DISSERTAÇÃO

TECNOLOGIA DO BROTO COMO PROPÁGULO NA PRODUÇÃO DE MINITUBÉRCULOS DE BATATA-SEMENTE: AVALIAÇÃO DO ELISA NA DETECÇÃO DE QUATRO VÍRUS REGULAMENTADOS

ANDRESSA BARBOSA GIUSTO

Campinas, SP
2006

INSTITUTO AGRONÔMICO

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL

TECNOLOGIA DO BROTO COMO PROPÁGULO NA PRODUÇÃO DE MINITUBÉRCULOS DE BATATA-SEMENTE: AVALIAÇÃO DO ELISA NA DETECÇÃO DE QUATRO VÍRUS REGULAMENTADOS

ANDRESSA BARBOSA GIUSTO

Orientador: José Alberto Caram de Souza Dias

Dissertação submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Mestre em
Agricultura Tropical e Subtropical
Área de Concentração em Tecnologia de
Produção Agrícola

Campinas, SP
Abril 2006

Ficha elaborada pela bibliotecária do Núcleo de Informação e Documentação do Instituto Agronômico

G538t Giusto, Andressa Barbosa.
Tecnologia do broto como propágulo na produção de minitubérculos de batata-semente: avaliação do ELISA na detecção de quatro vírus regulamentados/ Andressa Barbosa Giusto; Campinas, 2006.
142 fls. : il.....

Orientador: José Alberto Caram de Souza Dias
Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola) – Pós-Graduação – IAC.

1. Vírus – batata-semente. 2. Vírus – avaliação – ELISA
I. Dias, José Alberto Caram de Souza II. Título

CDD 616.9

Ao meu Deus,
Aos meus pais Luiz e Nair,
Aos meus irmãos Andréa, Luizinho e Fátima,
Ao meu noivo Fernando,
À minha prima Larissa,

DEDICO

Ó Criador! Senhor dos fins do mundo,
misericordioso, que dás vida às coisas
e que neste mundo criastes os homens
para que comessem e bebessem,
multiplicai os frutos da terra, as batatas
e os demais alimentos que criastes,
multiplicai-os para que os homens
não padeçam de fome nem miséria,
para que todos se criem,
não haja geada nem granizo;
guardai-os em paz e a salvo!

OFEREÇO

(Prece cerimonial pela safra, tradução Marcos Reinstein)

AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador José Alberto Caram de Souza Dias, pela confiança, ensinamentos, auxílio, atenção, incentivo, paciência e pelos valiosos conselhos transmitidos, que se perpetuarão para uma vida inteira;
- À Fundação de Apoio a Pesquisa Agrícola (FundAg), pela concessão da bolsa de estudos;
- Ao Prof. Ernani Clarete da Silva pela colaboração especial, compreensão e auxílio nas análises estatísticas;
- Ao João Batista pela colaboração nas análises estatísticas;
- Aos funcionários da Fazenda Santa Elisa e da Fazenda Esteira, pela ajuda no decorrer do trabalho;
- À minha família, aos meus irmãos, ao meu noivo: obrigada pela dedicação e apoio em todos os momentos de minha vida;
- A todos que colaboraram para a realização e finalização deste trabalho, pois a vida ordena seguir em frente, trabalhar, agir, esperar e confiar e jamais desistir dos nossos objetivos.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS..... viii
ÍNDICE DE FIGURAS..... ix
RESUMO..... xii
ABSTRACT..... xiv
1 INTRODUÇÃO..... 01
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 05
2.1 Batata, um alimento universal..... 05
2.2 Importância econômica e social da batata..... 06
2.3 Produção: área cultivada, produtividade, mercado..... 07
2.4 Batata-semente: viroses, legislação de tecnologia e produção brasileira..... 08
2.5 Etiologia e sintomas dos vírus regulamentados para a produção de batata-semente nacional..... 10
2.6 Viroses: incidência, produtividade e qualidade de tubérculos semente..... 21
2.7 Sistemas de produção de batata-semente..... 23
2.8 Ciclo da batata..... 28
2.9 Transmissão de vírus: inoculação mecânica e enxertia..... 30
2.10 Detecção de vírus pela técnica sorológica DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzime Linked)..... 31
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 33
3.1 Procedimentos experimental..... 33
3.1.1 Local dos experimentos..... 33
3.1.2 Obtenção do Material..... 33
3.2 Fatores estudados e condução dos experimentos..... 34
3.2.1 Experimento [1]..... 34
3.2.2 Experimento [2]..... 40
3.2.3 Experimento [3]..... 43
3.3 Delineamento estatístico dos experimentos..... 44
3.3.1 Experimento [1]..... 44
3.3.2 Experimento [2]..... 46
3.3.3 Experimento [3]..... 46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 48
4.1 Experimento [1]: Eficiência do teste sorológico DAS-ELISA em tecidos de tubérculos dormentes, broto apical destacado e folhas da planta progênie, na detecção dos quatros vírus regulamentados na produção de batata-semente: PLRV, PVY, PVX e PVS..... 48
4.1.1 DAS-ELISA na detecção do PLRV..... 48
4.1.2 DAS-ELISA na detecção do PVY..... 50
4.1.3 DAS-ELISA na detecção do PVX..... 51
4.1.4 DAS-ELISA na detecção do PVS..... 53
4.2 Experimento [2]: Broto/batata-semente na produção de minitubérculos após submetidos a dois tratamentos recomendados..... 61
4.2.1 Número de haste..... 61
4.2.2 Altura da planta..... 62
4.2.3 Diâmetro horizontal da folha..... 62
4.2.4 Diâmetro vertical da folha..... 63
4.2.5 Número de minitubérculo por planta..... 63
4.2.6 Peso de minitubérculo por planta..... 64

4.3 Experimento [3]: desempenho dos minitubérculos oriundos de brotos/batata-semente nas condições de cultivo em campo..... 72
4.3.1 Produção de tubérculos (kg/ha)..... 72
4.3.2 Número de tubérculos por planta..... 73
5 CONCLUSÕES..... 80
6 REFERÊNCIAS..... 81
7 ANEXOS..... 112
7.1 Anexo I..... 112
7.2 Anexo II..... 113
7.3 Anexo III..... 114
7.4 Anexo IV..... 115
7.5 Anexo V..... 116
7.6 Anexo VI..... 117
7.7 Anexo VII..... 118
7.8 Anexo VIII..... 119
7.9 Anexo IX..... 120
7.10 Anexo X..... 121
7.11 Anexo XI..... 122
7.12 Anexo XII..... 123
7.13 Anexo XIII..... 124
7.14 Anexo XIV..... 124
7.15 Anexo XV..... 125
7.16 Anexo XVI..... 125
7.17 Anexo XVII..... 126
7.18 Anexo XVIII..... 126
7.19 Anexo IXX..... 127
7.20 Anexo XX..... 128

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Variedades estudadas para o PLRV via DAS-ELISA..... 40

Tabela 2- Variedades estudadas para o PVY via DAS-ELISA..... 40

Tabela 3- Variedades estudadas para o PVX via DAS-ELISA..... 40

Tabela 4- Variedades estudadas para o PVS via DAS-ELISA..... 40

Tabela 5- Arranjo fatorial empregado para o tratamento do PLRV via DAS-ELISA com cinco variedades de batata (A) e três origens de tecidos analisados (B)..... 45

Tabela 6- Arranjo fatorial empregado para o tratamento do PVY via DAS-ELISA com cinco variedades de batata (A) e três origens de tecidos analisados (B)..... 45

Tabela 7- Arranjo fatorial empregado para o tratamento do PVX via DAS-ELISA com uma variedade de batata (A) e três origens de tecidos analisados (B)..... 45

Tabela 8- Arranjo fatorial empregado para o tratamento do PVS via DAS-ELISA com uma variedade de batata (A) e três origens de tecidos analisados (B)..... 45

Tabela 9- Médias do PLRV detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA para cinco variedades de batata..... 49

Tabela 10- Médias do PVY detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA para cinco variedades de batata..... 51

Tabela 11- Médias do PVX detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA 52

Tabela 12- Médias do PVS detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA 53

Tabela 13- Teste de Tukey para as médias de produção de tubérculos (kg/ha) das variedades..... 72

Tabela 14- Teste de Tukey para as médias de produção de tubérculos (kg/ha) dos tratamentos químicos..... 73

Tabela 15- Teste de Tukey para as médias de número de tubérculos/planta das variedades..... 74

Tabela 16- Teste de Tukey para as médias de número de tubérculos/planta dos tratamentos químicos..... 74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01- Etapas de extração, adição de suco de broto e lavagem após incubação para diagnose das quatros principais viroses da batata através da técnica DAS-ELISA: **a.** Extração do suco do broto apical destacado, aproximadamente 30 mg; **b.** Adição do suco extraído do broto ou tubérculo dentro de uma cavidade da microplaca, contendo 80µl do tampão de extração; **c.** Microplaca com amostras de suco de broto ou tubérculo, pronta para incubação: 12 a 16 h a 4˚C; **d.** Processo de sucção da amostra; **e.** Após sucção a microplaca passa por cinco lavagens com a Solução de lavagem.....

Figura 02- Microplacas do teste DAS-ELISA, após adição do tampão substrato, mostrando cavidades com coloração amarela, indicando reação antigeno x anticorpo (teste positivo) para cada um dos quatros vírus testados: **a.** PLRV; **b.** PVY; **c.** PVS; **d.** PVX..... 56

Figura 03- Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PLRV em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA para cinco variedades de batata, em 25 repetições com 18 amostras cada.....

Figura 04- Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PVY em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA para cinco variedades de batata, em 25 repetições com 18 amostras cada.....

Figura 05- Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PVX em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA, em 25 repetições com 18 amostras cada..... 58

Figura 06- Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PVS em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA, em 25 repetições com 18 amostras cada..... 59

Figura 07- Efeito do tratamento de broto/batata-semente de tamanho menor (2 a 4 cm) ou maior (5 a 8 cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número médio de hastes por planta..... 65

Figura 08- Efeito do tratamento de broto/batata-semente de tamanho menor (2 a 4 cm) ou maior (5 a 8 cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) na altura média da planta..... 66

Figura 09- Efeito do tratamento de broto/batata-semente de tamanho menor (2 a 4 cm) ou maior (5 a 8 cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no diâmetro horizontal médio da folha..... 67

Figura 10- Efeito do tratamento de broto/batata-semente de tamanho menor (2 a 4 cm) ou maior (5 a 8 cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no diâmetro vertical médio da folha..... 68

Figura 11- Efeito do tratamento de broto/batata-semente de tamanho menor (2 a 4 cm) ou maior (5 a 8 cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número de minitubérculos por planta..... 69

Figura 12- Efeito do tratamento de broto/batata-semente de tamanho menor (2 a 4 cm) ou maior (5 a 8 cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no peso médio dos minitubérculos..... 70

Figura 13- Amostras de minitubérculos produzidos de brotos/batata-semente tratados com o fungicida Maxim© ou como o regulador de crescimento ProGibb© em comparação com o Sem tratamento: **a.** 'Markies' broto menor (2 a 4 cm); **b.** 'Markies' broto maior (5 a 8 cm); **c.** 'Monalisa' broto menor; **d.** 'Monalisa' broto maior; **e.** 'Almera' broto menor; **f.** 'Almera' broto maior; **g.** 'Ágata' broto menor; **h.** 'Ágata' broto maior.....

Figura 14- Efeito do tratamento de minitubérculo (22, 5 a 44,5 mm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) na produção média de tubérculos..... 73

Figura 15- Efeito do tratamento de minitubérculo (22, 5 a 44,5 mm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número médio de tubérculos produção..... 74

Figura 16- Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Ágata: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Sem Tratamento..... 76

Figura 17- Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Almera: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Sem Tratamento..... 77

Figura 18- Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Cupido: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Sem Tratamento..... 78

Figura 19- Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Markies: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Sem Tratamento..... 79

GIUSTO, Andressa Barbosa. Tecnologia do broto como propágulo na produção de minitubérculos de batata-semente: Avaliação do ELISA na detecção de quatro vírus regulamentados. **2006. 128f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola) – Pós-Graduação – IAC.**

RESUMO

A produção e comercialização de batata-semente no Brasil é regulamentada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Percentuais máximos de tolerância são estabelecidos para quatro vírus regulamentados: PLRV, PVY, PVX e PVS. O teste ELISA é a técnica recomendada para essas avaliações. Considerando a inovadora tecnologia do aproveitamento de broto, destacado de tubérculos/batata-semente, como material de propagação (broto/batata-semente), tornou-se necessário responder se os resultados de ELISA determinados em tubérculos/batata-semente correspondem com os dos respectivos brotos/batata-semente. A correlação entre a detecção dos quatro vírus regulamentados, por DAS-ELISA, em três tecidos correspondentes: (1) tubérculo dormente; (2) broto apical destacado; e (3) folhas da planta-progênie, foram avaliadas (Experimento 1). Nesses experimentos utilizou-se lote de tubérculos dormente com incidência superior a 50% de cada vírus, exceto do PVX (incidência de 25%). O resultado DAS-ELISA (405nm) da planta progênie serviu como parâmetro decisivo para a presença (acima de duas vezes a média dos controles negativos) ou ausência do vírus nos tecidos 1 e 2. Foram adotados dois delineamentos, sendo: (a) em blocos casualizados para os vírus PLRV e PVY, com 15 tratamentos e 25 repetições. Os tratamentos representaram um arranjo fatorial de três origens de tecidos correspondentes com 5 variedades de batata; (b) inteiramente casualizados para os vírus PVX e PVS, com 3 tratamentos e 25 repetições, sendo que os tratamentos representam o arranjo de três origens de tecidos correspondentes com 1 variedade de batata. Para os delineamentos, as análises experimentais via DAS-ELISA foram constituídas por 18 tubérculos dormentes. Os resultados indicaram correlação (p5%) na detecção dos vírus, nos três tecidos comparados. Desse modo, o percentual de cada um dos quatro vírus analisados, via DAS-ELISA, em lotes de tubérculos dormentes, pode ser considerado como indicador seguro quanto ao DAS-ELISA de brotos destacados desses lotes. Concluiu-se que: (1) Estando os tubérculos/batata-semente com percentual de vírus dentro dos limites de tolerância, os brotos destacados desses tubérculos apresentarão percentual significativamente correspondente; e, com isso, (2) Torna-se desnecessária a

avaliação de sanidade do lote de broto/batata-semente, exceto na circunstância de infestação de insetos vetores de viroses da batata durante o período de brotação. Nesses estudos, avaliou-se também a produtividade dos brotos, de quatro variedades de batata, na produção de minitubérculos/batata-sementes (Experimento 2) e desses na produção de tubérculos/batata-semente (Experimento 3), sob condições de telado e campo comercial, respectivamente. Tanto os brotos como os minitúberculos foram tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb®. No Experimento 3, os resultados mostraram que, independente do tratamento químico, às variedades estudadas não mostram diferença significativa na produção total de tubérculos em relação ao controle sem tratamento. No Experimento 2, houve diferença significativa (p.5%) na produção em função da interação variedades/tamanho do broto estudado. Os resultados sustentam a alternativa do broto/batata-semente, tanto no aproveitamento deste quando descarte de lotes de tubérculo/batata-semente básica como na importação direta, os resultados obtidos contribuem para a inclusão definitiva da nova tecnologia do broto/batata-semente, nas normas oficiais de certificação.

Palavras-chave: ***Solanum tuberosum*** **L., DAS-ELISA, PLRV, PVY, PVX, PVS.**

GIUSTO, Andressa Barbosa. **The sprout technology for seed-potato minituber production: Evaluation of ELISA in dormant-tuber x sprout x plant progeny leaf tissues for detecting regulated viruses.** 2006. 128f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola) – Pós-Graduação – IAC.

ABSTRACT

Detached sprouts from high grade seed-potato tuber stocks, mainly from the annually imported basic lots, have been moved from discarding dumpers to aphid-proof screen houses, planted as seed-potato propagating material. This shifting has resulted in an innovative technology to produce high grade ("pre-basic"), virus-free seed-potato minitubers. In a recently revised seed-potato production and commercialization normative, the Brazilian Ministry of Agriculture has considered, for the first time, the use of sprouts detached from basic tuber/seed-potato as propagating material ("sprout/seed-potato"). In the normative, four main potato viruses: PLRV; PVY*;* PVX; PVS, have tolerance rates established and tuber-ELISA samples, from each seed-potato lot, indexed. In order to know whether or not the tuber-ELISA sample evaluation, for the four mandatory tested viruses, would correspond with the incidences in detached sprouts this thesis research was carried out aiming (Experiment 1) to determine ELISA correlation between detection of the four regulated viruses in tissues of: (1) dormant seed-potato tubers versus (2) respectively detached sprouts; and (3) plant progeny (daughter) leaves. The leaf-ELISA results were taken as conclusive for the virus (infection) presence. Seed-potato tubers, used for theses studies, were selected from dormant-tubers samples that had shown at least 50% detection for each of the four virus except PVX (25%), as determined on routine tuber/seed-potato ELISA evaluations, at the "APTA-IAC/CPD-Fitossanidade/Laboratório de Viroses da Batata". For result analyses, two delineations were applied: (a) random blocks (composed of 18 dormant tuber samples each) for viruses PLRV and PVY, with 15 treatments and 25 repetitions, with each treatment representing a factorial arrangement of the three corresponding tested tissues (1,2 and 3), with 5 potato varieties; (b) entirely randomized samples (18 dormant tubers each) for viruses PVX and PVS, with 3 treatments and 25 repetitions, while the treatments represent the arrangement of three corresponding tissue of one potato variety. The results indicated that a statistical correlation (Tukey test, p 5%), exist among the antigen detected for each virus in the three compared tissues. Therefore, the percentage for each one of the four analyzed viruses, as determined in a particular

dormant tuber-ELISA, can be accepted and considered representative of the percentage that their detached sprouts would show if indexed by ELISA. Based on these results, it is possible to accept that tuber seed-potato stocks, meeting the tolerance rates for the four regulated virus would not show a significantly different rate when compared with that in its detached sprouts. Therefore, additional sprout-ELISA sample analyses for determining incidence of the same four regulated virus could be not necessary. Exception would be in particular circumstances, such as virus insect vector presence in sprouted tuber seed-potato stocks. In addition to the above studies, two other experiments were carried out. In Experiment 2, the sprout performance of four currently most grown potato varieties were evaluated as to its minituber productivity under aphid-proof screen house conditions; and in Experiment 3, the evaluations were focused on minituber performance in commercial seed-potato field conditions. In either experiment, both sprouts and minitubers were treated with a fungicide trade named Maxim® or with a growth regulator trade named ProGibb®. In Experiment 3, regardless of treatment applied to the minitubers, the results shown no significant differences (p 5%) on total tuber/seed-potato production among the studied varieties, as compared to not treated control plots. In Experiment 2, significant minituber yield differences (p.5%) were observed as a function of variety/sprout-size. Based on these theses results, the alternative sprout/seed-potato system can be considered a feasible and suitable innovative technology for high grade, virus-free minituber/seed-potato production.

Key words: *Solanum tuberosum* L., DAS-ELISA, PLRV, PVY, PVX, PVS.

1 INTRODUÇÃO

A batata *(Solanum tuberosum L.)* é uma das culturas mais afetadas pelas moléstias de vírus. Contribuem para isso os seguintes fatores principais: elevado potencial de inóculo representado por plantas hospedeiras, cultivadas ou de vegetação espontânea; presença de população de vetores praticamente durante todo o ano; dificuldade de reconhecimento de sintomas primários ou da infecção da estação corrente causados pelos vírus sob condições de campo, principalmente em fins de ciclo; e propagação vegetativa por tubérculos contribuindo, como regra, para a perpetuação via tubérculos-filha (batata-semente) da maioria dos vírus que afetavam a planta-mãe, resultando no acúmulo de vírus e impedimento, pelas normas de certificação, o continuado uso de parte da produção como batata-semente para o plantio seguinte. Este último fator é o responsável pela rápida degenerescência do estoque básico de batata-semente, seja de origem importada ou nacional. Esses estoques são geralmente de boa sanidade inicial e se enquadram nas normas oficiais de produção, editadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como a vigente Instrução Normativa Nº 12, de 10 de junho de 2005.

Mesmo quando plantados sob normas de certificação fitossanitária, lotes de batata-semente, com alta sanidade inicial plantados sob sistemas de cultivo altamente tecnificado e, portanto recebendo proteção fitossanitária intensiva, o desafio da rápida degenerescência continua a ser fator limitante na produção de batata-semente brasileira. A limitação para apenas 3 ou 4 gerações ou multiplicações sucessivas, sob condições de campo, faz com que o preço do insumo batata-semente de alta sanidade, livres de vírus, seja superior a 35% dos custos da produção, o que representa 2 a 3 vezes acima dos países da Europa e América do Norte, onde esse fator de degenerescência ocorre de forma mais lenta.

No Brasil, a bataticultura enfrenta, de forma bastante expressiva, o impacto das moléstias causadas particularmente por dois vírus, o *Potato leafroll virus* (PLRV) e o *Potato virus Y* (PVY), este último merece destaque atualmente, por apresentar variantes exóticas, como o PVY^{NTN} que está presente nos principais estados produtores, porém não era relatado no território nacional há até poucos anos atrás.

O PLRV e o PVY são, em geral, disseminados rapidamente nas culturas quando o meio oferece condições favoráveis à multiplicação dos afídeos vetores. Porém, na legislação brasileira outros dois vírus são também restritos e regulamentados: *Potato*

virus X (PVX) e *Potato virus S* (PVS). Esses dois últimos vírus são geralmente considerados de pouca significância econômica além de difícil reconhecimento visual em campo e de rápida re-contaminação pela eficiente transmissão por contato mecânico. São considerados raros no Brasil e praticamente ausentes nos campos de produção de batata-semente certificada. Entretanto, estão presentes como componentes normais em estoques básicos de batata-semente de algumas variedades mais suscetíveis, principalmente as produzidas em países da América do Norte, exportadores de batata-semente para o Brasil.

Buscando reduzir custos com qualidade na obtenção de estoques básicos de batata-semente livres de vírus, diferentes sistemas de produção de batata-semente básica (ou pré-básica), dentro de ambiente protegido (telados anti-afídeos) vêm sendo praticado no Brasil. Esses sistemas visam produzir grandes quantidades de batata-semente livre de vírus a fim de reduzir o número de multiplicações sucessivas, isto é, de plantios em campo para aumento do lote de batata-semente certificada. Entretanto, devido ao alto custo envolvido em todo processo, desde a obtenção do propágulo até o produto final (estoque de batata-semente livre de vírus), esses sistemas ainda limitam-se a poucos produtores. Pelo plantio em alta densidade, visando aproveitamento de espaços, os lotes de batata-semente básica produzidos nesses sistemas são genericamente denominados de 'minitubérculos'.

Entre os sistemas de produção de minitubérculos no Brasil, predomina ainda o de plântulas oriundas de laboratórios de cultura de tecidos, transplantadas e aclimatizadas dentro de telados anti-afídeos.

Na demanda de um sistema de produção de minitubérculos a baixo custo, mas com alta qualidade sanitária e de relativa simplicidade de produção, surgiu à tecnologia de aproveitamento dos brotos como propágulos para a produção de minitubérculos. Esses brotos são destacados de tubérculos de batata-semente de alta sanidade (classe básica importada ou nacional). A prática da desbrota é rotineira e visa eliminar a dominância apical dos brotos nos tubérculos/batata-semente, induzindo a emergência de maior número de brotos de forma mais homogênia. Conseqüentemente, obtém-se maior número de hastes por planta-cova, o que resulta em maior número de tubérculos-filha, por unidade de batata-semente.

Já há alguns anos, toneladas de brotos que sempre tiveram como destino o descarte (lixo), vêm sendo utilizados como material de propagação, produzindo minitubérculos de alta sanidade e livres de vírus, sob condições de telado anti-afídeos.

A técnica do broto para produção de minitubérculos de batata-semente (broto/batata-semente) é uma tecnologia já comprovada na prática em termos de eficiência do ponto de vista fitossanitário; simplicidade de execução; e baixos custos operacionais. Por isso, tem apresentado crescente interesse no segmento da produção de estoque básico de batata-semente ao nível de pequenos e médios produtores. Essa tecnologia vem se expandindo, com resultados de produtividade em campo semelhante aos de minitubérculos produzidos em outros sistemas.

Mais recentemente, as vantagens que a tecnologia do broto/batata-semente oferece quando comparado com o sistema convencional de tubérculo/batata-semente, vêm sendo considerada, no que se refere à possibilidade de se substituir à movimentação (exportação-importação) de estoques básicos de batata-semente na forma convencional de tubérculos de batata-semente para apenas brotos. Dessa forma, a tecnologia do broto/batata-semente apresenta-se promissora na diminuição dos custos com transporte de batata-semente, dos gastos com importação anual desse insumo e no risco da movimentação/introdução/disseminação de microorganismos de solo (geralmente associados à movimentação de batata-semente na forma de tubérculos inteiros).

Foi visando responder as questões sobre a possibilidade e eficácia de detecção das principais viroses da batata-semente em amostra de brotos, quando destinados à produção de minitubérculos, conforme regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para produção de batata-semente (IN - Nº 12), que o presente trabalho procurou avaliar a eficiência do teste de imunodiagnose (DAS-ELISA) para lotes de brotos destinados à produção de minitubérculos com certificado fitossanitário.

O trabalho foi conduzindo visando os seguintes objetivos:

Avaliar a correlação da detecção dos quatros vírus regulamentados para a produção de batata-semente: *Potato leafroll virus* (PLRV), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus S* (PVS), por DAS-ELISA, em três tecidos correspondentes a cada tubérculo: tubérculo dormente, broto apical destacado e folhas da planta progênie.

Avaliar a nova tecnologia do broto/batata-semente em vista à produtividade tanto na fase de broto produzindo minitubérculos dentro de ambiente protegido, como na fase de minitubérculo produzindo tubérculos em campo comercial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Batata, um alimento universal

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a cultura olerácea mais importante não só no Brasil como em todo o mundo. É umas das culturas que desempenham importante papel na nutrição humana, sendo uma das fontes de subsistência da população. É considerada a quarta fonte alimentar da humanidade, situando-se logo após o trigo, milho e arroz (HAWKES, 1993; PEREIRA & DANIELS, 2003).

Entre os brasileiros, a batata não constitui um alimento básico para a população, como ocorrem entre os europeus, norte-americanos e em muitos outros povos latino-americanos (LILJEBERG, 2002). Assim, enquanto há países europeus nos quais o consumo anual médio por pessoa supera os 100 kg, no Brasil não atingem 6 kg (FUNDAÇÃO IBGE, 2005). O grosso da produção é adquirido na forma natural e preparado na cozinha doméstica, em restaurantes, bares e lanchonetes. Mesmo atualmente, ainda é mínima a parcela do consumo constituída por produtos industrializados de batata, embora venha crescendo nos últimos anos, oferecendo boa oportunidade à indústria (MACHADO, 2005; SHYMOYAMA, 2003).

A batata possui uma série de nutrientes importantes para funções vitais do organismo que estão relacionadas com a prevenção e tratamento de doenças. Possui um perfil protéico favorável à sua utilização pelo organismo, sendo considerada de bom valor biológico. Faz parte de uma dieta balanceada, sendo fonte importante de carboidratos, fibra alimentar, potássio, além de outros nutrientes. Apresenta ainda um baixo teor de lipídeos e é isenta de colesterol (ACEVEDO & BRESSANI, 1989; BEHALL et al., 1989; CHAMP & FAISANT, 1996; FREITAS, 2001; PEREIRA et al., 2005).

A batata quando (A) crua, (B) cozida ou (C) frita, segundo dados de FRANCO (1992); IBGE (1997); UNICAMP (2005), um tubérculo de 100g contém: (A) 78,5 (B) 85,3 (C) 274,0 Kcal de Calorias; (A) 1,8 (B) 2,0 (C) 4,3 g de Proteínas; (A) 17,6 (B) 19,1 (C) 36,0 g de Carboidratos; (A) 0,1 (B) 0,1 (C) 13,2 g de Lipídeos; (A) 0,0 (B) 0,0 (C) 0,0 mg de Colesterol; (A) 543,0 (B) 394,0 (C) 305,5 mg de Potássio; (A) 69,0 (B) 56,0 (C) 89,0 mg de Fósforo; (A) 6,0 (B) 4,0 (C) 4,65 mg de Sódio; (A) 0,26 (B) 0,30 (C) 0,25 mg de Vitamina B6; (A) 12,8 (B) 10,0 (C) 8,28 mcg de Folato; (A) 19,7 (B) 13,0 (C) 6,88 mg de Vitamina C; e (A) 1,6 (B) 1,8 (C) 1,21 g de Fibra.

Perante os dados apresentados, segundo PEREIRA et al. (2005), uma dieta com batata contém importante fonte de carboidratos útil em vários processos de controle e manutenção da saúde, apresentando alto índice de saciedade. É importante considerar o modo de preparo deste alimento para melhor benefício nutricional. Assim, a batata cozida teria sua ingestão mais recomendada que outros modos de preparo. Salienta-se a facilidade de preparo, os aspectos culturais relacionados com a sua aceitação e ainda a importância da desmistificação da batata como alimento que engorda e como sendo prejudicial à saúde. Desta forma, podemos tirar proveito dos benefícios nutricionais e funcionais que esse tubérculo pode nos oferecer.

Num mundo em que a população cresce, com incremento maior justamente em regiões de menor desenvolvimento, inclusive agrícola, a batata tem ainda muita contribuição a dar, continuando na sua missão de alimentar à humanidade.

2.2 Importância econômica e social da batata

A bataticultura reveste-se de grande importância econômica e social, com intensa utilização de mão-de-obra, contribuindo significativamente para o mercado de trabalho (AGRICULTURAL, 1998; SÁ, 2001). No Brasil, a produção de batata já foi considerada uma cultura de pequenos produtores, que utilizava principalmente a mão-de-obra familiar, sobretudo no sul de Minas Gerais, maior produtor do país. Somando-se a produção dessa região mais a de outros tradicionais estados produtores, como São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, têm-se 90% da produção nacional. No entanto, o que se observa na cadeia agroindustrial da batata é uma grande mudança em relação ao mapa da produção nos últimos anos. Essa alteração foi possibilitada pelos avanços promovidos pela tecnologia e implementação de novas variedades, bem como pela mudança fundiária e de gerenciamento das propriedades. Novas regiões produtoras surgiram no novo mapa produtivo, destacando-se os estados de Goiás e da Bahia, onde grandes produtores se firmaram e já influenciam tanto na oferta nacional quanto no comportamento dos preços (ZEIRO & DELEO, 2003; SHIMOYAMA, 2004).

O Produto Interno Bruto da cadeia produtiva da batata, envolvendo a geração de renda ao longo da cadeia até a comercialização final ao consumidor, foi estimado em 1,3 bilhões de dólares, anualmente (CAMARGO FILHO, 2001). Em termos sociais, no meio rural brasileiro estima-se que são gerados 40.000 empregos diretos e 120.000 indiretos; além desses, mais 80.000 empregados durante a comercialização. Esta é a

situação atual, entretanto, é viável expandir o consumo interno de batata em 50%, desde que os preços se tornem estáveis e haja estímulo ao consumo de produtos industrializados (CAMARGO FILHO, 2001; CHOER, 2003).

2.3 Produção: área cultivada, produtividade, mercado

A produção mundial de batata, em 2004 atingiu o total de 328,866 milhões de toneladas em uma área de 19,132 milhões de hectares. O Brasil contribui com menos de 1% dessa produção mundial: 2,892 milhões de toneladas em uma área de 138,6 mil hectares. A produtividade da batata brasileira 20.865 kg/ha superou a produtividade média do mundo em 21,3% (FAO, 2005; IUAMATO, 2005).

No mercado internacional, o movimento das importações e exportações da batata brasileira, nos últimos 10 anos (1994 – 2004), vem apresentando flutuações significativas. No ano de 1994 as importações foram de 212.062.710 kg e as exportações foram de 49.004 kg, o que representou US$ 32 milhões em evasão de divisas. Já no ano de 2004 as importações foram de 115.765.616 kg e as exportações foram de 262.691 kg, o que representou US$ 60 milhões em evasão de divisas. Comparando os anos de 1994 e 2004 verificou-se que as importações tiveram pouca redução 45%. Essas variações são sensíveis a pequenas valorizações do real em relação ao dólar americano, acarretando um super abastecimento do mercado interno com a batata de outros países (VILELA et al., 2005).

Em decorrência desse comportamento, entre 1994 a 2004, as importações, relacionadas com o alimento batata, foram responsáveis por aproximadamente US$ 641 milhões de gastos em divisas brasileiras. Os maiores volumes de importação foram de batatas preparadas, conservadas e congeladas (76,8%), sendo seguido pelas batatas frescas (17,6%) e batata-semente (2,1%). Dividindo-se a safra brasileira total de batata pela população de 182.957 mil habitantes, registrada pela FUNDAÇÃO IBGE (2004), obtém a disponibilidade *per capita* da produção de 15,808 kg/habitante. Neste aspecto consumo, em relação à disponibilidade de 15,808 kg/habitante, quando comparada às pesquisas de orçamento familiar realizadas pela FUNDAÇÃO IBGE (2005), obtém-se um consumo anual de 5,271 kg/habitantes. Esse consumo é quase 18 vezes menor que da população norte-americana e européia (CEAGESP, 1998). Essa comparação está associada em parte à maior diversidade do Brasil e disponibilidade de fontes de carboidratos, mas também revela o potencial de aumento de participação da batata na

alimentação brasileira (GODOY, 2001; BOTEON et al., 2005).

O custo médio da produção, em 2004, foi de R$ 13.666,00/ha (AGRIANUAL, 2004). Considerando o valor do dólar médio em 2004 de R$ 2,9259, cada hectare cultivado com batata custou US$ 4.670/ha. Esse custo de produção é superior ao de países da Europa e da América do Norte. Esse fato está associado em grande parte, cerca de 40%, ao insumo batata-semente de alta sanidade em decorrência de elevados gastos com defensivos no controle principalmente de viroses transmitidas por insetos vetores presentes o ano inteiro, situação oposta à dos paises produtores no hemisfério norte (REESTAMAN, 1970; HIRANO, 1998).

2.4 Batata-semente: viroses, legislação e tecnologia de produção brasileira

Entre as viroses causadoras de degenerescência da batata-semente importada, as de maior importância econômica são as transmitidas por afídeos (PUTTEMANS, 1934; 1935; COSTA, 1965; CUPERTINO, 1972; YUKI, 1982; SOUZA-DIAS, 1983ab; ANDRADE & FIGUEIRA, 1991; SLACK; 1993; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d), pois resultam na necessidade de renovação do estoque básico, isto é, na compra periódica, a cada 2 ou 3 ciclos, de lotes de batata-semente de alta sanidade, livre ou com baixo índice de viroses (YUKI, 2002; SOUZA-DIAS, 2002a).

No Brasil, houve a necessidade de se estabelecer um programa de certificação de batata-semente a partir da década de 1930, quando foi verificada a importância das moléstias causadoras de degenerescência da batata-semente. O estoque básico de batata-semente nacional sempre foi, historicamente, suprido pela importação anual desse insumo, chegando a gastos de divisas equivalente a 15 ou 20 milhões de dólares durante a década de 80, com importação de quase 500 mil caixas de 30 kg por ano (SOUZA-DIAS, 2000a).

Atualmente, com os conhecimentos sobre epidemiologia e controle das viroses, bem como de programas oficiais de certificação da produção de batata-semente no país, com conscientização mais generalizada da necessidade de aplicação de técnicas de monitoramento de viroses a cada ciclo de produção, a dependência do estoque básico importado vem sendo bastante reduzida.

Nos últimos cinco anos, a importação anual de batata-semente no Brasil tem variado entre 8,6 a 2,4 mil toneladas. Considerando o valor médio de US$ 35.00/caixa de 30 kg, o dispêndio em divisas do país com a importação tem sido de US$ 3 a 9 mi-

lhões/ano (AGRIANUAL, 2004).

De acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a legislação (Instrução Normativa Nº 12, de 10 de junho de 2005), prevê percentuais de tolerâncias para os diferentes vírus e categorias de batata-semente nacional:

- PVX → Básica, 2,0 %; Certificada de 1ª Geração, 3,0 %; e Certificada de 2ª Geração, 5,0 %;
- PVY → Básica, 3,0 %; Certificada de 1ª Geração, 6,0 %; e Certificada de 2ª Geração, 8,0 %;
- PLRV → Básica, 2,0 %; Certificada de 1ª Geração, 5,0 %; e Certificada de 2ª Geração, 6,0 %; e
- PVS → Básica, 2,0 %; Certificada de 1ª Geração, 3,0 %; e Certificada de 2ª Geração, 5,0 %.

Referida Instrução Normativa prevê também tolerância máxima total na porcentagem de viroses para a produção de batata-semente: Categoria/Tolerância → Básica – 4,0 %; Certificada de 1ª Geração – 8,0 %; e Certificada de 2ª Geração – a 12,0 % (BRASIL, 2005).

