

**IDENTIFICAÇÃO DE CLONES DE BATATA
IMUNES AO PVY, SIMPLEX E DUPLEX E
AGRONOMICAMENTE PROMISSORES**

ALEXANDRE MARQUES RIBEIRO

2004

ALEXANDRE MARQUES RIBEIRO

**IDENTIFICAÇÃO DE CLONES DE BATATA IMUNES AO PVY,
SIMPLEX E DUPLEX E AGRONOMICAMENTE PROMISSORES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia, área de Concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. César Augusto Brasil P. Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

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

Ribeiro, Alexandre Marques

Identificação de Clones de batata imunes ao PVY, simplex e duplex e
agronomicamente promissores / Alexandre Marques Ribeiro. -- Lavras : UFLA,
2004.

37 p. : il.

Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Batata. 2. Virus. 3. Melhoramento genético. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-635.2198

-635.2123

ALEXANDRE MARQUES RIBEIRO

**IDENTIFICAÇÃO DE CLONES DE BATATA IMUNES AO PVY,
SIMPLEX E DUPLEX E AGRONOMICAMENTE PROMISSORES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia, área de Concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

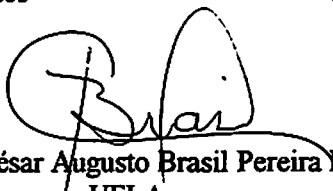
Aprovada em 13 de agosto de 2004

Profª. Dra. Antônia dos Reis Figueira

UFLA

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

UFLA



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

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Dedico este trabalho aos meus pais, Sérgio e Roseli, pelo exemplo de amor, carinho e compreensão.

Aos meus irmãos, Cintia e Marcelo.

À minha. Vó Anita.

À minha noiva. Silvia, por toda paciência, amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de cursar este mestrado.

Ao Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto, pela orientação neste trabalho e pelos ensinamentos transmitidos durante o curso de pós-graduação e pela amizade, acima de tudo.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. João Bosco dos Santos, pelos importantes conhecimentos transmitidos e pelo uso do laboratório de Genética Molecular.

À Profa. Antônia dos Reis Figueira, pelos importantes conhecimentos transmitidos.

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

Aos funcionários do Departamento de Biologia e a todos os alunos do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela amizade e pelos bons momentos de convivência.

Ao Núcleo de Estudos de Genética – GEN, pela troca de experiências.

Aos meus pais e irmãos, que sempre me apoiaram na caminhada de estudos.

À minha noiva, pelo incentivo, amor, amizade e companheirismo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2.1 Principais doenças viróticas.....	03
2.2 Sintomatologia e tipos de resistência.....	04
2.3 Porcentagem de danos e contaminação de cultivares.....	07
2.4 Melhoramento visando resistência ao vírus Y da batata.....	08
2.5 Estratégias do melhoramento visando resistência às viroses.....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Local.....	14
3.2 Material experimental.....	14
3.3 Avaliação da reação dos clones ao PVY por meio da enxertia em plantas de fumo infectado.....	14
3.4 Determinação da constituição genética dos clones.....	16
3.4.1 Extração de DNA.....	17
3.4.2 Análise de PCR.....	18
3.5 Ensaio para avaliação dos clones OAS e JUG em condições de campo.....	18
3.6 Análises estatísticas.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1 Reação dos clones ao PVY.....	22
4.2 Genotipagem dos clones com o marcador SCAR.....	23
4.3 Avaliação dos clones OAS e JUG em condições de campo.....	27
5 CONCLUSÕES.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

RESUMO

RIBEIRO, Alexandre Marques. **Identificação de clones de batata imunes ao PVY, simplex e duplex e agronomicamente promissores.** 2004. 37 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A batata é multiplicada por propagação vegetativa, permitindo a disseminação de doenças, principalmente de natureza virótica e que ocasionam queda drástica de produtividade e qualidade. Diversas viroses ocorrem na cultura da batata. As principais são o enrolamento da folha da batata (PLRV), o vírus Y da batata (PVY) e o vírus X da batata (PVX). O modo mais eficaz para o controle dessas viroses é a resistência genética, uma vez que o controle químico dos insetos vetores tem sido pouco efetivo. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de identificar clones de batata imunes ao PVY por meio da enxertia sobre plantas de fumo infectadas (*Nicotiana tabacum*), identificar clones de batata com constituição genética duplex para o alelo *Ry* por meio de PCR, a partir de plantas derivadas de cruzamentos testes e avaliar agronomicamente os clones imunes ao PVY. Os ensaios de campo foram realizados na área experimental do Departamento de Biologia da UFLA, na safra de inverno. Foram encontrados 62 clones imunes ao PVY nos testes de enxertia. O emprego do marcador SCAR permitiu a identificação de dois clones com constituição genética duplex (*RyRyryry*) e que poderão ser empregados para gerar progênies com aproximadamente 80% de descendentes imunes ao PVY, quando cruzados com clones suscetíveis. Além disso, os clones identificados como imunes destacaram-se como materiais produtivos e com alto teor de matéria seca nos tubérculos.

* Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto – UFLA

ABSTRACT

RIBEIRO, Alexandre Marques Ribeiro. Identification of potato clones simplex and duplex to immunity to PVY and horticulturally promising. 2004. 37p. Dissertation (Master in Plant Genetics and Breeding) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

The potato is propagated vegetatively allowing the dissemination of viruses which can cause drastic reduction on tuber yield and crop phytosanitary conditions. Many viruses infect the potato and the most important are potato leaf roll virus (PLRV), potato virus Y (PVY) and potato virus X (PVX). The most efficient control measure for these viruses is genetic resistance, since the chemical control of insect vectors is not effective. This study aims to identify clones immune to PVY through potato grafting onto virus infected tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants and check their duplex genetic constitution for the *Ry* allele through PCR of plants derived from test-cross with a susceptible clone. The experimental clones were also horticulturally evaluated under field conditions. Field trials were carried out in the Federal University of Lavras, Brazil during the winter season (from May to September). Sixty-two clones were identified as immune to PVY through grafting. The SCAR marker allowed the identification of two clones duplex for the *Ry* allele (*RyRyryry*) which can be used as parentals to originate progenies with about 80% of immunity to PVY when crossed with susceptible clones. Besides, these clones were productive and presented high tuber dry matter content

* Adviser Professor: César Augusto Brasil Pereira Pinto – UFLA

posteriormente, a seleção de clones triplex (*RyRyRyry*) ou mesmo quadriplex (*RyRyRyRy*) que produzem descendências completamente resistentes ao PVY.

