	100	100	100	100	100	100	
		M6+	83.3	83.3	83.3	100	100	100	
2.0		M4-	83.3	100	100	100	100	100	
		M6+	100	100	100	100	100	100	
S/t		M4-	100	100	100	100	100	100	
		M6+	100	100	100	100	100	100	
Micro Ondas		60	M6-	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3
			M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	120	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	180	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	240	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	S/t	M6-	100	100	100	100	100	100	
		M9+	100	100	100	100	100	100	

Tabela 2 A3: Percentagem de plantas brotadas/vivas para a termoterapia

Temperatura	Tempo (Horas)	Amostra	Plantas brotadas/vivas (%)					
			Observações					
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª
35° C	12	M10-	0.0	100	100	100	100	100
		M7+	33.3	100	100	100	100	100
	24	M10-	33.3	100	100	100	100	100
		M7+	50.0	100	100	100	100	100
	48	M10-	0.0	66.7	100	100	100	100
		M7+	0.0	100	100	100	100	100
	72	M10-	0.0	33.3	100	100	100	100
		M7+	0.0	100	100	100	100	100
	S/t	M10-	0.0	100	100	100	100	100
		M7+	0.0	100	100	100	100	100
40° C	12	M7-	16.7	100	100	100	100	100
		M8+	100	100	100	100	100	100
	24	M7-	100	100	100	100	100	100
		M8+	25.0	100	100	100	100	100
	48	M7-	0.0	83.3	100	100	100	100
		M8+	0.0	0.0	0.0	33.3	33.3	33.3
	72	M7-	0.0	0.0	0.0	100	100	100
		M8+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S/t	M7-	0.0	100	100	100	100	100
		M8+	75.0	100	100	100	100	100
45° C	12	M5-	50.0	66.7	83.3	100	100	100
		M2+	0.0	16.7	16.7	16.7	16.7	16.7
	24	M5-	83.3	100	100	100	100	100
		M2+	33.3	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
	48	M5-	0.0	0.0	33.3	66.7	66.7	66.7
		M2+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	72	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M2+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S/t	M5-	66.7	66.7	83.3	100	100	100
		M2+	100	100	100	100	100	100
50° C	12	M3-	33.3	50.0	50.0	50.0	66.7	66.7
		M1+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M1+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	48	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M1+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	72	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M1+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S/t	M3-	75	100	100	100	100	100
		M1+	100	100	100	100	100	100

Fonte: Chambo, 2004

ANEXO 4: Percentagem de incidência

Tabela 1 A4: Percentagem de incidência para a radiação

Radiação	Tempo (seg.)	Amostra	Incidência (%)						
			Observações						
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	
Raios X	0.5	M8-	0.0	0.0	16.7	16.7	33.3	66.7	
		M10+	0.0	16.7	33.3	33.3	83.3	83.3	
	1.0	M8-	0.0	0.0	0.0	33.3	50.0	66.7	
		M10+	0.0	50.0	50.0	66.7	66.7	66.7	
	1.5	M8-	0.0	0.0	33.3	50.0	66.7	83.3	
		M10+	0.0	16.7	33.3	33.3	66.7	83.3	
	2.0	M8-	0.0	0.0	16.7	16.7	33.3	50.0	
		M10+	0.0	33.3	33.3	50.0	83.3	83.3	
	S/t	M8-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M10+	0.0	100	100	100	100	100	
	Raios Gama ( $\gamma$ )	0.5	M4-	0.0	0.0	0.0	0.0	33.3	50.0
			M6+	0.0	0.0	0.0	33.3	83.3	100
1.0		M4-	0.0	0.0	0.0	0.0	33.3	50.0	
		M6+	0.0	16.7	33.3	66.7	83.3	100	
1.5		M4-	0.0	0.0	0.0	16.7	50.0	66.7	
		M6+	0.0	0.0	0.0	50.0	66.7	100	
2.0		M4-	0.0	0.0	16.7	33.3	66.7	83.3	
		M6+	0.0	0.0	66.7	83.3	100	100	
S/t		M4-	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0	50.0	
		M6+	0.0	100	100	100	100	100	
Micro Ondas		60	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M9+	*	*	*	*	*	*
	120	M6-	*	*	*	*	*	*	
		M9+	*	*	*	*	*	*	
	180	M6-	*	*	*	*	*	*	
		M9+	*	*	*	*	*	*	
	240	M6-	*	*	*	*	*	*	
		M9+	*	*	*	*	*	*	
	S/t	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	100	100	100	100	100	100	