Quanto ao uso do "broto" como propágulo, ou material de propagação vegetativo para produção de minitubérculos de batata-semente, recentemente, a Comissão Técnica da Batata, em sua mais recente revisão sobre 'normas gerais para certificação de batata-semente', a Instrução de Serviço CSM/DFIA/DAS/MAPA – Nº 2/05, de 19 de abril de 2005, editada pela Coordenação de Sementes e Mudas – (MAPA), considerou, pela primeira vez, com ênfase e destaque, a possibilidade de utilização de broto como batata-semente, conforme se lê: "...quando se tratar de broto, este pertencerá á categoria do tubérculo que originou" (BRASIL, 2005; SOUZA-DIAS, 2006).

Segundo SOUZA-DIAS & COSTA (1985), desde 1980 vêm trabalhando, demonstrando e registrando a contribuição do aproveitamento do broto destacados de lotes de batata-semente básica importada, de alta sanidade, como semente. Entretanto, somente nos últimos 10 anos, é que o descarte dos brotos, vem deixando de ocorrer, isto é, de ser jogado no lixo e passando a ser plantados dentro de telados. Nota-se uma conscientização maior e um comportamento inédito do bataticultor brasileiro (SOUZA-DIAS, 2006).

2.5 Etiologia e sintomas dos vírus regulamentados para a produção de batata-semente nacional

1. Enrolamento da folha da batateira – *Potato leafroll virus* – PLRV

O PLRV, pertence ao gênero *Polerovirus* e à família *Luteoviridade*. Apresenta partículas isométricas , com 24nm de diâmetro e tem como ácido nucléico o RNA de fita simples, com aproximadamente 5,6 kb (HARRISON, 1984; WATERHOUSE, et al., 1988; SALAZAR, 1996; D'ARCY et al., 1999).

Em plantas de batata, os sintomas morfológicos causados pelo PLRV podem ser de dois tipos: os provenientes de infecção na estação corrente, chamados primários, e os provenientes de tubérculos contaminados oriundos de plantas infectadas na estação anterior, chamado secundários (WILSON & JONES, 1993; FIGUEIRA, 1999; ROBERT, 1999; SOUZA-DIAS, et al., 1990; RAGSDALE et al., 2001; SOUZA DIAS, 2004a).

A infecção primária pode ocorrer na fase de brotos da batata-semente (nas caixas, antes do plantio) ou nas plantas recém-emergidas (3 a 5 cm de altura, com três ou quatro folíolos). Os sintomas primários aparecem nas folhas jovens, no topo da planta, que mostra folhas mais eretas e as bordas dos folíolos enroladas para cima (SOUZA-DIAS et al., 1983a; SALAZAR, 1996). Estes ficam quebradiços, com uma cor amarelo pálido, e algumas cultivares de batata podem reagir com epinastia e um arroxeamento ou avermelhamento das bordas dos folíolos. Se a infecção primária ocorrer no final do ciclo, a planta pode não mostrar nenhum sintoma (JEFFRIES, 1998). Existe, caso de sintomas primários, onde as plantas são severamente afetadas, infectadas logo no início do ciclo da cultura, podendo apresentar alterações semelhantes às observadas nos sintomas secundários (SALAZAR, 1996; FIGUEIRA, 1997; RAGSDALE et al., 2001; SOUZA-DIAS, 2004a; SOUZA-DIAS & IAMAUTI; 2005d).

A expressão de sintomas pode ocorrer em função da insolação e idade da planta, geralmente aos 20 – 30 dias após a emergência. Os sintomas secundários ocorrem principalmente nas folhas inferiores e as demais folhas formam um ângulo agudo em relação à parte superior da planta, que fica enfezada, com internódios curtos e maior ramificação, produzindo tubérculos pequenos e escassos e apresentando, em alguns casos, clorose, arroxeamento das bordas dos folíolos e necrose dos vasos próximos do estolão (DE BOKX et al., 1996). Na infecção secundária a doença é sempre mais

severa, mesmo não sendo tão pronunciada no topo da planta, como ocorre na infecção primária (SALAZAR, 1996; FIGUEIRA, 1997; RAGSDALE et al., 2001; SOUZA DIAS, 2004a; SOUZA DIAS & IAMAUTI; 2005a).

Em plantas de batata, os sintomas citológicos do PLRV provenientes de infecção em estação anterior (infecção secundária), mostram uma necrose na região dos tubos crivados e nas células companheiras, na porção da haste localizada logo acima do tubérculo. As células afetadas pelo PLRV mostram um tipo de goma amarelada, que lembra lignina ou suberina, e que aparece nas paredes celulares e no lúmen das células que sofreram colapso. As células do parênquima ficam hipertrofiadas, comprimindo as células necróticas. A necrose do floema caminha tanto em direção ao topo como em direção as raízes e também aparece antes dos sintomas externos se tornarem visíveis. Já as infecções primárias, a necrose caminha primeiramente em direção ao topo, de modo que, em alguns casos, é possível perceber o ponto de infecção pela posição em que começa o enrolamento das folhas. Uma grande quantidade de calose é depositada nos tubos crivados do floema de pecíolos, hastes e tubérculos infectados (DOUGLAS, & PAVEK, 1972; HADIDI et al., 1993; SALAZAR, 1996; FIGUEIRA, 1997; KITAJIMA et al., 1997; D'ARCY et al., 1999; RAGSDALE et al., 2001).

A relação vírus-vetor do PLRV não é transmitida mecanicamente através do suco de plantas infectadas. Sua transmissão só é possível através de afideos vetores e é do tipo persistente circulativo, não propagativo (VAN DEN HEUVEL et al., 1991b; VAN DEN HEUVEL et al., 1993; VAN DEN HEUVEL et al., 1994; SOUZA-DIAS, 2004a). Uma das características que distinguem os luteovirus é o alto grau de especificidade com os vetores. Ainda que mais de 20 espécies de afideos tenham sido relatadas como vetores, cada vírus só é transmitido por uma ou poucas espécies (CLAY, et al., 1996; GARRET et al., 1996; GILDOW, 1999; ROBERT & BOURDIN, 2001).

Os vírus para serem adquiridos precisam ser ingeridos por afideos, alimentando-se nos tecidos do floema infectado, o que exige um tempo maior para aquisição e transmissão do que o requerido por outros tipos de vírus (VAN DEN HEUVEL, 1991a). Os luteovirus são transportados através do epitélio do proctodaeum e liberados na hemocoel (GARRET et al., 1993). Ainda que o reconhecimento de luteovirus, que regula a obtenção do vírus, se dê, provavelmente no proctodaeum, pouca seletividade ocorre neste sítio (GILDOW & GRAY, 1993). O tempo necessário para aquisição é variável, dependendo da estirpe do vírus, do inseto vetor e da planta hospedeira. Os dados existentes na literatura são variáveis, relatando um tempo mínimo de aquisição

desde 2 minutos até 4 horas (THOTTAPILLY et al., 1977; WATERHOUSE et al., 1988; COSTA, 1998; ROBERT & BOURDIN, 2001).

O *Myzus persicae* pode adquirir o PLRV de uma planta infectada num período tão curto como dois minutos (LEONARD & HOLBROOK, 1978; ROBERT & BOURDIN, 2001). O conteúdo de luteovírus e a eficiência de transmissão do vírus pelo inseto aumentam com o período de aquisição (GRAY et al., 1991; POWER & GRAY, 1995) até um tempo ótimo depois do qual a eficiência de transmissão se torna constante. Para o PLRV esse período foi de 5 a 7 dias (TAMADA & HARRISON, 1981; SALAZAR, 1996). Para a maioria dos luteovírus, é possível se conseguir uma transmissão eficiente com um período de aquisição e de inoculação igual há 24 horas (WATERHOUSE et al., 1988; KOSTIW, 1991).

O período de latência, compreendido pelo tempo necessário para que o afídeo comece a transmitir o vírus, após a sua aquisição, também não é muito constante, podendo variar de um para outro vírus (SYLVESTER, 1980). TANAKA & SHIOTA (1970) encontraram um período de latência para o PLRV, em seu inseto vetor, variável entre 12 e 54 horas. Esse período pode ser também influenciado pela temperatura, aumentando quando esta diminui. SYLLER (1994), apesar de ter observado que o conteúdo de vírus em afideos que se alimentaram a 27 ºC era menor que o daqueles que se alimentaram a 15 ºC, não notou nenhuma influência dessas temperaturas no período de latência do vírus. O período de latência é um parâmetro difícil de ser estimado, sujeito a muitas variações; portanto autores têm optado por trabalhar com o período médio de latência chamado LP_{50} (VAN DEN HEUVEL et al., 1991b; VAN DEN HEUVEL et al., 1993).

Alguns trabalhos já mostraram que os vetores que são injetados com hemolinfa de outros vetores virulíferos (contendo partículas de PLRV) são mais infectivos e têm um período de latência mais curto dos que se alimentam em plantas infectadas (SUGAWARA et al., 1974; SALAZAR et al., 1995; ROBERT & BOURDIN, 2001), indicando que a passagem das partículas do intestino posterior do inseto (proctodéu) para o sistema salivar, via hemolinfa, provavelmente seria a rota normal para as partículas que seriam transmissíveis para a planta (TAMATA & HARRISON, 1981; SYLLER, 1994; GILDOW, 1999). Portanto o período de latência deveria estar associado ao tempo gasto pelo vírus, após ser ingerido pelo inseto, para chegar à sua rota final dentro do afídeo, o duto salivar, de onde é ejetado nos tecidos da planta (GILDOW & GRAY, 1993; NOVY et al., 2002).

O pulgão *Macrosiphum euphorbiae* é altamente ineficiente para transmitir o PLRV quando injetado com hemolinfa contendo partículas, o que não ocorre com *Myzus persicae* (HARRISON, 1958; PETERS, 1967; HOLBROOK, 1978; YUKI, 1982; DE BOKX, 1987; ROBERT & BOURDIN, 2001). Entretanto, após se alimentar em plantas infectadas, uma quantidade razoável de partículas pode ser detectada em *M. euphorbiae* (TAMADA & HARRISON, 1981, TERRADOT et al., 1999). Essas observações sugeriram primeiramente que a especificidade vírus-vetor seria determinada não propriamente pela falha do vetor em adquirir o vírus e que a maior barreira não estaria no intestino do inseto, mas sim na eficiência das glândulas salivares acessórias (GILDOW & ROCHOW, 1980). TAMATA & HARRISON (1981) sugeriram primeiramente que a especificidade vírus-vetor depende de três fatores principais: a) restrição de partículas de vírus no floema; b) habilidade das partículas virais em passar da hemolinfa para a saliva; e c) estabilidade da partícula viral no intestino, na hemolinfa e na saliva do inseto.

Outros fatores que poderiam interferir na transmissibilidade dos luteovírus através do vetor têm sido investigados (VAN DER HEUVEL et al., 1993; JOLLY & MAYO, 1994; WANG et al., 1995). VAN DER HEUVEL et al. (1994) investigaram a influencia de uma bactéria endossimbiótica do gênero *Buchnera* na transmissão do PLRV através do pulgão *Myzus persicae.* Esses autores sugeriram que essa bactéria teria um papel fundamental na determinação da natureza de persistência do vírus no vetor, e que a proteína denominada simbionina seria um ponto chave para essa interação. Também existem evidências recentes que sugerem a possibilidade de moscas brancas serem um outro eventual, porém ainda pouco eficiente inseto vetor (SOUZA-DIAS, 2005b)

No Brasil, estes vetores são comuns durante todo o ano, a existência de fonte de inóculo abundante representada por plantas cultivadas e da vegetação espontânea possibilita alta taxa de disseminação durante todo o ciclo da cultura (FIGUEIRA, 1998; SOUZA DIAS & IAMAUTI, 2005a). Esse fato, somado à forma de persistência do PLRV no inseto vetor, leva ao tipo de disseminação denominado ‘de fora para dentro’ da plantação. Esse tipo de disseminação contribui para que plantios feitos com lotes de batata-semente totalmente livres do PLRV terminem o ciclo com mais de 20% de contaminação nos tubérculos produzidos, caso não haja a proteção química da planta com inseticida sistêmico em sua capacidade plena de disponibilidade do princípio ativo (SOUZA-DIAS, 2004a).

Por outro lado, lotes de batata-semente livre do PLRV podem chegar ao final do ciclo com praticamente zero dessa virose quando inseticidas sistêmicos são aplicados no sulco (geralmente aplicados sobre os tubérculos-semente) e complementados com inseticidas na parte aérea durante o ciclo (RAGSDALE et al., 2001; SOUZA-DIAS, 2004a).

2. Mosaico Y da batateira – *Potato virus Y* – PVY

O PVY, pertence ao gênero *Potyvirus* e à família *Potyviridade*. Apresenta partículas alongadas, flexuosas e helicoidais, com 730nm de comprimento por 11nm de diâmetro e tem como ácido nucléico o RNA de fita simples, com aproximadamente 9,6 kb (DE BOKX & HUTTINGA, 1981; BARNETT, 1992; VAN DER VLUGT et al., 1993; KITAJIMA et al., 1997; BERGER et al., 1999; BROWN, 2001).

Em plantas de batata, os sintomas causados pelo PVY, dependem da variedade e das condições de fertilidade do solo, temperatura, umidade, e, principalmente, da estirpe do PVY (HÉBRARD et al., 1999; ROBERT & BOURDIN, 2001; SOUZA DIAS & IAMAUTI, 2005a), sendo o vírus mais comum e importante causador de mosaico. Os sintomas do mosaico são geralmente visíveis em folhas novas e mostram que as áreas mosaicadas começam nas nervuras (DE BOKX et al., 1996; ELLIS et al., 1997; MAKI-VALKAMA et al., 2001). São mais visíveis em plantas em crescimento ativo e diminuem em intensidade quando cessa o crescimento (SALAZAR, 1996; LLAVE et al., 1999). Quanto às estirpes, a nível mundial, é conhecida pelo menos três: PVY^N, PVY^O e PVY^C (CHRZANOWSKA, 1994; BANTTARI et al., 1993; SALAZAR, 1996; ELLIS et al., 1996; DANIELS & SCHONS, 2003; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

A estirpe PVY^N é mais predominante na Europa e inclusive Rússia, bem como partes da África e América do Sul (DE BOKX, 1981). No Brasil, foi detectada em lotes de batata-semente oriundos da Argentina (SOUZA-DIAS et al., 1992c). Foi também detectada na América do Norte, em um surto ocorrido no início da década de 90. É possível, entretanto, que a origem de isolados do PVY^N identificado no Canadá seja européia (COFFIN et al., 1991; SINGH, 1991; BRUNT et al., 1996; BROW, 2001). Quanto aos sintomas, na infecção primária, ocorrem geralmente anéis ou pontuações necróticas nas folhas. A invasão sistêmica do vírus acarreta o aparecimento de sintomas de mosaico nas folhas apicais (ROBERT & BOURDIN, 2001; FRANC & BANTTARI,

2001; BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001). Esse mosaico é geralmente leve e aparece no final do ciclo (HOA et al., 1991). Pode haver casos de apenas uma haste da planta-cova expressar sintomas, porém testes de hastes sem sintomas de uma mesma planta-cova (oriundas de uma mesma batata-semente) mostram a presença do vírus (SINGH, 1993; JEFFRIES, 1998; NOVY et al., 2002).

Os sintomas secundários manifestam-se na forma de mosaico e folhas de tamanho reduzido, geralmente de difícil reconhecimento em campo, caso condições nutricionais adequadas e plantas livres de vírus não estejam presentes na plantação (BAULCOMBE et al., 1993). Sintomas de depressão das nervuras nas folhas apicais e redução no crescimento, dependendo das condições climáticas (difíceis de serem reconhecidas em temperaturas abaixo de 10ºC ou acima de 21ºC) podem ser observados (FARINELLI et al., 1992; BOONHAM, 1999; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d). A infecção que ocorre no final de ciclo geralmente não se manifesta na folhagem, mas o vírus pode ser translocado para os tubérculos, onde geralmente não causa sintoma algum. Há evidências de perdas relacionadas com o aumento no teor de açúcares (‘sugar spot’) nos tubérculos de algumas variedades, o que causa prejuízo no processamento (ROBERT & BOURDIN, 2001; RAGSDALE et al., 2001).

Nos últimos anos, uma estirpe derivada da estirpe PVY^{N}, identificada pelas letras TN em adição a da estirpe N: PVY^{NTN} (DE BOKX & PIRON, 1990; SINGH, 1991; SOUZA-DIAS et al., 1992c; CURLETT, 1995; ROSNER & MASLENIN, 1999; RAGSDALE et al., 2001), tem recebido atenção mundial devido à alta virulência e agressividade, em termos de rompimento de resistência de variedades de batata às estirpes de PVY. Os sintomas, além de mosaico bastante evidente, com folíolos apicais ondulados e de tamanho menor que os de plantas sadias, tem característica marcante, quase que exclusiva e distinta dentre as demais, que é a da expressão inicial (CEROVSKA, 1998), sintomas de arcos e anéis em forma de erupção da epiderme avançam para necrose dos tecidos após colheita e armazenamento (MCDONALD et al., 1991; SINGH, 1992; WEIDEMANN & MAISS, 1996; WEILGUNY & SINGH 1998; SOUZA–DIAS et al., 1995d; 2005a; SOUZA-DIAS, 2001b).

A estirpe PVY^{O} encontra-se disseminado no mundo todo e é predominante na América do Norte (BANTTARI et al., 1993). Quanto aos sintomas, na infecção primária, ocorre geralmente variação de mosaico ao amarelecimento dos folíolos apicais (FARINELLI et al., 1992; DANIELS & SCHONS, 2003; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d). Folíolos afetados geralmente têm as nervuras enrugadas e aspecto deformado.

As folhas geralmente desenvolvem necrose nas nervuras acompanhadas de anéis ou riscas pardas. A necrose avança para o pecíolo, derrubando a folha ou deixando-a pendurada à haste, restando apenas as folhas do ponteiro que mostram encarquilhamento (HOA et al., 1991). Desse modo, a planta adquire aparência de uma palmeirinha ou pinheirinho, podendo expressar sintomas em apenas uma haste da planta-cova, o que torna a presença do vírus bastante sugestiva da ocorrência de infecção primária (disseminação durante a estação corrente) (ROBERT et al., 2000).

Os sintomas secundários são geralmente menos severos, compreendidos por leve mosaico, menor desenvolvimento da planta e afundamento das nervuras das folhas. Essas folhas curvam-se para baixo em relação às hastes (GIBSON, 1991). Pode não haver necrose na infecção secundária, e quando se manifesta nas folhas e hastes, esta é mais fraca que a necrose observada na infecção primária (JONES, 1990). Algumas variedades reagem de forma hipersensível ao PVY^{O}, manifestando sintomas de riscas e anéis necróticos, parecidos aos do PVY^{C}, inclusive com reação de necrose nos tubérculos. Quando o PVY^{O} ocorre em infecção conjunta com o *Potato virus X* (PVX), os sintomas da infecção secundária são muito mais severos, mas sempre limitados á parte aérea, conferindo às folhas um aspecto áspero, enrugado, denominado de mosaico rugoso (KERLAN, 2000; BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001; RAGSDALE et al., 2001; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

A estirpe PVY^{C} ocorre com mais freqüência na Austrália e algumas regiões da Europa (DE BOKX, 1981). Quanto aos sintomas, na infecção primária, ocorre geralmente mosaico e enrugamento das folhas (HOA et al., 1991; DANIELS & SCHONS, 2003).

Na infecção secundária é comum aparecer necrose em forma de risca, terminando com círculo ou ponto necrótico. As folhas também apresentam mosaico rugoso, semelhante aos da interação com PVX (BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001). As necroses são mais severas que na infecção primária e podem causar morte da planta. Geralmente ocorrem necroses internas e externas aos tubérculos. Há grande número de variedades de batateira hipersensíveis ao PVY^{C} (VALKONEN et al., 1995; DE BOKX et al., 1996; BUS, 1996; RAGSDALE et al., 2001; RADCLIFFE & RAGSDALE, 2002).

A relação vírus-vetor-hospedeira do PVY é do tipo não circulativa e nem persistente das partículas virais no afídeo vetor. Em geral, a transmissão das diferentes

variantes do PVY pelo vetor depende de componentes auxiliares, referidos eventualmente como auxiliares ou HC – Helper Component (COSTA, 1998).

A proteína HC é um dos produtos gênicos mais estudados dos potyvirus, e para o qual o maior número de funções já foi atribuído (MAIA & BERNARDI, 1996). O papel de HC na transmissão de potyvirus por afideos foi determinado por meio de experimentos nos quais afideos se alimentavam de preparações purificadas de PVY, através de membranas. Esses afideos não se tornavam virulíferos e não eram capazes de transmitir o vírus (GOVIER & KASSANIS, 1974a). Quando extrato de planta infectada contendo HC era adicionado à preparação viral purificada, os afideos adquiriam o vírus e o transmitiam para plantas sadias (GOVIER & KASSANIS, 1974b). Evidências diretas da função de HC na transmissão, foram obtidos por meio de estudos utilizados isótopos radioativos ou imunomarcação, que demonstraram a presença dessa proteína nos estiletes de afideos recém alimentados em plantas infectadas por potyvirus (BERGER & PIRONE, 1986; AMMAR et al., 1994;).

O modelo proposto para a atuação de HC na transmissão prevê a formação de uma ponte entre a parede interna do estilete do afídeo e a partícula viral (BERGER & PIRONE, 1986; HARRISON & ROBINSON, 1988; AMMAR et al., 1994). Essa ponte seria formada por um dímero de HC (HARRISSON & ROBINSON, 1988), que reconheceria a proteína capsidial por meio da seqüência conservada D/E-A-G (ATREYA et al., 1990; BAULCOMBE et al., 1993). Evidências do papel de HC no movimento do potyvirus foram obtidas a partir de estudos genéticos (CRONIN et al., 1995) ou por meio da microinjeção de HC em células do mesófilo de *Nicotiana benthamina* (ROJAS et al., 1997). Com base nesses estudos os autores concluíram, que HC atua no movimento a longa distância (via floema), porém é mais razoável supor uma falha no movimento célula-a-célula (via plasmodesmas) específica entre células do parênquima floemático e elementos de tubo crivado (ZERBINI & MACIEL-ZAMBOLIM, 1999).

Assim sendo, o PVY pode ser transmitido mecanicamente, por enxertia de haste e por afideos (YUKI, 1982; DE BOKX, 1987; PETERS, 1987; HOLBROOK, 1978; DRAPER & GUDMESTAD, 1992). São várias as espécies de afideos capazes de adquirir e transmitir o PVY, mesmo aquelas que não se alimentam na planta de batata (SALAZAR, 1996). Por outro lado, o fato de o PVY se localizar apenas nos estiletes bucais dos afideos, pode ocorrer limpeza ou perda das partículas virais nas picadas de prova (FRANC & BANTTARI, 2001). Assim, antes mesmo de se estabelecerem na

planta e decidirem proceder à alimentação, inserindo os estiletes em células mais profundas (floema), as partículas do PVY podem ser inoculadas e conseqüentemente causarem a infecção da planta (ROBERT & BOURDIN, 2001). A disseminação do PVY ocorre dentro da plantação, a partir de plantas infectadas dentro do batateiral (SOUZA-DIAS, 2004a).

Em geral, a planta com infecção primária ou secundária de PVY têm sua produção reduzida em 15 a 80% em função da fase de desenvolvimento da planta na infecção. Perdas maiores são geralmente em associação com outros vírus, como o PVS e PVX. Nos últimos 10 anos, passou o PVY a predominar batateirais estando relacionado ao inóculo oriundo de batata-semente infectada, porque o pulgão adquire e perde o PVY rapidamente, em picadas de prova. Portanto, a disseminação dentro do batateiral é mais comum em nossas condições, ao contrário do que ocorre com o PLRV de fora para dentro, pulgão não perde o PLRV durante alimentação (SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

3. Vírus X da batateira – *Potato virus X* – PVX

O PVX, pertence ao gênero *Potexvirus*. Apresenta partículas alongadas e flexíveis, com 515nm de comprimento por 13nm de diâmetro e tem como ácido nucléico o RNA de fita simples, com aproximadamente 6,4 kb.(BERCKS, 1970; BEEMSTER & DE BOKX, 1987; KITAJIMA et al., 1997; BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

Os sintomas causados pelo PVX são de difícil identificação em inspeções visuais (BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001; FRANC & BANTTARI, 2001), exceto quando em sinergismo com outros vírus como o PVY em que a expressão fenotípica da planta é geralmente de mosaico severo com aparência rugosa nas folhas (GOULDEN et al. 1993; SADVAKSOVA, 1996; DE BOKX et al., 1996). A doença caracteriza-se por sintomas muito leves de mosaico nas folhas geralmente irreconhecíveis no campo. Nota-se mosaico internerval em pequenas faixas. Esses sintomas são mais visíveis na metade inferior da planta. Apenas quando comparada com uma planta sadia nota-se ligeira redução de tamanho das folhas e do crescimento geral da planta afetada (JEFFRIES, 1998). Muitas variedades desenvolvidas nos últimos anos são extremamente resistentes ao PVX, porém outras variedades respondem à infecção por

meio de lesões necróticas que impedem a invasão sistêmica do vírus (SOUZA-DIAS, 2000ab; FIGUEIRA, 2002; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

O PVX apresenta alta estabilidade e não depende de insetos vetores para sua transmissão (WATTS et al. 1997; SANTA CRUZ et al. 1998). É de fácil transmissão por contato entre folhas (vento, animal), pelo toque mecânico de plantas (tratos culturais, irrigação), de tubérculos (classificadeiras, cortes de batata-semente, plantadeiras) e brotos (praticamente qualquer manipulação do tubérculo brotado ou na movimentação dentro de caixas ou plantadeiras). Autores como, FEIGELSTOCK et al. (1995), QUERCI et al. (1995) e WATTS et al. (1997) acreditam que a patogenicidade do PVX não está limitada a uma única mudança no aminoácido e sugerem que outras regiões do genoma do vírus, além do gene da proteína da capa, podem estar envolvidas na interação vírus-hospedeiro. Assim como outros vírus do gênero, o PVX não é transmitido pela semente verdadeira, mas eficientemente perpetuado pelos tubérculos semente (BEEMSTER & BOKX, 1987; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1979; SOUZA DIAS et al., 1995a; FRANC & BANTTARI, 2001). O PVX é capaz de sobreviver indefinidamente em células hospedeiras vivas (MATTHEWS, 1991), de modo que, uma vez presente, esse pode permanecer infectivo nos tubérculos, desde que o tubérculo mantenha a sua capacidade fisiológica de brotação.

No Brasil, nos últimos 20 anos, o PVX praticamente desapareceu dos campos de produção de consumo plantados com batatas-semente oriundas de programa nacional de certificação, mesmo após ter passado por várias multiplicações sucessivas (SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

4. Vírus S da batateira – *Potato virus S* – PVS

O PVS, pertence ao gênero *Carlavirus*. Apresenta partículas alongadas e flexíveis, com 650nm de comprimento por 12nm de diâmetro e tem como ácido nucléico o RNA de fita simples, com aproximadamente 7 kb (BEEMSTER & BOKX, 1987; KITAJIMA et al., 1997; FRANC & BANTTARI, 2001)

Os sintomas provocados pelo PVS geralmente são latentes, de modo que é muito difícil, e às vezes impossível, fazer a sua diagnose visual em condições de campo (SALAZAR, 1996; DE BOKX et al., 1996). Alguns cultivares são mais suscetíveis e mostram um aprofundamento das nervuras na parte superior da folha, que pode se tornar rugosa (BEEMSTER & BOKX, 1987; DANIELS et al., 1994; JEFFRIES, 1998). Outras

reagem com um mosqueado leve, e às vezes a formação de uma banda quase imperceptível ao longo das nervuras. As folhas velhas geralmente não ficam uniformemente amarelas, podendo apresentar manchas acinzentadas, às vezes bronzeadas (BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001). Em raras ocasiões, dependendo da cultivar e da severidade da estirpe, as folhas podem apresentar bronzeamento, rugosidade severa e desenvolver manchas necróticas na sua superfície superior (FIGUEIRA, 2002). O crescimento das hastes de uma planta-cova é mais aberto e espalhado (SOUZA-DIAS, 2000b).

A maioria dos isolados de PVS conhecidos não possuem vetor na natureza, sendo que a sua transmissão se dá por enxertia, por inoculação mecânica e pelo contato entre a planta sadia e a planta infectada. Desse modo, o principal meio de introdução do PVS no campo é através de sementes contaminadas, após o que, a sua disseminação ocorre facilmente através do contato natural entre as plantas vizinhas, de implementos agrícolas, roupas, nas operações mecânicas durante o transporte, classificação, e também no armazenamento durante a fase de desenvolvimento dos brotos (FIGUEIRA, 2002; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

Mesmo na ausência de vetor, a disseminação desse vírus geralmente na planta infectada apresenta maior número de tubérculos do tipo III a IV (< 40mm). Plantas com infecção primária podem ter apenas parte de seus tubérculos infectados (FLETCHER, 1996). As perdas devido ao PVS são questionáveis, havendo evidências de que o PVS sozinho pode reduzir de 10 a 15%. Porém, se ocorrer infecção conjunta com PVX ou PVY, as perdas na produção podem passar dos 30% (SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

Assim como o PVX, o PVS é facilmente transmitido por contacto. Há evidências de que *Myzus persicae* e *Aphys nasturtii* atuam como vetores, por meio de transmissão não persistente, particularmente da estirpe PVS^{A} (SLACK, 1983; WARDROP et al., 1989; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

Recentemente, o PVS foi motivo de discussão em nível de comissão técnica do Ministério da Agricultura, quando em Abril de 2004 foi oficializada uma nova regulamentação de produção de batata-semente que excluía o PVS da lista dos vírus não quarentenários, mas regulamentados (Instrução Normativa Nº 5, de oito de março de 2004, DOU de nove de março de 2004), conforme previa a regulamentação anterior (Instrução Normativa Nº 18, de cinco de setembro de 2001, DOU de 11 de setembro de 2001), na qual era estabelecido o limite de tolerância de 0,5% na classe básica (única

categoria permitida para importação). Essa decisão beneficiava interesses de exportadores de batata-semente de origem Canadense, que por considerarem o PVS não danoso economicamente e de rápido potencial de re-contaminação dos lotes de batata-semente básica, aceitavam a presença do vírus como "componente normal" no sistema de certificação de batata-semente naquele País e, portanto solicitavam ao Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal a liberação da exigência de cumprimento do nível de tolerância contido na legislação vigente (MORANDINI, 2001).

O PVS chegou a ser detectado em níveis superiores a 80% em caixas de batata-semente da cv. Atlantic, recém importada do Canadá (SOUZA-DIAS & SILVA, 2001d). O retorno da inclusão do PVS na legislação nacional de batata-semente se deu após intensiva rejeição da IN 5, oficialmente expressa ao ministério da Agricultura por parte da comunidade de virologistas e fitopatologistas, representados pela Sociedade Brasileira de Fitopatologia e Grupo Paulista de Fitopatologia (ALARCÃO, 2004).

2.6 Viroses: incidência, produtividade e qualidade de tubérculos semente

Dentre os inúmeros problemas fitossanitários que afetam a cultura da batata estão as moléstias de vírus, conforme se nota pelos inúmeros autores que atribuíram e atribuem às viroses os mais sérios prejuízos econômicos que se verificavam na cultura da batata, principalmente no que se refere à degenerescência da batata-semente (PUTTEMANS, 1935; COSTA & KRUG, 1937; SILBERSCHMIDT, 1937; SOUZA-DIAS et al., 1984ab; DE BOKX & VAN DER WANT, 1987; SALAZAR, 1996; BERGER & GERMAN, 2001; LOEBENSTEIN et al., 2001; PEREIRA & DANIELS, 2003; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d).

A cultura da batata é afetada por mais de 40 diferentes viroses, relatadas em várias localidades produtoras do mundo (BERGER & GERMAN, 2001; JEFFRIES, 1998). Apesar do grande número de viroses que podem infectar a batateira, poucos vírus destacam-se como causadores de doenças importantes, tanto no Brasil (BRIOSO et al., 1996; PEREIRA & DANIELS, 2003; SOUZA-DIAS & BETTI, 2003) como em outras partes do mundo (DE BOKX & BEEMSTER, 1987; SALAZAR, 1996; JEFRRIES, 1998).

Dentre os poucos vírus causadores de degenerescência da batata-semente no mundo, destacam-se o PLRV e o PVY como os mais importantes (SCHULTZ & FOLSON, 1923; PUTTEMANS, 1934; COSTA & KRUG, 1937; SILBERSCHMIDT &

KRAMER, 1942; COSTA, 1948, 1965; KAHN & MONROE, 1963; CUPERTINO & COSTA, 1970; SIQUEIRA, 1976, HOOKER, 1981; SOUZA-DIAS et al., 1983ab, 1990, 1992abc, 1993ab; ÁVILA et al., 1983; ÁVILA & BEEK, 1987; BEEMSTER & DE BOKX, 1987; WEIDEMANN, 1988; ANDRADE & FIGUEIRA, 1991, 1992; FIGUEIRA & PINTO, 1995; STEVENSON et al., 2001; RAGSDALE et al., 2001).

Em menor escala aparece o PVX e o PVS, estes dois vírus são considerados causadores de perdas não significativas economicamente e de modo geral estão ausente ou raramente encontrados em batata-semente produzida sob sistema de certificação no Brasil (SOUZA-DIAS, 2000b; FIGUEIRA 2002; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d). Enquanto no Brasil esses dois vírus não estão presentes, praticamente, e, portanto com índices de tolerância inferior a 5% na batata-semente de menor classificação (Certificada de 2ª geração), em outros países, destacando-se os países do Cone Sul, o percentual oficial de tolerância chega a ser 10 vezes superior (SOUZA-DIAS, 2000ab). Conforme anteriormente mencionado, há países da América do Norte em que níveis de 100% do PVS e, ou PVX são considerados passíveis de classificação como batata-semente (AVERRE, 1998) o que torna necessário proteger a bataticultura nacional contra a introdução de sementes com baixa qualidade fitossanitária, que poderiam comprometer os campos brasileiros de produção (SILBERSCHMIDT & MALLOZZI, 1961; COSTA, 1965; SOUZA-DIAS et al., 1995ab; HIRANO, 1996ab; SOUZA-DIAS, 2000ab, 2001bd; 2003; 2005ab).

O insumo batata-semente é, no Brasil, o componente mais caro no cultivo da batata (SOUZA- DIAS, 1995; 2002; DANIELS, 1995; FURUMOTO & LOPES, 1997; ANABA, 2001; 2002; AGRIANUAL, 2004) devendo estar livre de vírus para garantir produtividade satisfatória. Verifica-se que lavouras instaladas com tubérculos colhidos pelos produtores na safra anterior apresentam redução acentuada na produtividade. Isto acontece devido à alta taxa de infecção dos tubérculos por vírus, causado principalmente por dois fatores: suscetibilidade do genótipo e intensiva presença de vetores. No Brasil, ambas as condições são amplamente satisfeitas (DANIELS, 1995; SOUZA-DIAS & TRISTÃO, 1997b; COSTA, 1999; SOUZA-DIAS, 2004b).

Nos últimos 20 anos, a aplicação de conhecimentos gerados no Brasil sobre epidemiologia de viroses e métodos virológicos de produção de batata-semente (CUPERTINO, 1970; SOUZA-DIAS et al., 1986; FIGUEIRA, 1999; SOUZA DIAS, 2002a; IAPAR, 2002; HIRANO, 2003; DANIELS & SCHONS, 2003) têm contribuído com a tecnologia de produção de batata-semente brasileira, apresentando resultados

positivos que se revelam na redução da quantidade de batata-semente importada e aumento da batata-semente básica nacional (AGRIANUAL, 2003; 2004).

Além disso, em função dos conhecimentos gerados e transferência desses para o segmento de produção de batata-semente, produtores de batata-semente e de batata-consumo buscam fazer maior e melhor multiplicação dos propágulos (batata-semente) adquiridos com qualidade e sanidade, amortizando o investimento nesse insumo. Entretanto, a dependência brasileira da batata-semente importada ainda representa ao país gasto em divisas da ordem de US$ 5 milhões/ano (FIGUEIRA, 1999; CDA, 2000; SOUZA-DIAS, 2002a; INFORMATIVO – FUNDAG, 2003).

2.7 Sistemas de produção de batata-semente

A utilização de semente de alto padrão genético e fitossanitário é fundamental para a exploração comercial da batata e merece atenção especial por parte do produtor. Dentre outras razões, isso se justifica por ser a semente o insumo mais alto no custo de produção (de 30 a 40%) e por ter reflexos diretos na produtividade e na qualidade dos tubérculos formados (KRIJTHE, 1962; SOUZA-DIAS & COSTA, 1984; 1985; ASSIS, 1984; 1999; EZETA & SCHEIDEGGER, 1985; SLACK, 1993; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; STRUIK & WIERSEMA, 1999; DANIELS, 2001; WATAD et al., 2001; SOUZA-DIAS, 2002a; STARK & LOVE, 2003).