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de identificar clones de batata imunes ao PVY, por meio da enxertia sobre plantas de fumo infectadas; identificar clones de batata com constituição genética duplex para o alelo *Ry* por meio de PCR e avaliar características agronômicas dos clones imunes ao PVY.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade da semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) é um fator de suma importância para o rendimento da cultura, pois trata-se de uma planta propagada vegetativamente por meio de tubérculos que, por sua vez, são facilmente afetados por enfermidades fúngicas, bacterianas e, principalmente, de natureza virótica. As viroses são frequentemente relacionadas à degenerescência da batata-semente no Brasil. As principais são causadas pelo vírus do enrolamento das folhas da batata (PLRV), o vírus Y da batata (PVY), o vírus X da batata (PVX) e o vírus S da batata (PVS). O PVY tem sido um dos mais importantes, conforme vários relatos na literatura (Souza-Dias, 1995; Figueira et al., 1985; Figueira et al., 1995; Slack, 1995).

O controle do PVY é dificultado em função da sua forma de disseminação, que é realizada por vetores, principalmente o pulgão verde (*Myzus persicae*), de forma não persistente. O vetor pode adquirir o vírus após curto período e retê-lo por cerca de uma hora após o final da alimentação. Porém, alguns afídeos podem reter o vírus por até 24 horas (De Bokx & Huttinga, 1981).

As medidas de controle para as doenças viróticas são basicamente de caráter preventivo, sendo a resistência genética o modo mais eficaz, uma vez que já vem incluída como caráter da própria cultivar, além de suplantarem o controle químico dos insetos vetores, que tem sido pouco efetivo. A resistência ao PVY é controlada pelo alelo *Ry* (Muñoz et al., 1975), que confere imunidade (ou resistência extrema) já na forma simplex (*Ryryryry*) (Swieczynski, 1994). Uma das estratégias de melhoramento visando à resistência às viroses é o aumento da frequência dos alelos de resistência, pois ele permite a obtenção de genitores duplex (*RyRyryry*) que podem gerar mais de 80% de clones imunes ao PVY, facilitando os trabalhos de melhoramento (Pinto, 2003). É possível.

posteriormente, a seleção de clones triplex (*RyRyRyry*) ou mesmo quadriplex (*RyRyRyRy*) que produzem descendências completamente resistentes ao PVY.

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de identificar clones de batata imunes ao PVY, por meio da enxertia sobre plantas de fumo infectadas; identificar clones de batata com constituição genética duplex para o alelo *Ry* por meio de PCR e avaliar características agronômicas dos clones imunes ao PVY.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Principais doenças viróticas

A batata é propagada vegetativamente para fins comerciais e destaca-se por ser uma das plantas mais afetadas por viroses, sendo a batata-semente um eficiente meio de disseminação. Segundo Hooker (1981), mais de 24 viroses atacam a cultura da batata, entretanto, nem todas apresentam a mesma importância econômica (Salazar, 1982). No Brasil, as principais viroses são: o vírus do enrolamento das folhas da batata (*Potato leafroll virus* - PLRV), o vírus Y da batata (*Potato virus Y* - PVY), o vírus X da batata (*Potato virus X* - PVX) e o vírus S da batata (*Potato virus S* - PVS) (Pinto, 2003). A maior ou menor queda da produtividade dependem da cultivar, da estirpe do vírus e das condições edafoclimáticas da área de cultivo (Mizubuti, 1981), porém, a redução pode chegar até 80% pela ação do PLRV, 50% com o PVY, 10% com o PVX e 10% a 15% para o PVS (Figueira, 1999).

O PVY pertence ao gênero Potyvirus, apresenta-se em forma alongada, flexível, com 730nm de comprimento por 11 nm de diâmetro, contendo RNA de fita simples, do tipo infeccioso (De Bokx, 1981; De Bokx & Huttinga, 1981). Este vírus pode ser facilmente transmitido por métodos mecânicos, por enxertia e por muitas espécies de afídeos vetores, de forma não persistente; entretanto, o *Myzus persicae* tem sido considerado o mais importante (De Bokx, 1981). Neste tipo de transmissão, o vírus é associado ao estilete, não ocorrendo replicação viral no vetor. A aquisição das partículas virais ocorre logo após alguns segundos de alimentação nos tecidos da epiderme da planta. Imediatamente após a aquisição, os afídeos estão aptos a transmitir o vírus (Tamanda & Harrison, 1981; De Bokx, 1987). O PVY infecta muitas outras espécies cultivadas de grande importância econômica, especialmente da família Solanaceae, como o

tomate (*Lycopersicon sculentum* Mill.), o pimentão (*Capsicum annum* L.) e o fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (Hooker, 1981; Mizubuti, 1981; De Bokx, 1987).

2.2 Sintomatologia e tipos de resistência

Os vírus penetram nos organismos vegetais modificando seu crescimento e desenvolvimento. Como consequência dessa infecção, as plantas geralmente apresentam três tipos de sintomas: os morfológicos ou externos, os fisiológicos e os histológicos ou internos. Normalmente, o reconhecimento da doença no campo é feito com base nos sintomas morfológicos.

Os sintomas morfológicos mais comuns são o amarelecimento ou clorose, morte dos tecidos e mudanças na forma de crescimento das plantas. Os sintomas fisiológicos caracterizam-se por uma redução da translocação, inibição da fotossíntese e aumento da respiração. Os sintomas histológicos observados são o aumento ou diminuição no número e tamanho das células, que podem ainda morrer ou mostrar diversos tipos de alterações em suas organelas, como, por exemplo, modificações observadas nas mitocôndrias (Jensen & D'Arcy, 1995).

Os sintomas provocados por PVY dependem do genótipo e da idade do hospedeiro, da estirpe do vírus e dos fatores ambientais, como a temperatura. Eles podem variar desde infecção latente até a necrose pronunciada das folhas e morte das plantas (De Bokx & Piron, 1977; Hooker, 1981; Le Romancer & Nedellec, 1997). São conhecidos pelo menos três grupos de estirpes bem distintas do PVY que infectam a cultura da batata: PVY^v, PVYⁿⁱ e PVY^C (Beemster & De Bokx, 1987; Banttari et al., 1993). Em condições de campo, não se pode diferenciá-las sem o auxílio de técnicas laboratoriais, como o método sorológico DAS-ELISA ou o uso de plantas indicadoras apropriadas.