\* Não houve brotação das estacas

Tabela 2 A4: Percentagem de incidência para a termoterapia

Temperatura	Tempo (Horas)	Amostra	Incidência (%)						
			Observações						
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	
35° C	12	M10-	*	0.0	0.0	0.0	16.7	50.0	
		M7+	0.0	0.0	50.0	50.0	100	100	
	24	M10-	0.0	0.0	0.0	16.7	50.0	66.7	
		M7+	0.0	0.0	0.0	50.0	83.3	100	
	48	M10-	*	0.0	0.0	0.0	50.0	66.7	
		M7+	*	0.0	0.0	0.0	83.3	100	
	72	M10-	*	0.0	0.0	0.0	50.0	66.7	
		M7+	*	0.0	0.0	50.0	66.7	100	
	S/t	M10-	*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M7+	*	0.0	50.0	50.0	100	100	
	40° C	12	M7-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M8+	0.0	0.0	0.0	33.3	100	100
24		M7-	0.0	0.0	0.0	0.0	16.7	16.7	
		M8+	0.0	0.0	0.0	0.0	66.7	66.7	
48		M7-	*	0.0	0.0	16.7	33.3	33.3	
		M8+	*	*	*	33.3	33.3	50.0	
72		M7-	*	*	*	0.0	16.7	33.3	
		M8+	*	*	*	*	*	*	
S/t		M7-	*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M8+	0.0	0.0	25.0	50.0	100	100	
45° C		12	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M2+	*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M2+	0.0	0.0	0.0	33.3	66.7	66.7	
	48	M5-	*	*	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M2+	*	*	*	*	*	*	
	72	M5-	*	*	*	*	*	*	
		M2+	*	*	*	*	*	*	
	S/t	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M2+	0.0	0.0	33.3	50.0	100	100	
	50° C	12	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M1+	*	*	*	*	*	*
24		M3-	*	*	*	*	*	*	
		M1+	*	*	*	*	*	*	
48		M3-	*	*	*	*	*	*	
		M1+	*	*	*	*	*	*	
72		M3-	*	*	*	*	*	*	
		M1+	*	*	*	*	*	*	
S/t		M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0	
		M1+	0.0	0.0	16.7	40.0	60.0	100	

Fonte: Chambo, 2004

\* Não houve brotação das estacas

ANEXO 5: Percentagem da severidade

Tabela 1 A5: Percentagem de severidade para a radiação

Radiação	Tempo (seg.)	Amostra	Severidade (%)						
			Observações						
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	
Raios X	0.5	M8-	0.0	0.0	3.3	6.7	13.3	20.0	
		M10+	0.0	3.3	3.3	6.7	23.3	33.3	
	1.0	M8-	0.0	0.0	0.0	3.3	13.3	20.0	
		M10+	0.0	10.0	23.3	30.0	33.3	40.0	
	1.5	M8-	0.0	0.0	6.7	10.0	20.0	23.3	
		M10+	0.0	3.3	13.3	20.0	36.7	50.0	
	2.0	M8-	0.0	0.0	3.3	3.3	13.3	20.0	
		M10+	0.0	6.7	13.3	23.3	43.3	50.0	
	S/t	M8-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M10+	0.0	30.0	40.0	50.0	60.0	80.0	
	Raios Gama ( $\gamma$ )	0.5	M4-	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	10.0
			M6+	0.0	0.0	0.0	20.0	56.7	80.0
1.0		M4-	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	13.3	
		M6+	0.0	3.3	13.3	33.3	63.3	80.0	
1.5		M4-	0.0	0.0	0.0	3.3	16.7	23.3	
		M6+	0.0	0.0	0.0	20.0	40.0	80.0	
2.0		M4-	0.0	0.0	6.7	16.7	33.3	43.3	
		M6+	0.0	0.0	26.7	50.0	63.3	80.0	
S/t		M4-	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0	20.0	
		M6+	0.0	40.0	50.0	60.0	70.0	80.0	
Micro Ondas		60	M6-	*	*	*	*	*	*
			M9+	*	*	*	*	*	*
	120	M6-	*	*	*	*	*	*	
		M9+	*	*	*	*	*	*	
	180	M6-	*	*	*	*	*	*	
		M9+	*	*	*	*	*	*	
	240	M6-	*	*	*	*	*	*	
		M9+	*	*	*	*	*	*	
	S/t	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	40.0	50.0	60.0	70.0	80.0	