Vários sistemas de produção de batata-semente (básica, certificada de 1ª geração e certificada de 2ª geração) são utilizados na exploração comercial da cultura, podendo ser desenvolvidas sob condições especiais de campo, estufa ou laboratório. Estão atualmente em aplicação diferentes técnicas de multiplicação de produção e multiplicação de batata-semente, visando material de propagação livre de vírus, principalmente na forma de minitubérculos. Entre essas técnicas destacam-se as seguintes:

a) Semente botânica – consiste na multiplicação via sexuada, prática usada com sucesso na China, inclusive para produção comercial, porém o grande problema deste método para produção comercial é conseguir a uniformidade das populações, devido à possibilidade de ocorrer uma variabilidade genética muito grande, não atendendo as características agronômicas desejáveis (ACCATINO & MALAGAMBA, 1982; FEDALTO, 1982, 1983; FEDALTO & MIZUBUTI, 1984; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; STRUIK & WIERSEMA, 1999; FRANC, 2001; STARK & LOVE, 2003; FILGUEIRA, 2003).

b) Propagação vegetativa – consiste de tubérculos brotados, método mais utilizado atualmente, constitui-se no grande entrave desta cultura. Nestes alojam-se patógenos sistêmicos causadores de enfermidades, que transmitidas de geração a geração, tornam-se contínuas, adquirindo um papel fundamental na degenerescência da batata-semente, afetando a produção máxima de um campo em que outros fatores não são limitantes. Outra prática adquirida em países desenvolvidos e que sofrem os mesmos problemas, é o corte da batata-semente utilizado para multiplicação (BEEMSTER & ROZENDAAL, 1972; CARDOSO, 1981; PÁRRAGA & CARDOSO; 1981; COSTA & MULLER, 1982; FEDALTO & MIZUNUTI, 1984; SOUZA-DIAS & COSTA, 1984a; LOPES, 1997; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; STRUIK & WIERSEMA, 1999; WATAD et al., 2001; FACCIOLI, 2001; STARK & LOVE, 2003).

c) Cultura de meristemas – consiste no crescimento de tecidos meristemáticos em meio de cultura artificial, sob condições assépticas, medindo de 0,1 a 0,5 mm e contendo um ou dois primórdios foliares. Este é um processo eficiente para obter plântulas completamente isentas de vírus e outros organismos, sistêmicos ou não, além de ser seguro quanto à estabilidade genético do material obtido. Os minitubérculos obtidos destas plântulas são utilizados como propágulos na obtenção de matrizes para a produção de sementes da classe básica. No entanto, para a produção de minitubérculos *in vitro* é necessário se conhecer os mecanismos de tuberização envolvidos no processo. A tuberização da batata é controlada por fatores ambientais, principalmente a temperatura e o fotoperíodo. Dias curtos com noites frias causam estímulos que induzem a tuberização, enquanto que o contrário retarda ou inibe o processo. O principal inconveniente, a possibilidade de ocorrer contaminação e a demora na diferenciação do tecido meristemáticos em meio de cultura. Isto se deve ao fato de que os explantes utilizados serem de tamanho pequeno e por isso, apresentam dificuldades de sobreviver e se desenvolver *in vitro* (MURASHIGE & SKOOG, 1962; QUAK, 1977; MELLOR & STACE-SMITH, 1977; ROCA et al., 1978; BRYAN, 1983; ASSIS, 1984; 1999; RESENDE & PAIVA; 1985; BOKX & VAN DER WANT, 1987; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; MORRENHOF, 1997; STRUIK & WIERSEMA, 1999; BERGER & GERMAN, 2001; FACCIOLI, 2001; STARK & LOVE, 2003).

d) Cultura de tecidos – consiste em colocar um fragmento de qualquer órgão da planta num meio adequado e em condições assépticas. Sob estas condições, o material vegetal é capaz de crescer e dar origem a plantas que possuam a mesma informação genética da planta mãe. Mediante as técnicas do cultivo de tecidos é possível multiplicar

rapidamente as plantas "elites". Porém, apresenta algumas desvantagens, como por exemplo, à exigência de maior desenvolvimento de meios de cultura adequados para certas espécies que são de difícil cultivo *in vitro* e a ocorrência, bastante comum, de variação somaclonal (HUSSEY & STACEY, 1984; KARP et al., 1989; YOUNG, 1990; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; STRUIK, 1991; BENZ et al., 1995; VREUGDENHIL et al., 1998; ASSIS, 1999; STRUIK & WIERSEMA, 1999; BERGER & GERMAN, 2001; FORTES & PEREIRA, 2003; STARK & LOVE, 2003).

e) Seleção clonal – a seleção de um material propagativo livre de vírus agronomicamente desejável ou representativa da variedade ou espécie é condição essencial para um bom programa de obtenção de material sadio. É considerado interessante que esse tipo de seleção seja feito antes do tratamento curativo e indispensável após a obtenção de clones sadios. Para a primeira etapa, os próprios produtores já podem selecionar clones com boas características agronômicas, que podem servir de base para os trabalhos de isolamento de material sadio ou obtenção de material sadio. A avaliação das características agronômicas dos clones resultantes de tratamentos curativos visa essencialmente detectar a presença de variações somáticas ou mutações, que podem produzir plantas sadias, mas fora do padrão do ponto de vista morfológico e também na produtividade. Assim sendo, é indispensável que a avaliação clonal seja executado, pois no sistema que envolve a multiplicação rápida de clones sadios através da micropropagação *in vitro* podem ocorrer conseqüências extremamente danosas. Isto é, a partir de uma única plântula obtida é possível conseguir milhares ou milhões de plantas, e se o clone original submetido à propagação for portador de alguma variação somática, poderá resultar em sérios prejuízos na produção, tanto qualitativa como quantitativamente (DE BOKX, 1972; DE BOKX & MOOI, 1974; HALL & TEVIOTDALE, 1976; SOUZA-DIAS & COSTA, 1984a; ASSIS et al., 1981; BRYAN et al., 1981a; BEUKEMA, 1983; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; BARKER & WOODFORD, 1992; GOPAL et al., 1997; STRUIK & WIERSEMA, 1999; WATAD et al., 2001; STARK & LOVE, 2003).

f) Micropropagação – consiste no seccionamento das plântulas, formando microestacas constituídas de segmentos da haste com uma ou duas folhas, e que são recolocadas em novo meio de cultura. Após duas a quatro semanas de crescimento essas microestacas originam novas plântulas que poderão ser novamente multiplicadas ou plantadas em estufas. Se uma planta estiver infectada, a manipulação desta poderá contaminar todas as outras em razões do uso dos mesmos utensílios (ROCA et al., 1978;

BEUKEMA, 1983; ASSIS, 1984; JONES, 1988; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; EWING & STRUIK, 1992; GRATTAPAGLIA et al., 1998; STRUIK & WIERSEMA, 1999; BERGER & GERMAN, 2001; STARK & LOVE, 2003).

g) Multiplicação por estaquia – baseado na capacidade que possuem as várias partes da planta de formar raízes, a utilização de miniestacas de plantas de batata oriundas da micropropagação e recém aclimatizadas, pode, constituir um método bastante eficiente para aumentar a taxa de multiplicação e produzir um grande número de plantas na primeira geração de um programa de produção de semente básica. A partir de um único indivíduo sadio, é possível a produção de dezenas de novas plantas, mantendo-se a integridade genética e a qualidade sanitária da muda produzida. Procedimentos para obtenção das mudas, plantas oriundas da cultura de tecido são transplantadas para a casa de vegetação em bandejas de semeadura com substrato esterilizado. Entre 15 a 30 dias de aclimatização, as plantas apresentam de 8 a 10 folhas e aproximadamente 8 a 10 cm de altura. Com o auxílio de bisturi ou tesoura devidamente esterilizada, corta-se a planta acima do primeiro ou segundo nó basal, ou seja, deixa-se de uma a duas gemas axilares e respectivas folhas para que a planta venha a brotar novamente e, desta forma, originar nova parte aérea, a qual poderá servir de material para novas estacas. A partir da parte aérea obtida, são feitas miniestacas de folhas e gema única e para evitar possíveis problemas de desidratação do material propagativo, recomenda-se que as miniestacas, uma vez cortadas, sejam imediatamente acondicionadas em papel tolhada umedecido. Com este procedimento, podem ser obtidas de 8 a 9 miniestacas por planta, com tamanho aproximado de 1,0 a 1,5 cm. Possíveis problemas do método, se uma planta estiver infectada, seria a manipulação desta que poderá contaminar todas as outras em razão do uso dos mesmos utensílios; danificação da gema axilar junto a uma folha bem vigorosa; e desidratação do material propagativo (BRYAN et al., 1981abc; 1983; QUEVEDO et al., 1981; MARINUS, 1987; BEUKEMA & VAN DER ZAAG, 1990; UPADHYA, 1994; RANALLI, 1997; STRUIK & WIERSEMA, 1999; STARK & LOVE, 2003; PEREIRA & FORTES, 2004).

h) Hidroponia – consiste em dois sistemas, um utiliza como plataforma telhas de fibrocimento e outro é constituído por calhas de PVC articuladas, ambos adequados à produção tanto a partir de minitubérculos como de plântulas micropropagadas. É eficiente na produção de semente, especialmente pelo aumento da taxa de multiplicação. Possui facilidade de implantação e simplicidade no manejo dos sistemas, o que facilita a

sua adoção. Cuidado especial deve ser tomado durante a aquisição de propágulos, assim como, a solução nutritiva empregada (BOERSIG & WAGNER, 1988; ROLOT & SEUTIN, 1999; FURLANI, 1999; STRUIK & WIERSEMA, 1999; DANIELS et al., 2000; CHANG et al., 2000; PEREIRA, et al., 2001; MEDEIROS et al., 2002; STARK & LOVE, 2003; MEDEIROS, 2003).

i) Método cova/pré-plantio – propõe uma metodologia que possibilita selecionar batata-semente (amostras de campos de produção de semente básica ou registrada) com baixo teor de vírus, das variedades nacionais e importadas. A metodologia visa combinar o teste obrigatório de avaliação da sanidade através do pré-plantio ou pré-cultura com a seleção da batata-semente de plantas (cova ou haste) testadas como sadias que tiveram a produção das covas colhidas individualmente. Com base no teste de um tubérculo por amostra (material colhido) de planta-cova, este método servirá para fins de restauração ou limpeza do lote (infecções acima de 10%), portanto, eficiente na manutenção de lotes de batata-semente em níveis satisfatórios de sanidade. Além, de ser de fácil execução, está ao alcance do produtor que se dispõe a produzir batata-semente básica ou registrada. Podendo ainda, interagir com outros métodos na produção de batata-semente, como por exemplo, no teste de pré-cultura, o número de amostras para seleções pode ser aumentado sem grande despesa, pois há aproveitamento da batata produzida. O número de amostras para seleções pode ser aumentado sem grande despesa no teste de pré-cultura, pois há aproveitamento da batata produzida (SOUZA-DIAS & COSTA, 1984a).

j) Broto/batata-semente – consiste no plantio de brotos destacados de tubérculos de alta sanidade, livre de vírus. Esse sistema de propagação passou a ser considerado como uma forma de aumento na taxa de multiplicação do lote de batata-semente, particularmente os de alto valor comercial como os importados, permitindo redução no valor unitário. Nos últimos 10 anos, os sistemas de produção de batata-semente básica, na forma de minitubérculos, através do plantio de brotos, dentro de telados (anti-afídeos) vêm tendo maior interesse e sendo mais aplicado, à medida que se despertou para a realidade da prática de desbrota da batata-semente básica, de alta sanidade, origem importada ou nacional. Essa desbrota que é recomendada e praticada regularmente visa aumento do número de brotos por tubérculos semente e, portanto maior número de hastes por planta-cova, com reflexo no aumento na taxa de multiplicação em campo (maior número de tubérculos-filha por unidade de tubérculos semente). Atualmente, vários produtores, em diferentes estados produtores do Brasil já

passaram a fazer um novo agronegócio, no aproveitamento (plantio) de brotos (que antes eram descartados), plantando-os e produzindo um lote adicional de batata-semente básica (minitubérculos, livres de vírus). Essa tecnologia, de baixo custo e relativamente simples, vem sendo reconhecida e recomendada como tecnologia inovadora de produção de batata-semente pelas vantagens econômica-social-fitossanitária que oferece (http://www.tecnologiasocial.org.br). Recentemente, essa tecnologia foi selecionada por um júri internacional e indicada para concorrer ao Prêmio de Inovação Tecnológica no Congresso Mundial da Batata, ocorrido em Emmeloord, na Holanda (http://www.europoint-bv.com/events/?potato2005/264), pois introduziu e demonstrou, através de importação apenas de lotes de brotos de diferentes variedades do Alaska para o Brasil, a viabilidade de um novo e revolucionário sistema de movimentação de batata-semente em alternativa ou substituição do convencional tubérculo semente. Os brotos têm sido plantados em solo misturado com substrato orgânico ou diretamente em substrato utilizados para horti-fruticultura, em vasos, canteiros ou bandejas, sempre dentro de telados anti-afídeos. Este sistema não demanda operações de mão-de-obra especializada em vista dos outros sistemas, pois dispensa laboratório, ambiente e procedimentos de aclimatização de plântulas ou mudas em telado e não necessita de repicagens constantes devido à relação custo/propágulo (BRYAN, 1982; SOUZA-DIAS & COSTA, 1985; 1998a; SOUZA-DIAS, 1996, 2001a; 2002ab; 2004b; SOUZA-DIAS et al., 1998bc; 2004c; 2005c; 2006; INFORMATIVO – IAC, 1998; STRUIK & WIERSEMA, 1999; CANÇADO et al., 2001; O AGRONÔMICO, 2001; DANIELS, 2003; INFORMATIVO – FUNDAG, 2003; GIUSTO et al., 2004; ABBA, 2005).

2.8 Ciclo da batata

O ciclo da batata apresenta diferentes exigências e respostas fisiológicas nas diversas fases do seu desenvolvimento (WILTSHIRE, 1996; TAVARES, 2002; SOUZA, 2003):

Desenvolvimento da brotação – período que se inicia com a formação dos brotos nas gemas (olhos) dos tubérculos. A única fonte de energia provém do tubérculo-mãe, pois a fotossíntese ainda não se iniciou. Este período é muito delicado para o crescimento e a produção da planta (HORTON, 1987; DEAN, 1994; DWELLE; 2003; STARK & LOVE, 2003; SOUZA, 2003).

Crescimento vegetativo – período em que as hastes (caules) e as folhas se desenvolvem sobre o solo. O processo fotossintético é iniciado e a planta começa a ser formada (ROWE, 1993). Neste estádio, as reservas do tubérculo-mãe continuam a ser usadas para crescimento e formação de raízes e hastes. Existem suficientes reservas nos tubérculos para suportar o crescimento da planta por cerca de 30 dias (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 1986). Todavia, estas reservas e nutrientes minerais continuarão a ser usados até a exaustão do tubérculo-semente (MOORBY, 1978). Alguns autores consideram as fases de desenvolvimento da brotação e crescimento vegetativo como únicas, dependendo muito da cultivar, da época de plantio, da temperatura do solo, das condições climáticas e da idade fisiológica da batata-semente (ROWE, 1993; DEAN, 1994; DWELLE; 2003; STARK & LOVE, 2003; SOUZA, 2003).

Início da tuberização – existem várias teorias sobre a natureza do estímulo a tuberização. Aceita-se, de modo geral, a ação do equilíbrio hormonal endógeno na estimulação do crescimento produzido pela planta (MOORBY, 1978; FERNANDEZ, 1988), que é muito influenciado por temperatura, cultivar, idade fisiológica da batata-semente, fotoperíodo, umidade e disponibilidade de nutrientes no solo (THORNTON & SIECZKA, 1980; KRAUSS, 1985). Inicia-se de duas a quatro semanas após a emergência (HORTON, 1987), ou seja, aproximadamente cinco a sete semanas após o plantio (THORNTON & SIECZKA, 1980). Os produtos da fotossíntese são usados no crescimento dos estolões, desenvolvimento da folhagem e início da formação dos tubérculos na extremidade dos estolões. Os primeiros tubérculos normalmente aparecem nos estolões mais velhos. Durante a iniciação da tuberização ocorre intensa divisão celular e muitas gemas axilares tornam-se "olhos". O açúcar produzido pela fotossíntese pode ser convertido em amido e armazenado em células que se expandem nos pequenos tubérculos formados (REEVE et al., 1973; THORNTON & SIECZKA, 1980). Este é um período relativamente curto, geralmente de 10 a 15 dias, cujo termino coincide com o início do florescimento (ROWE, 1993). Nessa fase são formados os tubérculos que serão colhidos. É também uma fase muito crítica para a ocorrência de doenças, pragas, deficiência de nutrientes, falta de água, danos por geada ou granizo, que promovem perdas irreversíveis (DEAN, 1994; DWELLE; 2003; STARK & LOVE, 2003; SOUZA, 2003).

Crescimento dos tubérculos – O final do desenvolvimento da folhagem coincide com o início do intenso crescimento dos tubérculos, pois os assimilados da fotossíntese são direcionados para o crescimento (MOORBY, 1970). Tal fato se deve à

paralisação do crescimento da parte aérea, em determinado momento, que depende da cultivar e dos fatores do ambiente (FERNANDEZ, 1988). Neste período, os tubérculos crescem bastante, devido às expansões celulares que são predominantes, com acúmulo de águas, nutrientes e carboidratos. Entretanto, as divisões celulares continuam, porém se restringem às gemas. Os tubérculos se tornam dominantes canalizadores de carboidratos e de nutrientes inorgânicos (REEVE et al., 1973; MOORBY, 1978; BURTON, 1978; ROWE, 1993; DEAN, 1994; DWELLE; 2003; STARK & LOVE, 2003; SOUZA, 2003).

Maturação – Nesta fase, todos os assimilados são direcionados para os tubérculos; o teor de matéria seca atinge o máximo; a folhagem se torna amarelada, com redução gradual da fotossíntese e do crescimento dos tubérculos, até o secamento completo da parte aérea. A periderme (película) torna-se firme, as gemas ficam dormentes e o teor de açúcares é reduzido até a maturação final (UMAERUS, 1981; UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 1986; ROWE, 1993; DEAN, 1994; DWELLE; 2003; STARK & LOVE, 2003; SOUZA, 2003).

O conhecimento dos fatores fisiológicos que afetam o comportamento da cultura da batata, em condições subótimas de cultivo, contribui para o sucesso desta atividade (SOUZA, 2003).

2.9 Transmissão de vírus: inoculação mecânica e enxertia

O procedimento de transmissão de vírus é fundamental para o estudo de doenças viróticas (WALKEY, 1991; BETTI, 1995; JEFFRIES, 1998; FRANC & BANTTARI; 2001).

A inoculação mecânica é largamente utilizada para transmissão em laboratório a fim de isolar vírus trazidos do campo, transmiti-los em hospedeiras indicadoras, manter fontes de inóculo, estudar os sintomas causados pelo agente viral em diferentes espécies hospedeiras e testar a sua infectividade (WALKEY, 1991; BETTI, 1995).

Em estudos de infectividade é importante avaliar diferentes concentrações de inóculo, pois cada vírus se comporta de forma diferente (WALKEY, 1991). Alguns fatores podem afetar a curva de diluição, como: presença de inibidores no inóculo, estado de agregação do vírus, necessidade de mais de uma partícula de vírus, alteração na suscetibilidade das plantas-teste durante a inoculação (WALKEY, 1991; BETTI, 1995).

A enxertia é uma prática horticultural antiga, que consiste na propagação vegetativa. Em virologia esta prática é utilizada na transmissão de vírus entre plantas, sendo útil, principalmente, no estudo de vírus de difícil transmissão (WALKEY, 1991; BETTI, 1995). Com a união de tecidos entre o cavalo e o enxerto, estando uma das partes infectadas, a transmissão ocorrerá para a parte sadia (MATTHEWS, 1991; WALKEY, 1991; BETTI, 1995). A transmissão por enxertia, juntamente com a ausência do patógeno visível sob microscopia óptica, tem sido um indicador que determinada moléstia tem como agente causal um vírus (MATTHEWS, 1991; BETTI, 1995).

Por enxertia, houve resultados positivos (80%) quando copas sadias foram enxertadas pelo sistema de garfagem em cavalos e negativos com o uso de cavalos sadios e copas doentes (CAUQUIL & VAISSAYRE, 1971; HALLIWELL & CAUQUIL, 1981). Já os estudos feitos através de enxertia de gemas foram bem sucedidos nas duas direções (DICKY, 1979).

2.10 Detecção de vírus pela técnica sorológica DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked)

A introdução do método de ELISA na fitovirologia aconteceu a partir do trabalho pioneiro de VOLLER et al. (1976), no qual potencial para detecção e quantificação de fitopatógenos foi investigado e adaptado para a cultura da batata no "East Mailing Research Station". Desde então, o trabalho permitiu que pesquisadores pudessem avaliar em larga escala o controle da qualidade fitossanitária dos tubérculos nos programas de certificação de batata-semente. Assim, permitindo ser amplamente explorado em vários países produtores, inclusive o Brasil, por apresentar sensibilidade para a maioria dos vírus (CLARK et al., 1976; CLARK & ADAMS, 1977; CLARK & BAR-JOSEPH, 1984; CASPER, 1977; DE BOKX & MAAT, 1979; GUGERLI, 1979; ROBERTS & HARRISON, 1979; TAKANAMI & KUBO, 1979; SALAZAR, 1979; 1993; GUGERLI & GEHRIGER, 1980; CLARKE et al., 1980; DE BOKX et al., 1980; 1982ab; SING & MC'DONALD, 1981; VAN REGENMORTEL, 1982; SINGH, 1983; VETTEN et al., 1983; BERIAN, 1985; BRAUN & OPGENORT, 1987; PIO-RIBEIRO et al., 1994; DANIELS, 1994; DANIELS et al., 1994; MAAT & DE BOKX, 1995; SOUZA-DIAS, 1995c; 1997a; 1999; TRUTA & FIGUEIRA, 2000; ALON & BEM ZEEN, 2001).

O ELISA é uma técnica sensível para detecção de vírus que ocorrem em baixa concentração, particularmente os luteovírus que são restritos ao tecido vascular (D'ARCY et al., 1999). Técnicas derivadas do ELISA como DAS-ELISA consiste na utilização de anticorpos para a detecção do antígeno, permitindo avaliação da presença de partícula viral em amostras de plantas infectadas. O método DAS-ELISA tem como características maximizar a sensibilidade do teste e reduzir a inespecificidade das reações (FLEG & CLARK, 1979; VAN VUURDE & MAAT, 1985; SELF, 1985; VAN DEN HEUVEL & PETERS, 1989; GERA & MARCO, 2001).

Nos últimos anos, a técnica sorológica DAS-ELISA, vem mantendo destaque dentro dos programas de indexação de sementes (testes de vírus em laboratório) ajudando no processo de complementação dos resultados de inspeções de campo, devido à rapidez de detectar vírus em grande número de amostras.

No Brasil, há laboratórios oficiais que executam rotineiramente a avaliação de sanidade a vírus em suporte ao sistema de certificação. Esse procedimento é obrigatório na produção de batata-semente (IN – Nº12) e tem sido crescente a procura de análises em sistemas de produção também informal, aqueles em que produtores desejam conhecer a porcentagem dos principais vírus (particularmente PLRV e PVY) em lotes de tubérculos a serem vendidos, adquiridos de terceiros ou mesmo a serem mantidos como batata-semente própria ('home-saved seed-potato') (FIGUEIRA, 1999; SOUZA-DIAS & BETTI, 2003; DANIELS & SCHONS, 2003).

2.11 Rizoctoniose (crosta-preta) *(Rhizoctonia solani)*

Doença de solo, onde permanece por muitos anos, já que o fungo produz estruturas de resistência (escleródios). Atacam os brotos antes e após a emergência, a base das ramas (produzindo cancros) e os tubérculos, onde forma "sarna" e escleródios superficiais pretos . Espalha-se principalmente através da batata-semente contaminada (Batata.Net, 2006).

2.12 Ácido Giberélico

O ácido giberélico promove o aumento do nível endógeno de giberelinas, resultando na quebra de dormência dos tubérculos (RABIE et al., 1992). O ácido giberélico associado ao abafamento estimula a brotação dos tubérculos, devido ao

aumento da temperatura, diminuição da concentração de oxigênio e aumento da concentração de gás carbônico (SCHOLTE, 1990).

A aplicação de ácido giberélico por aspersão nos tubérculos logo após a colheita acelerou a brotação, aumentou o número de hastes e tubérculos e o rendimento de tubérculos (BISOGNIN et al., 1998). O ácido giberélico (10mg L^{-1}) combinado com etanol estimulou a brotação precoce de tubérculos de batata da cv. Bintje e resultou em um aumento expressivo no número e comprimento dos brotos aos 18 dias (LUND et al., 2001).

O abafamento dos tubérculos com bissulfureto de carbono também tem apresentado bons resultados, devendo-se tomar cuidados especiais com a dose e o tempo de aplicação para cada cultivar, já que, em algumas situações, especialmente em doses muito altas, pode ocasionar o apodrecimento dos tubérculos (WURR & ALLEN, 1976; SCHOLTE, 1990).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Experimento [1]: Eficiência do teste sorológico DAS-ELISA em tecidos de tubérculos dormentes, broto apical destacado e folhas da planta progênie, na detecção dos quatro vírus regulamentados na produção de batata-semente: PLRV, PVY, PVS e PVX.

Experimento [1]

3.1 Procedimento experimental

3.1.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em laboratório e casa de vegetação. Este experimento foi realizado no Laboratório de Viroses da Batata e Solanáceas em Geral (LVB) e demais dependências do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Fitossanidade/Virologia – APTA/IAC (CPDF/V), situado na Alameda Álvaro dos Santos Costa – Fazenda Santa Elisa, no município de Campinas-SP.

O experimento foi realizado durante os anos de 2004 e 2005.

3.1.2 Obtenção do Material

As amostras de tubérculos e respectivos brotos foram obtidos do material submetido ao LVB, para análises das principais viroses da batata-semente (PLRV, PVY, PVX e PVS), conforme Instrução Normativa Nº 12, de 10 de junho de 2005. Essas amostras (suspeitas com alto índice de viroses), exceto para PVX e PVS, foram coletadas e submetidas por bataticultores de campos comerciais destinados à produção e certificação de batata-semente, localizados em diferentes regiões produtoras dos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná.

A coleta do material foi feita geralmente em fins de ciclo, constituindo-se de um tubérculo por planta-cova, na forma de 'X' por hectare, ou de caixas na proporção de 0,1% do lote de batata-semente, conforme recomendações de amostragens da IN-Nº 12.

Para o vírus PVX, houve a necessidade da transmissão do vírus em lotes de batatas-semente, enquanto que para o vírus PVS o CPDF/V possuía lotes de batatas-semente infectadas.

Sendo assim, foram utilizadas neste estudo, amostras de lotes de tubérculos-dormentes com incidência superior a 50% de cada vírus avaliado, exceto para o PVX, com incidência de 25% de vírus.

3.2 Tecidos estudados e procedimentos de análises

Foram estudados três tecidos correspondentes: (1) Tubérculo dormente; (2) Broto apical destacado e (3) Folhas da planta progênie, em relação aos vírus PLRV, PVY, PVX e PVS.

- Para os vírus PLRV e PVY foram estudadas cinco variedades de batata em relação aos três tecidos correspondentes.

- Para os vírus PVX e PVS foi estudada uma variedade de batata em relação aos três tecidos correspondentes.

As condições experimentais e os procedimentos de análises foram mantidos durante a execução do teste via DAS-ELISA, para os três tecidos correspondentes, variedades e respectivos vírus.

As variedades de batata estudadas foram as de maior interesse comercial, no sistema de produção e certificação de batata-semente no Brasil.

3.3 Condução do experimento

A) Produção de lotes de tubérculos infectados com PVX

Face à ausência de lotes de tubérculos infectados com o PVX nos testes de rotina do LVB, procedeu-se à inoculação via transmissão mecânica (JEFFRIES, 1998; FRANC & BANTTARI, 2001) e por enxertia (BETTI, 1995) desse vírus em plantas testes, empregadas como rotina na coleção 'in vivo' desse vírus: *Datura stramonium* – que apresenta sintoma sistêmico de mosaico (BEEMSTER & DE BOKX, 1987); *Gomphrena globosa* – que apresenta lesões locais em forma de anéis com halo avermelhado (DE BOKX & VAN DER WANT, 1987); e *Nicotiana tabacum* L. – que apresenta anéis, clareamento das nervuras e mosqueado (BEEMSTER & DE BOKX, 1987). Estas plantas foram obtidas em casa de vegetação da CPDF/V, sendo transplantadas para vasos de barro (25 x 35 x 15 cm), contendo composto orgânico de uso rotineiro do CPDF/V. Em geral, foram plantadas duas plantas por vaso. O inóculo foi obtido de plantas teste de *Gomphrena globosa*, por ser facilmente identificável e previamente confirmada positiva para PVX em DAS-ELISA.

B) Inoculação mecânica

Procedeu-se à inoculação mecânica do PVX em plantas de batata variedade Caesar, (plantas oriundas de tubérculos/batata-semente básica, importada, com resultados de negativos para PVX via DAS-ELISA). Essa variedade é apontada como suscetível ao vírus PVX (Tabela – 3). O tampão (Anexo XIV) comumente utilizado neste tipo de teste foi preparado com 0,625g de sulfito de sódio, 15ml da solução de Na_2HPO_4 a 0,02 M e 10ml de KH_2PO_4 a 0,02M, completando-se para 250ml de

solução. O pH da solução foi estabilizado em 7,0 – 7,5. Como fonte de inóculo foram utilizadas folhas provenientes de plantas de *Gomphrena globosa.*

As folhas foram maceradas em tampão de inoculação mecânica utilizando almofariz para rompimento das células e liberação das partículas virais. O abrasivo Carborundum® (carbureto e silício) de malha 600 mesh foi polvilhado sobre as folhas para promover o rompimento das células de forma necessária para a penetração do vírus sem danos visíveis de células epidermais.

Posteriormente, umedeceram-se os dedos com o extrato de folha, friccionando levemente a superfície das folhas. Por fim, lavou-se o excesso com água.

Este estudo foi realizado em três grupos de 114 plantas, sendo que seis plantas foram deixadas como testemunhas. Leituras periódicas foram efetuadas para anotações de sintomas, os quais foram observados após 15-20 dias das inoculações em plantas testes, mas não reconhecidos em plantas de batata, como era de se esperar pela condição de infecção latente do PVX em plantas de batata (FIGUEIRA, 2002).

C) Enxertia

A transmissão do PVX através de enxertia foi feita na variedade de batata Caesar através da enxertia de haste de plantas previamente infectadas (‘Caesar’). Utilizaram-se vasos de barro (25 x 35 x 15 cm) contendo duas plantas, onde uma foi deixada de testemunha. Transferiu-se o enxerto proveniente da planta infectada para o cavalo sadio (plantas de batata variedade Caesar).

O método de enxertia utilizado foi por garfagem, utilizando filme plástico (Parafilm®) para união dos tecidos. Posteriormente foram colocados saquinhos plásticos

no enxerto de forma a evitar a perda de água, onde estes ficaram por uma semana.

Este estudo foi realizado em dois grupos de 54 plantas testes enxertadas de ‘Caesar’ e seis plantas enxertadas com enxerto sadio deixadas como testemunhas.

D) Etapas da extração dos tecidos correspondentes

A técnica aplicada neste estudo, foi realizada em três etapas, envolvendo extração dos seguintes tecidos:

1) Tubérculo dormente: olho apical + estolão;

2) Broto apical destacado: com 1-5 cm de altura, após quebra de dormência natural; e
3) Folhas da planta progênie: originada do respectivo tubérculo.

E) Amostras: identificação, análise DAS-ELISA, armazenamento e plantio

Toda amostra analisada recebeu inicialmente identificação numérica seqüencial, utilizando caneta do tipo Multimarker – tinta permanente, para qualquer superfície – (Faber-Castell), de tinta vermelha e/ou azul. Receberam, portanto igual identidade tanto os tubérculos como seus respectivos brotos e folhas.

- Primeira etapa, os tubérculos dormentes (1) foram analisados via DAS-ELISA e em seguida acondicionados em sacos de papel pardo e armazenados em condições de temperatura ambiente (sala escura), aguardando assim a emergência de brotação;
- Segunda etapa, após a emergência dos brotos apicais (2), procedeu-se nos tubérculos a desbrota dos brotos, então sendo, submetido para análise via DAS-ELISA;
- Terceira etapa, os tubérculos após as duas etapas foram plantados. O plantio foi efetuado e conduzido dentro de casa de vegetação, em vasos de barro (25 x 35 x 15 cm) contendo composto de uso rotineiro do CPDF/V. Aos 40 dias após plantio, as plantas emergidas (100% de emergência) tiveram a folhas da planta progênie (3) destacadas manualmente, da parte apical (para testes de identificação dos vírus PVY, PVS e PVX) e baixeira (testes para identificação do PLRV), sendo acondicionadas dentro de saco plástico e em seguida transportadas da estufa para o laboratório dentro de caixa de isopor, então sendo, submetida à análise via DAS-ELISA.

Para complementação das etapas, foram feitas análises visuais nas folhagens, registrando em protocolo os sintomas evidentes de viroses apresentados em cada experimento (SOUZA-DIAS & BETTI, 2003).

F) Teste DAS-ELISA

A metodologia usada para realizar o teste DAS-ELISA, foi através do método de extração baseado no trabalho de SOUZA-DIAS et al., (1997a; 1999), constituindo-se da extração de suco de um único olho apical + estolão, por meio de um equipamento

odontológico Mini Motor/15000 RPM, 80 W, 50/60 HZ, 110 Volt, marca Bethil (O AGRONÔMICO 1995; 1998), com pedal acelerador e ponteira de ponta chata usada na perfuração dos tubérculos até a profundidade de 5 mm o suficiente para extrair pequenas quantidades de suco, na proporção de 1:5 (p/v) (O AGRONÔMICO, 1999). Os mesmos equipamentos e procedimentos foram empregados para executar a extração dos brotos (Figura 1), quando o tamanho permitia (acima de 3 cm), ou caso contrário, através de maceração de tecidos, tanto de brotos como de folhas, em almofariz contendo 1:10 (g/ml) solução tamponada, conforme CONVERSE & MARTIN (1993).

Foram utilizados kits de diagnose contendo antissoro e conjugados homólogos e policlonais para os vírus PLRV, PVY, PVX e PVS, adquiridos da EMBRAPA/CNPH, Brasília-DF.

Utilizou-se microplacas de poliestireno de 96 cavidades com fundo em 'U' (GREINER, Labortechnick). As soluções tampões de cobertura, lavagem, conjugado e extração, bem como o substrato foi o de rotina, recomendado por CONVERSE & MARTIN (1993).

As placas foram cobertas com o antissoro específico em tampão carbonato. Colocou-se sobre as mesmas o papel filtro umedecido com água destilada, envolvendo com um filme de PVC para evitar evaporação. Foram então colocadas dentro de uma caixa de isopor forrada com papel úmido. Deixou-se 'overnight' a uma temperatura de 4°C em câmara fria.

No dia seguinte, as placas foram lavadas com a solução de lavagem, alternando-se a posição das mesmas em relação ao lavador, descartando-se o resíduo com a utilização de um sistema de aspiração (SOUZA-DIAS et al., 1999). Esta operação foi feita 3 vezes. Na última lavagem, viraram-se as placas para baixo, batendo-se levemente sobre um papel absorvente de forma a certificar a ausência de resíduos nas cavidades.

No dia seguinte, com uma micropipeta de 50-250 µl, alíquotas de 80 µl foram colocadas nas respectivas cavidades da microplaca.

Em cada placa testada foram deixadas seis cavidades: duas com controle negativo, duas com controle positivo e duas com buffer. As diluições dos antissoros foram de 1: 1000 para o PLRV – 1: 1000 para o PVY – 1: 2000 para o PVX – 1: 1200 para o PVS.

Colocadas as amostras e os controles, cobriu-as novamente com papel úmido, envolvendo-as com um filme plástico e incubando-as por uma noite em refrigerador.

Passado esse período, foram feitas 5 lavagens com a solução de lavagem da mesma forma que as realizadas anteriormente na fase de cobertura. Em seguida, colocou-se o conjugado do antissoro específico diluído em buffer de extração/conjugado (80 µl/cavidade), cobrindo com papel úmido, envolvendo com filme plástico, colocando em uma caixa de isopor forrada com papel úmido, deixando em refrigerador por uma noite.

A placa foi lavada em solução de lavagem por 5 vezes.