A estirpe PVY^O encontra-se disseminada no mundo todo, sendo predominante na América do Norte (Banttari et al., 1993). Quando ocorre,

provoca necrose em forma de riscas nas nervuras secundárias (face inferior do folíolo), com formato de anéis necróticos de cor marrom-escuro na parte apical da planta (Souza-Dias, 2001). A PVY^N (estirpe necrótica) é caracterizada por induzir necroses nas nervuras em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*). Sua ocorrência é mais comum na Europa, Rússia, partes da África e América do Sul (De Bokx, 1981). No Brasil, foi detectada em lotes de batata-semente oriundos da Argentina (Souza-Dias et al., 1992).

Diferente das outras estirpes, a PVY[~] não pode ser transmitida pelo pulgão *Myzus persicae*. Na Austrália e em algumas regiões da Europa (De Bokx, 1981), Equador (Fernandez-Northcote, 1990), América do Norte (Ellis et al., 1997), África do Sul e Nova Zelândia (Jefries, 1998), esta estirpe ocorre com maior frequência. No Brasil, esta virose ainda não foi encontrada em plantações comerciais (Daniels, 2000).

Estudos sobre a ocorrência e epidemiologia do PVY têm revelado que ele pode provocar a degenerescência da batata-semente, fator antes atribuído apenas ao PLRV. Figueira & Pinto (1995) encontraram, em campos de batata-semente estabelecido com a cultivar Achat no estado de Minas Gerais, a ocorrência de uma nova estirpe do PVY[~], com um comportamento bem diferente das detectadas anteriormente na região, sendo facilmente disseminada, podendo chegar a uma incidência de até 50% na segunda geração e cerca de 80% a 90% na terceira geração. Assim, a prevenção por meio do uso de cultivares resistentes representa a mais eficiente medida de controle para esta virose.

Existem vários tipos de resistência às viroses para a batata. São eles: resistência à infecção ou de campo, resistência associada à tolerância e intolerância, à hipersensibilidade, a resistência extrema ou imunidade e a tolerância aos vetores.

Salazar (1982) caracterizou a resistência à infecção ou resistência de campo com sendo a capacidade daquelas plantas que não são facilmente infectadas em condições de cultivo. Este tipo de resistência é controlado por genes menores (poligenes) e exigem que ambos os pais possuam, pelo menos, um nível intermediário de resistência. Desse modo, um genitor com baixa resistência diminui consideravelmente o nível de resistência da progênie (Ross, 1986).

As plantas tolerantes são aquelas que permitem a multiplicação dos vírus em seus tecidos, mas não apresentam sintomas severos e, conseqüentemente, não mostram perdas significativas. A resistência devido à intolerância caracteriza-se pela necrose em grande parte da planta, quando esta é infectada no campo (Hooker, 1981).

Conforme salienta Ross (1986), as resistências associadas à hipersensibilidade e à resistência extrema ou imunidade podem ser diferenciadas pela enxertia de batata em uma planta previamente infectada pelo vírus. Se o vírus não se translocar do porta-enxerto infectado para as partes da planta enxertada, confirma-se a resistência. No enxerto, a ocorrência de necrose na parte aérea é controlado pelos genes Na, Ns, Ny, e Nl, correspondente aos vírus A, S, e Y da batata e ao PLRV, respectivamente. Este tipo de reação provoca a morte rápida da célula hospedeira infectada, restringindo a translocação da partícula viral na planta, conferindo-lhe proteção absoluta (Hooker, 1981).

No caso da resistência extrema ou imunidade, os sintomas não são aparentes nas plantas quando os alelos Rx e Ry (Vírus X e Y) estão presentes. Por outro lado, podem ocorrer necroses nas margens das folhas inferiores em plantas com o alelo Ry (Ross, 1986). Portanto, a planta é imune quando o vírus não consegue se replicar na célula da planta hospedeira, nem mesmo quando se faz a enxertia de uma planta imune sobre uma planta infectada. Uma das grandes vantagens deste tipo de resistência é que não há alteração da proteção imune por

ação de fatores climáticos, como normalmente se observam nos outros tipos de resistência (Salazar, 1982).

A tolerância aos vetores caracteriza-se pela presença de estruturas morfológicas nas plantas, como tricomas glandulares que evitam a atividade e o desenvolvimento do vetor (CIP, 1990).

2.3 Porcentagem de danos e taxa de contaminação de cultivares

Plantas de batata infectadas com o PVY podem sofrer perdas que variam de 10% a 80%, dependendo da cultivar de batata, da época em que esta foi infectada e da estirpe do vírus (De Bokx & Huttinga, 1981; De Bokx & Bus, 1996). Lima & Hamerschmidt (1982) observaram que a incidência de 0,5% de PVY e de 7,4% de PLRV + PVY nas sementes foi capaz de provocar 16,7% e 51,1%, respectivamente, de redução na produção total de tubérculos da cv. Delta. Câmara et al. (1986b) observaram que houve redução média de 42,7% na produção de quatro cultivares de batata com 80,3% de PLRV e 49,6% de PVY em relação às sementes básicas com 2,1% de PLRV e 6,5% de PVY. Marton et al. (1993) encontraram redução de 67,1% na produção de tubérculos da cv. Achat e de 57,92% na cv. Baronesa, quando estas eram provenientes de sementes com 100% de infecção. Figueira et al. (1996), estudando um novo isolado da estirpe necrótica do PVY observaram que as plantas da cv. Achat, provenientes de sementes 100% infectadas, apresentaram diminuição de 23% no número e de 45% no peso dos tubérculos produzidos em relação às plantas sadias.

Quando o PVY é introduzido no campo via batata-semente contaminada, ele estará presente na lavoura desde os primeiros dias do ciclo da planta, causando perdas bem maiores. Além disso, haverá maior potencial de inóculo no campo, para ser disseminado pelos vetores, durante todo o ciclo da cultura. Em países como o Brasil, em que a população de insetos vetores é alta praticamente

durante todo o ano, a disseminação de viroses é bastante intensa. Andrade & Figueira (1991), estudando a degenerescência das cultivares Achat, Baraka, Baronesa, Bintje, Granola e Monalisa, e partindo de sementes básicas importadas, verificaram que a incidência variou de 13,5% a 27,4% na primeira geração até 45,1% a 83,9% na terceira geração no campo, mostrando como é rápida a degenerescência da batata nas condições brasileiras. Câmara et al. (1986a) observaram que cultivares suscetíveis, como a Bintje, apresentam 54% e 100% de incidência de PVY na quarta e na nona geração, respectivamente, quando multiplicadas no estado de Goiás. Barker (1994) observou também que sementes de batata cv. Record com 6,2% de incidência de PVY apresentaram 70% de incidência nos tubérculos produzidos, ao passo que sementes sem vírus apresentaram uma incidência final de 56%. Considerando-se essa facilidade de disseminação, aliada às perdas que o PVY pode provocar nas plantas infectadas, é de fundamental importância que as sementes a serem propagadas tenham a menor incidência de vírus possível (Weidemann, 1988).

