

**SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA COM  
RESISTÊNCIA MÚLTIPLA À PINTA-PRETA E  
AOS VÍRUS X E Y**

**DIOGO GONÇALVES NEDER**

**2008**

**DIOGO GONÇALVES NEDER**

**SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA  
À PINTA-PRETA E AOS VÍRUS X E Y**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Genética e Melhoramento de Plantas,  
para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof.Dr. César Augusto Brasil Pereira

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Neder, Diogo Gonçalves.

Seleção de clones de batata com resistência múltipla à pinta-preta e aos vírus x e y / Diogo Gonçalves Neder. – Lavras : UFLA, 2008.

72 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto.

Bibliografia.

1.Batata. 2.Seleção. 3.Resistência genética. 4. Pinta preta. 5. PVY. 6. PVX. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CCD – 635.213

**DIOGO GONÇALVES NEDER**

**SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA  
À PINTA-PRETA E AOS VÍRUS X E Y**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Genética e Melhoramento de Plantas,  
para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 18 de agosto de 2008

Prof. Dr. João Bosco dos Santos	UFLA
Profa. Dra. Antônia dos Reis Figueira	UFLA
Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf	UFLA
Profa. Dra. Elaine Aparecida de Souza	UFLA

Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

Dedico o presente trabalho e a conquista deste título ao meu pai, Valdir Neder (*in memoriam*), um exemplo de vida e ser humano sensacional. Sem seu apoio e confiança esta realização jamais teria se concretizado.

Infelizmente, Deus não quis que ele estivesse presente fisicamente neste momento da minha vida. Entretanto, o sinto vivo e desejo apenas que minhas atitudes presentes e futuras sejam motivos de orgulho para ele.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me concedido a vida.

À Universidade Federal de Lavras, pela minha formação acadêmica.

Ao CNPq e à Capes, pela concessão de bolsas de estudos.

Ao professor César Augusto Brasil Pereira Pinto, pela orientação, tolerância e disponibilidade.

Aos professores Magno, João Bosco, João Cândido, Elaine, Lisete e Antônia, pelos conhecimentos transmitidos durante o curso e disponibilidade.

Aos colegas do grupo de pesquisa em melhoramento genético de batata, pela ajuda na condução dos experimentos e amizade.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas e funcionários, pela convivência, auxílio e troca de experiência.

Aos meus pais, pelo apoio em todos os momentos da minha vida.

A Ludmilla e familiares, pelo carinho, auxílio e convivência.

A todos que contribuíram para a elaboração deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 Introdução geral.....	1
CAPITULO 1. ....	3
1 Refencial teórico.....	4
1.1 Vírus Y da batata (PVY – Potato Virus Y).....	4
1.2 Resistência genética ao PVY.....	8
1.3 Vírus X da batata (PVX - Potato vírus X).....	11
1.4 Resistência genética ao PVX.....	13
1.5 Pinta preta ( <i>Alternaria solani</i> ).....	15
1.6 Resistência genética à pinta preta.....	17
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO 2. Seleção de clones de batata com resistência múltipla a pinta preta e aos vírus x e y.....	32
Resumo.....	33
Abstract.....	34
1 Introdução.....	35
2 Material e Métodos.....	37
2.1 Material experimental.....	37
2.2 Avaliação agrônômica.....	37
2.3 Avaliação da resistência a pinta preta.....	38
2.4 Seleção sequencial.....	40
2.5 Identificação do alelo Ry <sub>adg</sub> .....	40
2.6 Identificação do alelo Rx1.....	41

3 Resultados e Discussão.....	43
3.1 Desempenho agronômico .....	43
3.2 Resistência à pinta-preta.....	44
3.3 Clones portadores do alelo Ry.....	46
3.4 Clones portadores do alelo Rx.....	46
3.5 Seleção de clones com resistência múltipla e desempenho agronômico.....	47
4 Conclusões.....	49
5 Referências bibliográficas.....	50
ANEXO.....	53

## RESUMO

NEDER, Diogo Gonçalves. **Seleção de clones de batata com resistência múltipla a pinta preta e aos vírus X e Y.** 2008. 72 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Diversas doenças causadas por diferentes espécies de fitopatógenos podem ocorrer na cultura da batata, promovendo uma redução de até um quarto do seu potencial produtivo. Dentre as doenças de ocorrência mais comum no Brasil, pode-se destacar a pinta preta, um dos principais fatores limitantes do cultivo de verão, o vírus Y, considerado atualmente o principal vírus que afeta a cultura, e o vírus X, importante pelo seu efeito sinérgico com outros vírus. Considerando a eficiência da resistência genética no controle destas doenças, o presente trabalho teve como objetivo realizar a seleção de clones de batata com bom desempenho agrônômico e resistentes à pinta preta e aos vírus X e Y. Foram realizados 57 cruzamentos entre clones portadores dos genes  $R_{y_{adg}}$  e  $R_{x1}$ , e a cultivar Chiquita, caracterizada como resistente à pinta preta. Os clones foram avaliados em diferentes experimentos de campo para caracteres de interesse agrônômico, resistência a pinta preta, assim como, por meio de marcadores SCAR e CAPS para resistência ao PVY e ao PVX, respectivamente. Foi possível selecionar 20 clones de alto desempenho agrônômico, resistentes à pinta preta e ao vírus Y, e um identificado como resistente também ao vírus X.

---

\*Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto – UFLA

## ABSTRACT

NEDER, Diogo Gonçalves. **Selection of potato clones for multiple resistances to early blight, PVY and PVX.** 2008. 72 p. Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras.

Many diseases in the potato crop are caused by different pathogen species and reduce tuber yield up to one fourth of its potential production. Among the diseases which are very common during the rainy season is early blight (*Alternaria solani*), the *Potato Virus Y* (PVY) considered the most important viruses affecting the potato crop and the *Potato Virus X* (PVX), which importance is related to its synergistic effect along with other viruses. Since genetic resistance is the most efficient method to control these diseases, the present research aimed at selecting potato clones with high agronomic performance and resistant to early blight, PVY and PVX. Crossings were made among clones carrying the  $Ry_{agg}$  and  $Rx1$  alleles, for resistance to PVY and PVX, respectively, with cultivar Chiquita, which presents resistance to early blight. Clones were field evaluated for agronomic traits and early blight resistance and for the presence of  $Ry_{adg}$  allele using a SCAR marker and for  $Rx1$  allele using a CAPS marker. We selected 20 clones with high agronomic performance and resistance to PVY. One of these clones presented resistance to all three diseases.

---

\* Major professor: César Augusto Brasil Pereira Pinto - UFLA

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

São conhecidas mais de 100 doenças bióticas que afetam a cultura da batata, causadas por diferentes espécies de fungos, vírus e viróides, bactérias, nematóides e fitoplasma. Segundo Gebahardt & Valkonen (2001), a ação desses patógenos promove a redução anual da produção mundial de batata em um quarto do seu potencial, gerando uma perda estimada de 100 milhões de toneladas/ano.

No Brasil, dentre as diversas doenças que já foram relatadas, destacam-se a pinta-preta (*Alternaria solani*), um dos principais fatores limitantes do cultivo de verão, podendo causar perdas consideráveis pela desfolha precoce das plantas; o vírus Y da batata (*Potato virus Y* – PVY), agente de uma das principais doenças viróticas da cultura e o vírus X (*Potato virus X* – PVX), cuja importância vem crescendo, especialmente pelo seu efeito sinérgico quando na presença de outros vírus, aumentando drasticamente as perdas.

Todos os programas de melhoramento de batata no Brasil buscam obter cultivares resistentes às principais doenças da cultura (Lopes & Reifschneider, 1999). Uma estratégia utilizada neste caso é o cruzamento entre genótipos com bons níveis de resistência a doenças, seguido de um *screening*, procurando reunir alelos de resistência a mais de um tipo de patógeno em uma mesma cultivar (Jellis, 1992). Entretanto, alguns fatores interferem nesse processo, como a inferioridade em características agronômicas e qualitativas, muitas vezes observadas em genótipos de alta resistência (Jellis, 1992), o que ressalta a necessidade de se considerar também o desempenho agrônomo e a qualidade para o processamento da progênie na seleção de genótipos resistentes.

O programa de melhoramento da batata da UFPA vem trabalhando com resistência à pinta-preta desde 1993. Martins (1996) verificou que a cultivar

Chiquita apresenta alta capacidade geral de combinação, não apenas para resistência a essas enfermidades, mas também para caracteres agronômicos. Já Simon (2005) selecionou clones que associam a resistência à pinta-preta com tolerância a altas temperaturas. Com relação às viroses, vários clones foram identificados como imunes ao PVX e PVY (Silva, 1999; Gadum, 2001; Ribeiro, 2004), além de apresentarem bons caracteres agronômicos.

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de gerar famílias clonais com variabilidade genética para resistência à pinta-preta e imunidade aos vírus X e Y e selecionar aqueles com resistência a estas múltiplas doenças e com bom desempenho agronômico.

## **CAPÍTULO 1**

## 1 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 Vírus Y da batata (PVY – *Potato virus Y*)

*Potato virus Y* (PVY) é o membro tipo do gênero Potyvirus, família Potyviridae, constituído por longas partículas filamentosas com comprimento modal de 740 nm e diâmetro de 11 nm. Seu genoma é formado por uma única fita de RNA sense positiva (~11 Kb), a qual é traduzida para formar uma poliproteína composta por oito proteínas clivadas (De Bokx, 1981, De Bokx & Huttinga, 1981 e Brunt et al., 1996).

Descrito pela primeira vez na Inglaterra, por Smith, em 1931 (De Bokx e Huttinga, 1981; Brunt et al., 1996), o PVY é, economicamente, o vírus mais importante que infecta batata, seguido pelo PLRV e PVX. Pode causar perdas que variam de 30% a 100%, em função das estirpes de PVY e da cultivar de batata (Souza-Dias, 2001). É ainda responsável por infectar, naturalmente e experimentalmente, mais de 342 espécies de 69 gêneros diferentes em 27 famílias e considerado o agente causador de uma série de outras doenças em outras culturas, como pimentão e pimentas, tabaco e tomate, estando distribuído por todo o mundo (Edwardson, 1974).

A transmissão do PVY ocorre por inoculação mecânica e via afídeos vetores, sendo o mais importante deles o *Myzus persicae* Sulz. Pode ser transmitido ainda por quarenta outras espécies de vinte gêneros diferentes (De Bokx, 1981). Sua transmissão ocorre de maneira não-persistente, dessa forma, as partículas virais são conduzidas pelo estilete do afídeo, sem a necessidade de contato deste com o floema. Devido a isso, o tempo requerido para a aquisição e a transmissão muito curto apenas alguns segundos. Apesar disso, a capacidade do vetor em permanecer infectivo também é de curta duração (Döring et al., 2007).

O sintoma induzido pelo PVY varia com o genótipo e a idade do hospedeiro, a estirpe e a concentração do vírus e fatores ambientais, como temperatura, podendo variar desde infecção latente até necrose pronunciada de folhas e morte da planta (De Bokx & Piron, 1977; Hooker, 1981; Le Romancer & Nedellec, 1997).

Devido à pronunciada variabilidade biológica, molecular e sorológica, os isolados de PVY são classificados em estirpes, ou seja, grupos definidos pela capacidade em infectar certas plantas indicadoras e de acordo com a capacidade para permitir a seleção de fontes de resistência, sendo estes PVY<sup>0</sup>, PVY<sup>N</sup> e PVY<sup>C</sup>. Podem ocorrer, ainda, variantes dentro dos grupos principais (Rolland et al., 2007).

A estirpe comum, ou PVY<sup>0</sup>, causa sintoma de mosaico em diferentes cultivares de batata, o qual pode variar de severo a fraco, estando distribuída por todo o globo. A estirpe necrótica ou PVY<sup>N</sup>, indutora de sintomas variáveis de mosaico em batata e necrose severa em tabaco, tem sido relatada na Europa, na África, na Nova Zelândia e na América do Sul (Ellis et al., 1997). Por fim, a estirpe PVY<sup>C</sup>, causadora de necrose sistêmica em cultivares de batata que possuem o alelo Nc, já foi identificada na Europa, na Austrália, na Nova Zelândia e nas Américas (Lorenzen, 2006). Considerada, inicialmente, como não transmissível por afídeos, alguns de seus isolados foram identificados como sendo transmitidos por *M. persicae*. Uma variante dessa estirpe é a necrótica PVY<sup>NTN</sup>, indutora de anéis necróticos no tubérculo. Apesar disso, apresenta disseminação mais restrita, provavelmente devido ao fato de os isolados não serem transmitidos por afídeos (Blanco-Urgoiti et al., 1998) e por induzirem reação de hipersensibilidade em diversas cultivares de batata. (Ellis et al., 1997).

Na literatura são encontrados diversos estudos procurando entender a distribuição dessas estirpes e identificar novas variantes. Lorenzen et al. (2006) compararam isolados coletados em plantações no oeste dos Estados Unidos com

isolados presentes no Europa e no Canadá e verificaram, após seqüenciamento, mais de 99% de identidade entre os isolados coletados nos Estados Unidos e os europeus. Em outro trabalho, realizado por Piche et al. (2004), foram caracterizados isolados coletados em campos de produção nos Estados Unidos, identificando uma grande quantidade de estirpes do tipo PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>O</sup>, a variante PVY<sup>NTN</sup> e, curiosamente, recombinantes PVY<sup>O:N</sup>. Outros trabalhos semelhantes foram o realizado por Lorenzen et al. (2008), na caracterização de uma nova variante do PVY chamada NE-11 e o de Rolland et al. (2007), envolvido com a caracterização molecular dos diferentes sintomas induzidos pelo PVY.

Para realizar o diagnóstico, a identificação e a diferenciação das diferentes espécies de vírus e suas estirpes diversas metodologias podem ser empregadas como o uso de plantas diferenciadoras, microscopia eletrônica e análises moleculares. Entretanto, a mais comumente empregada, no âmbito comercial, é o teste DAS-Elisa, que utiliza anti-soros monoclonais ou policlonais (Moraes, 2003).

Segundo Berger Voet et al. (2008), somente na Holanda, principal país exportador de batata-semente, são realizadas 1,8 milhões de reações Elisa anualmente. Entretanto, em cada teste Elisa, normalmente, apenas um tipo de vírus é detectado, requerendo um grande número de reações em paralelo, o que resulta em aumento dos custos com laboratórios, profissionais e reagentes.

Dessa forma, é cada vez maior o interesse pelo desenvolvimento de novas técnicas que permitam analisar simultaneamente vários vírus, chamadas análises multiplex. Alguns protocolos vêm sendo desenvolvidos e aperfeiçoados nos últimos anos, baseados na análise de ácidos nucléicos, como o multiplex RT-PCR (Singh & Nie, 2003, He et al., 2006, Rigotti & Gugerli, 2006, Kogovsek et al., 2008), multiplex AmpliDetRNA (Klerks et al., 2001) e um sistema de microarranjos multiplex (Boonham et al., 2003). Entretanto, essas técnicas não foram adotadas pelos sistemas de inspeção, tendo em vista a

tecnologia requerida para os laboratórios e os procedimentos necessários para a purificação do RNA.