A solução de substrato foi preparada, calculando-se o volume a ser preparado de acordo com o número de cavidades (80 µl/cavidade). A concentração da solução foi de 1 mg/ml de fosfato de p-nitrofenol (Sigma 104-105) em solução de dietanolamina (tampão substrato). Distribuiu-se 80 µl de solução de substrato por cavidade, cobrindo com papel úmido, envolvendo as placas com filme plástico, colocando dentro de uma caixa de isopor úmida a temperatura ambiente. Observou-se após 15-40 minutos a reação, procedendo com a primeira leitura em um aparelho de espectrofotometria de luz UV/visível (modelo EL 307C Reader / BIO-TEK Instruments), utilizando um filtro específico de 405nm. Após 2 horas, foi feita a segunda leitura.

G) Interpretação dos resultados DAS-ELISA

Umas das dificuldades na diagnose das amostras de batata supostamente infectadas, através do método DAS-ELISA, está no momento de decidir se os valores de absorbância obtidos são, realmente, diferentes daqueles obtidos com a amostra sadia (controle).

Para diagnosticar as amostras infectadas e sadias, foram considerados positivos (presença do antígeno – Figura 2) os valores de DAS-ELISA (Absorbância 405nm) superiores à pelo menos duas vezes a média dos controles negativos (SUTULA et al., 1986), de cada microplaca. Como valor conclusivo quanto à presença do vírus (antígeno) nos tecidos comparados, foi estabelecido o de folhas da planta progênie.

H) Fonte do controle positivo e negativo para o teste DAS-ELISA

Para controle positivo no teste DAS-ELISA, o LVB mantém uma coleção de plantas infectadas com os vírus PLRV, PVY, PVX e PVS em estufas, o mesmo procedimento é feito para manter o controle negativo, porém com plantas sadias.

I) Variedades

As variedades estudadas estão identificadas de acordo com o vírus analisado pelo teste de imunodiagnose (DAS-ELISA), com referência a sua origem e níveis de resistência (Tabela 1, 2, 3 e 4):

Tabela 1. Variedades estudadas para o PLRV via DAS-ELISA.

Variedade[1]	**Origem**	**Resistência**
Ágata	Holandesa	Moderadamente Resistente
Asterix	Holandesa	Moderadamente Resistente
Bintje	Holandesa	Moderadamente Resistente
Monalisa	Holandesa	Suscetível
Mondial	Holandesa	Bastante Suscetível

[1]Fonte: BAARVELD et al., 2003.

Tabela 2. **Variedades estudadas para o PVY via DAS-ELISA.**

Variedade	**Origem**	**Resistência**
Ágata	Holandesa	Muito Boa Resistência
Aracy (IAC-2)[1]	Brasileira	Desconhecida
Asterix	Holandesa	Bastante Suscetível
Atlantic[2]	Americana	Suscetível
Bintje	Holandesa	Bastante Suscetível

[1]Fonte: FILGUEIRA, 2003; [2]Fonte: U.S. Potato Board, 2003.

Tabela 3. **Variedade estudada para o PVX via DAS-ELISA.**

Variedade	Origem	Resistência
Caesar[1]	Holandesa[1]	Suscetível

[1]**Fonte: BAARVELD et al., 2003.**

Tabela 4. **Variedade estudada para o PVS via DAS-ELISA.**

Variedade	Origem	Resistência
IAC Duvira[1]	Brasileira	Suscetível

[1]**Fonte: IAC, 2003.**

3.4 Delineamento estatístico

As análises experimentais via DAS-ELISA, foram constituídas por 18 tubérculos dormentes, sendo que os dados analisados correspondem às médias positivas, obtidas nas detecções. Os dados foram analisados através do programa SISVAR (DEX/UFLA), versão 4.6 (Build 6.0), desenvolvido por FERREIRA (1998) e aplicado para o teste de Tukey a 5%.

O delineamento estatístico utilizado para os vírus PLRV e PVY foi o de blocos casualizados com 15 tratamentos e 25 repetições (Anexo I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX e X). Os tratamentos representam o arranjo fatorial de três origens de tecidos correspondentes com cinco variedades de batata conforme descrito na Tabela 5 e 6.

Tabela 5. Arranjo fatorial empregado para o tratamento do PLRV via DAS-ELISA com cinco variedades de batata (A) e três origens de tecidos analisados (B).

Tratamentos	Variedades	Tecidos Analisados
A1B1	Ágata	Tubérculo dormente
A1B2	Ágata	Broto apical destacado
A1B3	Ágata	Folhas da planta progênie
A2B1	Asterix	Tubérculo dormente
A2B2	Asterix	Broto apical destacado
A2B3	Asterix	Folhas da planta progênie
A3B1	Bintje	Tubérculo dormente
A3B2	Bintje	Broto apical destacado
A3B3	Bintje	Folhas da planta progênie
A4B1	Mondial	Tubérculo dormente
A4B2	Mondial	Broto apical destacado
A4B3	Mondial	Folhas da planta progênie
A5B1	Monalisa	Tubérculo dormente
A5B2	Monalisa	Broto apical destacado
A5B3	Monalisa	Folhas da planta progênie

Tabela 6. Arranjo fatorial empregado para o tratamento do PVY via DAS-ELISA com cinco variedades de batata (A) e três origens de tecidos analisados (B).

Tratamentos	Variedades	Tecidos Analisados
A1B1	Ágata	Tubérculo dormente
A1B2	Ágata	Broto apical destacado
A1B3	Ágata	Folhas da planta progênie
A2B1	Aracy (IAC-2)	Tubérculo dormente
A2B2	Aracy (IAC-2)	Broto apical destacado
A2B3	Aracy (IAC-2)	Folhas da planta progênie
A3B1	Asterix	Tubérculo dormente
A3B2	Asterix	Broto apical destacado
A3B3	Asterix	Folhas da planta progênie
A4B1	Atlantic	Tubérculo dormente
A4B2	Atlantic	Broto apical destacado
A4B3	Atlantic	Folhas da planta progênie
A5B1	Bintje	Tubérculo dormente
A5B2	Bintje	Broto apical destacado
A5B3	Bintje	Folhas da planta progênie

O delineamento estatístico utilizado para os vírus PVX e PVS foi o inteiramente casualizados com 3 tratamentos e 25 repetições (Anexo XI e XII). Os tratamentos representam o arranjo de três origens de tecidos correspondentes com uma variedade de batata conforme descrito no Tabela 7 e 8.

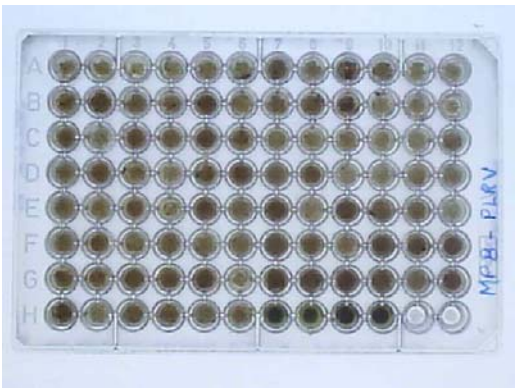
Tabela 7. Arranjo empregado para o tratamento do PVX via DAS-ELISA com uma variedade de batata e três origens de tecidos analisados (A).

Tratamentos	Variedade	Tecidos Analisados
A1	Caesar	Tubérculo dormente
A2	Caesar	Broto apical destacado
A3	Caesar	Folhas da planta progênie

Tabela 8. Arranjo empregado para o tratamento do PVS via DAS-ELISA com uma variedade de batata e três origens de tecidos analisados (A).

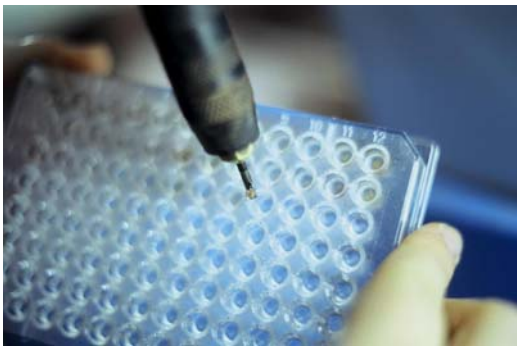
Tratamentos	Variedade	Tecidos Analisados
A1	IAC Duvira	Tubérculo dormente
A2	IAC Duvira	Broto apical destacado
A3	IAC Duvira	Folhas da planta progênie

a

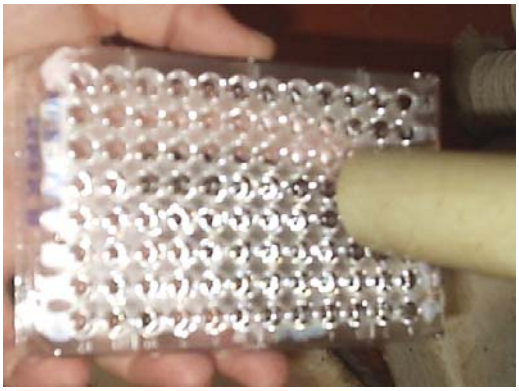


c

e

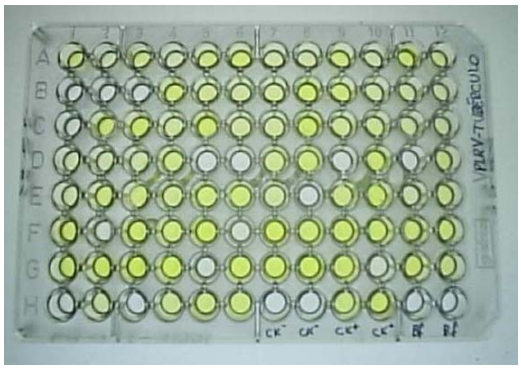


b



d

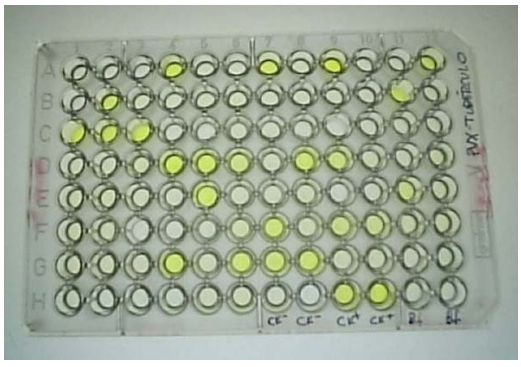
Figura 1 – Etapas de extração, adição de suco de broto e lavagem após incubação para diagnose das quatros principais viroses da batata através da técnica DAS-ELISA: **a.** Extração do suco do broto apical destacado, aproximadamente 30 mg; **b.** Adição do suco extraído do broto ou tubérculo dentro de uma cavidade da microplaca, contendo 80µl do tampão de extração; **c.** Microplaca com amostras de suco de broto ou tubérculo, pronta para incubação: 12 a 16 h a 4˚C; **d.** Processo de sucção da amostra; **e.** Após sucção a microplaca passa por cinco lavagens com a Solução de lavagem.



a

b

c



d

Figura 2 – Microplacas do teste DAS-ELISA, após adição do tampão substrato mostrarando cavidades com coloração amarela, indicando reação antigeno x anticorpo (teste positivo) para cada um dos quatros vírus testados: **a.** PLRV; **b.** PVY; **c.** PVS; **d.** PVX.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento [1]

4.1 DAS-ELISA na detecção do PLRV

DAS-ELISA para o antígeno do PLRV, foram avaliados comparativamente em três tecidos: (1) tubérculo dormente; (2) broto apical destacado; e (3) folhas da planta progênie, das variedades Ágata, Asterix, Bintje, Monalisa e Mondial.

Os resultados dessa avaliação estão apresentados na Tabela 9 e pode-se verificar que foi possível a detecção do PLRV nos três tecidos correspondentes, bem como em todas as variedades estudadas. As médias de detecção desse vírus nas folhas da planta progênie (3), conforme observadas em 25 repetições de 18 amostras (tubérculos), apesar de terem sido consistentemente maiores e seguidas pelas médias do tubérculo dormente (1) e broto apical destacado (2), não mostraram-se, dentro de cada variedade, significativamente diferentes no teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se na Figura 3, que os valores médios e respectivos desvio padrão, indicam sobreposição entre tecidos de uma mesma variedade. Esses resultados revelam a não diferença estatística observada entre a média do número de tubérculo infectado pelo PLRV detectado nos diferentes tecidos avaliados (1, 2 e 3). Em função da realidade do sistema de produção de batata-semente, em que não se permite à mistura de variedades, particularmente nas classes básicas, as comparações não foram feitas entre variedades. Entretanto, o desvio padrão das médias entre as variedades Ágata (1,83 - 2,35 - 2,01) e Mondial (0,82 - 0,87 - 0,88), para os tecidos 1, 2 e 3, respectivamente, poderiam indicar diferenças significativas em função de uma maior ou menor resistência à infecção pelo PLRV. Conforme descrição no catálogo Holandês de BAARVELD et al. (2003), a 'Ágata' recebe nota 6, indicativo de moderada resistência, enquanto a 'Mondial' nota 4,5, indicativo de alta suscetibilidade. Desse modo, é possível que diferenças varietais venham a interferir na detecção do PLRV entre tecido analisados, particularmente em genótipos de alta resistência ao vírus. Nesse caso, a chance maior de ocorrência de variação de concentração e, portanto detectabilidade do PLRV via DAS-ELISA entre os tecidos estudados poderia ocorrer nos genótipos em que a resistência está associada a fatores de restrições na replicação viral, como, é conhecido na literatura para cultivares de batata x PLRV: Kathadin (SIBARA, 1985; SOUZA-DIAS & SLACK, 1987); e Pentland Crown (BARKER & HARRISON, 1985).

Tabela 9. **Médias do número de PLRV detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA para cinco variedades de batata.**

Tecidos Analisados	**Variedades****				
	Ágata	***Asterix***	***Bintje***	***Monalisa***	***Mondial***
Tubérculo dormente	10,68 a*	12,00 a	12,56 a	12,56 a	13,80 a
Broto apical destacado	10,20 a	11,80 a	12,20 a	12,28 a	13,60 a
Folhas da planta progênie	11,12 a	12,52 a	12,92 a	12,92 a	14,24 a

* As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
** Média de 25 repetições de 18 amostras por tratamento.

4.2 DAS-ELISA na detecção do PVY

Na tabela 10, pode-se verificar que foi possível a detecção do PVY para os três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), bem como em todas as variedades estudadas, Ágata, Atlantic, Aracy (IAC-2), Bintje e Asterix. Verifica-se nesta Tabela 10 que na detecção do PVY, não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade do teste de Tukey, entre os tecidos x variedade. Entretanto, apesar da não variação estatística observada, as médias de detecção do PVY em tecidos de folhas da planta progênie (3) foram as maiores, sendo seguidas pelas médias do broto apical destacado (2) e tubérculo dormente (1). Essa mesma seqüência de tipo de tecidos testado na detecção de antígeno do PVY foi observada para todas as variedades estudadas, exceto para a variedade Bintje, onde tubérculos dormentes (1) apresentaram média maior que broto apical destacado (2). Diferente do que foi observado para o PLRV, nota-se que no caso de detecção de antígenos do PVY, as cinco variedades estudadas e apesar de também mostrarem diferença em níveis de resistência e suscetibilidade, estas não apresentaram comportamento de desvio padrão correspondente à suscetibilidade, conforme mostra a Figura 4. Exemplo dessa observação pode ser notado entre as variedades Bintje (considerada 'bastante suscetível') versus Ágata (considerada 'muito boa resistência'), conforme BAARVELD et al. (2003). Nota-se que os desvios padrões dos 3 tecidos analisados foram para a 'Bintje': 1,36 (1) ; 1,72 (2) e 1,48 (3); enquanto para a Ágata: 1,04 (1); 1,22 (2) e 1,12 (3), portanto com médias relativamente próximas: 1,52 e 1,15, respectivamente.

Esse resultado pode ser em parte respondido pela presença do PVY em maior número de células (tipo de tecidos) da planta infectada (WEIDEMANN & CASPER, 1982), em contraste com o PLRV que se limita, quase que exclusivamente, a células de floema (KOJIMA et al., 1969; BARKER & HARRISON, 1986; BRUNT & LOEBENSTEIN, 2001) e, portanto mais sujeito às variações de diluições (TAMADA & HARRISON, 1980) e distribuição desse vírus (BARKER & HARRISON 1985; RUSSO et al., 1999) nos extratos das amostras durante o processo de análises dos diferentes tecidos. Há também evidências de que o PVY pode apresentar maior invasão de tecidos da planta de batata infectada em função da estirpe.

BASKY & ALMÁSI (2005) relatam detecção por ELISA em maior concentração e tipo de tecidos examinados (folha, pecíolo, tubérculos) quando a infecção é por PVY do grupo N (PVY^N), essa estirpe é causadora de necrose nas nervuras em algumas variedades de fumo, *Nicotiana tabaccum*, quando comparado com a estirpe comum (PVY^O).

Nas principais regiões produtoras de batata do Brasil, as quais foram representadas pelas amostras avaliadas neste trabalho, houve crescente incidência do PVY a partir de meados da década de 90 (SOUZA-DIAS & TRISTÃO, 1997b). Coincidentemente, nessa mesma ocasião, alarmantes incidências de variantes do PVY^N foram detectadas no Canadá (SINGH, RP, 1991; SINGH, RP, 1992; MCDONALD & SINGH, 1996), país esse que passou a ser o maior fornecedor de batata-semente ao Brasil, superando 3 mil toneladas em 1998 (AGRIANUAL 2003), exclusivamente da variedade Atlantic, cuja alta suscetibilidade ao PVY já foi assinalada no Brasil (SOUZA-DIAS, et al., 1995d) e é reconhecida mundialmente, inclusive pelos próprios exportadores (U.S. POTATO BOARD, 2003).

A introdução de variantes exóticas do PVY no Brasil, como a do grupo estirpe NTN (PVY^{NTN}), que pertence ao grupo do PVY^N, mas que se diverge pelo fato de causar também necrose nos tubérculos, 'Tuber Necrose'(SOUZA-DIAS, 1992a; 1997b; 2001b; SOUZA-DIAS & IAMAUTI, 2005d; JEFFRIES, 1998), tem sua origem, bastante provável da variedade Atlantic importada do Canadá (SOUZA-DIAS, et al., 2000a), onde essa variante foi possivelmente introduzida da Europa, de forma clandestina (BROWN, 2001). A partir da Atlantic com variantes do PVY^N, outras variedades de batata foram contaminadas e a ponto de estabelecer o alto potencial de inóculo sustentados a atual epidemia no Brasil (SOUZA-DIAS, 2004a).

Tabela 10. **Médias do número de PVY detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA para cinco variedades de batata.**

Tecidos Analisados	**Variedades****				
	Ágata	***Atlantic***	***Aracy IAC 2***	***Bintje***	***Asterix***
Tubérculo dormente	9,44 a*	10,36 a	10,60 a	11,56 a	14,20 a
Broto apical destacado	9,64 a	10,48 a	11,00 a	11,52 a	14,52 a
Folhas da planta progênie	9,96 a	10,88 a	11,44 a	11,84 a	14,76 a

* As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
** Média de 25 repetições de 18 amostras por tratamento.

4.3 DAS-ELISA na detecção do PVX

As comparações de DAS-ELISA na detecção do antígeno do PVX em cada um dos três tecidos analisados, foram feitas com apenas uma variedade: Caesar. Essa variedade é descrita como altamente suscetível ao PVX (BAARVELD et al. 2003) e foi resultante de amostras produzidas por plantas inoculadas experimentalmente, devido à ausência de lotes de tubérculos previamente identificados com alta incidência nas análises de rotina do LVB.

Assim sendo, o fato de se ter avaliado apenas uma variedade para o PVX, está em função de dois aspectos: 1- PVX está praticamente ausente na bataticultura brasileira, em campos comerciais onde utilizam batata-semente procedente do sistema de certificação (SOUZA-DIAS et al., 2000b; FIGUEIRA, 2001; DANIELS & SCHOEN, 2003); e 2- PVX é imunogenicamente detectável em tecidos de folhas, brotos e tubérculos dormentes, com facilidade, de modo geral (BRUNT & LOEBSTEIN, 2001).

Na Tabela 11, pode-se verificar que foi possível a detecção do PVX para os três tecidos correspondentes, não tendo ocorrido diferença significativa no número médio da detecção de antígeno do PVX entre os tecidos analisados. As médias das folhas da planta progênie (3), apresentaram as maiores detecções: 3,68, do antígeno do PVX, sendo seguido pela detecção média em tecidos do tubérculo dormente (1), com média de 3,60 e broto apical destacado (2), com média de 3,36, sempre em 18 amostras repetidas 25 vezes.

Na figura 5, da mesma forma que observado para o PVY, não houve basicamente diferença nos desvios padrões das médias de tecidos (1, 2, e 3) com testes positivo para antígeno de PVX : 1,14; 1,25 e 1,35, respectivamente. Essa observação sustenta em parte o fato de ser o PVX um vírus invasor das diversas células da planta, e não restrito a um determinado tecido, como é o caso do PLRV.

Tabela 11. **Médias do número de PVX detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA.**

Tecidos Analisados	**Variedade****
	Caesar
Tubérculo dormente	3,60 a*
Broto apical destacado	3,36 a
Folhas da planta progênie	3,68 a

* As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
**.Média de 25 repetições de 18 amostras por tratamento.

4.4 DAS-ELISA na detecção do PVS

Assim como no caso do PVX, os resultados de DAS-ELISA para detecção do PVS, nos três tecidos analisados, foi efetuado com uma única variedade: IAC Duvira. Essa variedade vem sendo mantida no LVB, há mais de 15 anos, com alta

incidência do PVS, desde sua introdução (SOUZA-DIAS et al., 1993a; SOUZA-DIAS, et al., 1995b). Assim como no caso do PVX, a presença do PVS é praticamente ausente nos campos de produção comercial de batata onde se pratica a renovação dos lotes de batata-semente com material vindo do sistema de certificação.

Na Tabela 12, pode-se verificar que foi possível a detecção do PVS para os três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), sem variação significativa entre eles; seguindo, portanto, igual comportamento observado para os outros vírus (PLRV, PVY, e PVX). As médias de detecção do antígeno nos 3 tecidos analisados foram bastante próximas: 16,00 - 15,92 - 16,44, com desvios padrões se sobrepondo (0,72 - 0,52 - 0,63), conforme mostra a Figura 6, nos extratos de tubérculo dormente, broto apical destacado e folhas da planta progênie, respectivamente.

Essa eficiência da detecção do PVS nos diferentes tecidos analisados confirma resultados de outros autores, os quais apontam ser o PVS altamente imunogênico e com alta eficiência na detecção por ELISA (BEEMSTER & DE BOKX, 1987) em tecidos de tubérculo (DE BOKX et al., 1980; BANTTARI & FRANC, 1982) e folhas (BANTTARI & FRANC, 1982; SINGH & SOMERVILLE, 1992; SCHIESSENDOPPLER & FORSCHUM, 1990).

Tabela 12. **Comparação das médias* do PVS detectado em três tecidos correspondentes, analisados através de DAS-ELISA para uma variedade de batata.**

Tecidos Analisados	Variedade
	IAC Duvira **
Tubérculo dormente	16,00 a
Broto apical destacado	15,92 a
Folhas da planta progênie	16,44 a

* As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
** Média de 25 repetições com 18 amostras cada.

Os resultados obtidos via DAS-ELISA para detecção dos quatro vírus analisados neste trabalho, revelaram homogeneidade no comportamento entre os três tecidos analisados: tubérculo dormente (1); broto apical destacado (2); e folhas da planta progênie (3). Portanto, o percentual de cada um dos quatros vírus analisados, em lotes de tubérculos dormentes, pode ser considerado como indicador seguro, para DAS-ELISA de brotos destacados desses lotes, barateando os custos dessa inovadora tecnologia e preservando a qualidade satisfatória que esta oferece ao produto final: minitubérculo de batata-semente.

Conforme mostra o quadro abaixo (modificado de SOUZA-DIAS & BETTI, 2003), há fatores que são considerados importantes no êxito da diagnose de viroses da batata

por ELISA, particularmente do PLRV em tubérculos dormente e com infecção primária. Esses fatores foram considerados neste trabalho, tais como: a) Extração do suco do tubérculo dormente feita em tecidos de floema, células de maior concentração do vírus, especialmente o PLRV; b) Extração composta de duas extremidades dos tubérculos: olho apical + estolão; c) Diluição máxima de 1:5, (p/v) do extrato (suco dos tubérculos) com o tampão de extração; e também d) Alta qualidade e especificidade do antissoro para detecção de PLRV, PVY, PVX e PVS. Portanto, a eficiência na detecção dos vírus estudados, particularmente do PLRV, conforme observado nos três tecidos analisados neste estudo pode estar, em grande parte, associada à observação feita aos fatores conforme comparados abaixo.

Autores	Tubérculo dormente e D[1]	Local de extração dos tecidos			Eficiência (%) da detecção quando comparado com ELISA de folhas da planta progênie
			Extremindade		
		Olho	Apical	Estolão	
GUGERLI (1979)	**S**	**S[3]**	**S**	**S**	**100% para o estolão, QD[2] = N; para a gema apical, QD = S.**
TAMADA & HARRISON (1980)	**S**	**N[4]**	**S**	**S**	**> 80% para o estolão, diluição do suco (1/4)**
EHLERS & VETTEN (1984)	**S**	**S/N**	**S**	**S**	**'Alta': para estolão e olho, QD =N; para gema apical, QD=S.**
HILL & JACKSOM (1984)	**N**	**N**	**S**	**N**	**'Baixa': QD=N; diluição do suco 1/20; extração de 7mm.**
FLANDERS et al. (1990)	**S**	**N**	**S**	**N**	**100%: Melhor 20 dias após a inoculação**
SOUZA-DIAS et al. (1998)	**S**	**S**	**S**	**S**	**95 % para o estolão + gema**
TRUTA & FIGUEIRA (1999)	**S**	**N**	**S**	**S**	**8,2% : Extração feita do conteúdo da polpa central, retirada com um cilindro de 3mm de diâmetro, com um furador de rolhas, atravessando o tubérculo desde estolão até a gema apical.**
KLERKS et al. (2001)	**S**	**N**	**S**	**S**	**100% para o estolão + gema**

[1] D = tubérculo recém-colhido; [2]QD = quebra de dormência; [3]S = sim; e [4]N = não.

Deve-se, porém ressaltar casos excepcionais em que testagem adicional dos brotos seriam necessárias: 1) Na circunstância de infestação de insetos de vetores da batata durante o período de brotação, em que, poderá ocorrer a transmissão do vírus e esta se limitar aos tecidos do broto apenas, pois poderá não haver translocação ao tubérculo mãe. Neste caso então, haverá a necessidade da indexação de amostras de lotes de broto/batata-semente, pois a incidência de vírus, conhecida inicialmente em

amostras de tubérculos mãe, poderá não ser a mesma encontrada nos lotes de broto/batata-semente; 2) Casos de variedade com alta resistência à infecção aos vírus estudados, pois em decorrência de restrições na replicação e/ou movimentação irregular dos vírus nos tecidos, pode resultar em falso negativo no ELISA de tubérculos, devido à baixa concentração do antígeno.

Tubérculo dormente (2) Broto apical destacado (3) Folhas da planta progênie

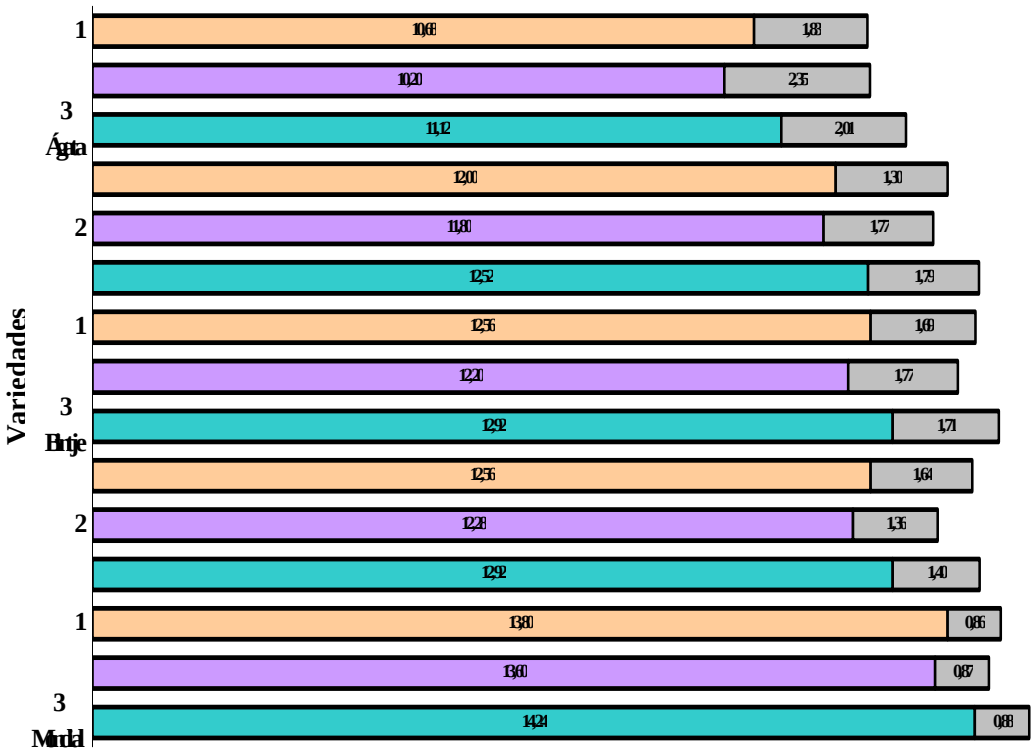


Figura 3 – **Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PLRV em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA para cinco variedades de batata, em 25 repetições com 18 amostras cada.**

(1) Tubérculo dormente (2) Broto apical destacado (3) Folhas da planta progênie

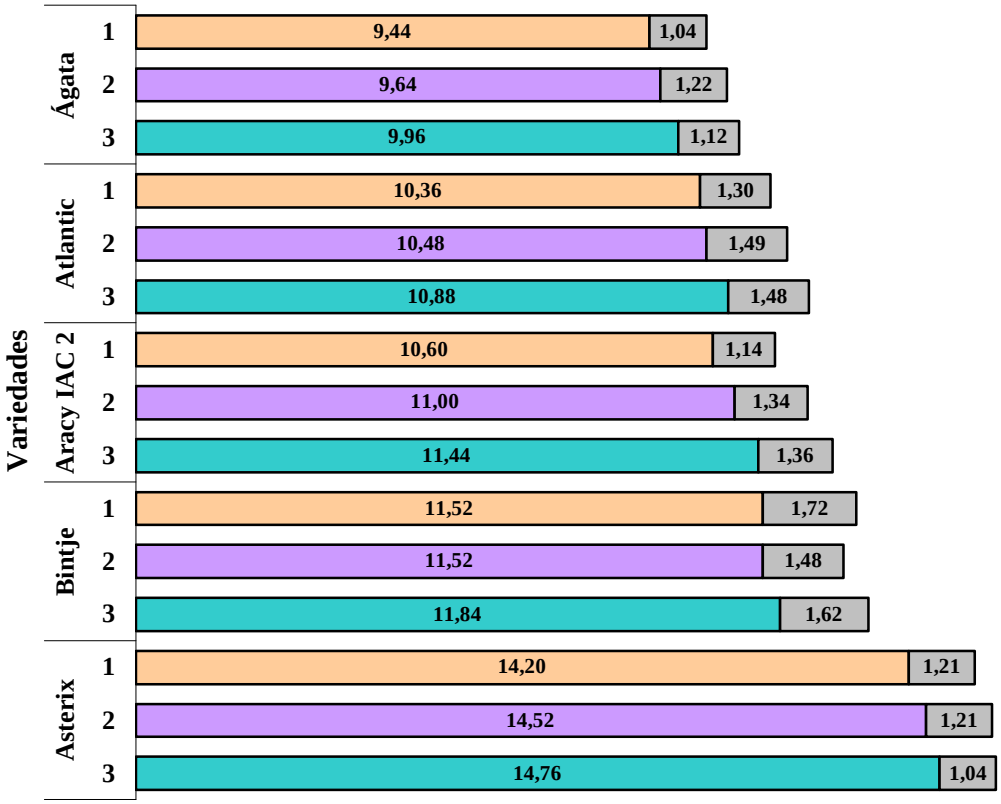


Figura 4 – **Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PVY em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA para cinco variedades de batata, em 25 repetições com 18 amostras cada.**

(1) Tubérculo dormente (2) Broto apical destacado (3) Folhas da planta progênie

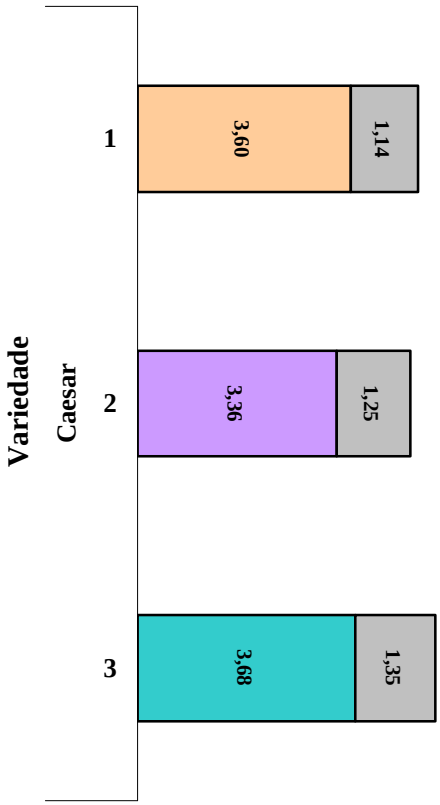


Figura 5 – **Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PVX em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA, em 25 repetições com 18 amostras cada.**

(1) Tubérculo dormente (2) Broto apical destacado (3) Folhas da planta progênie

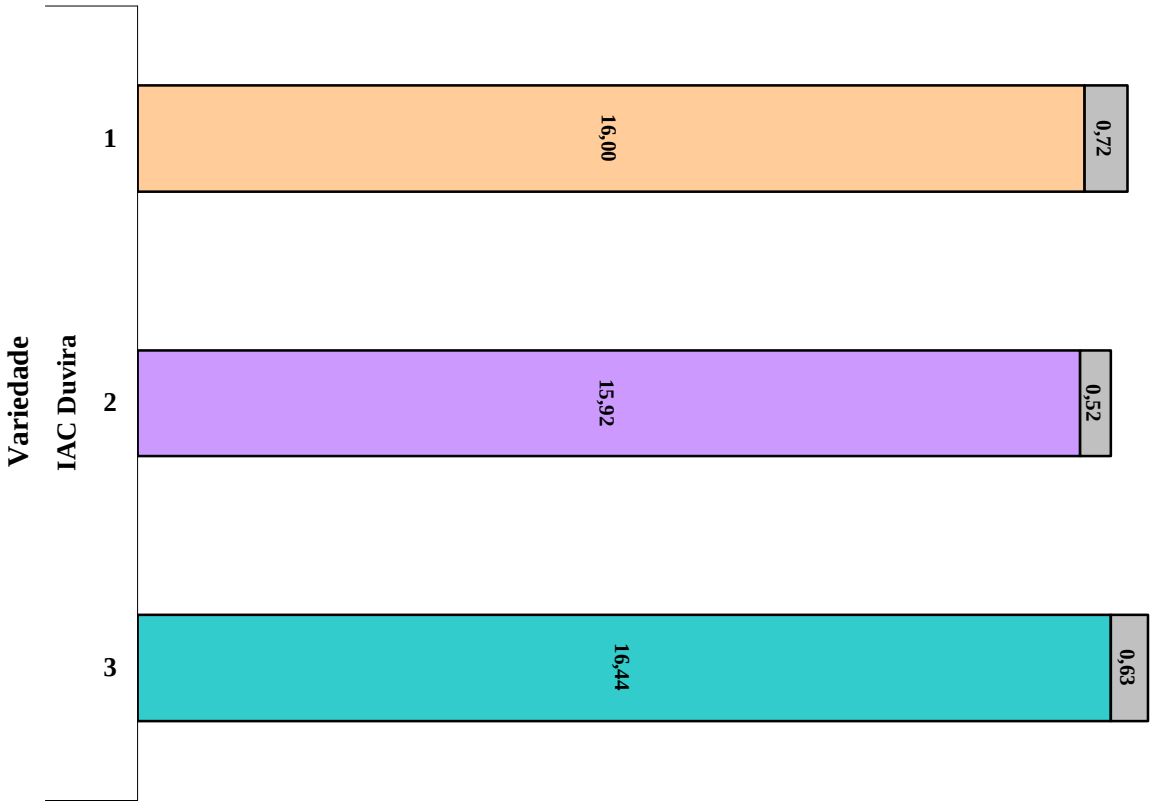


Figura 6 – **Correlação média e respectivos desvios padrões para detecção do PVS em três tecidos correspondentes (1, 2 e 3), analisados via DAS-ELISA, em 25 repetições com 18 amostras cada.**

5 CONCLUSÕES

Experimento [1]

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

a) Houve correlação estatística ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey na detecção dos vírus PLRV, PVY, PVX e PVS nos três tecidos comparados: tubérculo dormente (1), broto apical destacado (2) e folhas da planta progênie (3). Portanto, o percentual de cada um dos quatros vírus analisados, via DAS-ELISA, em lotes de tubérculos dormentes, pode ser considerado como indicador seguro, isto é, correspondente ao que seria determinado em DAS-ELISA de brotos destacados desses lotes.

b) Estando os tubérculos/batata-semente com percentual de vírus dentro dos limites de tolerância, torna-se desnecessária a avaliação de sanidade do lote de broto/batata-semente, quando destacados desses tubérculos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Experimento [2]: Broto/batata-semente na produção de minitubérculos após submetidos à dois tratamentos químicos.