2.4 Melhoramento visando resistência ao vírus Y da batata

A espécie *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* é um autotetraplóide (Hawkes, 1978 e Gottschalk, 1984), o faz com que a herança seja tetrassômica e apresente segregação bem discrepante da herança dissômica, normalmente apresentado pelas espécies diplóides. Nos autotetraplóides, cada alelo está presente quatro vezes, podendo apresentar, para cada loco gênico, cinco constituições genéticas diferentes em função do número de alelos dominantes, sendo: AAAA – quadriplex; AAAa – triplex; AAaa – duplex; Aaaa – simplex e aaaa – nuliplex. Dessa forma, a condição tetrassômica da batata cultivada é responsável pelo surgimento de um grande número de possíveis combinações genéticas, podendo gerar diversas proporções de descendentes com resistência ou suscetibilidade às viroses (Pinto, 1999).

As reações de resistência (hipersensibilidade e imunidade) são controladas por alelos maiores que atuam de forma não específica para as raças e, até o momento, não se observou quebra de resistência pelos diferentes vírus (Ross, 1986). Esse tipo de resistência ocorre, por exemplo, para o PVX e PVY. A reação ao PVY é controlada pelo alelo *Ry*, originário da subespécie *andigena* (*Ry_{adg}*) (Muñoz et al., 1975) e que confere um tipo de resistência extrema (também denominada de imunidade) que proporciona uma resistência completa (Swiezynski, 1994) já na forma simplex (*Ryryryry*). Assim, o melhoramento para a resistência ao PVY é facilitado pelo fato do controle ser monogênico, altamente herdável e durável (Mendoza, 1994).

O cruzamento entre um genitor imune simplex (*Ryryryry*) e um suscetível nuliplex (*ryryryry*) produz 50% de clones imunes. Porém, se o genitor é duplex (*RyRyryry*), essa proporção é superior a 80%, facilitando a obtenção de clones imunes.

Um problema grave para identificar plantas infectadas por PVY tem sido a dificuldade em reconhecer a infecção em algumas cultivares quando as estirpes fracas PVY⁰ e PVY^C tornam-se predominantes. Por outro lado, quando o vírus é inoculado em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*), podem ocorrer sintomas fortes que caracterizam a presença do vírus (Mendoza, 1994).

Outro problema que ocorre é a confiabilidade do teste utilizado para a verificação da reação das plantas ao vírus, por meio do método sorológico DAS-ELISA (*Double antibody sandwich - Enzyme linked immunosorbent assay*). Por ser uma reação bastante sensível, ela pode detectar quantidades pequenas de vírus, como lng (Figueira et al., 1997), além de ser rápida e poder ser empregada para um grande número de amostras ao mesmo tempo. O grande inconveniente da técnica é que muitas vezes ocorre escape do vírus, devido a uma inoculação mal feita ou até mesmo devido a fatores climáticos, não sendo possível detectar a sua presença, podendo-se, portanto, chegar a conclusões

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os ensaios foram conduzidos na área experimental e no Laboratório de Genética Molecular do Departamento de Biologia e no Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais do Departamento de Fitopatologia, ambos da Universidade Federal de Lavras.

3.2 Material experimental

Foram avaliados aproximadamente duzentos clones de batata (designados de OAS e JUG) obtidos no programa de melhoramento genético da UFLA e previamente selecionados para imunidade aos vírus X e Y pelo método DAS-ELISA (Silva, 1999; Gadum, 2001). Os clones JUG e OAS foram obtidos por meio de cruzamentos biparentais, realizados na UFLA, a partir de clones imunes aos vírus X e Y na condição simplex, introduzidos do Centro Internacional de la Papa (CIP), Peru. As genealogias dos clones XY, empregados como genitores para a obtenção das oito famílias OAS e para as seis famílias JUG, estão apresentadas na Tabela 1.

3.3 Avaliação da reação dos clones ao PVY por meio da enxertia em plantas de fumo infectado

Foram avaliados, por enxertia, 68 clones OAS e 6 clones JUG em condições de casa de vegetação. As enxertias foram realizadas em duas etapas. Na primeira etapa, foram avaliados 46 clones OAS no Departamento de Biologia da UFLA, no período de setembro e outubro de 2001 e, na segunda etapa, foram avaliados mais 22 clones OAS e 6 clones JUG no Departamento de Fitopatologia da UFLA, no período de março a abril de 2004. Foram utilizadas

aproximadamente 150 plantas de fumo cv. Turkish NN (TNN) para servirem como porta-enxerto. Como testemunha foi utilizada a cultivar Monalisa (suscetível), livre do vírus Y, enxertada em fumo infectado previamente por inoculação mecânica. Foi realizada também a enxertia da cultivar Monalisa sobre o fumo não infectado.

TABELA 1. Genealogia dos clones imunes ao vírus X e Y, identificados por Silva (1999) e Gadum (2001).

Famílias	Clones genitores	Pedigree dos clones genitores
OAS 1	XY9 x XY13	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x 575049)
OAS 2	XY2 x XY4	(Bzura x LT-7) x (LT-8 x C83.119)
OAS 3	XY9 x XY10	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x I-1039)
OAS 4	XY3 x XY9	(LT-8 x 575049) x (Atlantic x Y84.007)
OAS 5	XY2 x XY13	(Bzura x LT-7) x (LT-8 x 575049)
OAS 6	XY11 x XY10	(Y84.007 x Atlantic) x (LT-8 x I-1039)
OAS 7	XY2 x XY3	(Bzura x LT-7) x (LT-8 x 575049)
OAS 8	XY11 x XY3	(Y84.007 x Atlantic) x (LT-8 x 575049)
JUG 1	XY7 x XY9	(LT-8 x C83.119) x (Atlantic x Y84.007)
JUG 2	XY9 x XY13	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x 575.049)
JUG 3	XY17 x XY9	(LT-8 x AVRDC128719) x (Atlantic x Y84.007)
JUG 4	XY5 x XY9	(LT-8 x 575.049) x (Atlantic x Y84.007)
JUG 5	XY9 x XY19	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x C83.551)
JUG 6	XY9 x XY4	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x C83.119)

O inóculo foi obtido por maceração de folhas de plantas infectadas com o vírus Y (estirpe PVYⁿ-Br), proveniente da coleção do Departamento de Fitopatologia da UFLA e estabelecido na planta indicadora *Nicotiana tabacum*, cv. TNN. Esse macerado de folhas infectadas foi misturado com solução tampão fosfato 0,01M, pH 7,0, contendo sulfito de sódio na mesma molaridade, na proporção de 1g de folha/5ml de solução.