Uma técnica alternativa de custo compatível ao DAS-Elisa foi estudada por Berger Voet et al. (2008), chamada *multiplex microsphere immunoassay* ou MIA. Essa técnica se baseia na tecnologia XMAP, a qual utiliza microesferas de látex combinadas a dois fluoróforos em diferentes proporções e anticorpos específicos. Após a mistura com a amostra, a detecção final é feita com um marcador fluorescente, a ficoeritrina, e a leitura final em citômetro de fluxo.

Com relação ao controle dessa enfermidade, diversas estratégias têm sido publicadas em artigos científicos e recomendadas para o produtor. Curiosamente, muitas dessas práticas são conhecidas dos agricultores europeus desde o século XVIII, sendo chamadas de ferramentas contra a degenerescência da batata. Entre elas, estão a eliminação de batatas sementes e de plantas infectadas por *roguing*; o plantio em campos livres de fonte de inóculo; o manejo temporal visando evitar a coincidência de plantas suscetíveis com a época de maior ocorrência do vetor; a destruição de restos culturais e o manejo nutricional das plantas. No presente, podem-se somar a essas técnicas de manejo cultural o uso da resistência genética e o controle químico dos vetores via aplicação de inseticidas (Döring et al., 2007).

Apesar de comumente usada e regulamentada, o uso de inseticidas vem recebendo críticas devido a diversos fatores. Entre eles, estão o impacto sobre a população de insetos não-transmissores; o tempo para a aquisição e a transmissão do vírus pelo vetor, ocorrendo tão rápido que o inseticida não mata o inseto a tempo de evitar a transmissão, o que é verdadeiro mesmo para inseticidas sistêmicos e o rápido desenvolvimento de resistência do vetor ao ingrediente ativo, talvez o maior dos problemas. Dessa forma, o controle do PVY deve ser realizado por meio da combinação dos diferentes métodos disponíveis, o qual deve ser escolhido, entre outros fatores, considerando a

questão econômica (Döring et al., 2007). Já Vetten et al. (1983) afirmam que o mais eficiente método de controle se baseia no uso de batatas-sementes sadias.

Uma ferramenta auxiliar visando à obtenção de material propagativo saudável é a cultura de meristemas, considerando que células da camada superior do meristema apresentam baixa infecção viral; esta é retirada e regenerada dando origem a plantas sadias. Para aprimorar a eficiência desta técnica, pode-se utilizar um tratamento auxiliar baseado na termoterapia ou, como mais recentemente vem sendo preconizado, a crioterapia. O princípio da termoterapia fundamenta-se na inativação térmica de vírus, enquanto a crioterapia consiste na morte de células com vacúolos grandes e mais água, normalmente infectadas por vírus, enquanto células menores com citoplasma mais denso, localizadas na camada superior do meristema, sobrevivem. Em estudos recentes realizados por Wang et al. (2006), visando avaliar a eficiência de diferentes protocolos de limpeza de brotos, verificou-se eficiência de 95% na obtenção de plantas livres de PVY com o uso da crioterapia seguida da cultura de meristemas.

Outra estratégia de controle que pode trazer grandes benefícios no controle desta enfermidade consiste no uso da resistência genética, por meio do desenvolvimento de novas cultivares que possuam alelos de resistência, os quais podem ser introgrididos tanto via melhoramento clássico, como por transgenia.

## **1.2 Resistência genética ao PVY**

Em batata, existem, basicamente, dois tipos de resistência ao PVY, a hipersensibilidade (HR) e a imunidade ou resistência extrema.

A HR consiste em um mecanismo de defesa que restringe o desenvolvimento do patógeno e pode ser ativada tanto na presença como na ausência do mesmo. Ocorre devido à morte celular programada, induzida pela

detecção da presença do patógeno, provocando um colapso do tecido vegetal (Svajson et al., 2008).

Segundo Ruiz de Galarreta et al. (1998), os genes que promovem a reação de hipersensibilidade, denominados Ny, estão amplamente distribuídos nas cultivares de batata, encontrados ainda em híbridos das espécies *S.chacoense*, *S.demissum* e *S.microdontum*. O primeiro gene de hipersensibilidade identificado, Ny<sub>tbr</sub>, foi mapeado no cromossomo IV da batata (Celebi-Toprak et al., 2002).

Entretanto, a hipersensibilidade pode não ser efetiva para restringir o desenvolvimento do PVY. A resposta de plantas hipersensíveis ao PVY depende do isolado e pode variar desde uma reação local até uma infecção sistêmica em folhas (Valkonen et al., 1996), apresenta expressividade média e não evita a ocorrência de plantas doentes no campo (Ross, 1986). Por outro lado, os genes Ry controlam um tipo de resistência extrema, a qual proporciona um nível de proteção extremamente alto a todas as estirpes de PVY, mesmo na forma simplex (Ryryryry) (Bradshaw, 1994, Flis et al., 2005, Szajko et al., 2008)).

Segundo Brigneti et al. (1997), as plantas portadoras dos alelos Ry, quando submetidas ao PVY, não desenvolvem sintomas visíveis e o acúmulo de vírus não pode ser detectado pelo teste Elisa ou hibridação de RNA. Tal resistência é ativada no protoplasto, sugerindo um mecanismo que envolve a supressão da replicação do vírus ou sua desestabilização.

Três genes Ry foram localizados via mapeamento molecular dos cromossomos da batata. O gene Ry<sub>sto</sub>, derivado de *Solanum stoloniferum* e Ry<sub>adg</sub> de *S. tuberosum* ssp. *Andigena*, foram mapeados no cromossomo XII (Flis et al., 2005; Song et al., 2005) e XI da batata (Hämäläinen et al., 1997), respectivamente. Por outro lado, o gene Ry<sub>Chc</sub>, derivado de *S. chacoense* foi mapeado na extremidade final do cromossomo IX (Sato et al., 2006).

Poucos programas de melhoramento são encontrados na literatura visando obter novas cultivares portadoras dos alelos Ry. Pode ser citado, mais recentemente, um esquema de melhoramento visando à resistência combinada à queima, ao nematóide e ao PVY, utilizando marcadores moleculares associados aos genes Ry, proposto por Solomon-Blackburn & Bradshaw (2007).

Os trabalhos direcionados à resistência ao PVY do programa de melhoramento de batata da Universidade Federal de Lavras tiveram início com o trabalho de Silva (1999). Visando obter genótipos imunes ao PVX e PVY, este autor realizou cruzamentos biparentais entre clones portadores dos alelos Rx1 e Ry<sub>adg</sub> na forma simplex, provenientes do Centro Internacional de La Papa (CIP), no Peru, obtendo famílias clonais que foram avaliadas quanto ao seu desempenho agrônomo e resistência às viroses, por meio de inoculação mecânica e do teste sorológico DAS-Elisa. Dessa forma, foi possível identificar e selecionar clones imunes aos vírus X e Y, com bom desempenho agrônomo e boa qualidade para processamento.

De forma semelhante, Gadum (2003) realizou cruzamentos testes entre clones imunes ao PVY e a 'Chiquita', uma cultivar suscetível (ryryryry), avaliando a resistência, a constituição genética e o desempenho agrônomo dos clones gerados. Entretanto, neste caso, a inoculação dos clones de batata em tomateiro se mostrou ineficaz na determinação da imunidade

Um problema grave para identificar plantas infectadas por PVY tem sido a ocorrência de infecções latentes, isto é, a dificuldade em reconhecer a infecção em algumas cultivares e a confiabilidade do teste utilizado para a verificação da reação das plantas aos vírus.

Procurando desenvolver um marcador para o alelo Ry<sub>adj</sub>, Kasai et al. (2000) desenvolveram um par de *primers*, designado de RYSC3, que amplificam um fragmento de DNA (321 pb) dentro do gene Ry<sub>adj</sub>. Estes marcadores foram

testados utilizando-se 103 clones de batata e cultivares com grande diversidade genética, mostrando eficiência de 100% na detecção do referido alelo.

Ribeiro (2006), com o objetivo de identificar clones de batata imunes ao PVY, com constituição genética duplex para o alelo Ry (RyRyryry), utilizou o marcador SCAR RYSC3 para avaliar clones pertencentes a famílias originárias do cruzamento teste entre clones comprovadamente imunes com uma cultivar susceptível (ryryryryr). Dessa forma, foi possível identificar genótipos com constituição duplex e comprovar a eficiência do marcador SCAR.

Trabalhos recentes têm descrito a obtenção de plantas transgênicas resistentes ao PVY. Shubert et al. (2004) avaliaram plantas transformadas pela inserção do gene NIB retirado de um isolado de PVY<sup>N</sup> via *Agrobacterium tumefaciens*. Tais plantas passaram a apresentar alto nível de resistência ao PVY e, após teste de campo, não se verificou efeito sobre a população de afídeos, nem eventos de recombinações, em RNA entre o transgene e o vírus inoculado. Outro trabalho de transformação foi realizado por Missiou et al. (2004). Plantas transgênicas com alto nível de resistência às diferentes estirpes de PVY foram obtidas após inserção de um segmento codificador de uma molécula de RNA relacionada à produção de uma proteína da capa do vírus altamente conservada.

### **1.3 Vírus X da batata (PVX - *Potato virus X*)**

O *Potato virus X*, ou PVX, membro tipo do gênero *Potexvirus*, apresenta partículas alongadas e flexuosas contendo cerca de 6% de ácido nucléico e 94% de proteína, com tamanho de 470-480 nm de comprimento por 13 nm de diâmetro. Apresenta genoma constituído por um RNA diretamente traduzível (+ssRNA), com 6.435 nucleotídeos organizados em 5 ORFs, enquanto a capa protéica é formada por cerca de 1300 subunidades idênticas de proteína (Silva, 2003 e Karpova et al., 2006, Avesani et al., 2007).

Este vírus tem sido constantemente usado como modelo para estudo de diversos aspectos da infecção por vírus em plantas, apresentando características favoráveis para aplicações biotecnológicas. Alguns dos caracteres que tornam o PVX um modelo interessante para estudo são o tamanho relativamente pequeno do RNA, único e funcionalmente monocistrônico e o seu alto nível de replicação em plantas (Batten, 2003).

O PVX é de ocorrência freqüente em várias plantas cultivadas como batata, tomate e tabaco (Kagiwuada, 2005). Apresenta diversas variantes genéticas, que podem ser diferenciados pelos sintomas provocados em plantas de fumo, por serologia, pela sua infectividade em diferentes variedades de batata e também pelo seu ponto de inativação térmica (Berks, 1970).

Apesar de o PVX nunca ter sido associado a perdas significativas na cultura da batata, este fato não significa que ele não possa causar perdas, mas sim que ele se encontra normalmente ausente ou em incidências baixas (Daniels, 1995; Figueira, 1995; Silva, 2003). Apesar disso, sabe-se que as cultivares de batata normalmente plantadas no Brasil são suscetíveis ao PVX e que plantas infectadas apresentam diminuição do número de tubérculos e perdas na produtividade (Silva, 2003; Figueira, 1999).

Nas condições brasileiras, o PVX não induz sintomas (Ávila, 1987), porém, eventualmente, pode induzir mosqueamento difuso dos folíolos, mosaico e redução do tamanho dos folíolos (Mizubuti, 1981). Sua transmissão se dá por meio de inoculação mecânica e pelo contato entre plantas. Por outro lado, quando ocorre infecção conjunta com outro vírus, como o PVY, a combinação entre eles provoca sintomas severos de mosaico e algumas cultivares podem apresentar rugosidade (Hooker, 1981).

Segundo Cockerham (1970), as estirpes de PVX podem ser classificadas em quatro grupos, de acordo com sua virulência aos genes de hipersensibilidade e imunidade. As estirpes do grupo 1 caracterizam-se por induzirem anéis verde-

claros na superfície das folhas de fumo (*Nicotiana tabacum*), seguidos por mosqueamento verde-escuro e verde-claro, ocorrendo associadas, principalmente, às estirpes do grupo 3. As do grupo 2 são encontradas ocasionalmente, induzindo sintomas modificados em experimentos de enxertia. O grupo 3 compreende as estirpes que ocorrem mais freqüentemente, causam mosqueamento claro nas folhas de fumo e, em genótipos de batata portadores do gene Nx, induzem lesões necróticas nas folhas após a infecção das células. Finalmente, as do grupo 4 não ativam os genes N, podendo infectar plantas com genes Nx e Nb.

#### **1.4 Resistência genética ao PVX**

A resistência ao PVX, da mesma forma como observado para o PVY, é baseada, principalmente, na hipersensibilidade, conferida pelos genes Nx e Nb, e pela imunidade ou resistência extrema, proporcionada pelos genes da série Rx. Apesar de algumas cultivares apresentarem níveis elevados de resistência à infecção, é necessário que ambos os pais em cruzamento apresentem níveis elevados de resistência, tendo em vista que este tipo de resistência é controlado por genes menores, sendo menos interessante para os trabalhos de melhoramento (Silva, 2003). Por outro lado, os genes de hipersensibilidade específicos, como o Nb, o Nx e os genes da série Rx, que conferem imunidade ao vírus PVX, apresentam herança monogênica, dominante e de alta herdabilidade (Mendoza, 1994). O gene Nb confere resistência contra as estirpes do grupo 1 e 2, enquanto o gene Nx confere resistência contra as estirpes dos grupos 1 e 3, não as estirpes do grupo 4, que são controladas pelo alelo Rx.

Os genes Rx vêm sendo identificados em acessos de *S.tuberosum* ssp. *andigena* (Schultz & Raleigh, 1933 citados por Ross, 1986; Cockerham, 1970) e em *S. acaule* (Ross, 1986), recebendo a denominação de Rx1 e Rx2, respectivamente e têm sido empregados em programas de melhoramento. Os

genes Rx1 e Rx2 foram mapeados nos cromossomos XII e V, respectivamente, enquanto o gene para hipersensibilidade Nb foi mapeado no cromossomo V, junto com o Rx2 (Gebhardt & Valkonen, 2001).

Bendahmane et al. (1997), a partir de uma progênie proveniente do cruzamento entre as cultivares Huinkel (suscetível) e Cara (resistente) e do uso de marcadores RFLP, mapearam o gene Rx1 no cromossomo 12. Posteriormente, pelo emprego de 728 combinações de *primers* AFLP, identificaram marcadores dentro do gene e outros que o flanqueiam. Parte deles foi convertida em oito marcadores CAPS, recomendados para seleção assistida visando à introgressão deste gene. Posteriormente, Gebhart et al. (2007), visando à seleção de híbridos F<sub>1</sub> quanto à resistência combinada a múltiplas enfermidades, aplicaram o marcador CAPS formado pela combinação do par de *primers* CP60 e a enzima de restrição DdeI, obtendo sucesso com a seleção.

Silva (2003) realizou inoculações com onze isolados do vírus X em 48 clones de batata, provenientes de cruzamentos biparentais entre clones imunes aos vírus X e Y, obtidos por Silva (1999) e observou um comportamento diferenciado da reação dos clones de batata aos diferentes isolados. Cinco isolados foram mais agressivos, de modo que foram considerados os mais indicados para testes de resistência ao vírus X e 21 dos clones se comportaram como imunes. Isso demonstra a importância de se submeter os genótipos à inoculação com diferentes isolados para comprovar a resistência dos clones de batata ao PVX.