\* Não houve brotação das estacas

Tabela 2 A5: Percentagem da severidade para a termoterapia

Temperatura	Tempo (Horas)	Amostra	Severidade (%)						
			Observações						
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	
35° C	12	M10-	*	0.0	0.0	0.0	3.3	10.0	
		M7+	0.0	0.0	0.0	0.0	26.7	66.7	
	24	M10-	0.0	0.0	0.0	3.3	13.3	20.0	
		M7+	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	70.0	
	48	M10-	*	0.0	0.0	0.0	13.3	26.7	
		M7+	*	0.0	0.0	0.0	0.0	73.3	
	72	M10-	*	0.0	0.0	0.0	10.0	20.0	
		M7+	*	0.0	0.0	0.0	0.0	70.0	
	S/t	M10-	*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M7+	*	0.0	0.0	0.0	20.0	80.0	
	40° C	12	M7-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M8+	0.0	0.0	0.0	6.7	16.7	20.0
24		M7-	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3	3.3	
		M8+	0.0	0.0	0.0	0.0	13.3	20.0	
48		M7-	*	0.0	0.0	3.3	6.7	6.7	
		M8+	*	*	*	13.3	20.0	20.0	
72		M7-	*	*	*	0.0	3.3	6.7	
		M8+	*	*	*	*	*	*	
S/t		M7-	*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M8+	0.0	0.0	5.0	30.0	60.0	90.0	
45° C		12	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M2+	*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M2+	0.0	0.0	0.0	6.7	16.7	26.7	
	48	M5-	*	*	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M2+	*	*	*	*	*	*	
	72	M5-	*	*	*	*	*	*	
		M2+	*	*	*	*	*	*	
	S/t	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M2+	0.0	0.0	6.7	30.0	50.0	80.0	
	50° C	12	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
			M1+	*	*	*	*	*	*
24		M3-	*	*	*	*	*	*	
		M1+	*	*	*	*	*	*	
48		M3-	*	*	*	*	*	*	
		M1+	*	*	*	*	*	*	
72		M3-	*	*	*	*	*	*	
		M1+	*	*	*	*	*	*	
S/t		M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20	
		M1+	0.0	0.0	10.0	30.0	50.0	70.0	

Fonte: Chambo, 2004

\* Não houve brotação das estacas

ANEXO 6: Comprimento médio dos brotos

Tabela 1 A6: Comprimento médio dos brotos radiação

Radiação	Tempo (seg.)	Amostra	Comprimento dos brotos (cm)						
			Observações						
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	
Raios X	0.5	M8-	5.2	9.3	11.3	19.8	24.3	27.7	
		M10+	6.9	9.8	11.7	16.8	18.7	21.2	
	1.0	M8-	8.2	11.3	14.4	21.9	25.8	33.5	
		M10+	6.8	9.9	12.4	15.9	18.2	21.7	
	1.5	M8-	8.0	12.8	16.0	24.3	29.3	33.7	
		M10+	9.9	15.8	17.8	23.3	24.4	26.1	
	2.0	M8-	9.5	15.0	18.3	29.4	32.6	40.8	
		M10+	7.1	11.1	13.9	19.3	21.4	23.5	
	S/t	M8-	3.7	5.0	7.1	9.6	12.2	14.0	
		M10+	0.6	1.8	3.6	4.4	6.0	8.3	
	Raios Gama ( $\gamma$ )	0.5	M4-	6.7	9.7	13.3	22.2	26.4	34.3
			M6+	3.5	4.2	5.8	9.4	11.8	14.8
1.0		M4-	4.3	6.6	9.0	14.4	20.1	26.4	
		M6+	4.5	7.3	9.3	14.6	18.3	22.1	
1.5		M4-	5.6	9.2	12.7	20.6	22.8	30.0	
		M6+	3.2	4.6	5.8	8.3	10.3	14.0	
2.0		M4-	6.0	9.7	13.9	23.7	26.9	34.0	
		M6+	4.3	5.3	7.7	16.0	18.5	19.3	
S/t		M4-	3.5	5.8	9.4	14.8	18.2	25.0	
		M6+	1.4	2.3	3.0	3.5	4.7	5.8	
Micro Ondas		60	M6-	4.3	6.8	9.7	11.0	14.9	16.8
			M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	120	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	180	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	240	M6-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		M9+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	S/t	M6-	3.7	6.5	8.9	11.2	13.6	15.0	
		M9+	0.6	1.1	1.9	2.6	3.2	4.8	