Experimento [2]

3.1 Procedimento experimental

3.1.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em telados anti-afídeos. Este experimento foi realizado no Laboratório de Viroses da Batata e Solanáceas em Geral (LVB) e demais dependências do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Fitossanidade/Virologia – APTA/IAC (CPDF/V), situado na Alameda Álvaro dos Santos Costa – Fazenda Santa Elisa, no município de Campinas-SP.

O experimento foi realizado durante o ano de 2005.

3.1.2 Obtenção do Material

As amostras dos brotos foram originadas dos tubérculos-semente (após quebra de dormência natural) submetidos por produtores para testes de imunodiagnose via DAS-ELISA para o LVB, cujos resultados foram negativos, ou seja, isentas das principais viroses regulamentadas para a produção de batata-semente nacional.

3.2 Avaliação do tamanho do broto em relação a dois tratamentos químicos

Foram avaliados o tamanho do broto: (1) Brotos de 2 a 4 cm, sendo considerados como, 'Broto-menor' e (2) Brotos de 5 a 8 cm, sendo considerados como, 'Broto-maior'. Estes brotos foram tratados com: (A) Fludioxonil – Nome comercial: Maxim® – Empresa: Syngenta; (B) Ácido giberélico – Nome comercial: ProGibb® – Empresa: Bayer; e (C) Testemunha, sem tratamento.

As plantas do Broto-menor e do Broto-maior foram avaliadas em: número de haste – altura da planta – diâmetro horizontal da folha – diâmetro vertical da folha – número de minitubérculo por planta – peso de minitubérculo por planta.

As variedades estudadas foram: Ágata, Almera, Markies e Monalisa, sendo composta por uma amostra de 24 brotos, para cada variedade e tratamento empregado.

3.3 Condução do experimento:

A) Ensaio

O ensaio foi conduzido em telados anti-afídeos no plantio de inverno, compreendendo o período de 14 de maio a 02 de agosto de 2005. O broto-menor e o

broto-maior, foram plantados em bandejas de 200 cm^3, sendo plantados dois brotos por cavidade, contendo Terra Autoclavada + Plantmax$^{HT®}$ + Fibra de coco® N.o 47 (2:2:1) e 15 g de 4-14-8.

Os tratamentos aplicados foram: (A) Fludioxonil e (B) Ácido giberélico. A dosagem aplicada para cada tratamento foi a sugerida pelo técnico representante do produto, devido à falta de recomendação específica para brotos de batata: (A) 40ml/10L e (B) 1g/10L. Em ambos os tratamentos, o tempo de imersão na solução foi de 10 minutos, e depois colocados para secar a sombra. Em seguida ambos os brotos foram plantados. A irrigação foi feita diariamente até os cinqüentas dias, após este período com intervalos de um a dois dias dependendo da necessidade.

Após o plantio, foram feitas as avaliações do desenvolvimento das plantas oriundas dos brotos/batata-semente da seguinte maneira: a) com 20 dias; b) com 40 dias; e c) com 60 dias. Apenas as avaliações aos 60 dias foram consideradas nas análises por ter a melhor distinção entre tratamento versus desenvolvimento das plantas/variedade.

B) Descrição dos tratamentos, dos substratos e das variedades utilizadas

- Tratamentos:

1) Maxim® = Classe: fungicida – Grupo químico: fenilpirroles – Tipo de formulação: suspensão concentrada – Instrução de uso: deve ser usado em uma única aplicação na forma de tratamento de sementes, antes da semeadura. É recomendado para batata-semente, para prevenção de doença, como *Rhizoctonia solani*.

2) ProGibb® = Classe: regulador de crescimento vegetal – Grupo químico: giberelina – Tipo de formulação: pó solúvel – Instrução de uso: é um regulador de crescimento vegetal, de ocorrência natural na planta. É recomendado para batata-semente, para facilitar a brotação e obter maior produção.

- Substratos:

1) Terra Autoclavada = substrato estéril para assegurar a imunidade a doenças. A terra foi submetida a uma temperatura de 121°C em uma autoclave do LVB;

2) Plantmax$^{HT®}$ = foi desenvolvido especificamente para a produção de mudas de solanáceas e brássicas levando-se em consideração as exigências físicas e químicas da cultura. Produto compostado, estabilizados com cascas processadas e enriquecidas, vermiculita expandida, turfa processada e enriquecida; e

3) Fibra de Coco® N.o 47 = o Golden Mix Granulado é um substrato formulado a partir de 100% de fibra de Coco, de textura fina, indicada principalmente para formação de mudas em bandejas e tubetes. Recebe um nível elevado de adubação de

base, sendo recomendada para espécies de hortaliças mais exigentes.

- Variedades

As variedades estudadas neste experimento são holandesas, como Ágata e Monalisa, estas de maior interesse no mercado atual, quando comparadas com as variedades Almera e Markies, duas ainda em fase de introdução no mercado brasileiro, mas com grande potencial de aceitação. A descrição das variedades, estão de acordo com os autores BAARVELD et al. (2003):

a) Ágata = Maturação – precoce; Tubérculos – grandes, oval, olhos superficiais; Brotos – moderadamente grande, grosso e cilíndrico, cor pouco pronunciado à violeta avermelhado, escassamente coberto de pêlos; Folhagem – de desenvolvimento bom; Matéria seca – teor baixo; e Rendimento – alto.

b) Almera = Maturação – semiprecoce; Tubérculos – grandes, oval-alongados, olhos superficiais; Brotos – moderadamente grande, cônico, cor moderadamente pronunciado à violeta avermelhado, moderadamente coberto de pêlos; Folhagem – de desenvolvimento bastante bom; Matéria seca – teor moderado; e Rendimento – muito alto.

c) Markies = Maturação – tardia; Tubérculos – grandes, oval, olhos bastante superficiais; Brotos – grande, cilíndrico, cor pronunciado à violeta avermelhado, moderadamente coberto de pêlos; Folhagem – de desenvolvimento muito bom; Matéria seca – teor bom; e Rendimento – muito alto.

d) Monalisa = Maturação – semitardia; Tubérculos – muito grandes, oval-alongados, olhos superficiais; Brotos – grande, oval, cor pouco pronunciado à violeta avermelhado, densamente coberto de pêlos; Folhagem – de desenvolvimento bom; Matéria seca – teor bom a moderado; e Rendimento – muito alto.

3.4 Delineamento estatístico

Este experimento foi analisado através do programa SANEST (Sistema de Análise Estatística), desenvolvido por ZONTA & MACHADO (1984) no Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ/USP e aplicado para o teste de Tukey ao nível de 5%. O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 4 x 3 x 2, utilizando quatro variedades de batata, três tratamentos químico e dois tamanhos de brotos com três repetições.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento [2]

4.1 Número de haste

Em relação ao número de hastes por planta, observou-se que não houve interação significativa entre os resultados do broto menor, independentemente da variedade ou tratamento utilizado. E o mesmo foi observado para os resultados referentes ao broto maior, conforme mostra a figura 7.

De acordo com WIERSEMA (1987), o número de hastes por área (densidade de hastes) foi definido como sendo o produto da densidade de plantas pelo número de hastes por planta ou número de hastes principais por metro quadrado ou, ainda hastes principais sobre o solo/m^2, salientando que cada haste se comporta como se fosse uma planta individual formando raízes, estolões e tubérculos. A densidade de hastes também influi diretamente na produção de tubérculos, sendo que uma densidade alta de hastes aumenta o rendimento até certo nível, mas reduz o tamanho médio dos tubérculos (maior produção de tubérculos pequenos).

Enfim, o número de hastes, é proporcional ao tamanho do tubérculo, ou seja, do seu peso ou da área (REESTAMN & WIT, 1959; WURR, 1975). O número de tubérculos por planta é determinado pela cultivar, mas também muito influenciado pelo ambiente (VAN DE ZAAG & BURTON, 1978). Muitas hastes laterais são formadas em plantio de tubérculos com dominância apical. O número de hastes é proporcional ao número de gemas por tubérculo e a idade fisiológica da batata-semente (SOUZA & SOUZA, 1999a).

4.2 Altura da planta

Na avaliação do broto menor, utilizando-se os tratamentos Maxim® (1) e Testemunha (3), verifica-se que não houve interação significativa entre os resultados obtidos, independentemente da variedade utilizada. Porém, o tratamento com ProGibb® (2), verifica-se inicialmente, uma maior média para a variedade Markies, que se equipara estatisticamente à média obtida pela variedade Monalisa. As médias das variedades Ágata e Almera se encontram igualadas, diferenciando-se da classificação obtida pelo teste de Tukey a 5%, das duas primeiras variedades, conforme a Figura 8.

Na avaliação do broto maior, utilizando-se os tratamentos Maxim® (1) e ProGibb® (2), verifica-se que houve interação significativa entre os fatores variedade e tratamento químico, e que a variedade Markies obteve uma maior média para os dois

tratamentos. No tratamento Testemunha (3), não houve interação significativa entre os resultados obtido, independente da variedade utilizada, conforme a Figura 8.

A velocidade de crescimento da planta ocorre de acordo com a época de plantio, idade fisiológica, condições climáticas e cultivar (STARK & LOVE, 2003). Foi verificado neste estudo que os brotos tratados com o Ácido giberélico (2) emergiram- se com estiolamentos e às vezes cloróticos, dando aparência de plantas doentes. Esse fator pode estar relacionado com as giberilinas, pois promovem a multiplicação e o alongamento celular. De acordo com BARRETOS & HAYASHI (2005), quando se tem este estímulo é necessário que a planta esteja bem nutrida principalmente em cálcio, já que é comum encontrar sintomas de deficiência em plantas que receberam este tipo de hormônio.

4.3 Diâmetro horizontal da folha

Em relação ao diâmetro horizontal das folhas, verificou-se que na avaliação do broto menor, houve diferença estatística, em relação ao broto que recebeu tratamento com ácido giberélico/ProGibb® (2) e a 'Monalisa' se sobressaiu entre as variedades. Essa diferença pode estar relacionada com o estiolamento sofrido pelo broto, havendo um bloqueio no desenvolvimento da sua área foliar.

Para o broto maior, não houve interação significativa, independentemente da variedade ou tratamento utilizado, como observado na Figura 9.

4.4 Diâmetro vertical da folha

Na avaliação do diâmetro vertical da folha, não houve interação significativa entre os resultados broto menor, de acordo com as variedade ou tratamento utilizado. Foi observado, o mesmo para os resultados referentes ao broto maior, conforme mostra a Figura 10.

De acordo com CUBILLOS (1978), para obter o máximo potencial produtivo, em regiões tropicais e subtropicais, existem três requisitos básicos: emergência e desenvolvimento rápido da planta para absorver ao máximo a energia luminosa num curto espaço de tempo, a folhagem deve atingir o máximo desenvolvimento no momento do início da tuberização e a folhagem deve permanecer por um maior período. ALLEN & SCOTT (1980), relata que em fotoperíodos curtos, as cultivares de

maturação precoce são mais eficientes. O contrário é verdadeiro para as cultivares de maturação tardia. A produção de matéria seca também é afetada pelos mesmos fatores.

4.5 Número de minitubérculo por planta

Na avaliação do número de minitubérculos por planta, para o broto menor não houve interação significativa entre os resultados obtidos, independentemente da variedade ou tratamento utilizado, conforme a Figura 11.

Na avaliação do broto maior, utilizando-se os tratamentos Maxim® (1) e Testemunha (3), verificou-se que não houve interação significativa entre os fatores variedade e tratamento. Porém, o tratamento com ProGibb® (2), verifica-se inicialmente, uma maior média para a variedade Almera. As médias das variedades Markies, Monalisa e Ágata se encontram igualadas estatisticamente, diferenciando-se da classificação obtida pelo teste de Tukey a 5%, da primeira variedade.

O número, tamanho dos tubérculos produzidos, a taxa de multiplicação e o hábito da planta dependem da competição entre hastes por luz, nutrientes, água, etc., e variam com a cultivar e as condições de ambiente. Um aumento na densidade populacional de hastes corresponde a aumento na produção total, na taxa de multiplicação e decréscimo no tamanho (peso) médio dos tubérculos produzidos. A maior concorrência entre plantas (grupos hastes) dentro da planta é fator responsável pela diminuição ou tamanho ou do peso médio dos tubérculos (ALLEN, 1978; BARRY et al., 1981; SOUZA & SOUZA, 1999b). Portanto, a densidade de hastes é afetada principalmente pelo espaçamento de plantio e tamanho da batata-semente.

4.6 Peso de minitubérculo por planta

Na avaliação do peso de minitubérculos por planta, parar o broto menor, não houve interação significativa, independentemente da variedade ou tratamento utilizado, conforme mostra na Figura 12.

Na avaliação do broto maior, utilizando-se os tratamentos Maxim® (1) e ProGibb® (2), verificou-se que houve interação significativa entre os fatores variedade e tratamento químico. No tratamento Maxim® (1) a variedade Monalisa obteve uma média maior, não havendo uma diferença significativa entre as variedades Markies e Almera. A variedade Ágata obteve uma média menor com a utilização deste tratamento. No tratamento ProGibb® (2), houve uma diferença significativa com maior média obtida

pela variedade Almera em relação as variedades Monalisa, Markies e Ágata, conforme observa-se nas Figuras 12 e 13.

WURR (1974) estudou o efeito de três pesos de sementes e três espaçamentos na linha sobre a resposta da produção ao aumento da densidade de plantas em dois cultivares precoces de batata. Em seu trabalho verificou que há uma tendência de interação entre cultivar e tamanho da semente e entre cultivar e espaçamento, particularmente no caso das classes de tamanho maior.

O peso obtido para este estudo, pode estar relacionado ao tamanho do minitubérculo produzido em função do tamanho da bandeja onde foram plantados, de acordo com as características que cada variedade apresenta (BAARVELD et al., 2003).

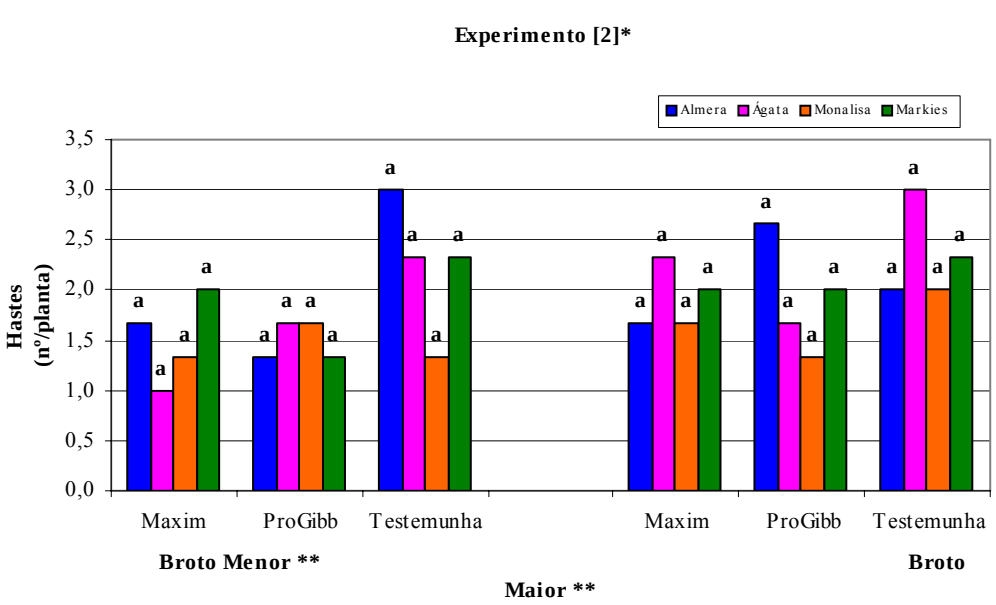


Figura 7 – Efeito do tratamento de broto/ batata-semente de tamanho menor (2 a 4cm) ou maior (5 a 8cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número médio de hastes por planta.

(*) As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey; (**) Média de 3 repetições.

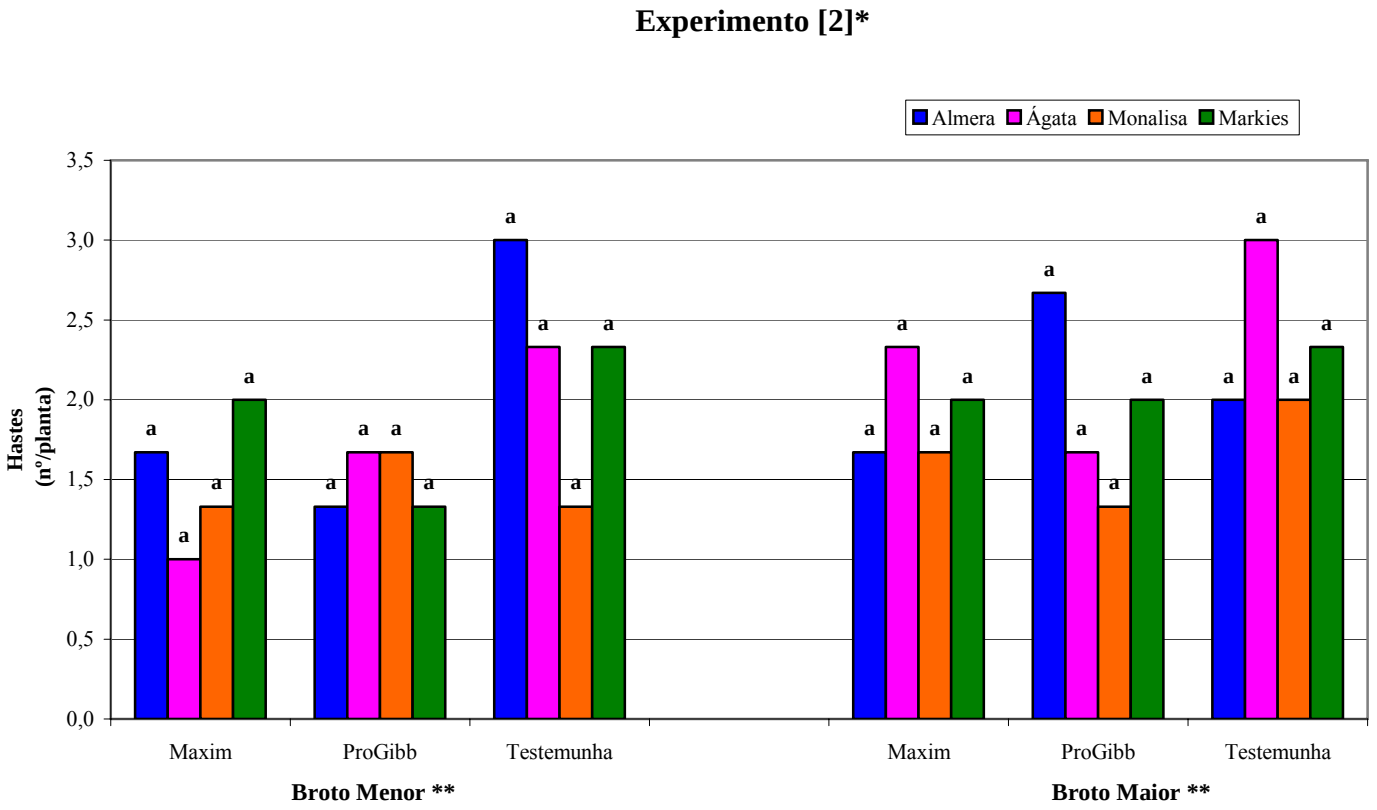


Figura 7 – Efeito do tratamento de broto/ batata-semente de tamanho menor (2 a 4cm) ou maior (5 a 8cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número médio de hastes por planta.

(*) As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey; (**) Média de 3 repetições.

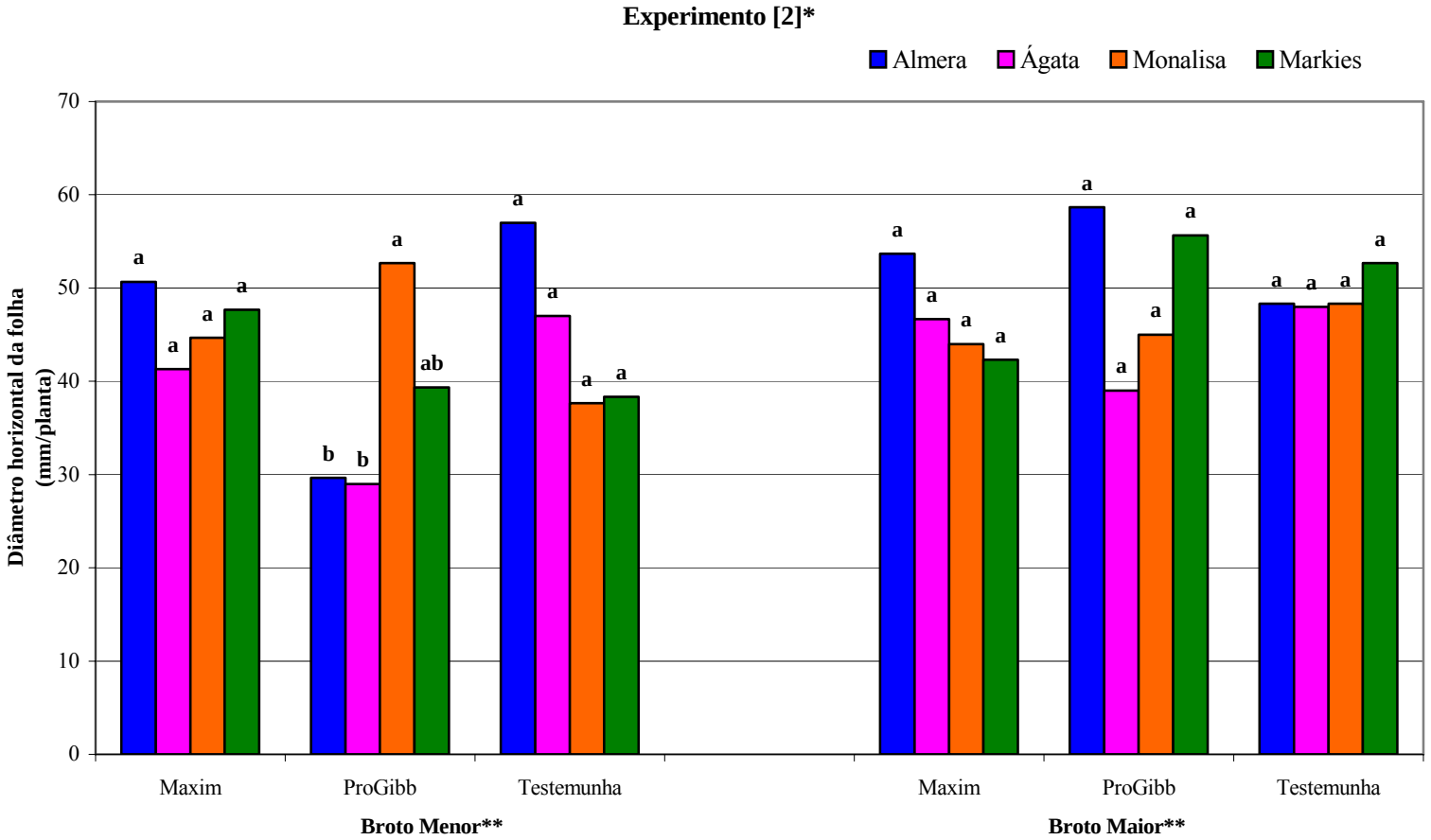


Figura 9 – Efeito do tratamento de broto/ batata-semente de tamanho menor (2 a 4cm) ou maior (5 a 8cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no diâmetro horizontal médio da folha.

(*) As médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey;
(**) Média de 3 repetições.

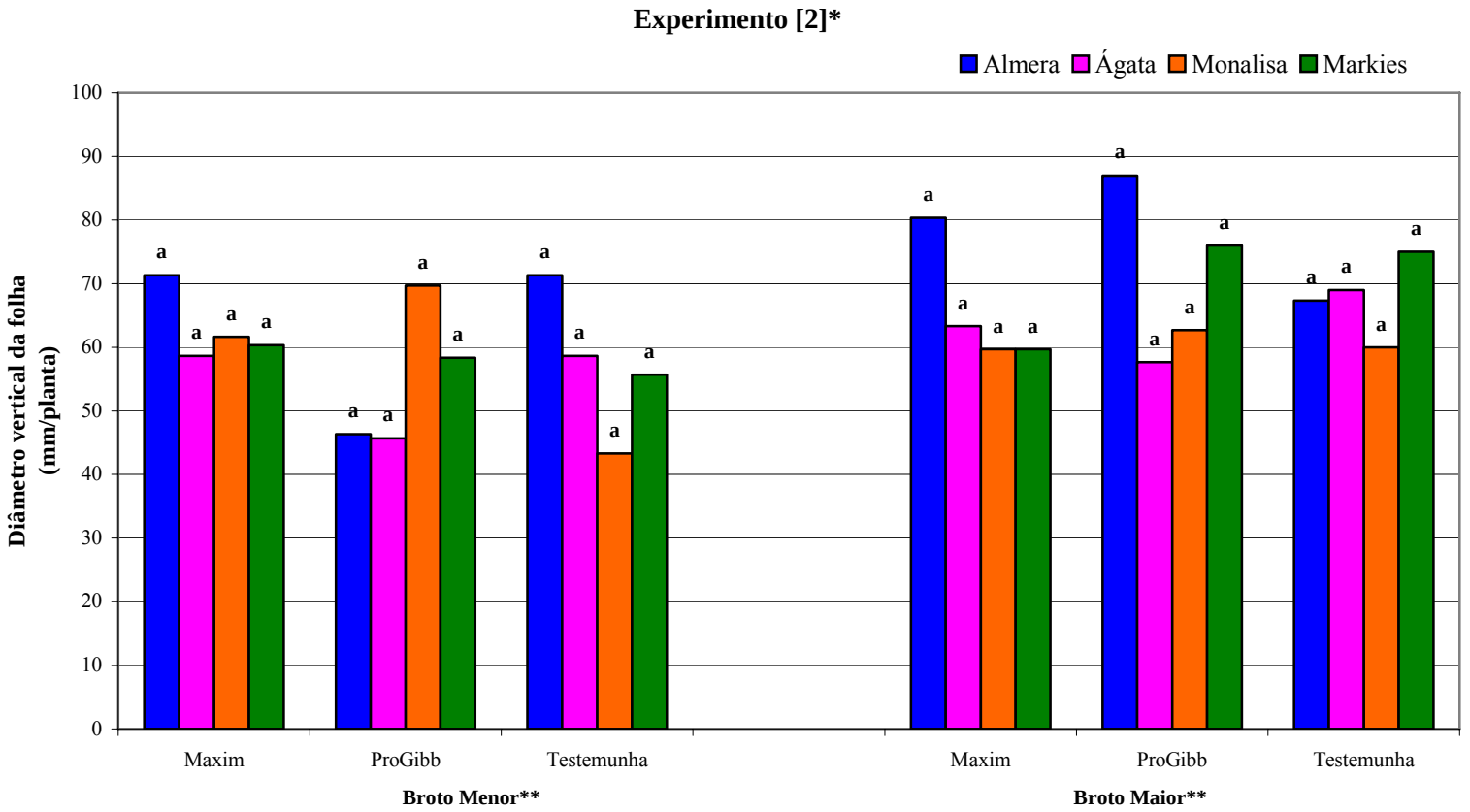
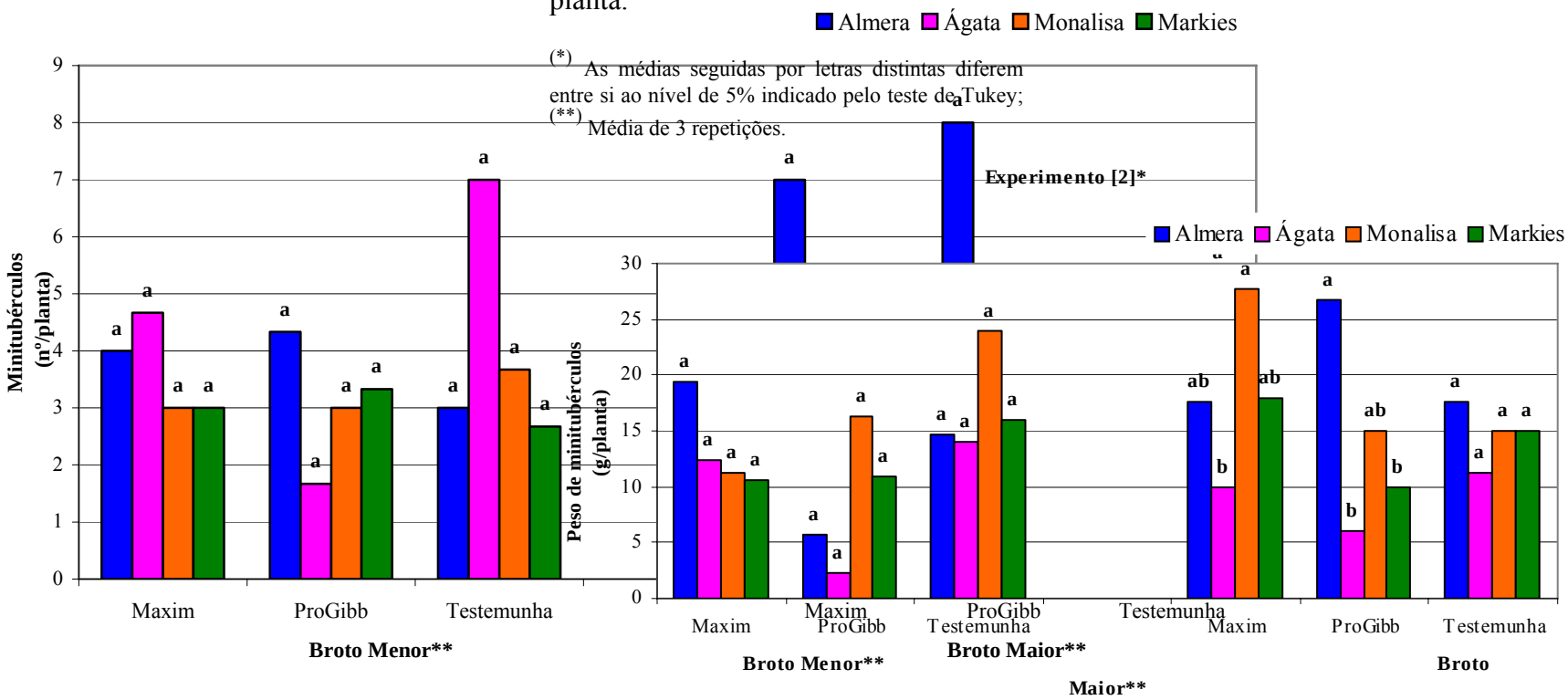


Figura 10 – Efeito do tratamento de broto/ batata-semente de tamanho menor (2 a 4cm) ou maior (5 a 8cm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no diâmetro vertical médio da folha.

(*) As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey; (**) Média de 3 repetições.

com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número médio de minitubérculos por planta.



(*) As médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey;
(**) Média de 3 repetições.

Figura 11 – Efeito do tratamento de broto/ batata-semente de tamanho menor (2 a 4cm) ou maior (5 a 8cm)

Figura 12 – Efeito do tratamento de broto/ batata-semente de tamanho menor (2 a 4cm) ou maior (5 a 8cm)

com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no peso médio dos minitubérculos.

(*) As médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey;
(**) Média de 3 repetições.

a

b

MONALISA CONTROLE
MAXIM
PROGIBB

c

ALMERA CONTROLE
MAXIM
PROGIBB

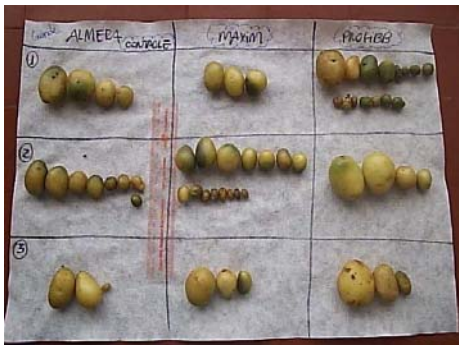
e

AGATA CONTROLE
MAXIM
PROGIBB

g

MONALISA CONTROLE
MAXIM
PROGIBB

d



f

h

Figura 13 - Amostras de minitubérculos produzidos de brotos/batata-semente tratados com o fungicida Maxim© ou como o regulador de crescimento ProGibb© em comparação com o Sem tratamento: **a.** 'Markies' broto menor (2 a 4 cm); **b.** 'Markies' broto maior (5 a 8 cm); **c.** 'Monalisa' broto menor; **d.** 'Monalisa' broto maior; **e.** 'Almera' broto menor; **f.** 'Almera' broto maior; **g.** 'Ágata' broto menor; **h.** 'Ágata' broto maio

5 CONCLUSÕES

Experimento [2]

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

a) Tratamentos químicos Maxim® ou ProGibb® em broto menor (>2<4 cm) independentemente da variedade de batata estudada:, Ágata, Almera, Markies e Monalisa, não apresentam diferenças significativas entre os fatores: número de haste, diâmetro vertical da folha, número de minitubérculos por planta e peso de minitubérculos por planta,. Enquanto, que na avaliação com relação à altura da planta e diâmetro horizontal da folha, houve diferença significativa quando utilizou o tratamento químico com o estimulador de crescimento ProGibb®.

b) Na avaliação do broto maior (>5<8 cm), com relação ao número de haste, diâmetro horizontal e diâmetro vertical das folhas, os tratamentos químicos Maxim® ou ProGibb®, independentemente das variedades, Ágata, Almera, Markies e Monalisa, não mostraram diferença significativa . Da mesma forma que observado para o "broto menor", na avaliação com relação à altura da planta; número de minitubérculo por planta; e peso de minitubérculo; houve diferença significativa quando utilizou o tratamento químico com o estimulador de crescimento ProGibb®.

c) Tanto o broto menor como o maior quando tratados com o estimulador de crescimento ProGibb® pode originar plântulas estioladas e cloróticas, aparentando problema patológico, ao contrário dos brotos tratados com o Maxim®, os quais apresentaram aparência de plantas sadias.

d) O tamanho do broto/batata-semente pode apresentar resposta varietal significativa no desenvolvimento e/ou produtividade das plantas em função de tratamento com o fungicida ou o estimulador de crescimento ProGibb®.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Experimento [3]: Desempenho dos minitubérculos oriundos de brotos/batata-semente nas condições de cultivo em campo, tratados com dois tratamentos químicos.

Experimento [3]

3.1 Procedimento experimental

3.1.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em campo, latossolo-vermelho com textura argilosa. Este experimento foi realizado na Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS – Setor de Olericultura & Experimentação – Alfenas/MG, coordenadas geográficas: altitude média de 849, 2 m, latitude de 21°25'45S e longitude de 45°56'50W. A temperatura média anual oscila geralmente entre 21 a 23°C, com relação ao regime de chuva, o clima é úmido com precipitação média anual de aproximadamente 1.500 milímetros.

O experimento foi realizado durante o ano de 2005.

3.1.2 Obtenção do Material

As amostras dos minitubérculos foram obtidas através de brotos/batata-semente, plantados dentro de telados anti-afídeos no CPDF/V e indexados como livre de vírus via DAS-ELISA, apresentando alta sanidade em geral.

3.2 Características estudadas

As características estudadas foram: produção (kg/ha) e número de tubérculos/plantas, sob condições de campo, utilizando como material de propagação, minitubérculos (22,5 a 44,5 mm) oriundos do broto/batata-semente. Os minitubérculos receberam tratamentos iguais ao Experimento [2].

As variedades estudadas foram: Ágata, Almera, Cupido e Markies, sendo composta por uma amostra de 48 minitubérculos, para cada variedade e tratamento empregado.

3.3 Condução do experimento

A) Ensaio

O ensaio foi conduzido em campo no plantio de inverno, compreendendo o período de 19 de maio a 31 de agosto de 2005. Os minitubérculos receberam os tratamentos conforme o Experimento [2] e depois foram distribuídos e plantados em parcelas.