Diversos estudos vêm sendo executados em outras espécies vegetais. De Jong et al. (1997) mapearam o gene Nb em uma população de *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon pennelli*, sendo localizado no cromossomo 5. Outros trabalhos envolvendo transformação genética de plantas visando ao silenciamento genético foram conduzidos por Angell & Baulcombe (1997),

Farnham & Baulcombe (2006) e Takahashi et al. (2006) em *Nicotiana* sp e por Cai et al. (2006) em *Arabidopsis thaliana*.

### **1.5 Pinta-preta (*Alternaria solani*)**

A pinta-preta, doença causada pelo fungo *Alternaria solani* Sorauer, foi relatada pela primeira vez por Ellis & Martin, em 1913 (Fancelli, 1981) e representa uma das mais importantes e freqüentes doenças fúngicas da batateira. Favorecida por altas temperaturas e umidade, consiste em um dos fatores limitantes para produção de batata durante o período de verão, sendo considerada uma das mais destrutivas doenças foliares, em diversas regiões produtoras de batata, inclusive no Brasil (Reifschneider et al., 1984 Pelletier & Fry, 1989; Shtienberg et al., 1990; Christ, 1991; Van der Waals et al., 2003, Oliveira, 2007).

Segundo Steven (1981), esta doença é capaz de afetar toda a parte aérea da planta, pecíolos e caule. Os sintomas iniciam-se nas folhas mais baixas e velhas, onde surgem pequenas manchas escuras (de 1 a 2mm). Posteriormente, estas crescem, adquirindo formato ovóide, delimitado pelas nervuras das folhas, de coloração escura e com zonas concêntricas. O tecido entre e ao redor das lesões apresenta-se normalmente clorótico. Com relação ao aumento da intensidade da doença no campo, este ocorre tanto pelo surgimento de novas lesões como pela expansão das mais velhas, que podem vir a coalescer (Souza - Dias, 1997).

Hooker (1991) descreve *Alternaria solani* como um fungo imperfeito que se caracteriza por apresentar conídios isolados, com comprimento entre 150 a 300  $\mu\text{m}$  e espessura entre 15 a 19  $\mu\text{m}$ , podendo ser retos ou sinuosos, com corpo oblongo ou elipsoidal, sempre afinando em direção ao bico. Normalmente, apresentam coloração parda ou ouro-claro médio e septos transversais que variam entre 9 e 11  $\mu\text{m}$ , com pouco ou nenhum septo longitudinal; possuem bico

de comprimento idêntico ou superior ao corpo do conídio, medindo, geralmente, de 2,5 a 5,0  $\mu\text{m}$  de espessura, diminuindo gradualmente, podendo ser, algumas vezes, ramificados.

A incidência de *Alternaria solani* em batata é variável em função de fatores climáticos, tais como temperatura, umidade relativa, fotoperíodo e formação de orvalho. Bambawale & Bedi (1982) verificaram que umidade relativa acima de 80%, temperaturas entre 15° e 30°C, fotoperíodos mais curtos e umidade na forma de orvalho proporcionaram desenvolvimento mais rápido da doença.

Esta doença é de difícil controle porque pode ser amplamente disseminada pelo vento a curtas distâncias ou a longas distâncias, associada à batata-semente, apresentando, ainda, produção elevada de esporos, tendo em vista seu ciclo curto (Strandberg, 1992). Além disso, este patógeno pode sobreviver de um ano para o outro, em restos de cultura, no solo, em tubérculos e em outras solanáceas hospedeira nativas (Juliatti, 2001), existindo relatos de possibilidade de sobrevivência de, no mínimo, 5 a 8 meses em solos com matéria orgânica em decomposição (Rotem, 1968).

Até o presente momento, a aplicação de fungicidas é a principal prática de controle adotada no mundo (Stevenson, 1994; Gent & Schwartz, 2003) e trabalhos têm sido realizados visando estudar sua eficiência e efeitos sobre o patógeno. Pache et al. (2004) procuraram determinar a eficiência do fungicida QoI, encontrando diferenças de respostas em relação aos isolados. Em outra pesquisa realizada por Shtienberg et al. (1995), foi estudada a eficiência da aplicação de fungicidas na presença de plantas resistentes, não verificando diferenças significativas quanto ao número de aplicações, demonstrando a eficiência da resistência genética.

No Brasil, os fungicidas são aplicados periodicamente, sendo esta prática responsável por mais de 10% do custo total da produção (Reifschneider

et al., 1989). Além disso, têm sido relatadas perdas na eficiência de diversos fungidas (Holm et al., 2003; Pasche et al., 2004).

Em vista do discutido, o uso de cultivares resistentes se torna a mais promissora estratégia para o manejo da pinta-preta. No Brasil, entretanto, todas as variedades cultivadas atualmente são suscetíveis, surgindo a necessidade do desenvolvimento de variedades nacionais com bons níveis de resistência. Paralelamente, o entendimento da diversidade genética presente em populações de *Alternaria solani* poderia auxiliar no desenvolvimento de estratégias de controle, seleção de cultivares resistentes e identificação de novas fontes de resistência.

Com o objetivo de avaliar a diversidade genética entre 60 isolados de *Alternaria solani* coletados em diferentes regiões produtoras de batata e tomate, Oliveira (2007) avaliou diferentes características das colônias, como diâmetro, velocidade de crescimento micelial e taxa de esporulação, sendo encontrada ampla variabilidade para os caracteres avaliados. Os mesmos isolados foram submetidos à análise com marcadores moleculares e agrupados de acordo com as estimativas de similaridade genética.

### **1.6 Resistência genética à pinta-preta**

O conhecimento da herança da resistência à pinta-preta é fundamental para que o melhoramento seja realizado de forma rápida e efetiva, visando à obtenção de clones com níveis elevados de resistência.

Durante muito tempo, a resistência à pinta-preta foi associada ao ciclo vegetativo dos genótipos, de forma que plantas mais precoces seriam mais suscetíveis que as mais tardias. Porém, esta correlação entre resistência e ciclo ainda não foi bem elucidada. Sabe-se que os sintomas ocorrem, principalmente, em tecidos mais velhos ou fisiologicamente debilitados, enquanto as folhas superiores, normalmente, permanecem sadias por mais tempo (Martins, 1995).

Segundo Johanson & Thurston (1990), a ausência de sintomas em folhas mais novas não se deve à inexistência do fungo sobre a mesma, mas sim a mecanismos fisiológicos que inibem o desenvolvimento do patógeno. Os autores concluíram que a resistência à pinta-preta seria uma característica determinada pelo ciclo vegetativo, não consistindo numa resistência genética verdadeira.

De forma oposta, Christ et al. (1991), trabalhando com cultivares tetraplóides, observaram que as mais tardias foram mais resistentes que as mais precoces, porém, não foi mais resistente que as de ciclo médio. Identificaram também materiais mais precoces com certo nível de resistência, indicando a existência de resistência genética verdadeira.

De forma semelhante, Holley et al. (1983), estudando três cultivares com o mesmo ciclo vegetativo, verificaram variações significativas nas respostas à infecção por pinta-preta e concluíram que esta deve ser atribuída à resistência genética.

Estimativas de correlações entre a resistência a pinta-preta e o ciclo vegetativo foram estimados por Herriot et al. (1990), os quais verificaram um coeficiente de -0,21 que, apesar de baixo, não elimina uma tendência de associação, enquanto Martins & Pinto (1996) estimaram coeficientes de -0,38 e de -0,44, aos 75 e 90 dias, respectivamente. Simon (2005) obteve uma correlação entre área abaixo da curva de progresso da doença e o ciclo de -0,52, entretanto, este autor identificou clones com ciclo inferior a 100 dias após emergência com alto nível de resistência, afirmando ser possível o desenvolvimento de genótipos com maturação intermediária e nível de resistência semelhante aos dos tardios.

Apesar de diferentes conceitos de resistência à pinta-preta serem citados na literatura, entre eles resistência redutora da taxa de infecção (Christ & Hayney, 2001; Holley et al., 1983; Martins, 1995), resistência parcial ou

quantitativa (Boiteux et al., 1995) e resistência geral (Shtienberg & Fry, 1990), todos convergem para um caráter predominantemente quantitativo.

Estimativas de herdabilidade no sentido amplo foram obtidas por Martins (1995) a partir da análise de 540 clones originários de cruzamentos dialélicos e que variaram entre 0,31 a 0,43, enquanto Pinto et al. (2002) obtiveram estimativa de 0,89 na avaliação de 192 clones e Simon (2005) estimou a herdabilidade no sentido amplo para a área abaixo da curva de progresso da doença de 0,76. Essas estimativas indicam que, embora a resistência para a pinta-preta seja considerada um caráter quantitativo, provavelmente, ela é controlada por um número não elevado de genes.

Com o objetivo de obter informações a respeito do controle genético da resistência à pinta-preta e identificar clones com boa capacidade de combinação, Martins & Pinto (1996) realizaram uma análise dialélica envolvendo oito genótipos de batata, avaliados para resistência à pinta-preta em condições de campo e caracteres de produção e peso específico. A cultivar Chiquita foi a única a apresentar altos valores de capacidade geral de combinação para todos os caracteres avaliados, o que evidencia um bom potencial para uso em cruzamentos.

Devido à dificuldade em classificar os genótipos quanto à resistência à pinta-preta, diversos autores procuraram quantificar os diferentes componentes que conferem resistência a um dado genótipo com o objetivo de facilitar a classificação em classes e compreender possíveis mecanismos relacionados à resistência (Sillero & Rubiales, 2002). Componentes como o período de incubação, número de lesões, taxa de expansão de lesão, produção de esporo por área de lesão, severidade de doença e infecção (Pelletier & Fry, 1989, 1990; Christ, 1991; Christ & Haynes, 2001) foram bastante estudados, porém, nenhum destes estudos detalhou o efeito da idade sobre estes componentes.

Procurando compreender este efeito, Rodriguez et al. (2006) estudaram o efeito da posição de folha sobre seis componentes de resistência em quatro cultivares de batata com diferentes níveis de resistência à pinta-preta. As cultivares Aracy (resistente), Delta (moderadamente resistente), Desirée (suscetível) e Bintje (suscetível) foram inoculadas no início da fase de florescimento, em casa de vegetação, e avaliadas quanto aos componentes citados, considerando separadamente as folhas do terço inferior, médio e superior. Os autores observaram que as avaliações de folhas presentes no terço médio são muito satisfatórias, principalmente na seleção precoce de genótipos. Entretanto, a avaliação quanto ao efeito da idade para cada um dos componentes de resistência não foi conclusiva, sendo a melhor diferenciação entre os genótipos obtida quando considerados todos os componentes. Entretanto, trabalhos semelhantes realizados por Nunes (1983) e Reifschneider et al.(1981), em experimentos de campo, determinaram o número e o tamanho de lesões como uns dos melhores caracteres para quantificar os diferentes níveis de resistência.

De forma geral, a avaliação para resistência à pinta-preta é realizada em campo, onde as plantas são submetidas tanto à infecção natural quanto à inoculação por suspensão de esporos (Nachmias et al., 1988). Entretanto, esta última é limitada pela dificuldade de se produzir inóculo suficiente para inoculação quando há um elevado número de genótipos a serem avaliados. Outra possibilidade consiste na avaliação em casa de vegetação, utilizando suspensão de conídios na inoculação.

Bussey & Stevenson (1991) avaliaram dez cultivares de batata quanto à resistência à pinta-preta, observando alta correlação entre os dados obtidos em campo e em casa de vegetação. De forma semelhante, Stewart & Bradshaw (1993) observaram que os dados obtidos em casa de vegetação concordaram com os dados de campo na avaliação de 40 genótipos de batata.

Quando se considera a avaliação em campo, é indiscutível a eficiência da inoculação artificial com suspensão de conídios. Entretanto, é possível obter alta eficiência na discriminação de genótipos utilizando folhas e ramos de batata previamente infectados que, depois de coletados, são desidratados à sombra e macerados, para distribuição sobre as parcelas que serão avaliadas, como descrito por Reifschneider et al. (1986).

Simon (2005), com o objetivo de identificar genótipos que associem alto nível de resistência à pinta-preta e tolerância ao calor, avaliou diferentes clones de batata em campo, utilizando inoculação com ramos desidratados infectados. Como resultado, observou vários clones com alto nível de resistência à pinta-preta e desempenho satisfatório a temperaturas altas, tendo três deles se destacado como resistentes a ambos os fatores e responsivos sob temperaturas amenas.

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELL, S. M.; BAULCOMBE, D. C. Consistent gene silencing in transgenic plants expressing a replicating potato virus X RNA. **The EMBO Journal**, Oxford, v. 16 n. 1-2, p. 3675–3684, June 1997.

AVESANI, L.; MARCONI, G.; MORANDINI, F.; ALBERTINI, E.; BRUSCHETTA, M.; BORTESI, L.; PEZZOTTI, M.; PORCEDDU, A. Stability of Potato virus X expression vectors is related to insert size: implications for replication models and risk assessment. **Transgenic Research**, Dordrecht, v. 16, n. 5, p. 587–597, Oct. 2007.

ÁVILA, A. C. Produção de sementes. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Produção de batata**. Brasília: Linha Gráfica, 1987. p. 103-117.

BAMBAWALE, O. M.; BEDI, P. S. Epidemiology of early blight of potato in the Punjab. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 35, n. 4, p.5 74-582, 1982.

BENDAHMANE, A.; KANYUKA, K.; BAULCOMBE, D.C. High-resolution genetical and physical mapping of the Rx gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 1-2, p. 153-162, July 1997.

BATTEN, J. S.; YOSHINARI, S.; HEMENWAY, C. Potato virus X : a model system for virus replication, movement and gene expression. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 125–131, Mar. 2003.

BERKS, R. **Potato virus X**. Richmond: Commonwealth Mycological Institute/ Association of Applied Biologists, 1970. 4 p. (Descriptions of Plants Viruses, 4).

BERGERVOET, J. H. W.; PETERS, J.; VAN BECKHOVEN, J. R. C. M.; VAN DEN BOVENKAMP, G. W.; JACOBSON, J. W.; VAN DER WOLF, J. M. Multiplex microsphere immuno-detection of potato vírus Y, X and PLRV. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 149, n. 1, p. 63-68, Apr. 2008.

BLANCO-URGOITI, B.; SANCHEZ, F.; DESAN ROMAN, C. P.; DOPAZO, J.; PONZ, F. Potato virus Y group C isolates are a homogeneous pathotype but

two different genetic strains. **Journal of General Virology**, Reading, v. 79, n. 8, p. 2037-2042, Aug. 1998.

BOITEUX, L. S.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; FONSECA, M. E. N.; BUSO, J. A. Search for sources of early blight (*Alternaria solani*) field resistance not associated with vegetative late maturity in tetraploid potato germplasm. **Euphytica**, Wageningen, v. 83, n. 1, p. 63-70, 1995.