A inoculação mecânica das plantas de fumo foi feita cerca de cinco a dez dias após o transplântio, por fricção do extrato obtido nas folhas previamente pulverizado com carborundum (400 mesh). Em seguida, as plantas foram lavadas em água corrente e mantidas em casa de vegetação durante toda a condução do experimento.

As plantas foram observadas até o aparecimento dos sintomas típicos da virose (mosaico) quando se procedeu a enxertia. Os clones e a testemunha foram cortados na base e enxertados por garfagem no topo das plantas de fumo infectadas, amarrando-os com um fitilho plástico. As plantas foram etiquetadas individualmente e mantidas em casa de vegetação até a avaliação final do experimento. Após o pegamento, em torno de 15 a 20 dias, avaliou-se a reação dos clones ao PVY pelo método sorológico DAS-ELISA.

3.4 Determinação da constituição genética dos clones

Foram obtidas sementes botânicas do cruzamento teste envolvendo aproximadamente 75 clones OAS e 5 clones JUG com a cultivar suscetível Chiquita (ry ry ry ry). As descendências destes cruzamentos foram semeadas em bandejas de isopor, contendo substrato organo-mineral e transplantadas para vasos plásticos, aproximadamente 30 dias após o plantio. Em torno de 20 a 30 dias após o transplântio, foram coletados aproximadamente 2g de folhas jovens/planta de 30 plantas de cada cruzamento teste para a extração de DNA (item 3.4.1.), a fim de realizar a análise molecular. Foi feita também a análise

molecular de duas testemunhas suscetíveis (cvs. Monalisa e Chiquita) e de dois clones (XY9 e XY7) originados do CIP – Peru e classificados como resistentes, por possuírem o alelo Ry e apresentar uma banda de 321pb. O par de *primers* SCAR utilizado, designado de RYSC3 de acordo com Kasai et al (2000), apresenta a seqüência: 5' ATCACTCATCTAAATTTGATGG 3' e 5' AGGATATACGGCATCATTTTTCCA 3'.

A constituição genética de cada clone foi determinada por meio da proporção de plantas descendentes que apresentaram a banda (resistentes) ou não (suscetíveis).

3.4.1 Extração de DNA

Para a extração de DNA, utilizou-se o procedimento de Rogers & Bendich (1988). As folhas foram maceradas com areia esterilizada, juntamente com 10ml de tampão de extração pré-aquecido a 65°C (0,2g de brometo de cetiltrimetil-amônio (CTAB), 1ml de Tris 1M, 0,4ml de EDTA 0,5M, 0,82g de NaCl, 0,1g de polivilpirrolidona 40.000, 8,6ml de água pura e 40µl de 2-β-mercaptoetanol. Em seguida, o macerado foi mantido em banho-maria a 65°C por 30-40 minutos, agitando-se 3 a 4 vezes. Em seguida, foram adicionados 10ml da solução 24 clorofórmio:1 álcool isoamil e o material foi centrifugado durante 10 minutos na velocidade de 5.000 rpm. O sobrenadante foi coletado e misturado com 30ml da solução 6 álcool 95°:1 acetato de amônio 7,5M e mantido no freezer por cerca de uma noite. Em seguida, foi coletado o DNA e foram adicionados de 200-300µl da solução Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 8,0 (TE). Após o DNA ter se dissolvido, foi feita uma segunda extração com clorofórmio/álcool isoamil. O sobrenadante foi coletado, adicionado o triplo do seu volume com a solução 20 álcool 95°:1 acetato de sódio 3M e mantido no freezer por, pelo menos, uma hora ou até ocorrer a precipitação do DNA. A solução de álcool-acetato foi eliminada e o DNA dissolvido em 200-300µl de

e) nota de aparência dos tubérculos, levando em consideração o formato, a cor da película, a cor da polpa, a profundidade de olhos ou gemas e a ocorrência de defeitos. As notas variaram de 1 a 5 (1 - muito ruim e 5 - muito bom) e foram tomadas por dois avaliadores.

Os clones foram classificados pelo índice da soma de postos de Mulamba & Mock (1978), considerando a produção de tubérculos por planta, a porcentagem de tubérculos graúdos, o peso médio de tubérculos graúdos, o peso específico de tubérculos e a nota de aparência dos tubérculos.

3.6 Análises estatísticas

Foram realizadas análises de variância e testes de médias de Scott-Knott.

A herdabilidade no sentido amplo para cada característica foi estimada por meio da seguinte expressão:

$$h^2_a = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_E^2 + \sigma_G^2} \times 100$$

em que:

σ_G^2 : é a variância genética

σ_E^2 : é a variância ambiental.

Os coeficientes de variação genético, ambiental e o índice b (relação CV_g/CV_e) para as características avaliadas foram estimados a partir das seguintes expressões:

$$CV_G (\%) = \frac{\sqrt{\sigma_G^2}}{\mu} \times 100$$

$$CV_E (\%) = \frac{\sqrt{\sigma_E^2}}{\mu} \times 100$$

$$b = \frac{CV_G}{CV_E}$$

em que:

CV_G : é o coeficiente de variação genético em porcentagem;

CV_E : é o coeficiente de variação ambiental;

μ : é a média geral do ensaio.

Para testar a constituição genética dos clones, foi empregado o teste de χ^2 de acordo com as hipóteses:

H_0 : segregação de 1 planta resistente : 1 planta suscetível (constituição simplex);

H_1 : segregação de 5 plantas resistentes : 1 planta suscetível (constituição duplex).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Reação dos clones ao PVY

Foram encontrados 62 clones imunes ao PVY nos testes de enxertia. Estes clones possuem maior adaptação às condições ambientais da região Sul de Minas Gerais que os clones originalmente introduzidos do CIP (Silva, 1999). Segundo Ross (1986) quando uma cultivar possui a forma de resistência extrema (imunidade) o vírus não consegue se replicar na célula da planta nem mesmo após a enxertia de uma planta imune em uma planta infectada. Portanto, o teste de imunidade através da enxertia (Figura 1), possibilitou a obtenção de resultados importantes, pois esses clones em experimentos anteriores tinham sido avaliados como resistentes ao PVX e PVY em duas inoculações consecutivas realizadas por Silva et al. (1999). Isto possibilita a sua pronta utilização como melhores genitores no programa de melhoramento genético uma vez que, além de serem mais produtivos, possuem ainda melhores características de qualidade de tubérculos, como o teor de matéria seca mais elevado.