Tabela 2 A6: Comprimento médio dos brotos para a termoterapia

Temperatura	Tempo (Horas)	Amostra	Comprimento dos brotos (cm)					
			Observações					
			1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª
35° C	12	M10-	0.0	4.6	7.3	13.8	18.4	25.3
		M7+	1.7	2.8	3.8	6.3	9.8	15.3
	24	M10-	1.9	4.8	6.5	10.2	12.9	16.8
		M7+	1.9	3.9	5.0	8.1	11.8	18.4
	48	M10-	0.0	2.2	3.4	5.9	8.6	10.8
		M7+	0.0	1.7	2.8	4.2	7.0	12.5
	72	M10-	0.0	1.7	2.6	5.1	8.1	9.8
		M7+	0.0	1.8	2.5	4.0	6.3	8.5
	S/t	M10-	0.0	0.9	2.8	5.9	9.5	13.0
		M7+	0.0	1.9	2.8	4.3	6.5	7.8
40° C	12	M7-	1.8	3.3	5.3	11.1	15.8	24.2
		M8+	1.7	4.7	6.3	10.0	12.8	16.7
	24	M7-	2.4	5.0	7.2	12.4	15.3	19.8
		M8+	0.8	1.5	2.3	3.8	4.4	9.0
	48	M7-	0.0	4.9	6.9	11.0	15.2	19.3
		M8+	0.0	0.0	0.0	0.6	1.3	2.0
	72	M7-	0.0	0.0	0.0	1.7	3.0	6.4
		M8+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S/t	M7-	0.0	1.2	4.1	9.2	13.5	15.8
		M8+	0.9	1.4	2.8	4.8	6.5	8.5
45° C	12	M5-	3.6	6.4	9.0	14.5	18.3	20.8
		M2+	0.0	4.0	8.0	9.5	10.7	11.6
	24	M5-	3.3	5.9	8.2	13.9	18.8	23.4
		M2+	0.6	3.9	7.5	11.9	12.6	14.6
	48	M5-	0.0	0.0	0.5	1.5	2.9	3.8
		M2+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	72	M5-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M2+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S/t	M5-	1.2	4.9	7.9	15.1	20.8	28.8
		M2+	1.2	4.3	8.1	10.1	11.3	12.5
50° C	12	M3-	4.7	8.5	15.0	17.5	18.8	22.3
		M1+	2.8	4.8	6.7	8.8	11.6	15.5
	24	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M1+	0.0	3.7	5.9	7.6	9.9	11.7
	48	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M1+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	72	M3-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		M1+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S/t	M3-	1.5	4.0	8.9	10.4	12.8	14.3
		M1+	0.8	2.9	4.9	6.8	8.8	9.5

Fonte: Chambo, 2004

ANEXO 7: Resultados da análise de variância (ANOVA)

Tabela 1 A7: Resultados da análise de variância – Brotação das estacas (M+)

Source	D.F	Type III SS	Mean Square	F. Value	Prob > F
Radiação	2	9.14	4.57	-----	0.0001
Tempo	4	0.62	0.15	-----	0.0001

R-Square	Coeff. Var	Root MSE	Brot. Mean
1.0	0.0	0.0	1.69

Tabela 2 A7: Resultados da análise de variância – Severidade (M+)