BOONHAM, N.; WALSH, K.; SMITH, P.; MADAGAN, K.; GRAHAM, I.; BARKER, I. Detection of potato viruses using microarray technology : towards a generic method for plant viral disease diagnosis. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 108, n. 2, p. 181–187, Mar. 2003.

BRIGNETI, G.; GARCIA-MAS, J.; BAULCOMBE, D. C. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene Rysto in potato. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 2, p. 198–203, Feb. 1997.

BRUNT, A. A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M. J.; GIBS, A. J.; WATSON, L. **Viruses of plants descriptions and lists from de VIDE database**. Wallingford: CAB International, 1996.1484 p.

BUSSEY, M. J.; STEVENSON, W. R. A leaf disk assay for detection resistance to early blight caused by *Alternaria solani* in juvenile potato plantlets. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 4, p. 385-390, Apr. 1991.

CAI, X. Z., XU, Q. F., WANG, C. C. , ZHENG, Z. Development of a virus-induced gene-silencing system for functional analysis of the RPS2-dependent resistance signalling pathways in *Arabidopsis*. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 62, n. 1-2, p. 223–232, Sept. 2006.

CELEBI –TOPRAK, F.; SLACK, S. A.; JAHN, M. M. A new gene, Ny tbr, for hypersensitivity to potato virus Y from *Solanum tuberosum* maps to chromosome IV. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 4, p. 669–674, Mar. 2002.

CHRIST, B. J. Effect of disease assessment method on ranking potato cultivars for resistance to early blight. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 4, p. 353-356, Apr. 1991.

CHRIST, B. J.; HAYNES, K. G. General combining ability for early blight resistance from open pollinated 4x±2x early blight resistant potatoes. **America Potato Journal**, Orono, v. 74, n. 6, p. 422-423, Nov./Dec. 1970.

COCKERHAM, G. Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y. **Heredity**, Oxford, v. 25, p. 309–348, 1970.

DANIELS, J. Viroses da batata e suas implicações na produção de batata-semente no Rio Grande do Sul. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 21, n. 3-4, p. 269-270, 1995.

DE BOKX, J. A. Potato virus Y. In: HOOKER, W. J. (Ed.). **Compendium of potato diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1981. p. 70-71.

DE BOKX, J. A.; PIRON, P. G. M. Effect of temperature on symptom expression and relative virus concentration in potato plants infected with potato virus Y<sup>N</sup> and Y<sup>O</sup>. **Potato Research**, Wageningen, v. 20, n. 3, p. 207-213, 1977.

DE BOKX, J. A.; HUTTINGA, H. **Potato virus Y**. Richmond: Commonwealth Mycological Institute Association of Applied/ Asso. Biology, 1981.

DÖRING, T. F.; SHRADER, J.; SCHÜLER, C. Representation of Potato Virus Y Control Strategies in Current and Past Extension Literature. **Potato Research**, Wageningen, v. 49, n. 4, p. 225-239, 2006.

EDWARDSON, J. R. Some properties of potato virus Y group. **Florida Agricultural Experiment Station Monograph**, Orlando, v. 4, p. 398, 1974.

ELLIS, R.; STACE-SMITH, E.; DE VILLIERS, D. **Plant Disease**, v. 81, p. 481-484, 1997.

FANCELLI, M. I. **Comparação patogênica, cultural, serológica e eletroforética entre isolados de Alternaria solani do tomate e da batata e variabilidade patogênica de A. solani F. sp lycopersici N. F.** 1991. 80 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FARNHAM, G.; BAULCOMBE, D. C. Artificial evolution extends the spectrum of viruses that are targeted by a disease-resistance gene from potato.

**Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 49, Dec. 2006.

FIGUEIRA, A. R. Viroses da batata: situação atual e perspectivas futuras. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 86-96, 1999.

FLIS, B.; HENNIG, J.; STRZELCZYK-ÔYTA, D.; GEBHARDT, C.; MARCZEWSKI, W. The Ry-f gene from *Solanum stoloniferum* for extreme stolon resistant to Potato virus Y maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122. <sup>718</sup> in PVY resistant potato cultivars. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 15, n. 1, p. 95–101, Jan. 2005.

GADUM, J. **Desempenho agrônômico e reação de clones de batata (*Solanum tuberosum* L.) ao PVY**. 2001. 39 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GEBHARDT, C.; VALKONEN, J. P.T. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. **Annual Reviews Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p.79 – 102, 2001.

GEBHARDT, C.; BELLIN, D.; HENSELEWSKI, H.; LEHMANN, W.; SCHWARZSCHER, J.; VALKONEN, J. P. T. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 8, p. 1458–1464, May 2006.

GENT, D. H.; SCHWARTZ, H. E. Validation of potato early blight disease forecast models for Colorado using various sources of meteorological data. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 1, p. 78–84, Jan. 2003.

HÄMÄLÄINEN, J. H.; WATANABE, K. N.; VALKONEN, J. P. T.; ARIHARA, A.; PLAISTED, R. L.; PEHU, E.; MILLER, L.; SLACK, S. A. Mapping and marker assisted selection for a gene for extreme resistance to potato virus Y. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 2, p. 192–197 Feb. 1997.

HE, C. Z.; MOLEN, T. A.; XIONG, X. Y.; BOITEAU, G.; NIE, X. Z. Cytochrome c oxidase mRNA as an internal control for detection of potato virus Y and potato leafroll virus from single aphids by a co-amplification RT-PCR assay. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 138, n. 1-2, p.152-159, Dec. 2006.

- HERRIOTT, A. B.; HAYNES, J. F. L.; SHOEMAKER, P. B. Inheritance of resistance to early blight disease in tetraploid x diploid crosses of potatoes. **Hortscience**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 224–226, Feb. 1990.
- HOLLEY, J. D.; HALL, R.; HOFSTRA, G. Effect of cultivar resistance, leaf wetness and temperature on rate of development of potato early blight. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 65, n. 1, p. 179–184, Mar. 1985.
- HOLM, A.L.; RIVERA, V. V.; SECOR, G. A.; GUDMESTAD, N. C. Temporal sensitivity of *Alternaria solani* to foliar fungicides. **America Journal Potato Research**, Orono, v. 80, n. 1, p. 33–40, Jan./Feb. 2003.
- HOOKER, W. J. **Compendium of potato diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1981. 125 p.
- DE JONG, W.; FORSYTH, A.; LEISTER, D.; GEBHARDT, C.; BAULCOMBE, D. C. A potato hypersensitive resistance gene against potato virus X maps to a resistance gene cluster on chromosome 5. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 1-2, p. 246-252, July 1997.
- JELLIS, G. J. Multiple resistance to diseases and pests in potatoes. **Euphytica**, Wageningen, v. 63, n. 1/2, p. 51-58, 1992.
- JULIATTI, F. C. Manejo Integrado de fungos fitopatogênicos. In: SILVA, L. H. C. P. da; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. de A. (Ed.). **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. 345 p.
- KAGIWADA, S.; YAMAJI, Y.; KOMATSU, K.; TAKAHASHI, S.; MORI, T.; HIRATA, H.; SUZUKI, M.; UGAKI, M.; NAMBA, M. A single amino acid residue of RNA-dependent RNA polymerase in the Potato virus X genome determines the symptoms in Nicotiana plants. **Virus Research**, Amsterdam, v. 110, n. 1-2, p.177–182, June, 2005.
- KARPOVA, O. V.; ARKHIPENKO, M. V.; ZAYAKINA, O. V.; NIKITIN, N. A.; KISELYOVA, O. I.; KOZLOVSKY, S. V.; RODIONOVA, N. P.; ATABEKOV J. G. Regulation of RNA Translation in Potato Virus X RNA–Coa Protein Complexes: The Key Role of the N-Terminal Segment of the Protein. **Molecular Biology**, New York, v. 40, n. 4, p. 628–634, July/Aug. 2006.

KASAI, K.; MORIKAWA, Y.; SORRI, V. A.; VALKONEN, J. P. T.; GEBHARDT, C.; WATANABE. : Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ry(adg) based on a common feature of plant disease resistance genes. **Genome**, Ottawa, v. 43, n. 1, p. 1-8, Feb. 2000.

KLERKS, M. M.; LEONE, G. O. M.; VERBEEK, M.; VAN DEN HEUVEL, J.; 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 Virology Methods**, Amsterdam, v. 93, n. 1-2, p. 115–125, Apr. 2001.

KOGOVSEK, P.; GOW, L.; POMPO-NOVAK, M.; GRUDEN, K.; FOSTER, G. D.; BOONHAM, N.; RAVNIKAR, M. Single-step RT real-time PCR for sensitive detection and discrimination of Potato vírus Y isolates. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 149, n. 1, p. 1-11, Apr. 2008.

JOHANSON, A.; THURSTON, H. D. The effect of cultivar maturity on the resistance of early blight by *Alternaria solani*. **American Potato Journal**, Orono, v. 67, n. 9, p. 615-623, Sept. 1990.

LE ROMANCER, M.; NEDELLEC, M. Effect of plant genotype, virus isolate and temperature on the expression of the potato tuber necrotic ringspot disease (PTNRD). **Plant Pathology**, Oxford, v. 46, n. 1, p. 104-111, Feb. 1997.

LORENZEN, J.; NOLTE, P.; MARTIN, D.; PASCHE, J. S.; GUDMESTAD, N. C. NE-11 represents a new strain variant class of `Potato virus Y. **Archives of Virology**, Wien, v. 153, n. 3, p. 517-525, 2008.

LORENZEN, J. H.; MEACHAM, T.; BERGER, P. H.; SHIEL, P. J.; CROSSLIN, J. M.; HAMM, P. B.; KOPP, H. Whole genome characterization of Potato virus Y isolates collected in the USA and their comparison to isolates from Europe and Canada. **Archives Virology**, Wien, v. 151, n. 151, p. 1055-1074, 2006.

MARTINS, P. R.; PINTO, C. A. B. P. Capacidade de combinação de genótipos de batata para resistência a pinta-preta, produtividade e peso específico de tubérculos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 161-169, 1996.

MENDOZA, H. A. Development of potatoes with multiple resistance to abiotic stress. In: ZEHNDER, G. W.; POWELSON, M. L.; JANSSON, R. K.; RAMAN,

K. V.(Ed.). **Advances in potato pest: biology and management**. Lima: CIP, 1994. p. 627 – 642.

MISSIOU, A., KALANTIDIS, K., BOUTLA, A., TZORTZAKAKI, S., TABLER, M., TSAGRIS, M. Generation of transgenic potato plants highly resistant to Potato virus Y (PVY) through RNA silencing. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 14, n. 2, p. 185-197, Sept. 2004.

MIZUBUTI, A. Principais viroses da batateira sob condições de Brasil central. **Informe Agropecuario**, Belo Horizonte, v. 17, n. 76, p. 46-50, abr. 1981.

MORAES, F. H. R. **Caracterização de isolados do Vírus Y (“Potato Vírus Y”-PVY) provenientes de batata no Brasil**. Lavras: UFLA, 2003. 124 p.

NACHMIAS, A.; CALIGARI, P.D.S.; NURMBERG.P.L.; LAMBERT, E.S. The effects of *Alternaria solani* and *Verticilium dahlia* on potatoes growing in Israel. **Potato Research**, Wageningen, v. 31, n. 3, p. 443-450, Sept. 1988.

NUNES, M. A. L. **Parâmetros que expressam a resistência da batateira (*Solanum tuberosum* L.) a "Pinta Preta" (*Alternaria solani* (Ellis e Martins) Jones e Grout)**. 1983. 58 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

OLIVEIRA, M. S. **Diversidade entre isolados de *Alternaria solani*:avaliação morfológica, fisiológica e molecular**. 2007. 99 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PASCHE, J. S.; WHARAM, C. M.; GUDMESTAD, N. C. Shift in sensitivity of *Alternaria solani* in response to Q(o)I fungicides. **Plant Disease**, St. Paul, v. 88, n. 2, p.181–187, Feb. 2004.

PELLETIER, J. R.; FRY, W. E. Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: incubation period, lesion expansion rate, and spore production. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, n. 5, p. 511-517, May 1989.

PICHE, L. M.; SINGH, R. P.; NIE, X.; GUDMESTAD, N. C. Diversity among potato virus Y isolates obtained from potatoes grown in the United States. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 12, p. 1368 – 1375, Dec. 2004.

PINTO, C. A. B. P.; FARIA, C. A. de; LAMBERT, E. S. Potato clones resistance to early and late blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 189-196, June 2002.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; FURUMOTO, O.; FILGUEIRA, F. A. R. Illustrated key for the evaluation of early blight of potatoes. **Plant Protection Bulletin**, Rome, v. 32, n. 2, p. 91-94, 1984.

RIBEIRO, A. M. ; PINTO, C. A. B. P. ; ANDRADE, C. M. ; SANTOS, J. B; FIGUEIRA, A. R. SCAR marker for the selection of Ry-duplex potato clones immune to Potato Virus Y. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 6, n. 1, p. 1-8, Jan./Mar. 2006.

RIGOTTI, S.; GUGERLI, P. Rapid identification of potato virus Y strains by one-step triplex RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 140, n. 1-2, p. 90-97, Mar. 2007.

RODRIGUEZ, M. A. D.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; MATSUOKA, K.; MIZUBUTI, E. S. G. Components of Resistance to Early Blight in Four Potato Cultivars: Effect of Leaf Position. **Journal Phytopathology**, Oxford, v. 154, n. 4, p. 230-235, Apr. 2006.

ROLLAND, M.; GLAIS, L.; KERLAN, C.; JACQUOT, E. A multiple single nucleotide polymorphisms interrogations assay for reliable Potato virus Y group and variant characterization. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 147, n. 1, p. 108-117, Jan. 2008.

ROSS, H. **Potato breeding: problems and perspectives**. Berlin: Verlag Paul Parey, 1986. 132 p.

ROTEM, J. Thermoxerophytic properties of *Alternaria porri* f. sp. *Solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 58, n. 9, p. 1284-1287, Sept. 1968.

RUIZ DE GALARRETA, J. I.; CARRASCO, A.; SALAZAR, A.; BARRENA, I.; ITURRITXA, E.; MARQUINEZ, R.; LEGORBURU, F. J.; RITTER, E. Wild *Solanum* species as resistance sources against diverse pathogens of potato. **Potato Research**, Wageningen, v. 41, n. 1, p. 57-68, 1998.

SATO, M.; NISHIKAWA, K.; KOMURA, K.; KOSAKA, K. Potato virus Y resistance gene, Ry-chc, mapped to the distal end of potato chromosome 9. **Euphytica**, Wageningen, v. 149, n. 3, p. 367-372, June 2006.

SHTIENBERG, D. ; BLACHINSKY, D.; KREMER, Y.; BEN-HADOR, G.; DINOOR, A. Integration of genotype and age-related resistances to reduce fungicide use in management of alternaria diseases of cotton and potato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, n. 9, p. 1037-1043, Sept. 1995.

SHTIENBERG, D.; FRY, W. E. Quantitative analysis of host resistance, fungicide and weather effects on potato early and late blight using computer simulation models. **American Potato Journal**, Orono, v. 67, n. 5, p. 277-286, May 1990.