FIGURA 1. Planta de fumo (A) infectada com o PVY e enxertada com clone imune (B) de batata.

4.2 Genotipagem dos Clones com o marcador SCAR

O teste de enxertia foi eficiente para identificar os clones imunes (Figura 1), porém, o emprego do marcador SCAR facilitou sobremaneira esta identificação. A avaliação das plantas do cruzamento teste com o marcador SCAR permite a identificação do alelo *Ry*, podendo-se fazer inferências sobre a constituição genética do clone parental. O marcador pode ser empregado em plantas jovens (com poucos dias de germinação ou emergência), agilizando o processo de seleção dos clones imunes. Além disso, não requer preparo de inóculo, plantio de plantas de fumo e mesmo a enxertia. A detecção da banda que identifica o clone imune é fácil de ser feita (Figuras 2 a 4) não deixando margem a dúvidas quanto à presença do alelo *Ry*, que confere a imunidade. Entretanto, notou-se que algumas progênies apresentaram número inferior de plantas com a respectiva banda. Por exemplo, clones simplex em cruzamentos teste com a cultivar Chiquita, deveriam apresentar aproximadamente 50% de plantas imunes (com a banda) e 50% de plantas suscetíveis (sem a banda) (Figura 4), mas apresentaram testes de χ^2 significativos para a segregação 1:1, devido ao excesso de plantas sem a banda (Tabela 2). Estes resultados podem ser interpretados como possíveis falhas na reação de PCR, que impediram o desenvolvimento das bandas, conferindo menor número de plantas nessa classe. A maioria dos clones avaliados para a presença ou ausência de bandas, apresentou constituição genética simplex (*Ryryryry*), semelhante aos clones originais (Tabela 1). Contudo, foram identificados dois clones (OAS 3.30 e JUG 2.20) com constituição duplex (*RyRyryry*) e que poderão ser empregados para gerar progênies com aproximadamente 80% de descendentes imunes ao PVY (Tabela 2 e Figuras 2 e 3). Vale ressaltar, que a identificação de clones duplex e seu intercruzamento possibilitariam a obtenção de clones triplex (*RyRyRyry*) e quadriplex (*RyRyRyRy*). Este resultado é animador sob o ponto de vista do melhoramento porque permitirá, a partir de agora, obter grandes populações de

clones imunes e que deverão passar por avaliações apenas para caracteres agronômicos. Os clones cujos cruzamentos testes apresentaram alta proporção de plantas imunes (com bandas) certamente são duplex, pois em nenhum caso foi observada a presença de bandas em clones suscetíveis. Desse modo, não poderia ocorrer proporções tão elevadas de plantas com a banda caso a constituição genética fosse diferente da duplex.

É conveniente ter em mente que as constituições genéticas dos clones quanto ao loco *Ry* só podem ser eficientemente descobertas pelo cruzamento teste com material suscetível (*ry ry ry ry*). Nesse contexto, o marcador SCAR mais uma vez se mostra superior ao teste de enxertia, já que são necessários cerca de 30 descendentes de cada clone para se ter nível de confiança superior a 95% de probabilidade sobre a sua constituição genética. No caso de se empregar o teste de enxertia esta avaliação seria mais trabalhosa, morosa e cara.

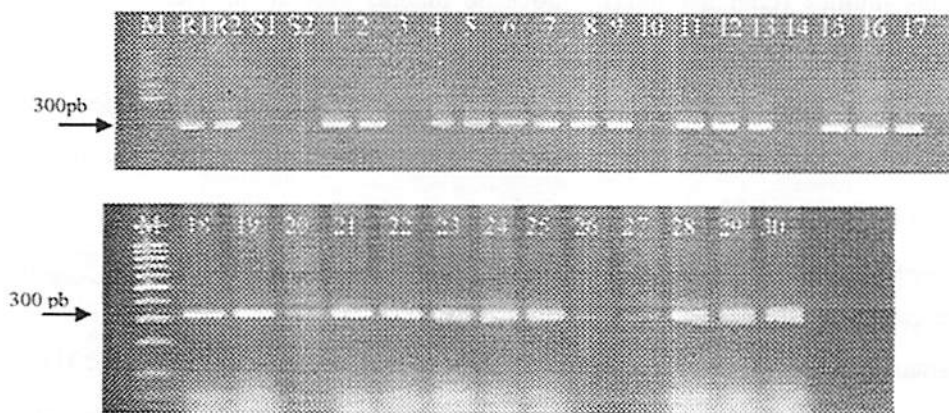


FIGURA 2. Presença ou ausência de bandas identificadas pelo par de primers RYSC3 em 30 plantas (1 a 30) da descendência do cruzamento teste do clone OAS 3-30 e das testemunhas resistentes R1 (XY9) e R2 (XY7) e suscetíveis S1 (Chiquita) e S2 (Monalisa), M é marcador de tamanho de banda 100 pb. Note a proporção de 24 plantas com presença da banda (imunes) e de 6 plantas sem a banda (suscetíveis). UFLA, 2003.

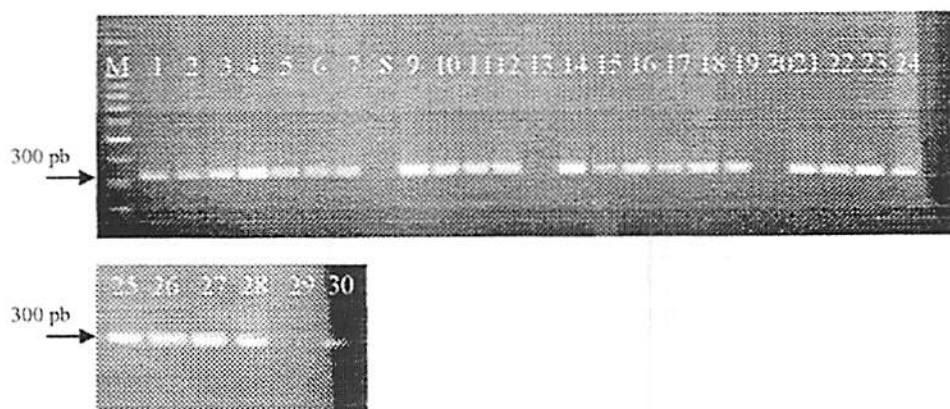


FIGURA 3. Presença ou ausência de bandas identificadas pelo par de primers RYSC3 em 30 plantas (1 a 30) da descendência do cruzamento teste do clone JUG 2-20 e das testemunhas resistentes R1 (XY9) e R2 (XY7) e suscetíveis S1 (Chiquita) e S2 (Monalisa), M é marcador de tamanho de banda 100 pb. Note a proporção de 26 plantas com presença da banda (imunes) e de 4 plantas sem a banda (suscetíveis).UFLA, 2003.