Source	D.F	Type III SS	Mean Square	F. Value	Prob > F
Radiação	2	23.05	11.52	16.34	0.0001
Tempo	4	4.60	1.15	1.63	0.18

R-Square	Coeff. Var	Root MSE	Sever. Mean
0.61	20.06	0.83	4.19

Tabela 3 A7: Resultados da análise de variância – Comprimento dos brotos (M+)

Source	D.F	Type III SS	Mean Square	F. Value	Prob > F
Radiação	2	267.51	133.76	2.99	0.0606
Tempo	4	765.38	191.34	4.28	0.0053

R-Square	Coeff. Var	Root MSE	Compr. Mean
0.48	35.61	6.68	18.77

Tabela 4 A7: Resultados da análise de variância – Comprimento dos brotos (M+)

Source	D.F	Type III SS	Mean Square	F. Value	Prob > F
Tempertura	3	6.21	2.07	26.74	0.0001
Tempo	4	5.78	1.44	18.70	0.0001

R-Square	Coeff. Var	Root MSE	Brot. Mean
0.75	18.19	0.28	1.53

Tabela 5 A7: Resultados da análise de variância – Severidade da doença (M+)

Source	D.F	Type III SS	Mean Square	F. Value	Prob > F
Tempertura	3	22.78	7.59	12.40	0.0001
Tempo	4	24.85	6.21	10.14	0.0001

R-Square	Coeff. Var	Root MSE	Sever. Mean
0.76	20.99	0.78	3.73

**Tabela 6 A7: Resultados da análise de variância – Incidência (M+)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Tempertura	3	0.99	0.33	5.28	0.0037
Tempo	4	0.41	0.10	1.64	0.1838

<b>R-Square</b>	<b>Coeff. Var</b>	<b>Root MSE</b>	<b>Incid. Mean</b>
0.45	13.09	0.25	1.91

**Tabela 7 A7: Resultados da análise de variância – Comprimento dos brotos (M+)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Tempertura	3	145.90	48.63	1.09	0.3654
Tempo	4	441.98	110.49	2.47	0.05

<b>R-Square</b>	<b>Coeff. Var</b>	<b>Root MSE</b>	<b>Incid. Mean</b>
0.36	52.03	6.69	12.17

**Tabela 8 A7: Resultados da análise de variância – Brotação das estacas (M+)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Radiação	2	7.68	3.84	181.50	0.0001
Tempo	4	0.68	0.17	8.08	0.0001

<b>R-Square</b>	<b>Coeff. Var</b>	<b>Root MSE</b>	<b>Brot. Mean</b>
0.92	8.46	0.15	1.72

**Tabela 9 A7: Resultados da análise de variância – Comprimento dos brotos (M-)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Radiação	2	263.68	131.84	1.94	0.1562
Tempo	4	986.91	246.727	3.63	0.0123

<b>R-Square</b>	<b>Coeff. Var</b>	<b>Root MSE</b>	<b>Compr. Mean</b>
0.46	27.12	8.25	30.41

**Tabela 10 A7: Resultados da análise de variância – Brotação das estacas (M-)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Tempertura	3	6.38	2.13	67.0	0.0001
Tempo	4	2.79	0.69	22.01	0.0001

<b>R-Square</b>	<b>Coeff. Var</b>	<b>Root MSE</b>	<b>Brot. Mean</b>
0.87	10.29	0.18	1.73

**Tabela 11 A7: Resultados da análise de variância – Incidência do vírus (M-)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Tempertura	3	2.16	0.72	4.56	0.0061
Tempo	4	0.97	0.24	1.53	0.2052

<b>R-Square</b>	<b>Coeff. Var</b>	<b>Root MSE</b>	<b>Incid. Mean</b>
0.37	31.17	0.39	1.28

**Tabela 12 A7: Resultados da análise de variância – Severidade da doença (M-)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Tempertura	3	6.33	2.11	6.22	0.0009
Tempo	4	3.01	0.75	2.22	0.0778

**R-Square**                      **Coeff. Var**                      **Root MSE**                      **Sever. Mean**  
 0.44                                  41.74                                  0.58                                  1.39