SILLERO, J. C.; RUBIALES, D. Histological characterization of resistance to *Uromyces viciae-fabae* in faba bean. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n. 3, p. 294–299, Mar. 2002.

SILVA, O. A. **Caracterização biológica e molecular de isolados do PVX (Potato virus X) do Brasil e triagem de clones de batata visando resistência a esse vírus.** 2003. Tese (Doutorado Genético e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, O. A. **Identificação de clones de batata imunes ao PVX e PVY, adaptados a região Sul de Minas Gerais.** 1999. Dissertação (Mestrado Genético e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SIMON, G. A. **Interação famílias por ambientes e seleção de clones de batata resistentes à pinta preta e tolerantes ao calor.** 2005. Tese (Doutorado em Genético e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SINGH, R. P.; NIE, X. Multiple virus and viroid detection and strain separation via multiplex reverse transcription—polymerasechainreaction. **Canadian Journal Plant Pathology**, Ottawa, v. 25, n. 2, p. 127–134, June 2003.

SOLOMON-BLACKBURN, R. M.; BRADSHAW, J. E. Resistance to Potato virus Y in a Multitrait Potato Breeding Scheme without Direct Selection in Each Generation. **Potato Research**, Wageningen, v. 50, n. 1, p. 87–95, 2007.

SONG, Y. S.; HEPTING, L.; SCHWEIZER, G.; HARTL, L.; WENZEL, G.; SCHWARZWSCHER, A. Mapping of extreme resistance to PVY (Ry sto) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 111, n. 5, p. 879–887, Sept. 2005.

SOUZA DIAS, J. A. C. de; IAMAUTI, M. T. Doenças da Batateira. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 137-164.

SOUZA-DIAS, J. A. C. de. Raças do vírus Y da batata (PVY) e a questão da variante NTN. **Batata Show**, Itapetininga, v. 1, n. 2. p. 16-21, jul. 2001.

SZAJKO, K.; CHRZANOWSKA, M.; WITEK, K.; STRZELCZYK-ÔYTA, D.; ZAGÓRSKA, H.; GEBHARDT, C.; HENNIG, J.; MARCZEWSKI, W. The novel gene Ny-1 on potato chromosome IX confers hypersensitive resistance to Potato virus Y and is an alternative to Ry genes in potato breeding for PVY resistance. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 116, n. 2, p. 297–303, Jan. 2008.

TAKAHASHI, S.; KOMATSU, K.; KAGIWADA, S.; OZEKI, J.; MORI, T.; HIRATA, H.; YAMAJI, Y.; UGAKI, M.; NAMBA, S. The efficiency of interference of Potato virus X infectio depends on the target gene. **Virus Research**, Amsterdam, v. 116, n. 1-2, p. 214–217, Mar. 2006.

VALKONEN, J. P.T.; WIEGMANN, K.; HÄMÄLÄINEN, J. H.; MARCZEWSKI W, WATANABE, K. N. Evidence for utility of the same PCR-based markers for selection of extreme resistance to Potato virus Y controlled by Ry sto of *Solanum stoloniferum* derived from diVerent sources. **Annals Applied Biology**, Oxford, v. 152, n. 1, p. 121-130, 2007.

VAN DER WAALS, J. E.; DENNER, F. D. N.; VAN RIJ, N.; KORSTEN, L. Evaluation of PLANT-plus, a decision support system for control of early blight on potatoes in South Africa. **Crop Protection**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 821–828, July 2003.

VETTEN, H. J.; EHLERS, U.; PAUL, H. L. Detection of potato viruses Y and A in tubers by enzyme linked immunosorbant assay after natural and artificial break of dormancy. **Phytopathologische Zeitschrift**, Hamburg, v. 108, n. 1, p. 41-53, 1983.

WANG, Q.; LIU, Y.; XIE, Y.; YOU, M. Cryotherapy of potato shoot tips for efficient elimination of Potato leafroll virus(PLRV) and Potato virus Y (PVY). **Potato Research**, Wageningen, v. 49, p.119-129, 2006.

## **CAPÍTULO 2**

### **SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA À PINTA-PRETA E AOS VÍRUS X E Y**

## RESUMO

NEDER, Diogo Gonçalves. Seleção de clones de batata com resistência múltipla à pinta-preta e aos vírus X e Y. In: \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2008. Cap. 2, 72 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

O objetivo do presente trabalho foi realizar a seleção de clones de batata com elevado desempenho agronômico e resistentes à pinta preta e aos vírus X e Y. Para isto, foram realizados 57 cruzamentos entre clones portadores dos alelos  $R_{y_{adg}}$  e  $R_{x1}$ , e a cultivar Chiquita, caracterizada como resistente à pinta preta. Na safra das águas de 2004, 57 famílias clonais foram avaliadas em campo e 331 clones selecionados considerando à aparência externa de tubérculos. Deste total de clones, avaliados em mais dois experimentos no verão de 2005, 180 foram selecionados por meio do marcador SCAR RYSC3 como portadores do alelo  $R_{y_{adg}}$ . Seguindo para uma nova avaliação de desempenho agronômico na safra de inverno de 2006 e resistência a pinta preta nas safras de verão de 2007 e 2008. Paralelamente foi utilizado um marcador CAPS visando à seleção de clones portadores do gene  $R_{x1}$ . Desta forma, combinando os resultados dos marcadores moleculares com os de campo, agrupados via índices de seleção, foi possível selecionar 20 clones de alto desempenho agronômico, resistente à pinta preta e portador do alelo  $R_{y_{adg}}$ . Devido a problemas apresentados pelo marcador CAPS, apenas sete destes foram analisados e um identificado como portador do alelo  $R_{x1}$ .

---

\* Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto – UFLA

## ABSTRACT

NEDER, Diogo Gonçalves. Selection of potato clones for multiple resistances to early blight, PVY and PVX. In: \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2008. Cap. 2, 69 p. Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras.

The purpose of this study was to select potato clones with high agronomic performance and resistant to early blight, *Potato Virus Y* (PVY) and *Potato Virus X* (PVX). Crossings were performed among progenitors carrying the  $Ry_{adg}$  and Rx1 alleles for resistance to PVY and PVX and cultivar Chiquita, which presents high levels of resistance to early blight (*Alternaria solani*). In the rainy season of 2004, 57 clonal families were evaluated in the field and 331 clones were selected based only on tuber appearance. These clones were field evaluated in two trials in the rainy season of 2005 and 180 clones were selected for  $Ry_{adg}$  allele using the SCAR marker designed RYSC3. Another agronomic evaluation was performed in the winter season of 2006 and early blight was evaluated in the rainy seasons of 2007 and 2008. Simultaneously a CAPS marker was used to select for the presence of Rx1 allele. Combining the results from these experiments we were able to select 20 clones presenting high agronomic performance, resistance to early blight and carrying the  $Ry_{adg}$  allele. The use of CAPS marker has practical difficulties due to production of poor amplification products to be digested with the DdeI enzyme and should be changed for another marker which shows more efficiency.

---

\* Major professor: César Augusto Brasil Pereira Pinto - UFLA

## 1 INTRODUÇÃO

São conhecidas mais de 100 doenças bióticas que afetam a cultura da batata, causadas por diferentes espécies de fungos, vírus e viróides, bactérias, nematóides e fitoplasma. Segundo Gebahardt & Valkonen (2001), a ação destes patógenos promove a redução anual da produção mundial de batata em um quarto do seu potencial, gerando uma perda estimada de 100 milhões de toneladas/ano.

No Brasil, dentre as diversas doenças que já foram relatadas, destacam-se, como as mais comuns, a pinta-preta (*Alternaria solani*), um dos principais fatores limitantes do cultivo de verão, podendo causar perdas consideráveis pela desfolha precoce das plantas; o vírus Y da batata (*Potato virus Y – PVY*), agente de uma das principais doenças viróticas da cultura e o vírus X (*Potato virus X – PVX*), cuja importância vem crescendo, especialmente pelo seu efeito sinérgico, quando na presença de outros vírus, aumentando drasticamente as perdas.

Estudos realizados para investigar a natureza da resistência genética a estas doenças demonstraram ser a resistência à pinta-preta predominantemente quantitativa (Christ & Hayney, 2001), contrastando com a resistência ao PVY e PVX basicamente monogênicas, conferidas por genes de hipersensibilidade, denominados Ny e Nx, e de imunidade ou resistência extrema, designados Ry e Rx, preferidos por conferir uma resistência mais efetiva e restringindo o desenvolvimento dos patógenos (Cockerham, 1970, Ross, 1986).

Três genes Ry foram localizados via mapeamento molecular dos cromossomos da batata. O gene  $Ry_{sto}$ , derivado de *Solanum stoloniferum* e  $Ry_{adg}$  de *S. tuberosum ssp. andigena* foram mapeados no cromossomo XII da batata (Flis et al., 2005; Song et al., 2005) e XI (Hämäläinen et al., 1997),

respectivamente. O gene  $Ry_{Chc}$ , derivado de *S. chacoense*, foi mapeado na extremidade final do cromossomo IX (Sato et al., 2006).

Os genes Rx foram identificados em acessos de *S. tuberosum* ssp *andigena* (Schultz & Raleigh, 1933, citados por Ross, 1986; Cockerham, 1970) e em *S. acaule* (Ross, 1986) e receberam as denominações de Rx1 e Rx2, respectivamente, tendo sido mapeados nos cromossomos XII e V (Gebhardt & Valkonen, 2001).

Trabalhos realizados no Brasil, com o objetivo de desenvolver genótipos resistentes à pinta-preta, foram realizados por Martins & Pinto (1996) que avaliaram genótipos provenientes de um cruzamento dialélico envolvendo oito genitores, identificando a cultivar Chiquita como a de mais alta capacidade geral de combinação. De forma semelhante, Simon (2005) avaliou diferentes clones de batata, selecionando genótipos que associam alto nível de resistência à pinta-preta e tolerância a calor.

Trabalhos direcionados à resistência aos vírus PVY e PVX foram realizados por Silva et al. (2000) que selecionaram clones imunes a esses vírus a partir de cruzamentos biparentais entre clones portadores dos alelos  $Rx_{adg}$  e  $Ry_{adg}$  na forma simplex. Gadum (2003) realizou cruzamentos testes entre clones imunes ao PVY e a cultivar Chiquita, uma cultivar suscetível (ryryryry) avaliando a resistência, a constituição genética e o desempenho agrônomico dos clones gerados. Entretanto, neste caso, a inoculação dos clones de batata em tomateiro se mostrou ineficaz na determinação da imunidade. Posteriormente, Ribeiro (2006), com o objetivo de selecionar clones duplex (Ryryryry) para o loco Ry, obteve sucesso utilizando, em vez de inoculações com PVY, o marcador SCAR RYSC3.

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de gerar famílias com variabilidade genética para resistência à pinta-preta e imunidade aos vírus X e Y

e selecionar clones com resistência a estas doenças, associada a um bom desempenho agronômico.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material experimental

A população base utilizada no presente estudo consistiu de 2.280 clones, provenientes de famílias obtidas de cruzamentos biparentais entre a cultivar Chiquita e 57 clones designados JUG. Estes genitores foram escolhidos pelo fato de a cultivar Chiquita apresentar alta capacidade geral de combinação para resistência à pinta-preta, produção e peso específico de tubérculos (Martins & Pinto, 1996). Já os clones JUG descendem de clones portadores dos genes  $Ry_{adg}$  e  $Rx1$ , obtidos por Gadum (2003).

### 2.2 Avaliação agronômica

Quatro experimentos foram conduzidos na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. O primeiro deles foi realizado na safra de inverno de 2004, para a avaliação de 57 famílias em DBC, com quatro repetições e parcelas de 10 clones de primeira geração clonal, totalizando 40 clones por família. O espaçamento empregado foi de 0,50 m entre plantas e 0,80 m entre linhas e as cultivares utilizadas como testemunha foram: 'Monalisa', 'Asterix' e 'Achat'. Nesta etapa, foram avaliados a produção (gramas x planta<sup>-1</sup>) e o peso específico de tubérculos, tendo a seleção dos clones se baseado exclusivamente na aparência dos tubérculos.

Os 331 clones selecionados foram então conduzidos à segunda geração clonal, realizada na safra das águas de 2005. Neste caso, dois experimentos foram montados, um látice simples duplicado 14 x14, com 221 clones e 4 testemunhas ('Ágata', 'Asterix', 'Atlantic' e 'Monalisa') e um DBC com 113 clones mais as cultivares Ágata, Asterix e Monalisa e 3 repetições. Ambos os experimentos foram compostos de duas plantas por parcela e espaçamento de

0,35 x 0,80m. Foram avaliados a produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), a porcentagem de tubérculos graúdos, o peso médio de tubérculos (gramas) e o peso específico de tubérculos.

Dos 334 clones, foram selecionados 180 portadores do alelo Ry<sub>adg</sub> (ver adiante) os quais foram submetidos a uma nova avaliação de desempenho em campo, consistindo na terceira geração clonal e realizada na safra de inverno de 2006. Neste caso, foi empregado um DBC com 4 repetições, parcelas de duas plantas espaçadas a 0,35 x 0,80m, utilizando como testemunhas as cultivares Asterix, Atlantic, Chiquita e Monalisa. Os caracteres avaliados foram os mesmos dos experimentos anteriores, acrescidos da aparência de tubérculos, avaliada por meio de uma escala de notas variando de 1 (pior aparência) a 5 (melhor aparência).

Os dados coletados para cada caráter, nos diferentes experimentos, foram submetidos à análise de variância individual, empregando-se o programa estatístico SAS (2000) e utilizados nas estimativas do coeficiente de variação ambiental (CV<sub>e</sub>) e genético (CV<sub>g</sub>), da razão CV<sub>e</sub>/CV<sub>g</sub> e da herdabilidade no sentido amplo (h<sup>2</sup>a).

### **2.3 Avaliação da resistência à pinta-preta**

Para a avaliação da resistência à pinta-preta dos clones identificados como resistentes ao vírus Y, foram conduzidos dois experimentos simultaneamente, nas safras das águas de 2007 e 2008, quarta e quinta geração clonal, respectivamente. O delineamento empregado em ambos os experimentos foi um alfa-látice 13 x 14, com 2 repetições e parcelas constituídas de 4 plantas espaçadas em 0,35 x 0,80m.

Os tratamentos consistiram em 170 clones mais 12 testemunhas, sendo 6 cultivares (Asterix, Atlantic, Caesa, Chiquita, Monalisa e Vivaldi) e 6 clones elites do programa de melhoramento da UFLA. Em um dos experimentos foram

incluídas bordaduras internas com a cultivar Monalisa para a multiplicação do inóculo, o qual foi introduzido em campo via macerado de ramas desidratadas e infectadas, aplicado aos 40 e 50 dias após o plantio. Os caracteres avaliados foram produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos (gramas), peso específico de tubérculos, aparência de tubérculos e resistência à pinta-preta. Esta última foi avaliada no experimento com inoculação e realizada por três avaliadores, utilizando-se uma escala diagramática, apresentada por Reifschneider et al. (1984), a partir de 30 dias após a última inoculação e realizada por três vezes, com espaçamento de cinco dias entre avaliações. As notas obtidas foram usadas na estimativa da área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD), empregando-se a metodologia de Shaner & Finney (1977).