O espaçamento utilizado entre as linhas foi de 60 cm e a distância entre as plantas nas linhas foi de 20 cm. A irrigação foi feita de acordo com a necessidade da planta em função da temperatura ambiente, pois durante o ciclo da cultura ocorreu período de chuvas. Os tratos culturais foram realizados de acordo com o recomendado para a cultura.

B) Descrição dos tratamentos e das variedades utilizadas

- Tratamentos:

A descrição dos tratamentos vide o Experimento [2].

- Variedades:

As descrições das variedades: 1) Ágata, 2) Almera e 3) Markies, vide o Experimento [2].

4) Cupido = Cultivar holandesa. Características: Tubérculos – graúdos e uniformes, oval – alongados; Planta – porte médio alto, com tendência a acamamento, hastes vigorosas de emergência e desenvolvimento lento (HAYASHI, 2001).

3.4 Delineamento estatístico

Este experimento foi analisado através do programa SANEST (Sistema de Análise Estatística), desenvolvido por ZONTA & MACHADO (1984) no Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ/USP e aplicado para o teste de Tukey ao nível de 5%. O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 4 x 3 , utilizando quatro variedades de batata e três tratamentos químicos dos minitubérculos semente com três repetições.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento [3]

4.1 Produção de tubérculos

Para a produção de tubérculos, pode-se verificar conforme as Tabela 13 e 14, que não houve interação significativa entre os fatores, variedades e tratamentos. Independente do uso ou não de tratamentos, as quatro variedades apresentaram produção sem diferenças estatísticas, variando de 10170,00 a 15199,11 kg/ha para Almera e Cupido, respectivamente.

Tabela 13. Teste de Tukey para as médias de produção de tubérculos (kg/ha) das variedades.

Variedade	Produção de tubérculos (kg/ha)**
Cupido	15199,11 a*
Markies	12258,77 a
Ágata	11279,11 a
Almera	10170,00 a

(*) As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
(**) Média de 3 repetições.

Tabela 14. Teste de Tukey para as médias de produção de tubérculos (kg/ha) dos tratamentos químicos.

Tratamentos	Produção de tubérculos (kg/ha)**
Testemunha	13868,00 a*
Maxim®	12102,33 a
ProGibb®	10409,91 a

(*) As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
(**) Média de 3 repetições.

Na Figura 14, verificou-se que as variedades Ágata e Cupido mantiveram quase que homogênea em relação aos três tratamentos. O mesmo não foi observado para as outras variedades.

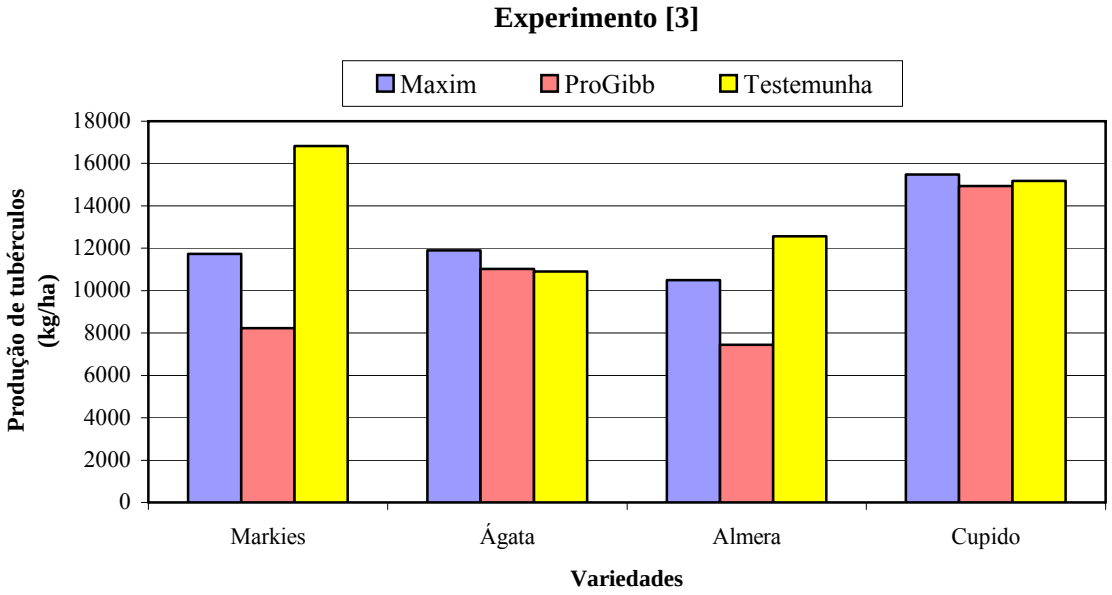


Figura 14 – Efeito do tratamento de minitubérculo (22,5 a 44,5 mm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) na produção média de tubérculos.

4.2 Número de tubérculos por planta

Em termos da variável número de tubérculos por planta pode-se verificar na Tabela 15 e 16, que não houve significância entre os fatores variedade e tratamento. Desta forma, independente do uso ou não dos tratamentos químicos, a média de tubérculos produzidos por planta, variou de 5,88 Cupido á 6,66 Ágata, respectivamente, conforme pode ser observado nas Figuras 16, 17, 18 e 19.

Tabela 15. Teste de Tukey para as médias de número de tubérculos/planta das variedades.

Variedade	Tubérculos (nº/planta)**
Ágata	6,66 a*
Markies	6,33 a
Almera	5,88 a
Cupido	5,88 a

* As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
** Média de 3 repetições.

Tabela 16. Teste de Tukey para as médias de número de tubérculos/planta dos tratamentos químicos

Tratamentos	Tubérculos (nº/planta)**
ProGibb®	6,58 a
Testemunha	6,11 a
Maxim®	5,66 a

* As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% indicado pelo teste de Tukey.
** Média de 3 repetições.

Na Figura 15, verificou-se que as variedades Almera e Cupido mantiveram quase que homogênea em relação aos três tratamentos. O mesmo não foi observado para as variedades Markies e Ágata.

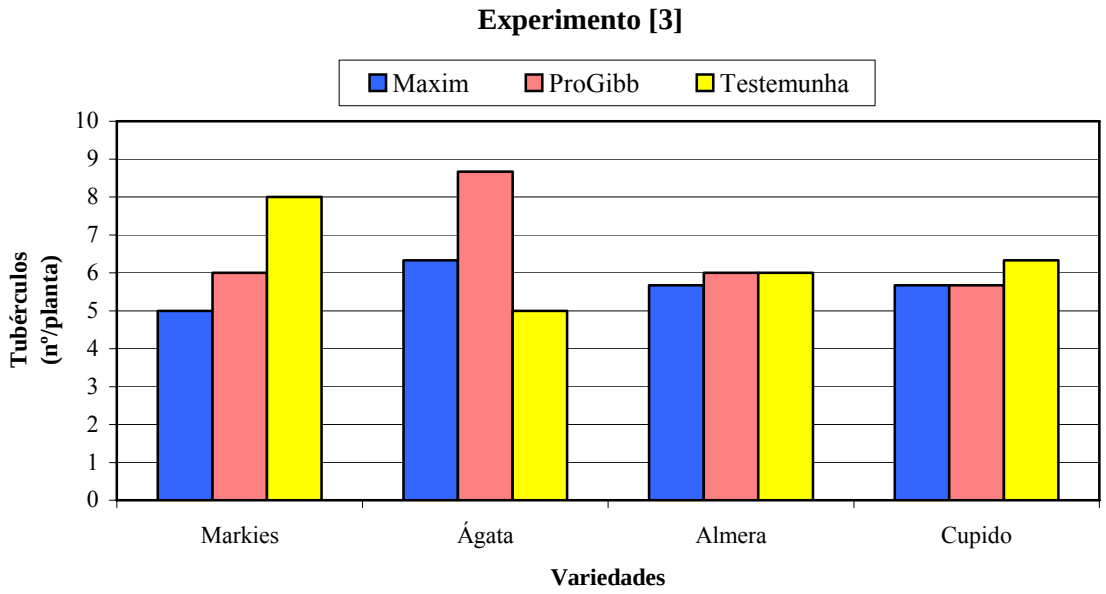


Figura 15 – Efeito do tratamento de minitubérculos (22,5 a 44,5 mm) com o fungicida (Maxim®) ou o regulador de crescimento (ProGibb®) no número médio de tubérculos por planta.

Para este experimento vale ressaltar que, quanto maior o tubérculo semente, maior será o vigor da planta e o número potencial de gemas, de brotos, de hastes e de tubérculos produzidos.

Por outro lado, menor será o número de estolões e tubérculos e de tubérculos por haste (SOUZA, 2003).

Os tubérculos maiores produzem mais estolões e tubérculos, porém, quanto maior o número de hastes, por planta, menor será o número de estolões e de tubérculos

por haste, mas não por planta. ALLEN (1978) relata que os tubérculos menores promovem melhores densidades de hastes, boas produtividades e maiores retornos econômicos. Quanto maior o tubérculo-semente maior a irregularidade de distribuição de hastes na área (REESTMAN & WIT, 1959).

a

b

c

Figura 16 – Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Ágata: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Testemunha.

c

a

b

c

Figura 17 – Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Almera: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Testemunha.

a

b

c

Figura 18 – Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Cupido: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Testemunha.

a

b

c

Figura 19 – Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® sob condições de campo, produção de 8 plantas, variedade Markies: **a.** Produção dos tubérculos tratados com o Maxim®; **b.** Produção dos tubérculos tratados com o ProGibb®; **c.** Produção dos tubérculos Testemunha.

5 CONCLUSÕES

Experimento [3]

Os resultados obtidos com o Experimento 3 permitem concluir que:

c) Minitubérculos das variedades Ágata, Almera, Cupido e Markies, provenientes da tecnologia do broto/batata-semente são produtivos, quando utilizados como material de propagação em campo e não mostram nenhuma diferença significativa (p.5%) na produtividade quando tratados com o fungicida Maxim® ou com o regulador de crescimento ProGibb® em comparação com controle, sem tratamento.

d) Minitubérculos tratados com o fungicida Maxim®, apresentam maior uniformidade no tamanho dos tubérculos progênies, independente da variedade estudada.

e) Minitubérculos tratados com o regulador de crescimento ProGibb®, apresentam deformações, com tendência ao afilamento, além de promover desuniformidade no tamanho dos tubérculos, independente da variedade estudada.

6 REFERÊNCIAS

ABBA. Prêmio idéia inovadora Congresso Mundial da Batata. **Batata Show**, Itapetininga, v. 5, n. 12, p. 7, ago. 2005.

ACCATINO, P. & MALAGAMBA, P. *Potato production from true seed*. Lima, Peru: Annul Report CIP 1981.

AGRICULTURAL production: potatoes. Faostat agriculture, http://www.fao.org (11 dezembro 1998).

AGRIANUAL. *FNP Consultoria & Agroinformativos*. In: Nakamae, I.J. & Pastrello, C.P. (eds). São Paulo: Editora Argos Comunicação, p. 235 – 243. 2003.

AGRIANUAL. *FNP Consultoria & Agroinformativos*. In: Nakamae, I.J. (ed). São Paulo: OESP Gráfica, p. 172 – 180. 2004.

ALARCÃO, A.D. Ata 01-04, *Reunião Extraordinária da Comissão Técnica de Batata-Semente, realizada em 14-04-2004, no Auditório do DDIV-MAPA*, Brasília-DF, 2004

ALLEN, E.J. Plant density. In: Harris, P.M. (ed). **The potato crop: the scientific basis for improvement**. London: Chapman & Hall, p. 278 – 326, 1978.

ALLEN, E.J. & SCOTT, R.K. An analysis of growth of the potatoes crop. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 94, p. 583 – 606, 1980.

ALON, Y. & BEN ZEEV, I. Operation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and seed testing laboratory. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 311 – 322, 2001.

AMMAR, E.D.; JARLFORDS, U. PIRONE, T.P. Association of potyvirus helper component protein with virions and the cuticle lining the maxillary food canal and foregut of an aphid vector. **Phytopathology**, v. 84, p. 1054 – 1060, 1994.

ANABA – Associação Nacional da Batata. Importações brasileiras de batata-semente. **Batata Show,** Itapetininga, v. 1, n. 1, p. 13 – 15, mai. 2001.

ANABA – Associação Nacional da Batata. Importações brasileiras de batata-semente 2001/2002. **Batata Show,** Itapetininga, v. 2, n. 5, p. 23, set. 2002.

ANDRADE, E.R. & FIGUEIRA, A.R. Degenerescência em seis cultivares de batata (*Solanum tuberosum L.)* na região Sul de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 15, n. 1, p. 9 – 15, jan/mar. 1991.

ANDRADE, E.R. & FIGUEIRA, A.R. Incidência e sintomatologia de estirpes do vírus Y (PVY) nas regiões produtoras de batata do Sul de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, n. 163, p. 371 – 376, 1992.

ASSIS, M.; SIQUEIRA, O.; DANIELS, J. Micropropagation of virus-free potato plants for the rapid increase of foundation seed stock. In: *XXI Cong. Bras. de Olericultura, 18 a 23 de Out.,* Campinas, p. 32, (resumos), 1981.

ASSIS, M. Produção de sementes pré-básicas de batata. In: Encontro Nacional de Fitossanitaristas, 3, 1984, Florianópolis. *Anais...* Brasília: Embrapa, 1984. p. 73 – 75.

ASSIS. M. Novas tecnologias na propagação de batata. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 30 – 33, 1999.

ATREYA, C.D.; RACCAH, B. PIRONE, T.P. A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmissibility of a potyvirus. **Virology**, v. 178, p. 161 – 165, 1990.

ÁVILA, A.C.; DANIELS, J.; SALAZAR, L.F. Detecção e caracterização parcial de um comovirus (Andean Potato Mottle-APMV) no Brasil. In: XVI Congr. Bras. de Fitopatologia. *Anais...* Belém, 4 a 8 de julho. p. 177 – 178, 1983.

ÁVILA, A.C. & BEEK, M.A. Principais viroses. In: Reifschneider, F.J.B. (ed). **Produção de Batata**. Brasília, Linha Gráfica e Editora, p. 103 – 117, 1987.

AVECEDO, E.; BRESSANI, R. Ingestión de fibra dietética em los países Del istmo centroamericano: implicaciones nutricionales. **Archivos Lationoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.3, p.392 – 404, 1989.

AVERRE, C.W. Diagnosing plant diseases by extension and other field professionals. **Summa Phytopathologica**, v. 24, n. 1, p. 91, 1998.

BAARVELD, H.R.; PEETEN, H.M.G.; SCHIPPER, E.; SCHIPPER, J.K. DELLEMAN, J. *Netherlands catalogue of potato varieties*. Den Haag: Published by NIVAP, 2003. 263 p.

BANTTARI, E.E. & FRANC, G.D. Elisa with single or combined antisera for viruses S and X in potato tubers and plants. **American Potato Journal**, v. 59, p. 375 – 387, 1982.

BANTTARI, E.E.; ELLIS, P.J.; KHURANA, S.M.P. Management of diseases caused by viruses and virus-like pathogens. p. 127 – 133. In: **Potato Health Management**. (ed). R.C. Rowe. APS Press: St. Paul-MN, 178 p. 1993.

BARKER, H. & HARRISON, B.D. Restricted multiplication of potato leafroll virus. in resistance potato genotypes. **Annals of Applied Biology**, v. 107, p. 205 – 212, 1985.

BARKER, H. & HARRISON, B.D. Restricted distribution of potato leafroll virus antigen in resistant potato genotypes and its effects on transmisson of the virus by aphids. **Annals of Applied Biology**, v. 109, p. 595 – 604, 1986.

BARKER, H. & WOODFORD, J.A.T. Spread of potato leafroll virus is decreased from plants of potato clones in which virus accumulation is restricted. **Ann. Appl. Biol.**, v. 121, p. 345 – 354, 1992.

BARNETT, O.W. A sumary of potyvirus taxonomy and definitions. **Arch. Virol.**, v. 5, p. 435 – 444, 1992.

BARRETOS, G.B. & HAYASHI, P. Fitoreguladores na cultura da batata. Batata Show, Itapetininga, v. 5, n.12, p. 18 – 19, ago. 2005.

BARRY, P.; STOREY, T.S.; QUINLIVAN, T. Effect of population and seed size on the yield of two maincrop potato cultivars. **Irish Journal of Agricultural Research**, Dublin, v. 20, p. 71 – 79, 1981.

BASKY, Z. & ALMÁSI, A. Differences in aphid transmissibility and translocation between PVY^N and PVY^O isolates. **Journal of Pest Science**, v. 78, n. 2, p. 67 – 75, may 2005.

BATATA.NET. Doenças causadas por fungos. http://www.batata.net/index.htm (28 janeiro 2006).

BAULCOMBE, D.C.; LLOYD, J.; MANOUSSOPOULOS, I.N.; ROBERTS, I.M. HARRISON, B.D. Signal for potyvirus-dependent aphid transmission of potato aucuba mosaic virus and the effect of its transfer to potato virus X. **J. Gen. Virol.**, v. 74, p. 1245 – 1253, 1993.

BEEMSTER, A.B.R. Virus translocation and mature-plant resistance in potato plants. In: De Bokx, J.A. & Van Der Want, J.P.H. (eds). **Viruses of potatoes and seed potato production**. 2nd ed. Wageningen: PUDOC, p. 116 – 124, 1987.

BEEMSTER, A.B.R. & DE BOKX, J.A. Survey of properties and symptoms. In: De Bokx, J.A. & Van Der Want, J.P.H. (eds). **Viruses of potatoes and seed potato production**. 2nd ed. Wageningen: PUDOC, p. 84 – 113, 1987.

BEEMSTER, A.B.R. & ROZENDAAL, A. Potato viruses: properties and symptoms. In: De Bokx, J.A. (ed). **Viruses of potatoes and seed potato production**. Wageningen: PUDOC, p. 115 – 143, 1972.

BEHALL, K.M.; SCHOLFIELD, D.J.; YUHANIAK, I.; CANARY, J. Diets containing high amylose vc amylopectin starch: effetcs on metabolic variables in human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 49, p. 337 – 344, 1989.

BENZ, J.S.; KELLER, E.R.; MIDMORE, D.J. Planting materials for warm tropic potato production: growth and yield of transplanted seedlings or rooted cuttings and tuber materials in the field. **Field Crops Research**, v. 40, p. 179 – 192, 1995.

BERCKS, R. *Potato virus X*. Kem: Commonwealth Mycological Institute / Association of Applied Biologists, 1970. 4 p. (Descriptions of Plant Viruses, 4).

BERGER, P.H.; & PIRONE, T.P. The effect of helper component on uptake and
localization of potyviruses in *Myzuz persicae*. **Virology**, v. 153, p. 256 – 261, 1986.

BERGER, P. & GERMAN, T. Biotechnology and resistance to potato viruses. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like**

diseases of potatoes and production of seed-potatoes. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 341 – 363, 2001.

BERGER, P.H.; BARNETT, O.W.; BRUNT, A.A.; COLINET, D.; EDWARDSON, J.R.; HAMMOND, J.; HILL, J.H.; JORDAN, R.L.; KASHIWAZAKI, S.; MAKKOUK, K.; MORALES, F.J.; RYBICKI, E.; SPENCE, N.; OHKI, S.T.; UYEDA, I.; VAN ZAAYEN, A.; VETTEN, H.J. The Potyviridade. In: Van Regenmortel, M.H.V.; Fauquest, C.M.; Bishop, D.H.L.; Carstens, E.B.; Estes, M.K.; Lemon, S.M.; Maniloff, J.; Mayo, M.A.; McGeoch, D.J.; Pringle, C.R.; Wickner, R.B. (eds). *Virus Taxonomy. 7th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Academic Press, NY, 1999.

BERIAN, L.O.S. A serologia com método auxiliar no controle de fitovírus. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 1, n. 2, p. 121 – 126, jul. 1985.

BETTI, J.A. Testes biológicos usados no diagnóstico de fitoviroses. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 72 – 76, 1995.

BEUKEMA, H.P; VAN DER ZAAG, D.E. Potato Improvement – some factors and facts. *International Agricultural Centre*, Wageningen, Holanda, 1979. 224 p.

BEUKEMA, H.P. *Seed quality, seed use, seed supply and seed production*. Wageningen: International Agricultural Centre, 1983. 31 p.

BEUKEMA, H.P; VAN DER ZAAG, D.E. *Introduction to potato production*. Wageningen: Pudoc, 1990. 208 p.

BISOGNIN, D.A. et al. Uso do ácido giberélico na quebra de dormência e de dominância apical em batata. **Ciência Rural**, v.28, n.2, p.205-213, 1998.

BOERSIG, M.R. & WAGNER, S.A. Hydroponic systems for production of seed tubers. **American Potato Journal**, v. 65, p. 470 – 471, (abstract), 1988.

BOONHAM, N.; HIMS, M.; BARKER, I.; SPENCE, N. Potato virus Y from Petunia can cause symptons of potato tuber necrotic ringspot disease (PTNRD). **Eur. J. Plant Path.**, v. 105, p. 617 – 621, 1999.

BOTEON, M.; SILVA, R.C. DA.; DELEO, J.P.B. Uma nova receita para a bataticultura. **Hortifruit Brasil**, Piracicaba, v. 4, n.41, p. 6 – 12, nov. 2005.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 12, de 10 de junho de 2005. Determina sobre limites de tolerância para pragas não-quarentenárias regulamentadas, danos e misturas de batata-semente a ser produzida, importada ou comercializada no país. *Diário Oficial*, Brasília, DF. Nº 112, p. 5 – 6, 14 abr. 2005. Seção 1.

BRAUN, A.L. & OPGENORT, D.C. Comparative detectability of potato leafroll virus, potato virus X and potato virus S using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and serologically specific eletron microscopy (SSEM). American Potato Journal, Orono, v. 64, p. 205 – 212. apr. 1987. (Short Communication).

BRIOSO, P.S.T.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; OLIVEIRA, D.E. Detecção de vírus da batata em plantas infectadas e em afídeos virulíferos através de "Polymerase Chain Reaction e de Dot-Blot". Fitopatologia Brasileira, v. 21, n. 3, p. 328 – 335, 1996.

BROWN, L.G. Emerging potato viruses that confront regulations. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 439 – 450, 2001.

BRUNE, S.; MELO, P.E.; BUSO, J.A. Incidência de viroses, produtividade e qualidade de tubérculos de clones de batata. In: XI Encontro Nacional de Produção e Abastecimento de Batata. VII Seminário Nacional de Batata Semente, 19 a 21 de setembro. Uberlândia, *Anais*... ABBA & UFU, 2001. p. 5 – 10.

BRUNT, A.A. & LOEBENSTEIN, G. The main viruses infecting potato crops. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 65 – 134, 2001.

BRUNT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L.; ZURCHER, E.J. (eds). *Plant viruses online*: descriptions and lists frim the vide database. 1996 onwards.

BRYAN, J.E.; JACKSON, M.T.; QUEVEDO, B.; MELÉNDEZ, N.G. Single-node cuttings, a rapid multiplication tecnique for potatoes. **CIP slide training series: Series I: Rapid multiplication techniques, Guide-book I/2,** International Potato Center (CIP), Lima, Peru, 1981c. 8 p.

BRYAN, J.E.; MELÉNDEZ, N.G.; JACKSON, M.T. Sprout cuttings, a rapid multiplication technique for potatoes. **CIP slide training series: Series I: Rapid multiplication techniques, Guide-book I/1,** International Potato Center (CIP), Lima, Peru, 1981a. 10 p.

BRYAN, J.E.; MELÉNDEZ, N.G.; JACKSON, M.T. Stem cuttings, a rapid multiplication technique for potatoes. **CIP slide training series: Series I: Rapid multiplication techniques, Guide-book I/3,** International Potato Center (CIP), Lima, Peru, 1981b. 16 p.

BRYAN, J.E. *Técnicas de multiplicación rápida de papa.* Lima: CIP, 1982. 20 p.

BRYAN, J.E. On-farm seed improvement by the potato seed plot technique. **Technical Information Bulletin**, Lima, Peru, v. 7, 13 p. 1983.

BURTON, G. Factors limiting potato yields in tropical areas and the tecnology available raising yields. In: Slafe, G.A. (ed). **Report of the planning conference on optimizing**
potato productivity in developing countries. Lima: CIP, 1978. p. 45 – 67.

BUS, C.B. Aphids. In: Van Der Zaag, D.E.; et al. (eds). **Potato Diseases: diseases, pest and defects**. Den Haag, Co-published by The NIVAA, p.109-111, 1996.

CAMARGO FILHO, W.P. Produto interno bruto (PIB) da cadeia produtiva da batata. **Batata Show**, Itapetininga, v. 1, n. 2, p. 22, jul. 2001.

CANÇADO, G.M.A.; FADINI, M.A.M.; LIMA, L.F.A.; PÁDUA, J.G.P.; BORGES, V. Utilização de brotações com material propagativo para a produção de batata-semente. In: XI Encontro Nacional de Produção e Abastecimento de Batata. VII Seminário Nacional de Batata Semente, 19 a 21 de setembro. Uberlândia, *Anais...* ABBA & UFU, 2001. p. 85 – 90.

CARDOSO, M.R.O. Produção de batata-semente no Brasil, **Informe Agropecuário**, v. 7, n. 76, p. 70 – 71, 1981.

CASPER, R. Detection of potato leafroll virus in potato and in *Physalis floridana* by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Phytopath.**, n. 90, p. 364 – 368, 1977.

CAUQUIL, J. & VAISSAYRE, M. La maladie bleue du cotonnier en Afrique: transmission de cotonnier à cotonnier par *Aphis gossypii* Glover. *Coton et fibres tropicales,* Paris, v. 6, n. 4, p. 463 – 466, 1971.

CDA. *Coordenadoria de Defesa Agropecuária*, http://www.cda.sp.gov.br (8 outubro 2000).

CEAGESP – ABASP. *Classificação da batata "in natura": programa de adesão voluntária.* São Paulo: CEAGESP, 1998. 8 p. (Folder).

CEROVSKA, N. Production of monoclonal antibodies to potato virus Y^{NTN} strain and their use for strain differentiation. **Plant Path.**, v. 4, p. 505 – 509, 1998.

CHAMP, M. & FAISANT, N. Resintant starch: analytical and physiological aspects, **Boletim da Sociedade Brasileira e Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 30, n. 1, p. 37 – 43, 1996.

CHANG, D.C.; KIM, S.Y.; HAHM, Y.; SHIN, K.Y. Hydroponic culture system for the production of seed tubers without soil. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 77, n. 6, p. 394, 2000.

CHOER, E. Origem e evolução. In: Pereira, A.S.; Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 57 – 68, 2003.

CHRZANOWSKA,M. Differentiation of potato virus Y (PVY) isolates. **Phytopath. Polonica**, v. 8, p. 15 – 20, 1994.

CLARK, M.F.; ADAMS, A.N.; TRESH, I.M.; CASPER, R. The detection of plum pox and other viruses in woody plants by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Acta Hortic**., n. 67, p. 51 – 57, 1976.

CLARK, M.F. & ADAMS, A.N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal of General Virology**, v. 34, p. 475 – 483, 1977.

CLARK, M.F. & BAR-JOSEPH, M. Enzyme immunosorbent assay in plant virology. In: Maramorosh, K. & Koprowski, H. (eds). **Methods in virology**. New York: Academic Press, 1984. p. 51 – 85.

CLARKE, R.G.; CONVERSE, R.H.; KOJIMA, M. Enzyme immunosorbent assay to detect potato leafroll virus in potato tubers and viruliferous aphids. **Plant Disease**, v. 64, n. 1, p. 43 – 45, 1980.

CLAY, C.A.; GUNASINGE, U.B.; DINESH-KUMAR, S.P.; MILLER, W.A.; GRAY, S.M. Aphid transmission and systemic plant infection determinants of barley yellow dwarf luteovirus-PAV are contained in the coat protein readthought domain and 17-kDa protein respectively. **Virology**, v. 219, p. 57 – 65, 1996.

COFFIN, R.; SINGH, R.; DEHANN, T.L.; PARKER, A.; KEENAN, M.K.; MACQUARRIE, J. Eradication measures for a new occurrence of tobacco veinal necrosis virus (PVY^N) in potatoes. **Potato J.** v. 68, p. 601, (abstr.), 1991.

CONVERSE, R.H.; MARTIN, R.R. Elisa methods for plant viruses. In: Hampton, R.; Ball, E.; De Boer, S. (eds). **Serological methods for detection and identification of viral and bacteria plant pathogens: a laboratory manual**. Minnnesota: APS Press, 1993. p. 179 – 196.

COSTA, A.S. Doenças de vírus do fumo, batata e tomateiro. **Boletim do Ministério da Agricultura**, Rio de Janeiro, 82 p. 1948.

COSTA, A.S. Moléstias de vírus da batata. Tudo sobre Batata. **Boletim de Campo**, Rio de Janeiro, n. 190, 95 p. jun/jul. 1965.

COSTA, A.S. & KRUG, H.P. Moléstias de vírus da Batatinha em São Paulo. **Boletim do Instituto Agronômico de Campinas**, Campinas, n. 14, p. 55. 1937.

COSTA, A.S. & MULLER, G.W. General evaluation of the impacts of virus diseases of economic crop on the development of Latin American Countries. In: 1ª Conferência Internacional sobre o Impacto das doenças virais no Desenvolvimento dos Países Latino-americanos e da Região do Caribe. *Anais...* Rio de Janeiro, v.1, p. 216 – 230, 1982.

COSTA, C.L. Vetores de vírus de plantas – 1. Insetos. In: Luz, W.C.; Fernandes, J.M.; Prestes, A.M.; Picinini, E.C. (eds). **Revisão Anual de Patologia de Plantas – Volume 6**. Passo Fundo, Copyright ©. p. 103 – 171, 1998.

CRONIN, S.; VERCHOT, J.; HALDEMAN-CAHILL, R.; SCHAAD, M.C.; CARRINGTON, J.C. Long-distance movement factor: a transport function of the potyvirus helper component proteinase. **Plant Cell**, v. 7, p. 549 – 559, 1995.

CUBILLOS, A.G. Agronomic factors limiting potato productivity in developing countries. In: Slafe, G.A. (ed). **Report of the planning conference on optimizing potato production in developing countries**. Lima: CIP, p. 76 – 90, 1978.

CUPERTINO, F.P. & COSTA, A.S. Avaliação das perdas causadas por vírus na produção de batata I. Vírus do enrolamento da folha. **Bragantia**, v. 29, p. 337 – 345, 1970.

CUPERTINO, F.P. **Disseminação do vírus do Enrolamento da Folha em multiplicações sucessivas de batata-semente**. 1972. 59 p. Tese Dissertação (de Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.

CURLETT, E.C. Potato virus Y (PVY^N). USDA/APHIDS **Plant Prot. Quar. Fact Sheet**. 1995.

D'ARCY, C.J.; DOMIER, L.L.; TORRANCE, L. Detection and diagnosis of Luteoviruses. In: Smith, H.G & Baker, H. (eds). **The Luteoviruses**, CABI Pub., Oxon. 279 p. 1999.

DANIELS, J. CARVALHO, T.C.P.; BISOGNIN, D.A. Um novo vírus latente de batata encontrada no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 287, 1993.

DANIELS, J. Métodos imunológicos utilizados na diagnose de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 2, p. 53 – 84, 1994a.

DANIELS, J.; PAIVA, E.; ASSIS, M.; CASTRO, L.A.S. Produção e utilização de anti-soro para diagnose de viroses em batata. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 9, p. 344, ago. 1994b. (Suplemento-Resumo, 412).

DANIELS, J. Viroses da batata e suas implicações na produção de batata-semente no Rio Grande do Sul. In: 2° Seminário A.S. Costa sobre viroses da batata. **Summa Phytopathologica**, v. 21, n. 2, p. 268 – 269. 1995.

DANIELS, J. Produção de batata-semente. **Seed News**, Pelotas, v. V, n. 4, p. 14 – 15, 2001.

DANIELS, J. Batata-semente para uso próprio. In: Pereira, A.S.; Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 495 – 508, 2003.

DANIELS, J. & SCHONS, J. Viroses. In: Pereira, A.S. & Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 300 – 320, 2003.

DEAN, B.B. *Managing the potato production system*. Haworth Press, Inc., Binghampton, NY, 1994. 183 p.

DE BOKX, J.A. Histological, cytological and biochemical methods. In: De Bokx, J.A. (ed). **Viruses of potatoes and seed-potato production**. Wageningen, PUDOC, p. 111 – 114, 1972.

DE BOKX, J.A. & MOOI, J.C. Methods of quality assessment of seed potatoes. **Potato Research**, Wageningen, v. 17, n. 3, p. 410 – 433, 1974.

DE BOKX, J.A.; PIRON, P.G.M.; MATT, D.Z. Detections of potato virus X in tubers with the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Potato Research**, n. 23, p. 129 – 131, 1980.

DE BOKX, J.A. & MAAT, D.Z. Detection of potato virus Y^N in tubers with enzime linked immunosorbent assay (ELISA). **Med. Fac. Landbouw Rijksuniv. Gent.**, v. 44, n. 2, p. 635 – 644, 1979.

DE BOKX, J.A. & HUTTINGA, H. Potato virus Y. *Descriptions of plant viruses no. 242*. Kew, England: CMI/AAB. 1981. 6 p.

DE BOKX, J.A. & HUTTINGA, H. Potato virus Y. C.M.I./A.A.B. *Descr. Pl. Viruses*, v. 242. 6 p. 1981.

DE BOKX, J.A.; CUPERUS, C.; PIRON, P.G.M. Elisa and "A 6"in testing glasshouse grown plant for potato virus A (PVA). **Med. Fac. Landbouw Rijksuniv. Gent.**, v. 47, n. 3, p. 1017 – 1022, 1982a.

DE BOKX, J.A.; PIRON, P.G.M.; MATT, D. The detection of various strains of virus Y by ELISA. **Med. Fac. Landbouw Rijksuniv. Gent.**, v. 47, n. 3, p. 1023 – 1028, 1982b.

DE BOKX, J.A. Biological properties. In: De Bokx, J.A. & Van Der Want, J.P.H. (eds). **Viruses of potatoes and seed-potato production**. 2.ed. Wageningen, Pudoc, p. 58 – 82, 1987.

DE BOKX, J.A. & VAN DER WANT, J.P.H. *Viruses of potatoes and seed-potato production*. 2.ed. Wageningen: Pudoc, 1987. 259 p.

DE BOKX, J.A. & PIRON, P.G.M. Relative efficiency of a number of aphid species in the transmission of potato virus Y^N in the Netherlands. **Neth. J. Plant Pathol.**, v. 96, p. 237 – 246, 1990.

DE BOKX, J.A.; BUS, C.B. Mottling, CrinKling, Stipple Streak and Eye disease (Potato virus Y). In: Van Der Zaag, D.E.; et al. (eds). **Potato Diseases: diseases, pest and defects**. Den Haag, Co-published by The NIVAA, p.72-74, 1996.

DE BOKX, J.A.; BUS, C.B. Potato lantet disease (Potato virus X). In: Van Der Zaag, D.E.; et al. (eds). **Potato Diseases: diseases, pest and defects**. Den Haag, Co-published by The NIVAA, p.79, 1996.

DE BOKX, J.A.; BUS, C.B. Potato leafroll. In: Van Der Zaag, D.E.; et al. (eds). **Potato Diseases: diseases, pest and defects.** Den Haag, Co-published by The NIVAA, p.70-71, 1996.

DE BOKX, J.A.; BUS, C.B. Potato virus S. In: Van Der Zaag, D.E.; et al. (eds). **Potato Diseases: diseases, pest and defects.** Den Haag, Co-published by The NIVAA, p.82, 1996.

DOUGLAS, D.R. & PAVEK, J.J. Net necrosis of potato tubers associated with primary, secondary and tertiary infection of leafroll. **Amer. Potato. J.**, v. 49, p. 330 – 333, 1972.

DRAPER, M.A. & GUDMESTAD, N.C. Mechanical transmission of PVY by seed cutting. **Am. Potato J.**, v. 69, p. 577 – 578, 1992.

DWELLE, R.B. Potato growth and development. In: Stark, J.C. & Love, S.L. (eds). **Potato production systems.** Idaho: Printed in South Korea – Published in the United States of America, p. 9 – 19, 2003.

DYCK, J.M. La maladie bleue du cotonnier au tchad. *Coton et fibres tropicales,* Paris, v. 34, n. 2, p. 229 – 238, 1979.

EHLERS, U. & VETTEN, H.J. Detection of PLRV, PVA and PVY in potato tubers by ELISA. **Potato Research**, v. 27, p. 101 – 102, 1984.

ELLIS, P.; STACE-SMITH, R.; BOWLER, G.; MACKENZIE, D.J. Production of monoclonal antibodies for detection and indentification of strains of potato virus Y. **Can. J. Plant Path.**, v. 18, p. 64 – 70, 1996.

ELLIS, P.; STACE SMITH, R.; DE VILLIERS, G. Identification and geographic distribution of serotypes of potato virus Y. **Plant Dis.**, v. 81, p. 481 – 484, 1997.