**Tabela 13 A7: Resultados da análise de variância – Comprimento dos brotos (M-)**

<i>Source</i>	<i>D.F</i>	<i>Type III SS</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F. Value</i>	<i>Prob &gt; F</i>
Tempertura	3	102.28	34.09	0.45	0.7151
Tempo	4	2098.48	524.62	6.99	0.0001

**R-Square**                      **Coeff. Var**                      **Root MSE**                      **Sever. Mean**  
 0.42                                  50.13                                  8.66                                  17.28

**ANEXO 8: Fichas de registo de dados no campo**

**Ficha de registo de dados (Brotação/ Incidência)**

Data:...../...../2004

Cultura:.....

Variedade .....

**Radiação**

Seg	Sint	Raios X			Raios Gama			Micro Ondas		
0.5	+									
	-									
1.0	+									
	-									
1.5	+									
	-									
2.0	+									
	-									
S/t	+									
	-									

\* Os tempos para micro-onda são: 60, 120, 180 e 240 segundos.

S/t – Sem tratamento

**Brotação**

0 – Não brotou

1 – Brotou

**Incidência**

0 – Sem sintomas

1 – Com sintomas

**Ficha de registo de dados (Brotação/ Incidência)**

Data:...../...../2004

Cultura:.....

Variedade .....

**Termoterapia**

Horas	Sint	35° C			40° C			45° C			50° C		
12	+												
	-												
24	+												
	-												
48	+												
	-												
72	+												
	-												
S/t													

S/t - Sem tratamento

**Brotação**

0 - Não brotou

1 - Brotou

**Incidência**

0 - Sem sintomas

1 - Com sintomas

**Ficha de registo de dados Severidade**

Data:...../...../2004

Cultura:.....

Variedade .....

**Radiação**

Seg	Sint	Raios X			Raios Gama			Micro Ondas <sup>*</sup>		
0.5	+									
	-									
1.0	+									
	-									
1.5	+									
	-									
2.0	+									
	-									
S/t	+									
	-									

\* Os tempos para micro-onda são: 60, 120, 180 e 240 segundos.

**S/t – Sem tratamento**

Severidade

0 – Sem sintomas.

1 – Mancha amarela cobrindo 1/5 da folha.

2 – Leve distorção na base dos lóbulos, enquanto a parte restante dos lóbulos parece verde e saudável.

3 – Forte padrão do mosaico na folha inteira, estreitamento e distorção do terço inferior dos lóbulos e redução geral do tamanho da folha.

4 – Mosaico acentuado, distorção de 2/3 dos lóbulos e redução geral do tamanho da folha.

5 – Mosaico acentuado, distorção de 4/5 ou mais dos lóbulos, folhas torcidas e disformes.

**Ficha de registo de dados Severidade**

Data:...../...../2004

Cultura:.....

Variedade .....

**Termoterapia**

Horas	Sint	35° C			40° C			45° C			50° C		
12	+												
	-												
24	+												
	-												
48	+												
	-												
72	+												
	-												
S/t													

S/t – Sem tratamento

Severidade

0 – Sem sintomas.

1 – Mancha amarela cobrindo 1/5 da folha.

2 – Leve distorção na base dos lóbulos, enquanto a parte restante dos lóbulos parece verde e saudável.

3 – Forte padrão do mosaico na folha inteira, estreitamento e distorção do terço inferior dos lóbulos e redução geral do tamanho da folha.

4 – Mosaico acentuado, distorção de 2/3 dos lóbulos e redução geral do tamanho da folha.

5 – Mosaico acentuado, distorção de 4/5 ou mais dos lóbulos, folhas torcidas e disformes

**Ficha de registo de dados Comprimento dos brotos (cm)**

Data:...../...../2004

Cultura:.....

Variedade .....

**Radiação**

Seg	Sint	Raios X			Raios Gama			Micro Ondas*		
0.5	+									
	-									
1.0	+									
	-									
1.5	+									
	-									
2.0	+									
	-									
S/t	+									
	-									

\* Os tempos para micro-onda são: 60, 120, 180 e 240 segundos.