Os caracteres avaliados foram submetidos a uma análise de variância utilizando-se o programa estatístico SAS (2000), considerando cada experimento individualmente, análise conjunta dos experimentos com e sem inóculo em um mesmo ano e análise conjunta dos dois anos. Foram realizadas também estimativas do coeficiente de variação ambiental ( $CV_e$ ) e genético ( $CV_g$ ), da razão  $CV_e/CV_g$  e da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2_a$ ), nas diferentes situações mencionadas.

Foram selecionados os 60 clones mais resistentes dos 180 avaliados, empregando-se o índice de seleção de Mulamba & Mock (1978), a partir da combinação da medida da AACPD e o diferencial de produção, calculado para cada clone com base na diferença de produção de tubérculos no experimento com e sem inoculação.

#### **2.4 Seleção seqüencial**

Empregou-se o índice de seleção seqüencial para cada caráter, utilizando-se a média aritmética dos dados provenientes das cinco gerações

clonais para os caracteres produção, peso médio de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos e aparência, seguindo metodologia descrita e avaliada por Lambert (2004). Em seguida, estes dados foram combinados empregando-se o índice de Mulamba & Mock (1978) e selecionados vinte clones de melhor desempenho, entre os sessenta identificados como resistentes à pinta-preta.

## 2.5 Identificação do alelo $Ry_{adg}$

A reação de PCR para identificar genótipos portadores do alelo  $Ry_{adg}$  foi realizada misturando-se os seguintes reagentes com as respectivas concentrações: 250  $\mu$ M DNTPs (mistura equitativa de ATP, GTP, CTP e TTP), 0,6 unidades de Taq DNA polimerase, 0,26  $\mu$ M de cada *primer*, tampão de reação (50mM TRIS, 2,0mM  $MgCl_2$ ; 20mM KCl; 250  $\mu$ g/mL de albumina soro bovino; 1% de ficoll 400; 1mM de tartrazina, 22,5 ng de DNA genômico e água pura até completar o volume de 10  $\mu$ l. O par de *primers* SCAR utilizado, designado de RYSC3, de acordo com Kasai et al. (2000), apresenta a seqüência: 5' A T A C A C T C A T C T A A A T T T G A T G G 3' e 5' A G G A T A T A C G G C A T C A T T T T T C C A 3', a qual amplifica uma região dentro do gene  $Ry$ , produzindo fragmentos de 321 pb.

As reações de amplificação foram realizadas em microtubos de 0,2mL, utilizando-se termociclador PCT-100 (MJ Research, Inc.USA). A reação para o marcador RYSC3 constituiu-se de uma desnaturação inicial de 92°C, por 4 minutos, seguida de 35 ciclos compostos de: 94°C para desnaturação e 60°C para o anelamento, ambos por 45 segundos e elongação a 72°C por 1 minuto, seguida de uma extensão final a 72°C, por 5 minutos.

Após a amplificação, os produtos da reação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,2% em tampão TBE (TRIS, ácido bórico e EDTA) e em corrente de 100V, pelo período de 1 hora. Os fragmentos de DNA

foram corados com brometo de etídio, à concentração de 0,5ng/μl, por 20 minutos, sob agitação. O gel foi fotografado em câmara digital Kodak DC290 Zoom em luz ultravioleta.

## 2.6 Identificação do alelo Rx1

A partir das informações fornecidas por Bendahmane (1997), foi desenvolvida a metodologia empregada para a seleção de clones portadores do gene Rx<sub>1</sub>, que consistiu em uma amplificação, utilizando o par de *primers* designados CP60 com a seguinte seqüência: 5' CAGCCTACCGCGAAA GTGCCTTCG 3' e 5'GCCAACCCCACGAGTTTCTCACTGAC3' e uma digestão do produto da PCR com a enzima de restrição DdeI.

A reação de PCR foi realizada para 30μl em microtubos de 0,2mL contendo: 250μM dNTPs, 2,5 unidades de Taq DNA polimerase, 0,26μM de cada *primer*, tampão de reação (50mM TRIS; 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>; 20mMKCl; 250 μg de albumina de soro bovino; 1% de ficoll 400; 1 mM de tartrazina), 67,5 ng de DNA genômico e água para completar os 30μl. Foi utilizado o seguinte programa: 92°C, por 4 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C para desnaturação, 58°C para anelamento e 72°C para extensão, todos por 20 segundos, seguidos de uma extensão final, a 72°C, por 5 minutos, utilizando-se termociclador PCT-100 (MJ Research, Inc.USA).

Após amplificação, 5μl foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, imersos em tampão TBE (0,45 M de Tris-borato e 0,01M EDTA), a 100 volts, durante uma hora, corados com brometo de etídeo e visualizados em transiluminador de luz ultravioleta, para verificar a qualidade da amplificação.

Em seguida, os 25μl restantes da reação de PCR foram adicionados de 5μl de uma solução constituída de três unidades da enzima de restrição DdeI, 0,3μl de tampão de reação 10X, 0,3μl de albumina de soro bovino a 5% e água para completar 5μl submetidos à digestão em banho-maria, a 37°C, por 5 horas.

Após digestão, o produto resultante foi separado por eletroforese em gel de agarose a 2,5%, durante 8 horas, a 60 volts, corados com brometo de etídio e visualizado em transiluminador de luz ultravioleta e fotografado em câmara digital Kodak DC290 Zoom.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Desempenho agronômico

No primeiro experimento, realizado para avaliar o desempenho das 57 famílias, foram detectadas diferenças significativas entre famílias e para o contraste famílias vs testemunhas, em relação à produção de tubérculos. A média das famílias foi de 519,2 gramas x planta<sup>-1</sup> e das testemunhas, de 390,1 gramas x planta<sup>-1</sup>, como mostrado na Tabela 1A. Dessa forma, fica evidenciada a variabilidade genética, assim como a superioridade destas famílias em relação às cultivares testemunhas e, conseqüentemente, o potencial produtivo dos clones.

Nos dois experimentos da safra das águas de 2005 ocorreram diferenças significativas entre os clones, para todos os caracteres avaliados. É importante ressaltar que as médias de produção foram baixas, média de 468,gramas x planta<sup>-1</sup> (média das produções apresentadas nas Tabelas 2A e 3A) em decorrência da incidência de requeima (*Phytophthora infestans*), durante o período de condução dos experimentos.

Os 180 clones selecionados para o alelo Ry<sub>adg</sub> (ver adiante) avaliados na safra de inverno de 2006 apresentaram diferenças significativas entre clones para todos os caracteres avaliados, com exceção do peso específico, enquanto diferenças entre as testemunhas foram observadas somente para peso específico e aparência. O contraste clones vs testemunhas mostrou diferença apenas para aparência e porcentagem de tubérculos graúdos. A produção de tubérculos foi de 1.055,6 gramas x planta<sup>-1</sup>, para os clones e 986,72 gramas x planta<sup>-1</sup>, para as testemunhas (Tabela 4A). Entretanto, 69 clones superaram a cultivar Chiquita, que apresentou a maior produção dentre as testemunhas e 25 clones superaram o peso específico de tubérculos da cultivar Atlantic, padrão de qualidade para o processamento industrial.

As estimativas dos parâmetros genéticos variaram com os experimentos e os caracteres estudados. Para a produção de tubérculos, as médias dos quatro experimentos foram de 38,5% para o  $CV_e$ , 27,16% para  $CV_g$  e de 64% para a  $h^2a$ . Esses valores são similares aos de outras estimativas encontradas na literatura, em trabalhos de melhoramento da batateira, como os de Lambert (2004), Simon (2005) e Benites (2007).

### **3.2 Resistência à pinta-preta**

Na avaliação da resistência à pinta-preta, conduzida na safra das águas de 2007, foram observadas diferenças significativas entre os experimentos conduzidos na ausência e na presença do patógeno para produção, peso médio, peso específico e aparência de tubérculos (Tabelas 5A, 6A e 7A). A produção de tubérculos sofreu redução de 14,6% (831,54 para 709,54 gramas x planta<sup>-1</sup>, Tabelas 6A e 7A, respectivamente), resultado semelhante ao observado por Simon (2005), que registrou redução de 12%. Para os demais caracteres, ocorreu um pequeno incremento das médias na presença do fungo, como pode ser observado comparando-se a médias apresentadas pelas Tabelas 6A e 7A. Este incremento, em termos percentuais, foi de 3,4% para peso médio de tubérculos, 0,1% para peso específico de tubérculos e de 4,8% para aparência. Apesar de significativos, foram de pequena magnitude e podem ser explicados pela menor competição entre plantas, em função da morte precoce causada pela *Alternaria solani*. O menor ciclo vegetativo pode ter contribuído também para a melhor aparência dos tubérculos, reduzindo a ocorrência de desordens fisiológicas.

Na avaliação da resistência à pinta-preta, realizada em 2008, ao contrário da anterior, não foi observada diferença significativa para a produção de tubérculos na presença e na ausência do inoculo; entretanto, foi evidenciada para os demais caracteres, como mostrado na Tabela 8A. As médias para produção de tubérculos observadas foram baixas, com 409,3 gramas x planta<sup>-1</sup>, na ausência

da doença (Tabela 9A) e de 398,3 gramas x planta<sup>-1</sup> na presença dela (Tabela 10A). Para os demais caracteres, as médias na presença da doença foram inferiores, com redução da porcentagem de tubérculos graúdos de 56,7% para 49,3%, do peso médio de 80,6 para 74,6 gramas e do peso específico de tubérculos, de 1,0608 para 1,0575. A exceção foi verificada para a nota de aparência, com aumento de 2,19 para 2,28, devido às razões comentadas anteriormente (Tabela 9A, 10A).

É oportuno comentar que, no ano de 2008, observou-se pronunciado efeito de temperaturas elevadas e alta umidade, como descrito por Menezes et al.(1999), que induziram maior desenvolvimento vegetativo e menor translocação de fotoassimilados, promovendo redução drástica na expressão dos caracteres avaliados e, conseqüentemente, mascarando o efeito da doença.

A análise conjunta nos dois anos agrícolas evidenciou redução significativa na produção, na porcentagem de tubérculos graúdos e no peso específico sob efeito da doença. Foi constatado o efeito de anos, da interação clones x anos e clones x inoculação x anos, ficando evidente a necessidade da avaliação em mais de um ano agrícola (Tabela 11 A).

AACPD foi significativa para clones e para o contraste clones vs testemunhas, evidenciando a variabilidade de resposta à infecção com o fungo *Alternaria solani* e comprovando a existência de resistência genética. Apesar da significância observada entre avaliadores, não ocorreu interação clones x avaliadores, indicando uma concordância entre os avaliadores na classificação dos genótipos (Tabela 12A). Por outro lado, a significância da interação clones x anos mostrou comportamento diferencial nas duas avaliações, reafirmando a necessidade da avaliação em mais de um ano (Tabela 13A). Como mostrado na Tabela 14A, níveis elevados de herdabilidade foram estimados para este caráter, 88,1% e 87,2%, nos anos de 2007 e 2008, respectivamente, demonstrando a

viabilidade da seleção e concordando com as estimativas obtidas por Martins & Pinto (1996) e Simon (2005).

### **3.3 Clones portadores do alelo Ry**

A análise molecular permitiu a seleção 180 clones que apresentaram a banda de 321pb, correspondente ao alelo Ry<sub>adg</sub> (54%). Este resultado está de acordo com a segregação esperada de 1:1, em cruzamentos entre clones simplex (Ryryryry), como é o caso dos clones JUG, com genótipos nuliplex (ryryryry), como ocorre em 'Chiquita'. Este resultado também confirma a eficácia do marcador RYSC3 na identificação de genótipos com resistência extrema ao PVY, como mencionado por Ribeiro (2006).

### **3.4 Clones portadores do alelo Rx<sub>1</sub>**

O marcador CAPS utilizado na seleção de clones portadores do alelo Rx mostrou-se eficiente na identificação de genótipos resistentes, como mostrado na Figura 1. Entretanto, diferente do preconizado por Gebhardt (2006), seu emprego foi limitado pela dificuldade de se obter ampliações adequadas para clivagem, o que pode ser atribuído, entre outras causas, a algum problema relacionado à especificidade dos pares de *primers* que manifestam, muitas vezes, anelamentos incorretos, gerando produtos não específicos de ampliações e inviabilizando a clivagem pela metodologia empregada. Dessa forma, dos 180 clones identificados como resistentes ao PVY, apenas 46 foram avaliados, dos quais 22 apresentaram o alelo Rx<sub>1</sub>.



**FIGURA 1.** Presença ou ausência do alelo  $Rx_1$ , identificado pelo marcador CAPS, em 14 clones e das testemunhas suscetíveis S1(‘Monalisa’) e S2 (‘Chiquita’) e resistentes R1(XY9) e R2 (XY10). Note a presença de oito clones com bandas e quatro sem a banda, tendo ocorrido duas falhas de amplificação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

### 3.5 Seleção de clones com resistência múltipla e desempenho agrônômico

Dos 180 clones portadores do alelo  $Ry_{adg}$ , 60 foram selecionados como os de maior nível de resistência a *Alternaria solani*. Destes, 20 foram selecionados por apresentarem alto desempenho agrônômico, além das resistências já comentadas. Apenas 7 foram submetidos à análise para identificação do alelo  $Rx_1$ , dada a dificuldade em se obter amplificações de boa qualidade, sendo um genótipo identificado como resistente ao vírus X. As médias das 5 gerações clonais destes 60 clones e das cultivares Asterix, Atlantic, Chiquita e Monalisa são mostradas na Tabela 14A.

O clone selecionado como resistente à pinta-preta e portador dos alelos de resistência  $Ry_{adg}$  e  $Rx_1$  apresentou produção elevada, com média de 662,4 gramas x planta<sup>-1</sup>, contra 535,34 e 423,23 gramas x planta<sup>-1</sup> para ‘Monalisa’ e ‘Asterix’, respectivamente. Destacou-se também em relação à porcentagem de tubérculos graúdos e ao peso médio de tubérculos, com 77,1% e 101,4 gramas, respectivamente, para cada caráter. Novamente, foi superior às cultivares Asterix, Monalisa e também à Atlantic, com médias de 48,2% e 86,65 gramas, 51,9% e 69,3 gramas e 63,86% e 75,34 gramas, respectivamente. Apresentou, ainda, peso específico de 1,0681 e nota de aparência de 2,47, sugerindo ser este

um clone promissor para processamento, superando a cultivar Asterix (1,0651) e se aproximando de 'Atlantic' (1,0718), associando ainda uma aparência melhor que as testemunhas, com nota de 1,55 para 'Monalisa', 2,27 para 'Asterix' e 2,03 para 'Atlantic'. Entretanto, é necessário ressaltar que as maiorias das avaliações foi realizada em condições adversas, com temperaturas elevadas e alta umidade, o que contribui para uma menor expressão dos caracteres avaliados, especialmente para as cultivares testemunhas utilizadas. Assim, são necessárias novas avaliações, em condições mais adequadas a produção de batata.