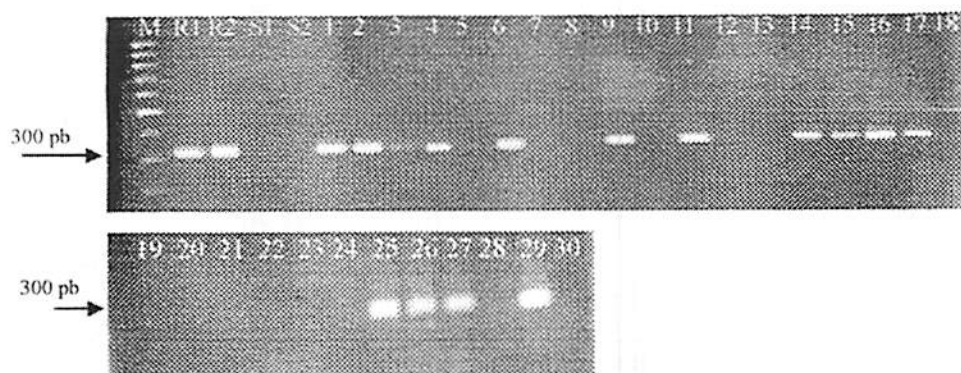


FIGURA 4. Presença ou ausência de bandas identificadas pelo par de primers RYSC3 em 30 plantas (1 a 30) da descendência do cruzamento teste do clone OAS 2-65 e das testemunhas resistentes R1 (XY9) e R2 (XY7) e suscetíveis S1 (Chiquita) e S2 (Monalisa), M é marcador de tamanho de banda 100 pb. Note a proporção de 16 plantas com presença da banda (imunes) e de 14 plantas sem a banda (suscetíveis).UFLA, 2003.

TABELA 2. Número de plantas avaliadas e presença ou ausência da banda de 321 pb do marcador SCAR e valores de χ^2 para a constituição genética simplex (segregação 1:1) ou duplex (segregação 5:1) admitindo segregação cromossômica, em clones obtidos do cruzamento teste (Clones x cv. Chiquita). UFLA, Lavras – MG, 2003.

Clones	Número de Plantas	Presença de banda		Constituição Genética	
		com banda	sem banda	Simplex 1:1	Duplex 5:1
OAS 2.111	30	2	28	22,53	126,96
OAS 2.65	30	16	14	0,13 ns ^L	19,44
OAS 2,88	30	0	30	30,00	150,00
OAS 1,21	30	13	17	0,53 ns	34,56
OAS 1,66	30	15	15	0,00 ns	24,00
OAS 3,30	30	24	6	10,80	0,24 ns
OAS 3,48	30	5	25	13,33	96,00
JUG 2,20	30	26	4	16,13	0,24 ns
OAS 3,34	20	6	14	3,20 ns	40,96
OAS 1,91	20	3	17	9,80	67,24
OAS 3,27	20	5	15	5,00	49,00
OAS 2,22	20	5	15	5,00	49,00
OAS 3,45	20	3	17	9,80	67,24
OAS 2,74	20	4	16	7,20	57,76
OAS 1,28	20	2	18	12,80	77,44
OAS 4,40	20	2	18	12,80	77,44
OAS 1,56	20	4	16	7,20	57,76
OAS 6,75	20	6	14	3,20 ns	40,96
OAS 1,120	20	4	16	7,20	57,76
OAS 1,41	20	3	17	9,80	67,24
OAS 6,34	20	3	17	9,80	67,24
OAS 1,102	20	3	17	9,80	67,24

^L Não significativo pelo teste de χ^2

4.3 Avaliação dos clones OAS e JUG em condições de campo

Em todas as características estudadas nos experimentos, os clones apresentaram diferenças significativas no nível de 1 e 5% de probabilidade (Tabela 4), evidenciando a existência de variabilidade entre os materiais genéticos estudados.

Quanto às médias encontradas para cada característica, estas foram de 541,2 g/planta para produção de tubérculos, 67,3% para a porcentagem de tubérculos graúdos, 120,7g para o peso médio de tubérculos graúdos e de 1,0822 para o peso específico de tubérculos. Com exceção do peso específico de tubérculos essas médias são consideradas relativamente baixas, e podem ser atribuídas pela alta taxa de infestação dos tubérculos-semente pelo vírus do enrolamento das folhas da batata (PLRY).

O desempenho agrônômico dos clones imunes pode ser avaliado pelos resultados apresentados na Tabela 3. De modo geral, os clones foram semelhantes a cultivar testemunha, Monalisa, para a produtividade de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos e peso médio de tubérculos graúdos. No entanto, muitos clones apresentaram peso específico de tubérculos superior à testemunha, ressaltando a sua melhor qualidade para a fritura. É importante mencionar que a cv. Monalisa não possui qualidades adequadas para a fritura, ao passo que vários clones apresentaram qualidades que poderiam lhes assegurar a utilização na indústria, que requer peso específico superior a 1,080 (Gould, 1980).

Os coeficientes de variação ambiental foram de magnitudes diferentes para cada caráter (Tabela 4) e ficaram entre 0,53%, obtidos para o peso específico de tubérculos, e 26,62% para a produção de tubérculos por planta. De acordo com Vermeer (1990), estimativas de coeficientes de variação ambiental acima de 30% são comuns na cultura da batata, principalmente para as

características ligadas à produção, como é o caso da produção de tubérculos por planta.

TABELA 3. Médias dos clones experimentais e da testemunha Monalisa para a produção de tubérculos por planta (g), % de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos (g), peso específico de tubérculos, aparência de tubérculos e índice de Mulamba e Mock, avaliados em cinco ensaios nas safras de inverno de 2001, 2002 e 2003 em Lavras - MG.