EWING, E.E. & STRUIK, P.C. Tuber formation in potato: Induction, initiation and growth. **Hort. Rev.**, v. 14, p. 89 – 198, 1992.

EZETA, F.N. & SCHEIDEGGER, U.C. *Semilla basica: un nuevo programa de producción y distribuición para el Perú.* CIP. Lima: Centro Internacional de la Papa. CIP. Circular, 2. v. 13, p. 1 – 5, 1985.

FACCIOLI, G. Control of potato viruses using meristem and stem-cutting cultures, thermotherapy and chemotherapy. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 365 – 390, 2001.

FAO. Website of Food and agriculture organization of united nations. http://faofast.fao.org (27 junho 2005).

FARINELLI, L.; MALNOE, P.; COLLET, G.F. Heterologous encapsidation of potato virus Y strain O (PVY^O) with the transgenic coat protein of PVY strain N (PVY^N) in *Solanum tuberosum* cv. Bintje. **Biotechnology**, v. 10, p. 1020 – 1025, 1992.

FEDALTO, A.A. **Avaliação da produtividade de tubérculos de plantas oriundas de sementes sexuadas de batata *(Solanum tuberosum L.)* e da primeira geração de propagação vegetativa.** 1982. Tese Dissertação (de Mestrado) – Viçosa, 1982.

FEDALTO, A.A. *Semente verdadeira de batata. Curso de Produção: Batata*. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, 1983. 14 p.

FEDALTO, A.A. & MIZUBUTI, A. Avaliação de densidade populacionais com plântulas de batata oriundas de sementes botânicas. **Horticultura Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 15 – 21, 1984.

FEIGELSTOCK, D.A.; TOZZINI, A.C.; HOPP, H.E. Coat protein sequence of a resistance-breaking strain of potato virus X isolated in Argentina. **Virus Genes**, v. 10, p. 289 – 292, 1995.

FERNANDEZ, M.L. *Los reguladores del crecimiento en el cultivo de la papa.* Habana: INCA, 1988. 22 p.

FERREIRA, D.N. *Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) software: versão 4.6 (Build 6.0).* Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 1998. 175 P.

FIGUEIRA, A.R. & PINTO, A.C. Estirpes necróticas do vírus Y da batata em sementes importadas esta causando problemas ao bataticultor mineiro. **Fitopatologia Brasileira**, n. 20, p. 299, 1995. (Suplemento)

FIGUEIRA, A.R. Grupo Luteovírus – Parte I. In: Luz, W.C.; Fernandes, J.M.; Prestes, A.M.; Picinini, E.C. (eds). **Revisão Anual de Patologia de Plantas – Volume 5**. Passo Fundo, Copyright ©. p. 1 – 58, 1997.

FIGUEIRA, A.R. Grupo Luteovírus – Parte II. In: Luz, W.C.; Fernandes, J.M.; Prestes, A.M.; Picinini, E.C. (eds). **Revisão Anual de Patologia de Plantas – Volume 6**. Passo Fundo, Copyright ©. p. 367 – 420, 1998.

FIGUEIRA, A.R. Viroses da batata: situação atual e perspectivas futuras. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 86 – 95. mar./abr. 1999.

FIGUEIRA, A.R. Vírus S (*Potato vírus S* – PVS*)*, Vírus X *(Potato vírus X* – PVX*):* Qual seria a importância para a Bataticultura Brasileira?. **Batata Show**, Itapetininga, v. 2, n. 4, p. 8 – 11, mai. 2002.

FILGUEIRA, F.A.R. Parte II. Bataticultura. In: Filgueira, F.A.R. **Solanáceas: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló.** Lavras: UFLA, p. 141 – 284, 2003.

FLANDERS, K.L.; RAGSDALE, D.W.; RADICLIFFE, E.B. Use of enzyme-linked immunosorbent assay to detect potato leafroll virus in field grown potatoes, cv. Russet Burbank. **American Potato Journal**, v. 67, p. 589 – 602, 1990.

FLEG, C. L. & CLARK, M.F. The detection of apple chlorotic leafroll virus by a modified procedure of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Ann. Appl. Biol.**, n. 91, p. 61 – 65, 1979.

FLETCHER, J.D. Potato virus S^A – characteristics of an isolate from New Zealand. N.Z.J. **Crop Hortic. Sci.**, v. 24, p. 335 – 339, 1996.

FORTES, G.R.L. & PEREIRA, J.E.S. Batata-semente pré-básica: Cultura de tecidos. In: Pereira, A.S.; Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 421 – 433, 2003.

FRANC, G.D. Seed certification as a virus management tool. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 407 – 420, 2001.

FRANC, G.D. & BANTTARI, E.E. Mechanically transmissible viruses of potatoes. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 159 – 175, 2001.

FRANCO, G. *Tabela de composição química dos alimentos.* 9. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992.

FREITAS, M.C.J. **Dietas ricas em amido resistente de bananas verdes (Musa AA-Nanicão e Musa AAB-Terra) promovem alteração na função intestinal, no metabolismo lipídico e glicídico e na microbiota intestinal**. 2001. Tese Dissertação: (de Doutorado) – Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

FUNDAÇÃO IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de janeiro: 2004.

FUNDAÇÃO IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de janeiro: 2005.

FURLANI, P.R. Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia NFT. **Boletim Técnico**, Campinas: Instituto Agronômico, v. 168, 30 p. 1999.

FURUMOTO, O. & LOPES, C.A. Batata-semente. In: Lopes, C.A. & Buso, J.A. (eds). **Cultivo da batata (*Solanum tuberosum L.*).** Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 8 – 9, 1997.

GARRET, A.; KERLAN, C.; THOMAS, D. The intestine is a site of passage for potato leafroll virus from the gut lumen into haemocoel in the aphid vector, *Myzus persicae Sulz*. **Arch. Virol.**, v. 131. p. 377 – 392, 1993.

GARRET, A.; KERLAN, C.; THOMAS, D. Ultrastructural study of acquisition and retention of potato leafroll luteovirus in the alimentary canal of its aphid vetor, *Myzus persicae Sulz.* **Arch. Virol.**, v. 141, p. 1279 – 1292, 1996.

GERA, A. & MARCO, S. Detection and identification of viruses in potatoes. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 271 – 283, 2001.

GIBSON, R.W. The development of mature plant resistance in four potato cultivars againts aphid-inoculated potato virus Y^O and Y^N in four potato cultivars. **Potato Res.**, v. 34, p. 205 – 210, 1991.

GILDOW, F.E & ROCHOW, W.F. Importance of capsid integrity for interference between isolates of barley yellow dwarf virus in an aphid. **Phytopathology**, v. 70, p. 1013 – 1015, 1980.

GILDOW, F.E. & GRAY, S.M. The aphid salivary gland basal lamina as a selective barrier associated with vector-specific transmission of barley yellow dwarf luteovírus. **Phytopathology**, v. 83, p.1293 – 1302, 1993.

GILDOW, F.E. Luteovirus transmission and mechanisms regulating vector specificity. In: Smith, H.G & Barker, H. (eds). **The Luteoviridae**. Wallingford, CABI Publishing, CAB International, p. 88 – 111, 1999.

GIUSTO, A. B.; SILVA, E.C. da.; SOUZA-DIAS, J.A.C. Producción de minitubérculos a partir de los brotes de papa-semila (*Solanum tuberosum L.*) em diferentes combinaciones del substrato. **Revista Latinoamericana de la Papa**, Suplemento Especial. In: XXI Congresso de la Associación Latinoamericana de la Papa (ALAP). Valdivia, Chile, 2004. Oral 7.

GODOY, R.C.B. A oferta de batata no Brasil. **Batata Show**, Itapetininga, v. 1, n. 3, p. 34 – 35, set. 2001.

GOPAL, J.; MINOCHA, J.L.; SIDHU, J.S. Comparative performance of potato crops raised from microtubers induced in the dark versus microtubers induced in light. **Potato Research**, v. 40, p. 407 – 412, 1997.

GOULDEN, M.G.; KÖHM, B.A.; SANTA-CRUZ, S.; KAVANAGH, T.A.; BAULCOMBE, D.C. A feature of the coat protein of potato virus X affects both induced virus resistance in potato and viral fitness. **Virology**, v. 197, p. 293 – 302, 1993.

GOVIER, D.A. & KASSANIS, B. Evidence that a component other than the virus particle is needed for aphid transmission of potato virus Y. **Virology**, v. 57, p. 285 – 286, 1974a.

GOVIER, D.A. & KASSANIS, B. A virus-induced component of plant sap needed when aphids acquire potato virus Y from purified preparations. **Virology**, v. 61, p. 420 – 426, 1974b.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: Torres, C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. (eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: Embrapa: SPI, 1998. p. 183 – 260.

GRAY, S.M.; POWER, A.G.; SMITH, D.M.; SEAMAN, A.J.; ALTMAN, N.S. Aphid transmission of barley yellow dwarf: virus acquisition access periods and virus concentration requirements. **Phytopathology**, v. 81, p. 539 – 545, 1991.

GUGERLI, P. Potato virus A and potato leafroll virus purification, antiserum production and serological detection in potato and test plants by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Phytopayh. Z.**, n. 96, p. 70 – 86, 1979a.

GUGERLI, P. Le test immuno-enzymatique (ELISA) et son application pour le diagnostic rapide des viroses de la pomme de terre. **Revue Suisse Agric.**, v. 11, p. 253 – 260, 1979b.

GUGERLI, P. & GEHRIGER, W. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of potato leafroll virus and potato virus Y in potato tubers after artificial break of dormancy. **Potato Research**, Wageningen, v. 23, n. 2, p. 353 – 359, 1980. (Short Communication).

HADIDI, A.; MONTASSER, M.S.; LEVY, L. Detection of potato leafroll and strawberry mild yellow-edge luteovíruses by reverse transcription-polymerase shain reaction. **Plant Dis.** v. 77, p. 595 – 601, 1993.

HALL, D.H. & TEVIOTDALE, B. Virus free seed-project 9-A. In: Pusateri, F.P. (ed). **California potato research advisory board**, Bakerfield, CA, p. 75 – 78, 1976.

HALLIWELL, R.S. & CAUQUIL, J. Virus and mycoplasma like organisms. In: Watkins, G.M. (ed). **Compendium of cotton diseases**. Minessota: American Phytopathology Society, 1981. p. 56 – 59.

HARRISON, B.D. Studies on the behavior of potato leafroll and other viruses in the body of their aphid vector *Myzus persicae* (Sulz). **Virology**, v. 6, p. 265 – 277, 1958.

HARRISON, B.D. Potato leafroll. In: **Commonwealth Mycological Institute/ Association of Applied Biologists**, 4 p. 1984.

HARRISON, B.D. & ROBINSON, D.J. Molecular variation in vector-borne plant viruses: epidemiological significance. Philos. **Trans. R. Soc. London Ser. B.**, v. 321, p. 447 – 462, 1988.

HAWKES, J.G. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: Bradshaw, J.E.; Mackay, G.R. (eds). **Potato genetics**. Cambrigde: CAD International, 1993. p.3 – 42.

HAYASHI, P. Variedade Cupido – nova opção para mercado fresco. **Batata Show**, Itapetininga, v.1, n. 3, p. 14, set. 2001

HÉBRARD, E.; FROISSART, R.; LOUIS, C.; BLANC, S. Les modes de transmission des virus phytopathogénes par vecteurs. **Virologie**, v. 3, p. 35 – 48, 1999.

HILL, S.A. & JACKSON, E.A. An investigation of the reliability of ELISA as a practical test for detecting potato leafroll virus and potato virus Y in tubers. **Plant Pathology.,** v. 33, p. 21 – 6, 1984.

HIRANO, E. Sistema de produción suminstro de papa-semilla en Brasil. In: *1º Seminário de Refrescamiento en el cultivo de la papa.* Havana, Cuba, 1996a. 20 p.

HIRANO, H. *The production and marketing of seed potatoes in Brasil*. Wageningen: International Potato Course/International Agricultural Centre, 1996b. 13 p.

HIRANO, H. Situação atual e perspectivas da produção de batata-semente no Brasil. In: Reunião técnica anual de pesquisa e extensão da cultura da batata da região sul do Brasil, 5. 1998. Pelotas, *Anais...* Embrapa CPACT, 1998. p. 11 – 12.

HIRANO, H. Batata-semente básica, registrada e certficada. In: Pereira, A.S.; Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 475 – 494, 2003.

HOA, V.D.; RASCO JR, E.T.; VAN DER ZAAG, P. Effect of primary infection of VY on potato. **Asian Potato J**, v. 2, p. 31 – 35, 1991.

HOLBROOK, F.R. Transmission of potato leafroll virus by the green peach aphid. **Annals of Entomological Society of America**, v. 71, n. 6, p. 830 – 831, 1978.

HOOKER, W.J. Compendium of plant virus diseases (ed). St. Paul, MN: APS Press, 1981. 125 p.

HORTON, D. *Potatoes: production, marketing, and programs for developing countries.* London: Westview Press, 1987. 243 p.

HUSSEY, G. & STACEY, N.J. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato *(Solanum tuberosum L.)*. **Annals of Botany**, London, v. 53, p. 565 – 678, 1984.

IAC – INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. Cultivares, http://www.iac.sp.gov.br/Cultivares/Relatorios/listagens/lCultivaresAno.aps?Tarefa=1995 (10 maio 2003).

IAPAR – INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. Manejo integrado das principais doenças e pragas da cultura da batata – uma visão holística de controle para o Estado do Paraná. **Circular Técnica** n° 124, IAPAR, Londrina, 43p, 2002.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRÁFIA E ESTATÍSTICA. **Estudo**
nacional de despesa familiar: tabela de composição de alimentos. 2 ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1997. 213 p.

INFORMATIVO – IAC. *Estudo no IAC aponta: broto da batata é saída econômica*. Campinas, v. 7, n. 8, 23 de fev./01 de mar. 1998.

INFORMATIVO – FUNDAG. *Produção de minitubérculos pode reduzir em até 40% o custo da bataticultura.* Campinas, n. 2, p. 1 – 4, nov./dez. 2003

IUAMATO, M.Y. Comercialização de batata na CEAGESP. **Batata Show**, Itapetininga, p. v. 5, n. 13, 34 – 35, dez. 2005.

JEFFRIES, C.S. FAO/IPGRI Technical guidelines for the safe movement of germplasm. n. 19. *Potato*. Food and agriculture organization of the united nations, Rome/International Plant Genetics Resources Institute, Rome. 177 p. 1998.

JOLLY, C.A. & MAYO, M.A. Changes in amino acid sequence of the coat protein readthrough domain of potato leafroll luteovírus affects the formation of an epitope and aphid transmission. **Virology**, v. 201, p. 182 – 185, 1994.

JONES, E.D. A current assessment of *in vitro* culture and other rapid multiplication methods in North America and Europe. **Am. Potato J.**, v. 65, p. 209 – 221, 1988.

JONES, R.A.C. Strain group specific hypersensitive reactions to infection with potyviruses in potato. **Ann. appl. Biol.**, v. 117, p. 93 – 105, 1990.

KAHN, PK. & MONROE, R.L. Detection of the tobacco veinal necrosis strains of potato virus Y in *Solanum tuberosum* and *S. andigenam*, introduced in to the United States. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 53, p. 1356 – 1359, 1963.

KARP, A.; JONES, M.G.K.; FOULGER, D.; FISH, N.; BRIGHT, S.W.J. Variability in potato tissue culture. **American Potato Journal**, Orono, v. 66, p. 669 – 684, 1989.

KAWAKAMI, J.; IWAMA, K.; HASEGAWA, T.; JITSUYAMA, Y. Growth and yield of potato plants grown from microtubers in fields. **American Journal Potato**, Orono, v. 80, p. 371 – 378, 2003.

KERLAN, C.; TRIBODET, M.; GLAIS, L.; GUILLET, M. Variability of potato virus Y in potato crops in France. **J. Phytopathology** (in press). 2000.

KITAJIMA, E.W.; AVILA, A.C.; RESENDE, R.O. Taxonomia de vírus de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 5 – 24, 1997.

KLERKS, M.M.; LEONE, G.O.M.; VERBEEK, M.; VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M.; SCHOEN, C.D. Development of a multiplex AmpliDet RNA for the simultaneous detection of *Potato leafroll virus* and *Potato virus Y* in potato tubers. **Journal of Virological Methods**, v. 93, p. 115 – 125, 2001.

KOJIMA, M. ; SHIKATA, E.; SUGAWARA, M. MURAYAMA, D. Purification and electrom microscopy of potato leafroll virus. **Virology**, v. 39, p. 162 – 174, 1969.

KOSTIW, M. Influence of the duration of acquisition and inoculation feeding on the effectiveness of potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae* Sulz. **Potato Res.**, v. 34, p. 41 – 45, 1991.

KRAUSS, A. Endogenous regulation mechanisms in tuberization of potato plants in relation to environmental conditions. In: *Triennial Conference of the European Association for Potato Research, 7.* Warsaw. Proceedings... Wageningen, p. 47 – 48, 1978.

KRIJTHE, N. Observations on the sprouting of seed potatoes. **European Potato Journal**, v. 5, p. 316 – 333, 1962.

LEONARD, S.H. & HOLBROOK, F.R. Minimum acquisition and transmission times for potato leafroll virus by the green peach aphid. **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v. 71, p. 493 – 495, 1978.

LILJEBERG, E.H. Resistant starch content in a selection of starchy foods on the Swedish markert. **European Journal of Clinical Nutrition**, Darmstadt, v. 56, n. 6, p. 500 – 505, 2002.

LLAVE, C.; MARTÍNEZ, B.; DÍAZ-RUÍZ, J.R.; LÓPEZ-ABELHA, D. Helper component mutations in nonconserved residues associated with aphid transmission efficiency of a pepper isolate of potato virus Y. **Phytopathology**, v. 89, p. 1176 – 1181, 1999.

LOEBENSTEIN, G.; BERGER, P.H.; BRUNT, A.A.; LAWSON, R.H. **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 460 p.

LOPES, C.A. Cultivo da batata *(Solanum tuberosum L.)*. **Instruções Técnicas da Embrapa Hortaliças**, Brasília, n. 8, p. 2 – 3, 1997.

LUND, D.G. et al. Efeito do etanol e ácido giberélico na superação da dormência em tubérculos de batata Bintje. **Horticultura Brasileira**, v.19, Supl, p.239, 2001.

MAAT, D.Z. & DE BOKX, J.A. Potato leafroll virus: antiserum preparation and detection in potato leaves and sprouts with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Neth J. Pl. Pathology**, v. 84, p. 149 – 156, 1995.

MACHADO, C.M.M. *Propriedades culinárias de batatas.* Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. Comunicação por e-mail em 24 out. 2005.

MAIA, I.G. & BERNARDI, F. Nucleic acid-binding properties of a bacterially expressed potato virus Y helper component-proteinase. **J. Gen. Virol.**, v. 77, p. 869 – 877, 1996.

MAKI-VALKAMA, T.; VALKONEN, J.P.T.; LEHTINEN, A.; PEHU, E. Protection Against Potato Virus Y (PVY) in the Field in Potatoes Transformed With the PVY P1 Gene. **American Journal of Potato Research**,. v. 78, n. 3, p. 209 – 214, may/jun., 2001.

MARINUS, J. Multiplication of seed potatoes by tuber formation in leaf axils of stems derived from single-bud stem cuttings. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v. 35, p. 29 – 36, 1987.

MATTHEWS, R.E.F. **Plant Virology**. San Diego, Califórnia: Academic Press, 1991. 835p.

MEDEIROS, C.A.B.; ZIEMER, A.H.; DANIELS, J.; PEREIRA, A.S. Produção de sementes pré-básica de batata em sistemas hidropônicos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 110 – 114, 2002.

MEDEIROS, C.A.B. Batata-semente pré-básica: multiplicação por hidroponia. In: Pereira, A.S.; Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 444 – 474, 2003.

MCDONALD, J. MACLATCHY, I.A.; SHEIDOW, N.W.; WATSON, M.C.; REELEDER, R.D. Tobacco veinal necrosis strain of potato virus Y (PVY^N). **Ontario Min. Agric. Food (FAM) Fact Sheet,** january, 1991.

MCDONALD, J.G. & SINGH, R.P. Host range, symptomatology, and serology of isolates of potato virus Y (PVY) that share properties with both PVY^N and PVY^O strain groups. **Amer. Potato J.**, v. 73, p. 309 – 315, 1996.

MELLOR, F.C. & STACE-SMITH, R. Virus-free potatoes by tissue culture. In: Reinert, J. & Bajaj, Y.P.S. (eds). **Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** Berlin: Springer-Verlag, p. 616 – 635, 1977.

MORANDINI, I.A. Memória de Reunião (Minuta para Comentários) – Assunto Importação de batatas-semente do Canadá. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. 2001. 2 p.
MORRENHOF, J. *The road to seed potato production*. Den Haag: NIVAA, 1997. 72 p.

MOORBY, J. The production, storage, and translocation of carbohydrates in developing potato plants. **Annals of Botany**, London, v. 34, p. 297 – 308, 1970.

MOORBY, J. The physiology of growth and tuber yield. In: Harris, P.M. (ed). **The potato crop; the scientific basic for improvement**. London: Chapman & Hall, 1978. p. 153 – 194.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant**, v. 15, p. 473 – 497, 1962.

NOVY, R.G.; NASRUDDIN, A.; RAGSDALE, D.W.; RADCLIFFE, E.B. Genetic resistances to potato leafroll virus, potato virus Y, and green peach aphid in progeny of *Solanum tuberosum.* **American Journal of Potato Research**, v. 79, p. 9 – 18, 2002.

O AGRONÔMICO. *"Motor de dentista": extrator eficiente para testar vírus em tubérculo dormente de batata.* Campinas, p. 74 – 75 , 1995/1998.

O AGRONÔMICO. *Serviço de imunodiagnose de vírus da batata no IAC atinge o marco de 300 mil testes.* Campinas, v. 51, n. 2/3, p. 91, 1999.

O AGRONÔMICO. *Produção de batata-semente com tecnologia IAC obtém êxito e está sendo ampliada em Limeira, SP.* Campinas, v. 53, n. 1, p. 31, 2001.

PÁRRAGA, M.S. & CARDOSO, M.R.O. Botânica, taxonomia e espécies cultivadas de batata, **Informe Agropecuário**, Brasília, v. 7, n. 76, p. 10 – 12, 1981.

PEREIRA, J.E.S.; MEDEIROS, C.A.B.; FORTES, G.R.L.; DANIELS, J.; PEREIRA, A.S. Avaliação de dois sistemas hidropônicos para a produção de sementes pré-básica de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, 2001. Suplemento CD-Rom.

PEREIRA, A.S. & DANIELS, J. *O cultivo da batata na região sul do Brasil.* Brasília, DF: Empraba Informação Tecnólogica, 2003. 567 p.

PEREIRA, J.E.S & FORTES, G.R.L. Batata: Mudas com mais qualidades. **Cultivar HF**, Pelotas, a. V, n. 27, p. 13 – 15, ago./set. 2004.

PEREIRA, E.M.S.; LUZ, J.M.Q.; MOURA, C.C. *A batata e seus benefícios nutricionais.* Uberlândia, MG: EDUFU, 60 p. 2005.

PETERS, D. The purification of potato leafroll virus from its vector *Myzus persicae.* **Virology**, v. 34, p. 46 – 54, 1967.

PETERS, D. Spread of viruses in potato crop. In: De Bokx, J.A. & Van Der Want, J.P.H. (eds). **Viruses of potato and seed-potato production** (2nd. ed). PUDOC, Wageningen, p. 126 – 145, 1987.

POWER, A.G. & GRAY, S.M. Aphid transmission of barley yellow dwarf viruses: interactions between viruses, vectors and host plants. In: D'Arcy, C.J. & Burnett, P.A. (eds). *Barley yellow dwarf 40 years of progress.* St. Paul, American Phytopathological Society, p. 259 – 289, 1995.

PUTTEMANS, A. Informação sobre "doenças de degenerescência" da batateira no Brasil. **Revista da Agricultura**, Piracicaba, v. 9, n. ¾, p. 103 – 111. 1934.

PUTTEMANS, A. O Cultivo da batata na Argentina e a importação de suas sementes no Brasil. Camara de Commercio Argentina del Brasil. **Boletim Mensal**, n. 2, p. 12 – 18. 1935.

QUAK, F. Meristem culture and virus-free plants. In: Reinert, J. & Bajaj, Y.P.S. (eds). **Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Berlin: Springer-Verlag, p. 598 – 615, 1977.

QUERCI, M.; BAULCOMBE, D.C.; GOLDBACH, R.W.; SALAZAR, L.F. Analysis of the resistance-breaking determinants of potato virus X (PVX) strain HB on different potato genotypes expressing extreme resistance to PVX. **Phytopatology**, v. 85, p. 1003 – 1010, 1995.

QUEVEDO, B.; BRYAN, J.E.; JACKSON, M.T.; MELÉNDEZ, N.G. Leaf-bud cuttings, rapid multiplication technique for potatoes. **CIP slide training series: Series I: Rapid multiplication techniques, Guide-book I/4,** International Potato Center (CIP), Lima, Peru, 1981. 10 p.

RABIE, K.A.E. et al. The role of some substances in regulating the interaction between endogenous gibberelins and abscisic acid in potato tubers. **Annals of Agricultural Science**, v.37, n.1, p.11-18, 1992.

RADCLIFFE, E.B.; RAGSDALE, D.W. Aphid-transmitted Potato Viruses: The Importance of Understanding Vector Biology. American Journal of Potato Research,. v. 79, n. 5, p. 353 – 386, sep./oct., 2002.

RAGSDALE, D.W.; RADCLIFFE, E.B.; DIFONZO, C.D. Epidemology and field control of PVY and PLRV. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 237 – 270, 2001.

RANALLI, P. Innovative propagation methods in seed tuber multiplication programmes. **Potato Research**, v. 40, p. 439 – 453.

REEVE, R.W.; TIMM, H.; WEAVER, W.L. Parenchyma cell, growth in potato tubers. II. Cell division vc. cell enlargement. **American Potato Journal**, Orono, v. 50, p. 71 – 78, 1973.

REESTMAN, A.J. & WIT, C.T. Yield and size distribution of potatoes as influenced by seed rate. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 7, p. 256 – 268, 1959.

REESTMAN, A.J. Importance of the degree of virus infection for the production of ware potatoes. **Potato Research**, Wageningen, v. 13, p. 248 – 268, 1970.

ROBERTS, I.M. & HARRISON, B.D. Detection of potato leafroll and potato mop-top viruses by immunosorbent electron microscopy. **Annals of Applied Biology**, n. 93, p. 289 – 297, 1979.

ROBERT, Y. Epidemology and control strategies: Epidemology of potato leafroll disease. In: Smith, H.G & Barker, H (eds). **The Luteoviridae**. Wallingford, CABI Publishing, p. 221 –228. 1999.

ROBERT, Y.; WOODFORD, J.A.T.; GRIBLOT DUCRAY-BOURDIN, D. Some epidemiological approaches to the control of aphid-borne diseases in seed potato crops in northern Europe. **Virus Res.**, v. 71, p. 33 – 47, 2000.

ROBERT, Y. & BOURDIN, D. Transmisson of Viruses. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 195 – 225, 2001.

ROCA, W.M.; ESPINOZA, N.O.; ROCA, M.R.; BRYAN, J.E. A tissue culture method for the rapid propagation of potatoes. **Amer. Potato J.**, v. 55, p. 691 – 701, 1978.

ROJAS, M.R.; ZERBINI, F.M.; ALLISON, R.F.; GILBERTSON, R.L.; LUCAS, W.J. Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell movement proteins. **Virology**, v. 237, p. 283 – 295, 1997.

ROLOT, J.L. & SEUTIN, H. Soilless production of potato minitubers using a hydroponic technique. **Potato Research**, v. 42. 1999.

ROSNER, A. & MASLENIN. Transcript conformation polymorphism: a novel approach for differentiating PVY^{NTN}. **J. Phytopathol.**, v. 147, p. 661 – 664, 1999.

ROWE, R.C. *Potato health management.* Saint Paul: APS Press, 1993. 178 p.

RUSSO, P.; MILLER, L.; SINGH, R.P.; SLACK, S.A. Comparison of potato leafroll virus and potato virus Y detection in seed potato samples tested by Florida winter field inspection and RT-PCR. **American Potato Journal**, v. 76, p. 313 – 316, 1999.

SÁ, A.S. Produção de batata-semente em Santa Catarina. **Batata Show**, Itapetininga, v. 1, n. 3, p. 26 – 27, set. 2001.

SADVAKSOVA, G.; TAM, Y.; LOEBENSTEIN, G. A simple method for purification of potato virus X. **Appl. Biochem. Microbiol.** v. 32, p. 393 – 396, 1996.

SANTA CRUZ, S.; ROBERTS, A.G.; PRIOR, D.A.M.; CHAPMAN, S.; OPARKA, K.J. Cell-to-cell and phloem-mediated transport of potato virus X: the role of virions. **Plant Cell**, v. 10, p. 495 – 510, 1998.

SALAZAR, L.F. Aplicación de la técnica serológica con conjugados enzimáticos (ELISA) para diagnosticar virus de la papa. **Fitopatología**, n. 14, p. 1 – 9, 1979.

SALAZAR, L.F. *Guia II/3 – Deteccion con ELISA (Enzyme-lynked immunosorbent assay) de virus de papa.* Lima: CIP, Depto de Capacitacion Y Comunicaciones, 1993. 12 p. (Série II: Métodos de Detection de Virus y Viroides).

SALAZAR, L.F.; QUERCI, M.; BARTOLINI, I.; LAZARTE, V. Transmission of potato spindle tuber viroid by aphids assisted by potato leafroll virus. **Fitopatología**, v. 30, p. 56 – 58, 1995.

SALAZAR, L.F. *Potato viruses and their control*. Peru: International Potato Center, 1996. 214 p.

SCHIESSENDOPPLER, E. & FORSCHUM, H. Detection of potato viruses Y, X, A, M, S and potato leafroll virus by dot ELISA. Pflanzenberichte, v. 51, p. 17 – 24, 1990.

SCHOLTE, K. Breaking dormancy of seed potatoes. International Potato Course: production, storage and seed technology. Wagenigen : International Agricultural Centre, 1990. 4p.

SCHULTZ, E.S. & FOLSON, D. Transmission variation and control of certain degeneration diseases of irish potatoes. **Jour. Agr. Res.**, v. 25, n. 2, p. 43 – 117, 1923.

SELF, C.H. Enzyme amplification – A general method applied to provide in immunoassisted assay for placental alkaline phosphatase. **J. Immunol. Methods**, n. 76, p. 383 – 389, 1985.

SHIMOYAMA, N. A comercialização da batata no Brasil. **Batata Show**, Itapetininga, v. 3, n. 8, p. 4, dez. 2003.

SHIMOYAMA, N. Batata brasileira: como aumentar o consumo. **Batata Show**, Itapetininga, v. 4, n. 9, p. 4, set. 2004.

SIBARA, M. *Potato leafroll disease: etiology, virus multiplication and translocation in five potato cultivars*. PhD. Thesis. University of Wisconsin-Madison. 79 p. 1985.

SILBERSCHMIDT, K.M. A degenerescência da batatinha. **O Biológico**, v. 3, p. 247 – 254, 1937.

SILBERSCHMIDT, K.M. & KRAMER, M. O vírus Y, uma das principais causas da degenerescência da batatinha no estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo-SP, v. 8, n. 2, p. 39 – 46, 1942.

SILBERSCHMIDT, K.M. & MALLOZZI, P.R. The interaction of potato viruses X and Y in its significance for potato degeneration. **Proc. 10 th Int. Botanical Congress.** p. 470 – 471, abstract, 1961.

SILVA, E.C.; GIUSTO, A.B.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; MACIEL, G.M. Produção de minitubérculos de batata a partir de brotos destacados de batata semente. **Batata Show,** Itapetininga, v. 4, n. 10, p. 17 – 18, nov. 2004.

SINGH, R.P. & MC'DONALD, J.G. Purificacion of potato virus Y and its detection in potato by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Ann. Pot. Journal**, n. 58, p. 181 – 189, 1981.

SINGH, R.P. Effect of storage temperatures on potato virus infectivity levels and serological detection by enzyme linked immunosorbent assay. **Plant Disease**, v. 67, n. 10, p. 1133 – 1136, 1983.

SINGH, R.P. A suggestion for eradicating PVY^N from Canada: A discussion paper distributed to Agriculture Canada, PVY^N group in February 1991, **Agriculture Canada**, 3 p. 1991.

SINGH, R.P. Incidence of the tobacco veinal necrotic strain of potato virus Y (PVY^N) in Canada in 1990 and 1991 and scientific basis for eradication of the disease. **Canad. Plant Dis. Survey.**, v. 72, p. 113 – 119, 1992.

SINGH, R.P. & SOMERVILLE, T.H. Evaluation of the enzyme-amplified ELISA for the detection of potato virus A, M, S, X, Y and leafroll. **American Potato Journal**, v. 69, p. 21 – 30, 1992.

SINGH, R.P.; BOUCHER, A.; SOMERVILLE, T.H.; DHAR, A.H, Selection of a monoclonal antiboby to detect PVY/N and its use in ELISA and DIBA. **Can. J. Plant Path.**, v. 25, p. 293 – 300, 1993.

SIQUEIRA, O. Principais viroses da batata no Brasil. In: AGIPLAN, **Tecnologia e Produção de Batata-Semente.** Brasília: Ministério da Agricultura, p. 97 – 118. 1976.

SLACK, S.A. Identification of an isolate of the Andean strain of potato virus S in North America. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, p. 786 – 789, 1983.

SLACK, S.A. Seed certification and seed improvement programs. In: Rowe, R.C. (ed). **Potato Health Management**. Minessota, APS Press, p. 61 – 65. 1993.

SOUZA, Z.S. Ecofisiologia. In: Pereira, A.S.; Daniels, J. (eds). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 80 – 104, 2003.
SOUZA, N.F & SOUZA, Z.S. Desbrotamento de tubérculos de batata semente, em duas idades fisiológicas e relação com o desenvolvimento e produção. In: *Congresso Brasileiro de Olericultura,* 39., Tubarão. Resumos... Tubarão: SOB, 1999b.