#### 4 CONCLUSÕES

1. Foi observado um número considerável de clones com desempenho agronômico superior ao de cultivares testemunhas.
2. Foram selecionados clones com alto nível de resistência à pinta-preta, superando, inclusive, o genitor, a cv. Chiquita, considerada padrão e fonte de resistência.
3. O marcador SCAR apresentou resultado compatível com a segregação esperada na população, sendo eficiente na determinação de genótipos portadores do alelo  $Ry_{adg}$ .
4. O marcador CAPS utilizado para a identificação de genótipos portadores do alelo  $Rx_1$  mostrou ser de difícil aplicação prática, tendo em vista a dificuldade em se obter amplificações de boa qualidade para a digestão com a enzima DdeI, sendo necessário o desenvolvimento de outro marcador com maior eficiência.
5. Foi possível realizar a seleção de 20 clones de alto desempenho agronômico, resistentes à pinta preta e ao vírus Y, sendo um destes, identificado também como portador do alelo  $Rx1$ .

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENDAHMANE, A.; KANYUKA, K.; BAULCOMBE, D.C. High-resolution genetical and physical mapping of the Rx gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 1-2, p. 153-162, July 1997.

BENITES, F. R. G. **Seleção recorrente em batata visando tolerância ao calor**. 2007. 90 p. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CHRIST, B. J.; HAYNES, K. G. Inheritance of resistance to early blight disease in a diploid potato population. **Plant Breeding**, v. 120, n. 2, p. 169-172, 2001.

COCKERHAM, G. Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y. **Heredity**, Oxford, v. 25, p. 309–348, 1970.

FLIS, B.; HENNIG, J.; STRZELCZYK-ÔYTA, D.; GEBHARDT, C.; MARCZEWSKI, W. The Ry-f gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to Potato virus Y maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122<sub>718</sub> in PVY resistant potato cultivars. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 15, n. 1, p. 95–101, Jan. 2005.

GADUM de LALLA, J.; PINTO, C. A. B. P.; RIOS, M. C. D. Desempenho agrônômico e reação de clones de batata (*Solanum tuberosum* L.) ao PVY. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1484-1492, 2003. Especial.

GEBHARDT, C.; BELLIN, D.; HENSELEWSKI, H.; LEHMANN, W.; SCHWARZfischer, J.; VALKONEN, J. P. T. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 8, p. 1458–1464, May 2006.

GEBHARDT, C.; VALKONEN, J. P. T. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. **Annual Reviews Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 79–102, 2001.

HÄMÄLÄINEN, J. H.; WATANABE, K. N.; VALKONEN, J. P. T.; ARIHARA, A.; PLAISTED, R. L.; PEHU, E.; MILLER, L.; SLACK, S. A. Mapping and marker assisted selection for a gene for extreme resistance to potato virus Y. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 2, p. 192–197 Feb. 1997.

KASAI, K.; MORIKAWA, Y.; SORRI, V. A.; VALKONEN, J. P. T.; GEBHARDT, C.; WATANABE, K. N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ry(adg) based on a common feature of plant disease resistance genes. **Genome**, Ottawa, v. 43, n. 1, p. 1-8, Feb. 2000.

LAMBERT, E. S. **Estrategias para o melhoramento da batata para condições tropicais**. 2004. 142 p. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de plantas) – Universidade Federal de Lavras, lavras.

MARTINS, P. R.; PINTO, C. A. B. P. Capacidade de combinação de genótipos de batata para resistência a pinta-preta, produtividade e peso específico de tubérculos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 161-169, nov. 1996.

MENEZES, C. B.; PINTO, C. A. B. P.; NURENBERG, P. L.; LAMBERT, E. S. Avaliação de genótipos de batata nas safras das águas e de inverno no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 777–784, out./dez. 1999.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Giza, v. 7, n. 1, p. 40-57, 1978.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; FURUMOTO, O.; FILGUEIRA, F. A. R. Illustrated key for the evaluation of early blight of potatoes. **Plant Protection Bulletin**, Rome, v. 32, n. 2, p. 91–94, 1984.

RIBEIRO, A. M. ; PINTO, C. A. B. P. ; ANDRADE, C. M. ; SANTOS, J. B; FIGUEIRA, A. R . SCAR marker for the selection of Ry-duplex potato clones immune to Potato Virus Y. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 6, n. 1, p. 1-8, Jan./Mar. 2006.

ROSS, H. **Potato breeding: problems and perspectives**. Berlin: Verlag paul Parey, 1986. 132 p.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**: version 8. Cary, 2000. Software.

SATO, M.; NISHIKAWA, K.; KOMURA, K.; KOSAKA, K. Potato virus Y resistance gene, Ry chc, mapped to the distal end of potato chromosome 9. **Euphytica**, Wageningen, v. 149, n. 3, p. 367–372, June 2006.

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox Wheat. **Journal of Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

SILVA, O. A. ; PINTO, C. A. B. P. ; FIGUEIRA, A.R. Identificação de Clones de batata imunes aos Vírus X e Y, adaptados à região Sul de Minas Gerais. **Summa phytopathologica**, Piracicaba, v. 26, n. 4, p. 387, 2000.

SIMON, G. A. **Interação famílias por ambientes e seleção de clones de batata resistentes à pinta preta e tolerantes ao calor**. 2005. Tese (Doutorado em Genético e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

SONG, Y. S.; HEPTING, L.; SCHWEIZER, G.; HARTL, L.; WENZEL, G.; SCHWARZWSCHER, A. Mapping of extreme resistance to PVY (Ry sto) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 111, n. 5, p. 879–887, Sept. 2005.

## ANEXO

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ) e peso específico de tubérculos das famílias avaliados na safra de inverno de 2004.....	57
TABELA 2A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas) e peso específico de tubérculos de clones e testemunhas avaliados na safra de verão de 2005, no experimento em latice simples duplicado.....	58
TABELA 3A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas) e peso específico de tubérculos de clones e testemunhas avaliados na safra de verão de 2005, no experimento DBC.....	59
TABELA 4A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos clones e testemunhas avaliados na safra de inverno de 2006.....	60
TABELA 5A	Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas),	

	peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência a pinta preta na safra de verão de 2007.....	61
TABELA 6A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência a pinta preta na ausência do inoculo conduzido na safra de verão de 2007.....	62
TABELA 7A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência a pinta preta na presença do inoculo conduzido na safra de verão de 2007.....	63
TABELA 8A	Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência a pinta preta na safra de verão de 2008.....	64
TABELA 9A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência a pinta preta na ausência do inoculo conduzido na safra de verão de 2008.....	65

TABELA 10A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência a pinta preta na presença do inoculo conduzido na safra de verão de 2008.....	66
TABELA 11A	Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência a pinta preta na ausência do inoculo nas safras de verão de 2007 e 2008.....	67
TABELA 12A	Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos da Área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência a pinta preta nas safras de verão de 2007 e 2008.....	69
TABELA 13A	Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos da Área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência a pinta preta nas safras de verão de 2007 e 2008.....	70
TABELA 14A	Médias de cinco gerações clonais para produção de tubérculos (gramas x planta <sup>-1</sup> ), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos, notas de aparência, AACPD, índice de Mulamba e Mock baseado no desempenho agrônômico (Índice1) e índice de Mulamba e Mock baseado na AACPD e diferencial de produção (Índice2) dos 60 clones resistentes à pinta preta e ao PVY e quatro cultivares...	71

TABELA 1A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>) e peso específico de tubérculos das famílias avaliados na safra de inverno de 2004.

FV	GL	Produção	QM Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )
Tratamentos	59	89402,363**	0,8554NS
Famílias (Fam.)	56	90354,258**	0,8541NS
Testemunhas (Test.)	2	12514,43391NS	1,3008 <sup>1</sup>
Fam. vs Test.	1	189872,104*	0,0382NS
Erro	177	40133,92	0,8501
Média geral		512,73	1,056
Média de famílias		519,18	1,056
Média das testemunhas		390,13	1,056
$h^2_a$ (%)		55,10	-
CV <sub>g</sub>		0,22	-
CV <sub>e</sub>		0,39	-
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,55	-

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

<sup>1</sup> significativo a 8%

TABELA 2A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas) e peso específico de tubérculos de clones e testemunhas avaliados na safra de verão de 2005, no experimento em látice simples duplicado.

FV	GL	QM			
		Produção	Graúdos	Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )
Tratamentos	221	144200,65**	782,23**	1646,12**	2,975**
Clones (C)	197	144339,08**	794,12**	1663,22**	2,922**
Testemunhas (Test.)	3	32851,56**	125,89 <sup>1</sup>	49,07NS	7,728**
C vs Test.	1	625188,70*	13,36NS	105,26NS	1,386NS
Erro	661	46884,60	269,27	507,72	0,9625
Média geral		495,91	67,94	86,41	1,0592
Média de clones		499,03	68,90	86,30	1,0591
Média das testemunhas		296,87	66,87	84,19	1,0623
$h^2_a$ (%)		0,69	0,66	0,69	0,66
CV <sub>g</sub>		0,33	0,17	0,20	0,0066
CV <sub>e</sub>		0,44	0,24	0,26	0,0093
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,75	0,71	0,77	0,70

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F,

<sup>1</sup> significativo a 8%

TABELA 3A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas) e peso específico de tubérculos de clones e testemunhas avaliados na safra de verão de 2005, no experimento DBC.

FV	GL	Produção	Graúdos	QM	
				Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )
Tratamentos	115	78761,90**	1046,72**	1657,55**	59,9NS
Clones (C)	112	76393,99**	1065,82**	1666,33**	61,5NS
Testemunhas (Test.)	2	106475,69**	178,85NS	1380,39NS	1,67**
C vs Test.	1	288539,40**	643,55NS	1228,93NS	4,8NS
Erro	223	25457,14	606,44	1014,41	59,00
Média geral		441,31	70,54	91,85	1,0635
Média de clones		437,52	70,27	91,43	1,0638
Média das Test.		618,06	78,89	103,36	1,0563
$h_a^2$ (%)		67,10	41,7	38,47	-
CV <sub>g</sub>		0,30	0,17	0,16	-
CV <sub>e</sub>		0,36	0,35	0,35	-
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,83	0,48	0,46	-

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F,  
<sup>1</sup> significativo a 8%

TABELA 4A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados na safra de inverno de 2006.

FV	GL	QM				
		Produção	Graúdos	Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Tratamentos	181	412207,82**	794,39**	4553,54**	39,80NS	0,72055**
Clones (C)	177	417074,04**	764,47**	4616,64**	40,60NS	0,71472**
Testemunhas (Test.)	3	239619,14NS	1262,01 <sup>1</sup>	1675,45NS	2,50**	0,7916*
C vs Test.	1	68652,00NS	4687,08**	2019,20NS	2,60NS	1,53915*
Erro	551	139752,00	207,04	1510,92	45,10	0,31139
Média geral		1051,51	79,06	118,68	1,0858	2,18
Média de clones		1055,55	79,66	119,21	1,0852	2,19
Média das Test.		986,72	62,13	107,57	1,0818	1,88
h <sup>2</sup> <sub>a</sub> (%)		65,38	73,14	66,10	-	56,17
CV <sub>g</sub>		0,24	0,15	0,23	-	0,15
CV <sub>e</sub>		0,35	0,18	0,33	-	0,26
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,66	0,84	0,70	-	0,57

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F,

<sup>1</sup> significativo a 8%

TABELA 5A. Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos (Pesp) e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência à pinta-preta na safra de verão de 2007.

FV	GL	QM				
		Produção	Graúdos	Peso médio	Pesp (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Inoculação (com/sem)	1	2739249,24**	330,57NS	1923,38**	2,10*	2,26841**
Tratamentos	181	300029,80**	910,19**	2980,65 <sup>1</sup>	1,70**	0,61246**
Clones (C)	169	288085,23**	840,82**	3020,19**	1,60**	0,60566**
Testemunhas (Test.)	11	359894,69**	1469,81*	1177,58NS	2,60NS	0,48226NS
C vs Test.	1	177391,18NS	7321,54**	14528,86**	0,40NS	0,93495*
Tratamentos x Inoculação	181	141374,81NS	336,46*	1181,08**	0,70NS	0,39456**
C x Inoculação	169	145314,87NS	335,69*	1231,40**	0,68NS	0,39932**
Test. x Inoculação	11	61582,13NS	433,44NS	513,99NS	0,30NS	0,28573NS
C vs Test. X Inoculação	1	223870,34NS	1292,05*	1222,54NS	0,60NS	0,42944NS
Erro	364	134706,80	264,36	635,88	0,60	0,27352
Média geral		770,54	76,24	104,59	1,0751	2,13
Média de clones		777,26	77,32	106,13	1,0752	2,12
Média das testemunhas		716,07	65,42	89,34	1,0737	2,27
h <sup>2</sup> <sub>a</sub> (%)		51,85	62,59	59,07	57,09	33,66
CV <sub>g</sub>		0,26	0,16	0,21	0,00457	0,10692
CV <sub>e</sub>		0,47	0,21	0,24	0,00722	0,24554
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,55	0,76	0,88	0,63	0,43549

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F, <sup>1</sup> significativo a 8%

TABELA 6A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência à pinta-preta, na ausência do inóculo, conduzido na safra de verão de 2007.

FV	GL	QM				
		Produção	Graúdos	Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Tratamentos	181	252504,18**	576,02**	1756,04**	1,20**	0,45732**
Clones(C)	169	257571,32**	550,44**	1776,99**	1,10**	0,45904**
Testemunhas (Test.)	11	114464,56NS	840,75NS	1426,25NS	2,40NS	0,44786NS
C vs Test.	1	314164,76NS	1119,90*	2548,45*	1,50NS	0,02338NS
Erro	181	151695,49	257,78	605,60	0,57	0,22812
Média geral		831,54	75,52	102,86	1,0746	2,08
Média de Clones		842,92	76,28	104,18	1,0748	2,07
Média das Test.		724,59	70,58	93,23	1,0726	2,13
$h^2_a$ (%)		0,41	0,52	0,64	0,50	0,49
CV <sub>g</sub>		0,28	0,17	0,24	0,00511	0,16
CV <sub>e</sub>		0,47	0,21	0,24	0,00700	0,23
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,60	0,81	1,00	0,73	0,70

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F,

TABELA 7A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência à pinta-preta, na presença do inoculo, conduzido na safra de verão de 2007.

FV	GL	QM				
		Produção	Graúdos	Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Tratamentos	181	182312,14**	637,74**	2267,20**	1,20**	0,52859**
Clones (C)	169	165829,12**	581,36**	2313,82**	1,20**	0,51761**
Testemunhas (Test.)	11	311822,38NS	1167,16NS	794,63NS	0,86NS	0,43933NS
C vs Test.	1	1234,26NS	7663,88**	14395,46**	0,10NS	1,47505*
Erro	181	91899,98	212,41	543,10	0,60	0,31606
Média geral		709,54	76,95	106,32	1,0757	2,18
Média de Clones		711,51	78,50	108,26	1,0757	2,17
Média das Test.		715,72	58,69	83,41	1,0754	2,44
$h^2_a$ (%)		49,51	67,14	75,18	44,62	37,70
CV <sub>g</sub>		0,30	0,19	0,28	0,00481	0,14647
CV <sub>e</sub>		0,43	0,19	0,22	0,00743	0,25789
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,70	1,00	1,27	0,65	0,57

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 8A. Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas) peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência à pinta-preta, na safra de verão de 2008.