S/t – Sem tratamento

**Ficha de registo de dados Comprimento dos brotos (cm)**

Data:...../...../2004

Cultura:.....

Variedade .....

**Termoterapia**

Horas	Sint	35° C			40° C			45° C			50° C		
12	+												
	-												
24	+												
	-												
48	+												
	-												
72	+												
	-												
S/t													

S/t – Sem tratamento

ANEXO 9: Fotos ilustrativas das características das plantas ao longo do estudo

4.1 Fotos ilustrando os efeitos da Radiação



Figura 12: Estado em que ficaram as estacas submetidas ao tratamento com micro-ondas, desidratadas (Fotos: M. Basílio, 2004).



Figura 13: Plantas de estacas tratadas com raios X, mesmo as com sintomas (b) apresentam um crescimento maior que o de controlo, sintomas bem visíveis para os tempos de 1.5 e 2 segundos. (Fotos: M. Basílio, 2004)



Figura 14: Plantas de estacas tratadas com raios gama, (a) a de 0.5 segundos é maior que a de controlo; (b) as com tratamento apresentam maior crescimento mas praticamente mesmo nível de ataque. (Fotos: M. Basílio, 2004)

#### 4.2 Fotos ilustrando os efeitos da Termoterapia



Figura 15. Estado em que ficaram as estacas após tratamento com 50 °C (Foto: J. Chambo,2004).



Figura 16: Plantas de estacas tratadas a 35 °C. (a) sem sintomas apresentam mesmo crescimento que o controle, (b) com sintomas, mais raquíticas não diferem da sem tratamento. (Foto: J. Chambo,2004).



Figura 17: Plantas de estacas tratadas a 40 °C. (a) sem sintomas, com maior crescimento para as 12, 24 e 48 horas em relação ao controle; (b) plantas com maior crescimento e baixo grau de ataque em relação ao controle. (Foto: J. Chambo,2004)



Figura 18: Plantas de estacas tratadas a 45 °C. (a) a altura decresce com o aumento do tempo de exposição a de 12 horas tem maior altura que a controle; (b) plantas a 48 horas não brotaram, as que brotaram não diferem da de controle. (Foto: J. Chambo,2004).

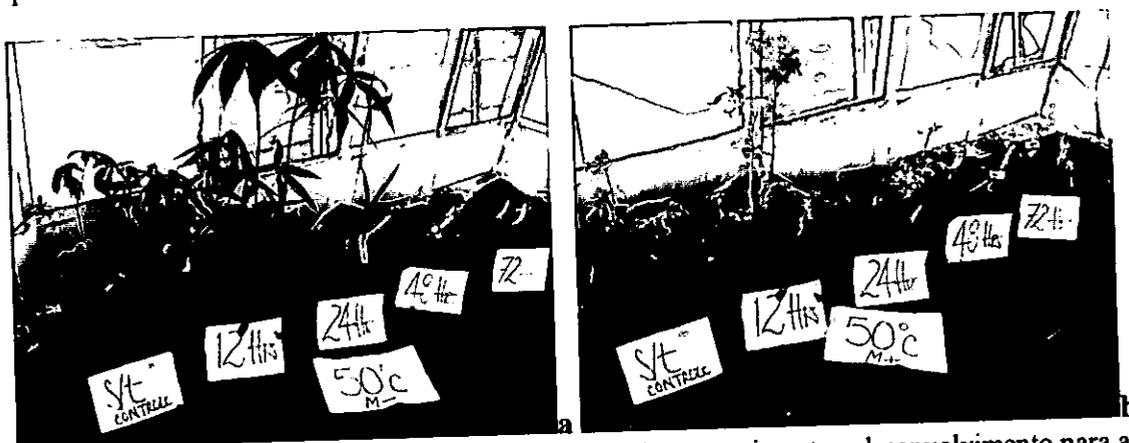


Figura 19: Plantas de estacas tratadas a 50 °C. (a) maior comprimento e desenvolvimento para as de 12 hora (b) a de 12 horas cresce melhor que a sem tratamento. (Foto: J. Chambo,2004).

- (a) Plantas provenientes de estacas sem sintomas.
- (b) Plantas provenientes de estacas com sintomas.