SOUZA, Z.S. & SOUZA, N.F. Batata semente: cultivares, número de gemas, idade fisiológica, brotações e taxa de multiplicação. In: *Congresso Brasileiro de Olericultura, 39*., Tubarão. Resumos... Tubarão: SOB, 1999a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; MIRANDA FILHO, H.S. Sintomas da infecção primária causada pelo vírus do enrolamento da folha da batata: uma revisão. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 9, p. 80 – 82, 1983a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; MIRANDA FILHO, H.S.; RAMOS, V.J.; COSTA, A.S. Redução na produção da batata induzida pela infecção da estação corrente com o vírus do enrolamento da folha. **Summa Phytopatologica**, v. 9, n. ½, p. 78 – 79. 1983b.
SOUZA-DIAS J.A.C. & COSTA, A.S. *Método "cova/pré-plantio"na seleção da batata-semente.* Campinas: Fundação Cargill, 1984a. 68 p.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; RAMOS, V.J. Enrolamento da folha é também praticamente, o único fator de degenerescência da batata-semente no período 1980 – 84 na estação experimental de Itararé – SP. **Fitopatologia Brasileira**, v. 9, n. 2, p. 405. 1984b.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & COSTA, A.S. Aumento na taxa de multiplicação da batata semente básica ou certificada através de técnicas ao alcance do produtor. **Summa Phytopathologica**, v. 11, p. 52 – 54, 1985.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; MIRANDA FILHO, H.S.; RAMOS, V.J.; DIAS, C.A.C. Manutenção da batata-semente pelo método de seleção cova/pré-plantio. **Boletim Técnico Instituto Agronômico**, Campinas, n. 110, p. 1 – 28, 1986.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & SLACK, S.A. Relation of potato leafroll virus concentration in potatoes to virus concentration in aphids. **American Potato Journal**, v. 1, p. 1 – 19, 1987.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; MIRANDA FILHO, H.S.; COSTA, A.S. Constatação da correlação: resistência á infecção e baixa concentração do vírus do enrolamento da folha da batata, em duas variedades criadas no IAC. **Summa Phytopathologica**, v. 16, p. 34, 1990.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & COSTA, A.C. ELISA de tubérculos para uma rápida avaliação da infecção primária do vírus do enrolamento da folha da batata. **Summa Phytopathologica**, n. 18, p. 36, 1992a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; RAMOS, V.J.; MIRANDA FILHO, H.S.; COSTA, A.S. Método "cova/pré-plantio" na manutenção da batata-semente própria: avaliação da execução e do custo por bataticultores no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Latinoam. Papa**, v. 4, p. 72 – 85, 1992b.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; SCAGLIUSI, S.M.; AMANCIO, A.V. MIRANDA FILHO, H.S.; COSTA, A.S. Batata-semente certificada da Argentina encontra-se dentro dos padrões brasileiros de sanidade a vírus, mas a presença dos vírus Y^N e do mosaico da alfafa suscita preocupações. **Summa Phytopathologica**, n. 18, p. 35, 1992c.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; GALLO, P.B.; GONZALES, G. Can Duvira replace Bintje under conditions of high leafroll virus (PLRV) inoculum pressure without the need of changing seed?. **American Potato Journal**, Orono, v. 70, n. 11, p. 843 (abstract), 1993a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; NARDIN, A.M. Potato leafroll virus in solanaceous weeds in Brazil explains severe outbreaks of the disease in absence of know potato donor sources. **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 2, p. 80 – 85, 1993b.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Viroses da batata e sua implicações na produção de batata-semente no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 21, n. 34, p. 264 – 266, 1995a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; GALLO, P.B.; GONÇALVES, G. Duvira, a 100% leafroll virus (PLRV infected potato *(Solanum tuberosum L.)* cultivar maintains satisfactory marketable yield with home saved seed-potatoes. **European Journal of Plant Pathology**, abstract, n. 685, 1995b.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; COSTA, A.S.; TRISTÃO, J.F. Teste ELISA com tecidos de gema do tubérculo-mãe para o vírus do enrolamento da folha da batata (PLRV) é confiável e pode esclarecer a origem do vírus nas dependências ou caso de seguro. **Summa Phytopathologica**, resumo 19, 1995c.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; TRISTÃO, J.F.; MIRANDA FILHO, H.S. Vírus Y da batata-semente cv. Atlantic: alteração na epidemiologia da virose em São Paulo e Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 320, ago. 1995d. Suplemento.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Batata: Brotos de economia, método aumenta resultados da multiplicação das batatas-sementes e reduz custos do plantio para o produtor. **Globo Rural**, p. 9 – 11, mar. 1996.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; RUSSO, P.; BETTI, J.A.; MILLER, L. SLACK, S.A. Simplified extraction method for ELISA and PCR detection of primary potato leafroll virus (PLRV) infection in dormant potato tubers. **American Potato Journal**, n. 74, p. 468 – 469, 1997a.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & TRISTÃO, J.F. Rise of PVY incidence in seed potato regions of São Paulo State (Brazil) associated with the introduction of Atlantic potatoes. **American Potato Journal**, v. 74, n. 6, p. 469, nov./dec. 1997b.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & COSTA, A.C. "Batata: O produtor pode fazer sua própria batata-semente". **A Granja**, Rio Grande do Sul, v. 597, n. 54, p. 12 – 18, 1998a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; MALMANN, N.; NARDIM, A.M.; OLIVEIRA, A.P. Brotos de batata-semente importada livre de vírus: de lixo a propágulos de semente básica. **Summa Phytopathologica**, v. 24, n. 1, p. 109, 1998c.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; RUSSO, P.; BETTI, J.A.; MILLER, L. SLACK, S.A. Simplified extraction method for ELISA and PCR detection of potato leafroll luteovirus primary infection in dormant potato tubers. **American Journal of Potato Research**, n. 76, p. 209 – 213, 1999.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Viroses da batata: ameaças para o mercado globalizado. **Summa Phytopatologica**, v. 26, n. 1, p. 161 – 168. 2000a.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Quem contamina a nossa batata. **Cultivar HF**, Pelotas, a. II, n. 12, p. 20 – 21, jan. 2000b.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Batata com laranja: Produção de minitubérculos de batata-semente via plantio de broto livre de vírus aumenta a renda de citricultores: batata com laranja. **Cultivar HF**, Pelotas, v. II, n. 9, p. 8 – 11, ago/set. 2001a.
SOUZA-DIAS, J.A.C. Raças do vírus Y da batata (PVY) e a questão da variante NTN. **Batata Show**, Itapetininga, v. 1, n. 2, p. 16 – 21, jul. 2001b.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; MEO, C.M.; GREVE, A.; PAES, L.J. High quality minituber production by planting sprouts detached from imported seed tubers under aphid-proof screenhouse in a Brazilian Citrus Region. **American Journal of Potato Research**, v. 78, n. 6, p. 450, 2001c.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & SILVA, P.R. *Potato virus S* (PVS) in imported seed-potato stocks of Atlantic. **Fitopatologia Brasileira**, v.26 suplemento, p. 538, 2001d.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Batata: Minitubérculos para semente, sadios e econômicos. **Agrianual**, São Paulo, p. 192 – 194. 2002a.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Uso de brotos descartados de batata-semente econimiza divisas. **Ciência e Cultura**, v. 54, n. 2, p. 10, out./nov./dez. 2002b.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & BETTI, J.A. A 12-year review on ELISA monitoring of major potato viruses in dormant seed-tubers in Brazil. In: Yada, R.Y. (ed). Proc. XXVI IHC –

Potatoes – Healthy Food for Humanity. **Acta Hort. 619**: Publication supported by Can. Int. Dev. Agency (CIDA), ISHS 2003. p. 153 – 159.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Batata-semente X vírus jogo sujo. **Tecnologias de Produção HFF & Citrus**, Jaguariúna, v. I, n. 2, p. 06 – 11, abr. 2004a.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Tecnologia de produção de minitubérculos de batata-semente pré-básica, através do plantio de brotos livres de vírus. **Batata Show**, Itapetininga, v. 4, n. 9, p. 7, set. 2004b.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & CAMPBELL, W.L. Viabilidade da importação de brotos destacados de batata-semente do Alaska (USA) para produção de minitubérculos pré-básico no Brasil. **Revista Latinoamericana de la Papa**, Suplemento Especial. In: XXI Congresso de la Associacíon Latinoamericana de la Papa (ALAP). Valdivia, Chile, 2004c. Oral 9.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Poderia, a bataticultura brasileira, estar de frente a uma nova virose desastrosa, como a do PVY^{NTN}? **Batata Show**, Itapetininga, v. 5, n. 13, p. 11 – 12, dez. 2005a.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; SAWASAKI, H.S.; SILVA, M.S.; GIUSTO, A.B. Alerta Fitossanitário. Mosca branca *(Bemisia tabaci)* x viroses na bataticultura: Não bastava o mosaico amarelo deformante (geminivirus – TYVSV) e agora também o enrolamento da folha (luteovirus – PLRV)?. **Batata Show**, Itapetininga, v. 5, n. 12, p. 13 – 14, ago. 2005b.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; CAMPBELL, W.L.; GIUSTO, A.B. Exportação-importação apenas de broto do Alaska-EUA revela um novo sistema de movimentação de batata-semente no mundo: menor custo e maior segurança fitossanitária. **Batata Show**, Itapetininga, v. 5, n. 11, p. 11, abr. 2005c.

SOUZA-DIAS, J.A.C. & IAMAUTI, M.T. Doenças da batateira *(Solanum tuberosum L.)*. In: Kimati, H.; Amorin, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin-Filho, A. & Camargo, L. E.A.
(eds). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo, Agronômica Ceres Ltda, p. 119 – 142, 2005d.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Tecnologia do broto/batata-semente: uma idéia que está brotando na bataticultura. **O Agrário**, Valinhos, v. I, n. 7, p. 7, fev. 2006.

STARK, J.C. & LOVE, S.L. *Potato production systems*. Idaho: Printed in South Korea – Published in the United States of America, 2003. 426 p.

STEVENSON, W.R.; LORIA, R.; FRANC, G.D.; WEINGARTNER, D.P. *Compendium of potato diseases*. St. Paul, MN: APS Press, 2001. 106 p.

STRIUK, P.C. *Plant tissue culture*. In: Biotechnological innovations in crop improvement. Open Universiteit, Heerlen, The Netherlands & Thames Polytechnic, London, UK, Butterworth/Heinemann, p. 66 – 97, 1991.

STRIUK, P.C. & WIERSEMA, S.G. *Seed potato tecnology*. Wageningen: Printed in the Netherlands, 1999. 383 p.

SUGAWARA, M.; KOJIMA, M.; MURAYAMA, D. Latent period and retention of potato leafroll virus in its vector, *Myzus persicae*. **Ann. Phytopath. Soc. Jpn.**, v. 40, p. 39 – 45, 1974.
SUPLEMENTO AGRÍCOLA. IAC produz brotos de batata livres de vírus. **O Estado de São Paulo**, p. G3, 24/jul./2002.

SUTULA, C.L.; GILLET, J.M.; MORRISEY, S.M.; RAMSDELL, M.C. Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. **Plant Disease**, v. 70, p. 722 – 726, 1986.
SYLLER, J. The effects of temperature on the availability and acquisition of potato leafroll luteovirus by *Myzus persicae*. **Ann. Appl. Biol.**, v. 125, p. 141 – 145, 1994.

SYLVESTER, E.S. Circulative and propagative virus transmission by aphids. **Ann. Rev. Entomol.**, v. 25, p. 257 – 286, 1980.

TAKANAMI, Y. & KUBO, S. Enzyme assisted purification of two phoem limited plant viruses; tobacco necrotic dwarf and potato leafroll. **J. Gen. Virol.**, n. 44, p. 153 – 159, 1979.

TAMADA, T. & HARRISON, B.D. Factors affecting the detection of potato leafroll virus in potato foliage by enzyme-linked immunosorbent assay. **Ann. Appl. Biol.**, v. 95, p. 209 – 219, 1980.

TAMADA, T. & HARRISON, B.D. Quantitative studies on the uptake and retention of potato leafroll virus by aphids in laboratory and field conditions. **Ann. Appl. Biol.**, v. 98, p. 261 – 276, 1981.
TANAKA, S. & SHIOTA, H. Latent period of potato leafroll virus in the green peach aphid *(Myzus persicae Sulzer).* **Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.**, v. 36, p. 106 – 111, 1970.

TAVARES, S. Tuberização. **Batata Show**, Itapetininga, v. 2, n. 5, p. 18, set. 2002.

TERRADOT, L.; SIMON, J.C.; LETERME, N.; BOURDIN, D.; WILSON. A.C.C.; GAUTHIER, J.P.; ROBERT, Y. Molecular characterization of clones of the *Myzus persicae* complex (Hemiptera: Aphididae) differing in their ability to transmit the potato leafroll luteovirus (PLRV). **Bull. Entomol. Res.**, v. 89, p. 355 – 363, 1999.

THORNTON, R.E.; SIECZKA, J.B. *Commercial potato production in North America.* Orono: Potato Association of America, v. 57 (Suppl.), 1980. 36 p.

THOTTAPILLY, G.; KAO, Y.C.; HOOPER, G.R.; BATH, J.E. Host range, symptomatology, and electron microscopy of a persistent aphid-transmited virus from alfafa in Michigan. **Phytopatologica**, v. 67, p. 1451 – 1459. 1977.

TRUTA, A.A.C. & FIGUEIRA, A.R. Multiplicação do vírus do enrolamento (PLRV) e do vírus Y (PVY) em batata cv. Achat e eficiência da técnica DAS-ELISA para sua detecção em hastes e tubérculos. **Summa Phytopathologica**, v. 25, n. 2, p. 111 – 117, 1999.

TRUTA, A.A.C. & FIGUEIRA, A.R. Detecção simultânea dos vírus do enrolamento (PLRV), vírus Y (PVY) e o vírus X (PVX) da batata *(Solanum tuberosum L.)* por DAS-ELISA. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 24, n. 3, p. 597 – 604, jul./set., 2000.
UMAERUS, M. Quality characteristics of potato for the future: physiologucal aspects. In: *Triennial Conference of the European Association for Potato research, 8. Munchen*. Proceedings... Wageningen, p. 81 – 93, 1981.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentos. **TACO**: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela/php?ativo=tabela (16 novembro 2005).

UNIVERSITY OF CALIFORNIA. Growth and Development requirement of potatoes plant. In: *Integrated pest management for potatoes in the western United States*. Oakland: University of California, 1986. 146 p.

UPADHYA, S.M. True potato seed: propagule for potato production in the 21st century. In: Shekawat, G.S.; Paul Khurana, S.M.; Pandey, S.K.; Chandra, V.K. (eds). **Potato: Present and Future.** Indian Potato Association, Shimla, India, p. 15 – 22, 1994.

U.S. POTATO BOARD. *Guia do conselho de produtores de batata dos Estados Unidos para variedades de batatas-semente para exportação.* Denver, 2003. 84 p.

VALKONEN, J.P.T.; PUURAND, U.; SLACK, S.A.; MAKINEN, K.; SAARMA, M. Three strains of potato A potyvirus based on hypersensitive responses in potato, serological properties and coat protein sequences. **Plant Dis.**, v. 79, p. 748 – 753, 1995.
VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M. & PETERS, D. Improves detection of potato leafroll virus in Plant Material and in Aphids. **Phytopatology**, v. 79, n. 9, p. 963 – 967, 1989.

VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M. *Acquisition and transmisson of potato leafroll virus by Myzus persicae quantitative aspects.* Wageningen: Virologie, 1991a. 107 p.

VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M.; BOERMA, T.M.; PETERS, D. Transmission of potato leafroll virus from plants and artificial diets by *Myzus persicae.* **Phytopathology**, v. 81, p. 150 – 154, 1991b.

VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M.; VERBEEK, M.; PETERS, D. The relationship between aphid transmissibility of potato leafroll virus and surface epitopes of the viral capsid. **Phytopathology**, v. 83, p. 1125 – 1129, 1993.

VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M.; VERBEEK, M.; VAN DER WILK, F. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leafroll virus by *Myzus pesicae.*. **Journal of Gen. Virol**, v. 75, p. 2559 – 2565, 1994.

VAN DER ZAAG, D.E. & BURTON, W.G. Potential yield of the potato crop and its limitation. In: *Triennial Conference of the European Association for Potato Research*, 7., 1978, Warsaw. Proceedings... Wageningen, 1978, p. 7 – 22.

VAN DER VLUGT, R.A.A.; LEUNISSEN, J.; GOLDBACH, R. Taxonomic relationships between distinct potato virus Y isolates based on detailed comparisons of

the viral coat proteins and 3'- nontranslated regions. **Arch. Virol.**, v. 131, p. 361 – 375, 1993.

VAN VUURDE, J.W.L. & MAAT, D.Z. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and disperse-dye immuno assay (DIA): comparasion of simultaneous and separate incubation of sample and conjugate for the routine detection of lettuce mosaic virus and pea early-browning virus in seeds. **Neth. J. Plant. Pathol.**, n. 91, p. 3 – 13, 1985.

VAN REGENMORTEL, M.H.V. *Serology and immunochemistry of plant viruses.* New York: Academic Press, 1982. 302 p.

VETTEN, H.J.; EHLERS, U.; PAUL, H.L. Detection of potato viruses Y and in tubers by enzyme-linked immunosorbent assay after natural and artificial break of dormancy. **Phytopath. Z.**, n. 108, p. 41 – 53, 1983.

VILELA, N.J.; BRUNE, S.; BORGES, I.O.M. Principais desafios para o agronegócio brasileiro da batata. **Batata Show**, Itapetininga, v. 5, n. 11, p. 33 – 35, abr. 2005.

VOLLER, A.; BARTLETT, A.; BIDWELL, D.E.; CLARK, M.F.; ADAMS, A.N. The detection of viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Journal of General Virology**, v. 35, p. 165 – 167, 1976.

VREUGDENHIL, D.; BOOGAAD, Y.; VISSER, R.G.F.; BRUIJIN, S.M. Comparison of tuber and shoot formation from *in vitro* cultured potato explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 53, p. 197 – 204, 1998.

ZONTA, E.P. & MACHADO, A.A. *SANEST – Sistema de análise estatística para microcomputadores.* Registrado na Secretária Especial de Informática sob nº 066060 – categoria A. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1984.

ZEIRO, E. & DELEO, J.P. Batata: com reestruturação da cadeia, surgem novas regiões produtoras. **Hortifruit Brasil**, Piracicaba, v. 2, n. 18, p. 6 – 8, out, 2003.

ZERBINI, F.M. & MACIEL-ZAMBOLIM, E. A família potyviridae – Parte I. In: Luz, W.C.; Fernandes, J.M.; Prestes, A.M.; Picinini, E.C. (eds). **Revisão Anual de Patologia de Plantas – Volume 7**. Passo Fundo, Copyright ©. p. 1 – 66, 1999.

WALKEY, D.G.A. *Applied Plant Virology*. London: Chapman & Hall, 1991. 338 p.

WANG, J.Y.; CHAY, C.; GILDOW, F.E.; GRAY, M. Readtrhough protein associated with virions of barley yellow dwarf luteovirus and its potential in regulating the efficiency of aphid transmission. **Virology**, v. 206, p. 954 – 962, 1995.

WARDROP, E.A.; GRAY, A.B.; SINGH, R.P.; PETERSON, J.F. Aphid transmission of potato virus S. **Am. Potato J.**, v. 66, p. 449 – 459, 1989.

WATAD, A.A.; SLUIS, C.; NACHMIAS, A.; LEVIN, R. Rapid propagation of virus-tested potatoes. In: Loebenstein, G.; Berger, P.H.; Brunt, A.A.; Lawson, R.H. (eds). **Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht, Klumer Acadmic Publishers, p. 391 – 406, 2001.

WATERHOUSE, P.M.; GILDOW, F.E.; JOHNSTONE, G.R. Luteovirus. In: **Commonwealth Mycological Institute/ Association of Applied Biologists**, 9 p. 1988

WATTS, N.R.; SINGH, M.; SINGH, R.P. Potato virus X isolates from potato collected in eastern Canada with different symptoms in tobacco differ in their coat proteins. **Amer. Potato J.**, v. 74, p. 245 – 253, 1997.

WEIDEMANN, H.L. & CASPER, R. Immunohistological studies on the occurence of potato leafroll virus in tubers and shoots of the potato plant. **Potato Research**, v. 25, p. 99 – 106, 1982.

WEIDEMANN, H.L. Rapid detection of potato viruses by dot-ELISA. **Potato Research**, v. 31, p. 485 – 492, 1988.

WEIDEMANN, H.L. & MAISS, E. Detection of the potato necrotic ringspot strain of potato virus Y (PVY^{NTN}) by reverse transcription and immunocapture polymerase chain reaction. **J. Plant. Dis. Prot.**, v. 103, p. 337 – 345, 1996.

WEILGUNY, H. & SINGH, R.P. Separation of Slovenian isolates of PVY^{NTN} from the North American isolates of PVY^{N} by a 3-primer PCR. **J. Virol. Meth.**, v. 71, p. 57 – 68, 1998.

WIERSEMA, G.S. *Efecto de la densidade de tallos en la producción de papa.* 3. ed. Lima: Centro International de la Papa, 1987. 16 p. (Boletín de Información Técnica, 1).

WILSON, C.R. & JONES, R.A.C. Resistance to potato leafroll virus infection and accumulation in potato cultivars, and the effects of previous infection with other viruses on expression of resistant. **Australian J. Agric**, v. 44, p. 1891 – 1904. 1993.

WILTSHIRE, J.J.J.; COBB, A.H. A review of the physiology of potato tuber dormancy.

Ann. Appl. Biol., v. 129, p. 553 – 569, 1996.

WURR, B.D.C.E. Some effects of size and spacing on the yield and grading of two maincrop potato varieties. I – Finally yield its relationship to plant population. **J. Agric. Sci.**, v. 82, p. 37 – 45, 1974.

WURR, B.D.C.E. Relationships between sprouting characters and stem development in two maincrop varieties. **Potato Research**, Wageningen, v. 18, p. 83 – 91, 1975.

WURR, D.C.E.; ALLEN, E.J. Effects of cold treatments on the sprout growth of three potato varieties. Journal of Agricultural Science of Cambridge, v.86, p.221-224, 1976.

YOUNG, N. *Seed potato systems in developed countries: Canada, The Netherlands and Great Britain.* Lima, International Potato Center, Lima, Peru, 1990. 116 p.

YUKI, V.A. Afídeos vetores de vírus da batata. **Correio Agrícola Bayer**, São Paulo, n. 3, p. 460 – 463. 1982.

YUKI, V.A. Pulgões da batata. **Batata Show**, Itapetininga, v. 2, n. 4, p. 05 – 06, mai. 2002.

7 ANEXOS

7.1 Anexo I – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PLRV via DAS-ELISA (*) nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Ágata.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos (**)	Positivos (**)	Positivos (**)
Repetições	11	10	11
01	13	13	13
02	08	09	09
03	15	12	15
04	06	08	08
05	18	16	18
06	10	11	12
07	07	07	07
08	16	15	17
09	11	12	12
10	17	17	17
11	14	16	16
12	09	07	09
13	04	05	05
14	13	13	13
15	02	01	02
16	12	11	12
17	09	07	09
18	09	08	10
19	06	04	06
20	07	07	07
21	18	17	18
22	08	08	08
23	10	09	10
24	14	12	14
25			

(*) Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. (**) Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.2 Anexo II – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PLRV via DAS-ELISA (*) nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Asterix.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos (**)	Positivos (**)	Positivos (**)
Repetições	14	13	14
01	09	09	10
02	13	11	13
03	16	17	17
04	11	11	11
05	09	10	10
06	07	07	07
07	18	16	18
08	14	15	15
09	11	11	11
10	08	07	09
11	12	12	12
12	17	15	17
13	16	18	18
14	15	14	15
15	09	08	09
16	10	12	12
17	13	13	13
18	08	07	09
19	05	04	05
20	14	15	15
21	18	17	18
22	12	12	12
23	11	12	12
24	10	09	11
25			

(*) Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. (**) Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.3 Anexo III – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PLRV via DAS-ELISA [(*)] nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Bintje.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]
Repetições	17	15	17
01	15	15	15
02	13	12	13
03	16	17	17
04	08	09	10
05	09	09	09
06	10	08	10
07	12	12	12
08	13	14	14
09	07	05	07
10	14	14	14
11	17	15	17
12	18	17	18
13	13	13	13
14	09	10	10
15	11	09	11
16	10	12	12
17	14	13	14
18	13	12	13
19	09	10	10
20	11	11	11
21	17	16	17
22	16	16	16
23	15	13	15
24	07	08	08
25			

[(*)] Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. [(**)] Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.4 Anexo IV – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PLRV via DAS-ELISA (*) nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Monalisa.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos (**)	Positivos (**)	Positivos (**)
Repetições	15	15	15
01	17	15	17
02	18	17	18
03	12	13	13
04	13	12	13
05	11	11	11
06	14	15	15
07	18	16	18
08	10	09	10
09	11	11	11
10	09	11	11
11	05	04	06
12	12	11	12
13	16	15	16
14	10	12	12
15	07	07	07
16	18	17	18
17	14	15	15
18	12	12	12
19	11	09	11
20	15	16	16
21	06	06	06
22	09	08	09
23	17	17	17
24	14	13	14
25			

(*) Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. (**) Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.5 Anexo V – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PLRV via DAS-ELISA (*) nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Mondial.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos (**)	Positivos (**)	Positivos (**)
Repetições	17	15	17
01	15	16	16
02	12	12	12
03	13	12	13
04	14	12	14
05	18	17	18
06	16	17	17
07	11	13	13
08	13	12	13
09	10	10	10
10	15	16	16
11	12	12	12
12	13	11	13
13	16	17	18
14	17	16	17
15	10	10	10
16	18	16	18
17	10	12	12
18	11	11	11
19	13	12	13
20	14	14	14
21	16	17	17
22	15	13	15
23	11	12	12
24	15	15	15
25			

(*) Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. (**) Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.6 Anexo VI – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVY via DAS-ELISA [(*)] nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Ágata.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]
Repetições	09	10	10
01	12	14	14
02	08	08	08
03	07	06	07
04	05	05	05
05	10	11	11
06	12	11	12
07	08	08	08
08	06	07	07
09	13	15	15
10	05	06	06
11	15	15	15
12	08	07	08
13	14	14	14
14	13	15	15
15	10	10	10
16	09	08	09
17	08	08	08
18	11	08	11
19	07	09	09
20	13	13	13
21	08	09	09
22	06	06	06
23	12	11	12
24	07	07	07
25			

[(*)] Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. [(**)] Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.7 Anexo VII – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVY via DAS-ELISA [(*)] nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Aracy IAC 2.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]
Repetições	09	11	11
01	08	08	08
02	11	13	13
03	13	15	16
04	08	12	12
05	17	18	18
06	15	15	15
07	13	10	13
08	12	14	14
09	06	08	08
10	18	18	18
11	07	05	07
12	06	06	06
13	09	09	09
14	11	12	12
15	04	06	06
16	16	15	16
17	15	14	15
18	11	11	11
19	04	05	05
20	07	05	07
21	09	10	10
22	12	12	12
23	16	15	16
24	08	08	08
25			

[(*)] Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. [(**)] Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.8 Anexo VIII – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVY via DAS-ELISA (*) nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Asterix.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos (**)	Positivos (**)	Positivos (**)
Repetições	18	18	18
01	15	17	17
02	14	13	14
03	12	14	14
04	17	17	17
05	18	17	18
06	15	14	15
07	14	16	16
08	11	11	11
09	17	17	17
10	15	13	15
11	13	14	14
12	10	12	12
13	17	18	18
14	12	14	14
15	10	10	10
16	11	11	11
17	14	13	14
18	13	15	15
19	16	14	14
20	17	17	17
21	18	18	18
22	12	13	13
23	10	12	12
24	16	15	15
25			

(*) Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. (**) Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.9 Anexo IX – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVY via DAS-ELISA [(*)] nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Atlantic.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]
Repetições	08	10	10
01	10	11	11
02	11	10	10
03	09	09	09
04	13	13	13
05	11	14	14
06	09	11	11
07	16	14	16
08	14	14	14
09	08	09	09
10	07	07	07
11	05	04	05
12	09	10	10
13	11	11	11
14	14	13	14
15	16	15	16
16	17	18	18
17	09	09	09
18	10	08	10
19	07	07	07
20	08	06	08
21	06	07	07
22	07	09	09
23	11	11	11
24	13	12	13
25			

[(*)] Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. [(**)] Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.10 Anexo X – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVY via DAS-ELISA [(*)] nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Bintje.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]
Repetições	12	12	12
01	09	11	11
02	14	13	13
03	17	17	17
04	11	09	11
05	10	11	11
06	07	07	07
07	06	08	08
08	13	15	15
09	15	14	14
10	18	18	18
11	11	09	11
12	15	15	15
13	10	11	11
14	14	12	14
15	08	08	08
16	16	17	17
17	09	09	09
18	14	12	12
19	13	14	14
20	11	10	11
21	07	07	07
22	10	10	10
23	06	07	07
24	13	12	13
25			

[(*)] Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. [(**)] Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.11 Anexo XI – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVX via DAS-ELISA [(*)] nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade Caesar.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]	Positivos [(**)]
Repetições	05	04	05
01	01	01	01
02	02	02	02
03	04	03	04
04	03	03	03
05	05	06	06
06	01	02	02
07	04	03	04
08	05	05	05
09	07	06	07
10	10	11	11
11	01	01	01
12	03	02	03
13	05	05	05
14	07	06	07
15	04	05	05
16	03	03	03
17	03	02	02
18	02	01	03
19	01	02	02
20	05	04	04
21	03	03	03
22	02	01	01
23	01	01	01
24	03	02	02
25			

[(*)] Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. [(**)] Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.12 Anexo XII – Experimento [1]: Análise comparativa da detecção do PVS via DAS-ELISA (*) nos tecidos (1), (2) e (3) correspondentes a cada tubérculo, variedade IAC Duvira.

	Tecidos Analisados		
	(1) Tubérculo dormente	(2) Broto apical destacado	**(3) Folhas da planta progênie**
	Positivos (**)	Positivos (**)	Positivos (**)
Repetições	17	17	17
01	16	15	16
02	17	18	18
03	15	15	15
04	14	14	14
05	16	15	16
06	18	18	18
07	15	15	15
08	17	16	17
09	17	15	17
10	16	18	18
11	14	14	14
12	16	17	17
13	12	12	12
14	17	16	17
15	18	18	18
16	16	15	16
17	18	17	18
18	15	16	16
19	17	18	18
20	14	15	16
21	18	17	18
22	16	15	18
23	14	14	14
24	17	18	18
25			

(*) Valores de (A405nm) considerados positivos quando duas vezes acima do valor dos controles negativos adicionados em cada microplaca. (**) Os tecidos (1), (2) e (3) são compostos por 18 amostras para cada repetição.

7.13 Anexo XIII – Experimento [1]: Soluções tampão, utilizadas para a preparação e execução do teste DAS-ELISA

1- Solução tampão de cobertura (Tampão Carbonato), pH 9,6

- ✓ 1,59 g de Na_2CO_3
- ✓ 2,93 g de Na_2HCO_3
- o Diluir em 1 litro de água destilada.

2- Solução tampão PBS (Phosphate Buffered Saline), pH 7,4

- ✓ 1 litro de água destilada
- ✓ 8,0 g de NaCl
- ✓ 0,2 g de KH_2PO_4
- ✓ 2,9 g de $NaHPO_4 \cdot 2H_2O$ ou 1,15 g de Na_2HPO_4;
- ✓ 0,2 g de KCl
- ✓ 0,5 ml de Tween 20
- o Diluir tudo em 1 litro de água destilada.

3- Solução utilizada na preparação da solução tampão de extração e de conjugado

- ✓ 20,0 g de Polivinilpirrolidona
- ✓ 2,0 g de ovo albumina
- ✓ 0,2 g de NaN_3 (azida sódica)
- o Diluir em 1 litro de PBS Tween.

4- Solução tampão de substrato, pH 9,8

- ✓ 97 ml de dietanolamina
- ✓ 0,5 g de NaN_3
- o Diluir em 1 litro de água destilada.

5- Solução de lavagem

- ✓ 1 litro de água destilada
- ✓ 1 ml de Tween 20

7.14 Anexo XIV – **Experimento [1]: Soluções utilizadas na preparação do tampão de inoculação mecânica**

1- Solução tampão de KH_2PO_4
13,6 g de KH_2PO_4
500 ml de água destilada

2- Solução tampão de Na_2HPO_4
35,8 g de Na_2HPO_4
500 ml de água destilada

7.15 Anexo XV – Experimento [1]: Quadrado médio e significância para a característica indicada.

FV	GL	QM
		PLRV
		(Nº de positivos detectados por DAS-ELISA)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Asterix	2	3,453333 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Bintje	2	3,240000 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Monalisa	2	2,573333 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Mondial	2	2,680000 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Ágata	2	5,293333 (*)
Resíduo	366	13,063781
C.V %		**29,24**
D.M.S %		**2,40**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Tecidos correspondentes a cada tubérculo: (1) Tubérculo dormente; (2) Broto apical destacado e (3) Folhas da planta progênie.

7.16 Anexo XVI – Experimento [1]: Quadrado médio e significância para a característica indicada.

FV	GL	QM
		PVY
		(Nº de positivos detectados por DAS-ELISA)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Aracy IAC	2	4,413333 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Asterix	2	1,973333 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Atlantic	2	1,853333 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Bintje	2	0,760000 (*)
Tecidos (**) (1- 2- 3) x Ágata	2	1,720000 (*)
Resíduo	366	13,117727
C.V %		**31,55**
D.M.S %		**2,41**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Tecidos correspondentes a cada tubérculo: (1) Tubérculo dormente; (2) Broto apical destacado e (3) Folhas da planta progênie.

7.17 Anexo XVII – Experimento [1]: Quadrado médio e significância para a característica indicada.

FV	GL	QM
		PVX - Caesar
		(Nº de positivos detectados por DAS-ELISA)
Tecidos (**) (1- 2- 3)	2	0,693333 (*)
Resíduo	72	5,266667
C.V %		**64,71**
D.M.S %		**1,55**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Tecidos correspondentes a cada tubérculo: (1) Tubérculo dormente; (2) Broto apical destacado e (3) Folhas da planta progênie.

7.18 Anexo XVIII – Experimento [1]: Quadrado médio e significância para a característica indicada.

FV	***GL***	***QM***
		PVS – IAC DUVIRA
		(Nº de positivos detectados por DAS-ELISA)
Tecidos (**) (1- 2- 3)	2	1,960000 (*)
Resíduo	72	2,611111
C.V %		**10,02**
D.M.S %		**1,09**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Tecidos correspondentes a cada tubérculo: (1) Tubérculo dormente; (2) Broto apical destacado e (3) Folhas da planta progênie.

7.19 Anexo IXX – Experimento [2]: Quadrados médios e significância para as características indicadas

FV	GL	QM					
		Altura da Planta **(mm)**	***Haste*** ***(nº/planta)***	**Ø Horizontal da Folha (mm)**	**Ø Vertical da Folha (mm)**	**Minitubérculo (nº/planta)**	**Peso Minitubérculo (g/planta)**
Blocos	2						
Variedade (***) (A)	3	38105,1296296 (**)	0,9768519 (*)	185,2222222 (*)	531,5555556 (*)	16,5324074 (*)	285,8287037 (**)
Tratamento (****) (B)	2	75118,1666667 (**)	2,7222222 (**)	82,9305556 (*)	22,5138889 (*)	4,5972222 (*)	147,3888889 (*)
Broto (C)	1	107648,0000000 (**)	1,6805556 (*)	566,7222222 (**)	1701,3888889 (**)	6,1250000 (*)	130,6805556 (*)
(A) x (B)	6	11412,9074074 (**)	0,3518519 (**)	138,2083333 (**)	252,9027778 (*)	9,6712963 (**)	19,1481481 (**)
(A) x (C)	3	2862,7037037 (**)	0,2731481 (*)	54,1666667 (**)	131,7592593 (**)	11,9768519 (*)	50,6064815 (**)
(B) x (C)	2	19940,1666667 (**)	0,2222222 (**)	200,0138889 (**)	260,0972222 (*)	0,1250000 (**)	118,2222222 (**)
Resíduo	52	1959,5567575	0,6816241	98,7622362	199,0598791	5,5737181	44,9075917
C.V %		**20,42**	**43,38**	**21,73**	**22,29**	**60,49**	**46,26**
D.M.S %		**82,78**	**4,66**	**58,29**	**82,71**	**13,90**	**39,30**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (***) Broto/batata-semente oriundo de tubérculos-semente, variedades estudadas: Ágata, Almera, Markies e Monalisa. (****)Tratamentos estudados: Fludioxonil, Ácido Giberélico e Sem tratamento.

7.19 Anexo IXX – Experimento [2]: Quadrados médios e significância para as características indicadas

FV	GL	QM					
		Altura da Planta **(mm)**	***Haste*** ***(nº/planta)***	**Ø Horizontal da Folha (mm)**	**Ø Vertical da Folha (mm)**	**Minitubérculo (nº/planta)**	**Peso Minitubérculo (g/planta)**
Blocos	2						
Variedade (***) (A)	3	38105,1296296 (**)	0,9768519 (*)	185,2222222 (*)	531,5555556 (*)	16,5324074 (*)	285,8287037 (**)
Tratamento (****) (B)	2	75118,1666667 (**)	2,7222222 (**)	82,9305556 (*)	22,5138889 (*)	4,5972222 (*)	147,3888889 (*)
Broto (C)	1	107648,0000000 (**)	1,6805556 (*)	566,7222222 (**)	1701,3888889 (**)	6,1250000 (*)	130,6805556 (*)
(A) x (B)	6	11412,9074074 (**)	0,3518519 (**)	138,2083333 (**)	252,9027778 (*)	9,6712963 (**)	19,1481481 (**)
(A) x (C)	3	2862,7037037 (**)	0,2731481 (*)	54,1666667 (**)	131,7592593 (**)	11,9768519 (*)	50,6064815 (**)
(B) x (C)	2	19940,1666667 (**)	0,2222222 (**)	200,0138889 (**)	260,0972222 (*)	0,1250000 (**)	118,2222222 (**)
Resíduo	52	1959,5567575	0,6816241	98,7622362	199,0598791	5,5737181	44,9075917
C.V %		**20,42**	**43,38**	**21,73**	**22,29**	**60,49**	**46,26**
D.M.S %		**82,78**	**4,66**	**58,29**	**82,71**	**13,90**	**39,30**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (***) Broto/batata-semente oriundo de tubérculos-semente, variedades estudadas: Ágata, Almera, Markies e Monalisa. (****)Tratamentos estudados: Fludioxonil, Ácido Giberélico e Sem tratamento.

7.20 Anexo XX – Experimento [3]: Quadrados médios e significância para as características indicadas.

FV	GL	QM	
		Produção (kg/ha)	**Tubérculos/Plantas (Nº)**
Blocos	2		
Variedade (A) (**)	3	41892589,1388 (*)	1,2870370 (*)
Tratamento (B) (***)	2	36152486,5833 (*)	2,6944444 (*)
(A) x (B)	6	13684602,4722 (*)	5,0648148 (*)
Resíduo	22	16911526,6719	2,5126272
C.V %		**33,634**	**25,589**
D.M.S %		**9607,46**	**3,69**

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. (**) Minitubérculos oriundos do broto/batata-semente, variedades estudadas: Ágata, Almera, Cupido e Markies. (***) Tratamentos estudados: Fludioxonil, Ácido Giberélico e Sem tratamento.