FV	GL	Produção	QM			
			Graúdos	Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Inoculação (com/sem)	1	6519,09NS	8261,24**	6221,86**	20,50**	4,07296**
Tratamentos	181	128885,54**	527,15NS	581,09NS	2,00**	0,73206**
Clones (C)	169	126296,01**	554,22NS	573,10NS	2,00**	0,69991**
Testemunhas (Test.)	11	60717,23NS	372,75NS	708,02NS	1,90*	0,70319NS
C vs Test.	1	863157,81**	9,07NS	0,46NS	0,10NS	3,45883**
Tratamentos*Inoculação	181	87490,60**	541,36NS	546,62NS	0,40NS	0,47452*
C x Inoculação	169	86006,23**	560,32NS	547,33NS	0,40NS	0,47472*
Test. x Inoculação	11	83771,45NS	364,39NS	399,59NS	0,30NS	0,36609NS
C vs Test. x Inoculação	1	38,22NS	121,60NS	453,19NS	0,40NS	1,41612*
Erro	364	62801,02	543,43	527,79	0,60	0,37343
Média geral		403,20	52,86	77,53	1,0591	2,28
Média de clones		400,54	55,30	82,07	1,0593	2,23
Média das testemunhas		532,28	53,77	79,83	1,0586	2,54
$h_a^2$ (%)		30,52	-	-	75,54	32,40
$CV_g$		0,25	-	-	0,00586	0,10603
$CV_e$		0,62	-	-	0,00709	0,26802
$CV_g/CV_e$		0,40	-	-	0,83	0,40

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 9A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência à pinta-preta, na ausência do inóculo, conduzido na safra de verão de 2008.

FV	GL	Produção	Graúdos	QM		Aparência
				Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )	
Tratamentos	181	117734,15**	562,81NS	625,79NS	1,20**	0,54553**
Clones	169	114702,00**	574,28NS	623,38NS	1,20**	0,52478**
Testemunhas (Test.)	11	109429,39NS	336,21NS	473,02NS	0,50NS	0,35171NS
Clones vs Test.	1	462731,45**	48,98NS	516,10NS	0,04NS	5,22085**
Erro	181	59926,53	580,25	593,99	0,60	0,33436
Média geral		409,25	56,69	80,57	1,0608	2,19
Média de clones		398,80	56,76	81,01	1,0608	2,16
Média das Test.		561,20	55,09	76,40	1,0612	2,66
$h^2_a$ (%)		45,62	-	-	45,10	39,70
CV <sub>g</sub>		0,40	-	-	0,00490	0,15
CV <sub>e</sub>		0,59	-	-	0,00762	0,26
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,68	-	-	0,64	0,58

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

TABELA 10A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados no experimento de resistência à pinta-preta, na presença do inóculo, conduzido na safra de verão de 2008.

FV	GL	QM				
		Produção	Graúdos	Peso médio	Peso específico (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Tratamentos	181	98497,96**	500,89NS	463,22NS	12,00**	0,63298**
Clones	169	98959,02**	503,32NS	455,10NS	12,00**	0,62070**
Testemunhas (Test.)	11	50493,98NS	543,59NS	689,22NS	13,00NS	0,59744NS
Clones vs Test.	1	411676,13**	134,77NS	472,39NS	5,00NS	0,14021NS
Erro	181	63937,30	501,48	464,36	5,00	0,38814
Média geral		398,33	49,27	74,57	1,0575	2,36
Média de clones		391,13	49,43	74,55	1,0574	2,35
Média das Test.		510,58	50,72	77,95	1,0548	2,45
$h^2_a$ (%)		35,41	-	-	59,12	33,80
CV <sub>g</sub>		0,33	-	-	0,00579	0,13842
CV <sub>e</sub>		0,63	-	-	0,00656	0,26399
CV <sub>g</sub> /CV <sub>e</sub>		0,52	-	-	0,88	0,52

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 11A. Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúdos), peso médio de tubérculos (em gramas), peso específico de tubérculos (Pesep) e aparência de tubérculos de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência à pinta-preta, na ausência do inoculo, nas safras de verão de 2007 e 2008.

FV	GL	Produção	QM			
			Graúdos	Peso médio	Pesep (x 10 <sup>-4</sup> )	Aparência
Anos	1	47567899,69**	196237,64**	269210,84**	908,3**	7,28705**
Inoculação (com/sem)	1	1694502,13**	1656,05*	1501,15NS	5,9**	0,59582NS
Tratamentos	181	211591,89**	686,66**	1869,23**	3,0**	0,90442**
Clones (C)	169	206722,26**	631,19**	1918,39**	2,9**	0,82296**
Testemunhas (Test.)	11	373141,34**	1162,77**	1519,73**	5,3**	1,45439**
C vs Test.	1	82564,69NS	4412,99**	8003,33**	0,4NS	4,66591**
Tratamentos*Anos	181	225612,52**	702,64**	1594,71**	0,6NS	0,37737NS
C x Anos	169	221246,84**	689,08**	1650,46**	0,69*	0,37670 <sup>1</sup>
Testemunhas x Anos	11	221610,91**	540,61NS	468,41NS	0,2NS	0,29647NS
C vs Test. x Anos	1	957660,94**	4293,38**	7577,71**	0,05NS	0,40273NS
Tratamentos x Inoculação	181	114702,90NS	458,74NS	833,03**	0,60*	0,42280*
C x Inoculação	169	115500,39NS	445,65NS	825,99**	0,67*	0,41599*
Testemunhas x Inoculação	11	76594,78NS	498,41NS	502,09NS	0,3NS	0,41301NS
C vs Test,x Inoculação	1	175395,37NS	325,87NS	1209,44NS	2,09*	1,05402 <sup>1</sup>
Experimento x Anos	1	1043079,42**	421,34NS	296,38NS	0,2NS	2,27401**
Tratamentos x Inoculação x Anos	181	124537,10*	469,09NS	936,96**	0,6NS	0,44460**
C x Inoculação x Anos	169	128710,54*	481,50 <sup>1</sup>	985,37**	0,5NS	0,46758**
Testemunhas x Inoculação x Anos	11	60577,42NS	220,58NS	250,11NS	0,4NS	0,17071NS
C vs Test.* Inoculação *Anos	1	523947,73*	419,09NS	254,79NS	0,1NS	1,05736*
Erro	729	99431,90	402,74	587,05	0,6	0,32874

“...continua...”

“TABELA 11A,Cont.”

Média geral	588,09	62,92	91,32	1,0670	2,20
Média dos clones	586,03	65,40	91,97	1,0670	2,19
Média das Test.	616,10	58,45	82,60	1,0665	2,42
$h^2_a$ (%)	40,85	29,60	56,87	78,38	58,78
$CV_g$	0,18	0,008	0,1282	0,00513	0,1158
$CV_e$	0,60	0,34	0,3124	0,00723	0,2751
$CV_g/CV_e$	0,30	0,24	0,41	0,71	0,42

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 12A. Resumo da análise de variância e estimativa de parâmetros genéticos da área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência à pinta-preta, nas safras de verão de 2007 e 2008.

FV	GL	QM	
		AACPD/2007	AACPD/2008
Avaliadores (Aval.)	2	357564,41**	555348,35**
Tratamentos	181	89280,88**	87217,20**
Clones (C)	169	87282,38**	90277,78**
Testemunhas (Test.)	11	25574,17*	31695,39**
C vs Test.	1	450992,90**	174275,51**
Tratamentos x Aval.	362	7282,90NS	7402,61NS
C x Aval.	338	7328,27NS	7444,35NS
Test.*Aval.	22	7444,05NS	7176,56NS
C x Test.*Aval.	1	5431,99NS	1931,99NS
Erro	547	20562,96	20209,36
CV(%)		28,71	28,44
Média geral		499,41	499,92
Média dos clones		496,69	497,24
Média das testemunhas		562,78	558,85
$h^2_a$ (%)		88,10	87,18
$CV_g$		0,23	0,23
$CV_e$		0,29	0,28
$CV_g/CV_e$		0,80	0,82

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 13A. Resumo da análise de variância conjunta e estimativa de parâmetros genéticos da área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) de clones e testemunhas avaliados nos experimentos de resistência à pinta-preta, nas safras de verão de 2007 e 2008.

FV	GL	AACPD/Conjunta
Anos	1	1399,73NS
Tratamentos	181	38072,45**
Clones	169	38212,83**
Testemunhas (Test.)	11	11500,42NS
Clones vs Testemunhas	1	199244,05**
Tratamentos x Anos	181	22615,04**
Clones x Anos	169	22602,35**
Testemunhas x Anos	11	12081,83NS
Clones vs Test. x Anos	1	11584,09NS
Erro	364	15103,96
CV(%)		24,52
Média geral		501,32
Média dos clones		497,83
Média das testemunhas		578,50
$h^2_a$ (%)		40,10
$CV_g$		0,12
$CV_e$		0,24
$CV_g/CV_e$		0,50

\*, \*\*, NS significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 14A. Médias de cinco gerações clonais para produção de tubérculos (gramas x planta<sup>-1</sup>), porcentagem de tubérculos graúdos (Graúd), peso médio de tubérculos ((PMedio) em gramas), peso específico de tubérculos (Pesoesp), notas de aparência (Apar.) , AACPD, índice de Mulamba e Mock baseado no desempenho agronômico (Índice1) e índice de Mulamba e Mock baseado na AACPD e diferencial de produção (Índice2) dos 60 clones resistentes à pinta-preta e ao PVY e quatro cultivares.

Clones	Prod	Graud	PMedio	Pesoesp	Apar	AACPD	Indice1	Indice2
05-01	713,61	93,44	186,73	1,0756	2,46	500	32	94
50-03	644,22	73,98	113,08	1,0748	2,50	443	79	126
19-06	892,55	64,75	119,13	1,0768	2,20	393	84	96
28-03	710,85	85,93	144,73	1,0607	2,52	250	88	51
12-03	815,32	70,97	97,91	1,0711	2,75	352	90	21
21-03	787,13	79,47	128,89	1,0648	2,26	421	94	66
17-04	662,37	77,12	101,45	1,0681	2,47	309	100	123
36-02	679,53	75,82	91,99	1,0723	2,32	370	114	136
54-02	626,79	84,62	118,12	1,0653	2,34	456	114	131
24-02	717,84	82,98	128,75	1,0655	1,79	391	115	42
18-04	717,76	78,25	99,55	1,0666	2,25	409	117	58
40-02	842,28	79,46	109,68	1,0636	2,09	400	117	62
39-08	615,93	79,49	93,53	1,0681	2,82	345	120	64
27-03	718,35	69,31	96,83	1,0702	2,29	399	124	138
21-10	854,17	68,54	95,95	1,0719	2,05	387	127	55
01-05	514,46	81,39	111,27	1,0635	3,18	395	128	79
45-07	741,58	66,54	144,66	1,0610	2,31	449	134	66
39-07	713,20	76,32	103,39	1,0640	2,17	402	137	99
51-04	815,69	77,37	106,96	1,0627	1,89	353	138	61
19-03	743,06	70,26	110,53	1,0654	1,92	395	139	33
32-07	748,99	80,75	104,30	1,0640	1,74	371	140	118
19-13	743,06	70,26	110,53	1,0654	1,92	498	144	135
03-04	703,82	74,80	113,17	1,0631	1,94	404	146	136
18-02	572,91	69,43	94,97	1,0728	2,30	380	149	142
28-02	637,69	82,45	101,50	1,0710	1,72	509	149	104
36-06	794,50	66,70	102,35	1,0665	1,94	455	149	114
50-02	638,96	75,24	101,44	1,0673	2,16	490	149	137
18-02	572,91	69,43	94,97	1,0728	2,30	380	149	142
28-02	637,69	82,45	101,50	1,0710	1,72	509	149	104
36-06	794,50	66,70	102,35	1,0665	1,94	455	149	114

“...continua...”

“TABELA 14A, Cont.”

50-02	638,96	75,24	101,44	1,0673	2,16	490	149	137
41-02	655,35	68,22	91,89	1,0655	2,60	488	153	101
35-07	656,26	73,10	101,79	1,0666	1,97	394	154	34
39-09	661,51	66,89	81,66	1,0728	2,28	482	154	97
43-08	448,05	75,76	106,39	1,0675	2,19	523	154	130
41-05	654,44	67,60	82,09	1,0687	2,38	330	157	139
32-06	643,39	74,75	100,92	1,0599	2,36	280	159	84
43-02	688,85	58,53	77,83	1,0724	2,42	325	163	115
Chiquita	738,81	60,85	108,78	1,0653	1,96	575	165	250
Atlantic	873,14	63,86	75,34	1,0718	2,03	501	167	92
38-03	698,94	65,01	86,36	1,0674	2,24	348	169	66
09-05	623,50	62,11	91,77	1,0717	2,34	350	171	38
46-02	641,61	71,43	97,62	1,0743	1,27	284	173	37
17-07	561,30	63,92	81,40	1,0729	2,38	536	174	142
19-11	497,27	64,61	83,62	1,0726	2,36	565	176	134
17-01	624,51	63,90	112,17	1,0721	1,65	366	177	108
42-03	588,11	72,59	99,61	1,0662	2,06	396	179	42
57-04	456,84	73,59	91,68	1,0658	2,33	500	179	123
52-09	825,47	64,47	76,87	1,0644	2,26	456	182	86
10-01	695,15	69,07	105,56	1,0650	1,37	307	185	41
39-03	966,21	73,03	90,62	1,0583	1,66	551	187	146
39-06	818,86	74,19	93,23	1,0582	1,51	450	188	147
52-12	692,82	72,97	102,81	1,0567	1,76	352	190	58
38-05	652,44	59,61	80,70	1,0682	2,28	330	191	75
08-01	588,01	67,42	95,92	1,0664	2,15	474	194	114
31-03	458,93	60,65	70,30	1,0747	2,22	540	205	147
52-13	661,19	65,33	75,77	1,0700	1,74	381	206	108
32-03	458,93	60,65	70,30	1,0747	2,22	421	210	119
52-08	701,48	73,28	87,89	1,0599	1,61	455	210	129
22-06	642,27	50,96	78,29	1,0727	1,88	524	218	130
35-01	594,64	60,59	83,27	1,0669	2,12	547	218	138
20-02	461,65	55,11	83,87	1,0640	2,45	531	225	102
36-01	648,18	58,97	98,14	1,0635	1,84	498	227	137
Asterix	535,34	48,23	86,65	1,0651	2,27	659	231	200
35-02	650,64	57,60	68,17	1,0669	1,89	439	237	66
21-07	659,74	55,16	82,45	1,0644	1,73	425	243	52
Monalisa	423,23	51,86	69,29	1,0604	1,55	619	305	220
37-09	572,72	42,60	66,04	1,0575	1,51	533	307	112