Clones	Produção por Planta	% Tub. Graúdo	Peso médio tuber. graúdo	Peso específico	Aparência	Mulamba e Mock
OAS 2-74	697 A ¹²	83 a	152 a	1,0899 a	3 a	99 a
OAS 6-19	703 a	71 a	113 b	1,0940 a	2 b	100 a
OAS 4-67	644 a	80 a	128 a	1,0880 a	2 b	107 a
OAS 2-34	609 a	84 a	135 a	1,0838 a	2 b	108 a
OAS 2-42	607 a	71 a	139 a	1,0865 a	2 b	113 a
OAS 2-103	554 a	80 a	135 a	1,0857 a	3 a	117 a
OAS 6-34	676 a	81 a	129 a	1,0797 b	2 b	125 a
OAS 2-35	570 a	80 a	121 a	1,0833 a	2 b	130 a
OAS 2-88	594 a	66 a	114 b	1,0870 a	2 b	133 a
JUG 1-03	561 a	68 a	130 a	1,0841 a	2 b	137 a
JUG 1-09	579 a	73 a	131 a	1,0801 b	3 a	138 a
OAS 3-45	463 b	81 a	131 a	1,0810 b	2 b	144 b
OAS 7-11	470 b	79 a	131 a	1,0804 b	2 b	144 b
OAS 3-54	665 a	77 a	124 a	1,0782 b	2 b	147 b
OAS 1-02	552 a	61 b	117 b	1,0875 a	3 a	148 b
OAS 1-28	588 a	68 a	122 a	1,0792 b	3 a	151 b
OAS 1-64	554 a	77 a	112 b	1,0803 b	2 b	151 b
OAS 3-37	608 a	72 a	122 a	1,0827 a	3 a	151 b
OAS 2-83	450 b	61 b	137 a	1,0833 a	2 b	152 b
JUG 1-05	651 a	77 a	117 b	1,0761 b	2 b	153 b
OAS 1-21	626 a	66 a	112 b	1,0803 b	2 b	154 b
OAS 2-22	531 b	56 b	127 a	1,0820 b	2 b	154 b
OAS 2-108	572 a	64 b	125 a	1,0791 b	2 b	157 b
OAS 2-116	458 b	66 a	117 b	1,0831 a	2 b	157 b
OAS 3-30	593 a	76 a	134 a	1,0710 b	2 b	159 b
JUG 1-14	516 b	69 a	125 a	1,0799 b	2 b	160 b

“...continua...”

“TABELA 3, Cont.”

Clones	Produção por Planta	% Tub. Graúdo	Peso médio tuber. graúdo	Peso específico	Aparência	Mulamba e Mock
OAS 2-123	383 b	52 b	104 b	1,0888 a	2 b	161 b
OAS 7-10	591 a	69 a	112 b	1,0786 b	2 b	162 b
OAS 1-66	520 b	66 a	106 b	1,0804 b	2 b	163 b
OAS 1-61	453 b	60 b	113 b	1,0840 a	2 b	164 b
OAS 2-30	522 b	55 b	116 b	1,0808 b	2 b	165 b
OAS 2-89	519 b	44 b	98 b	1,0876 a	2 b	169 b
OAS 4-24	395 b	63 b	120 b	1,0836 a	2 b	169 b
OAS 8-15	443 b	68 a	98 b	1,0798 b	2 b	170 b
OAS 1-44	402 b	55 b	95 b	1,0856 a	2 b	171 b
OAS 6-67	511 b	56 b	125 a	1,0784 b	2 b	172 b
OAS 7-40	406 b	52 b	118 b	1,0834 a	2 b	173 b
OAS 2-111	504 b	61 b	118 b	1,0764 b	2 b	179 b
OAS 1-15	441 b	45 b	96 b	1,0850 a	2 b	182 b
JUG 1-15	360 b	59 b	107 b	1,0775 b	3 a	198 b
Monalisa	648 a	67 a	143 a	1,0765 b	3 a	143 b

^{II} Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott e Knott (P<0,05).

TABELA 4. Resumo da análise de variância conjunta, para os caracteres de produção por planta, % de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos, aparência de tubérculos e índice de Mulamba e Mock para os clones JUG e OAS avaliados nas safras de inverno de 2001, 2002 e 2003 em Lavras - MG.

FV	GL	QM					
		Produção/Planta (g)	% Tubérculos Graúdos	PMT Graúdos (g)	Peso específico (x10 ⁻⁴)	Aparência	Mulamba e Mock
Ano	2	7432,464ns	379,977ns	322,269ns	34,731**	1,779*	5152,389ns
Clone	40	73844,505**	973,746**	1514,988*	1,743**	1,26**	4694,955**
Ano x Clone	80	62259,864**	500,352**	1097,943ns	0,981ns	0,681*	2781,24*
Erro	240	36385,751	294,458	910,152	0,986	0,478	2062,389
CV(%)		26,62	19,16	15,84	0,53	21,30	20,36
Média geral		541,2	67,3	120,7	1,0822	2,2	149,5

** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Quanto aos parâmetros genéticos estimados, os coeficientes de herdabilidade no sentido amplo para a seleção com base na média dos ensaios foram moderados (Tabela 5) e permitem ganhos com a seleção para a maioria dos caracteres, inclusive para o índice de Mulamba & Mock (1978) que considera a seleção de vários caracteres simultaneamente.

TABELA 5. Estimativas das herdabilidades ao nível de clones (h^2_a %), dos coeficientes de variação genéticos (CV_g %) e ambiental (CV_e %) e variância genética σ_g^2 para os caracteres de produção por planta, % de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos, aparência de tubérculos e índice de Mulamba e Mock para os clones experimentais avaliados nas safras de inverno de 2001, 2002 e 2003 em Lavras - MG.

Parâmetros	Produção/ Planta (g)	% Tubércu los Graúdos	PMT Graúdos (g)	Peso especifi co	Aparên cia	Mulamba e Mock
h^2_a	50,73	69,76	39,92	43,43	62,15	56,07
CV_g	11,92	12,90	6,79	0,26	13,63	11,44
CV_e	35,25	25,49	24,99	0,91	31,43	30,38
σ_g^2	4162,08	75,47	67,20	$0,08.10^{-4}$	0,09	292,51
CV_g/CV_e	0,34	0,51	0,27	0,29	0,43	0,38

5 CONCLUSÕES

Foram identificados clones de batata imunes ao vírus Y (PVY) por meio de enxertia em plantas de fumo infectado.

O marcador SCAR, denominado RYSC3, foi eficaz na identificação de clones imunes ao vírus Y (PVY).

Os clones imunes se destacaram como materiais produtivos e com excelente peso específico, indicando a viabilidade de serem utilizados como genitores em programas de melhoramento de batata.

O cruzamento teste foi apropriado para a identificação de clones com constituição genética duplex (RyRyry) por meio do marcador SCAR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BANTTARI, E. E.; ELLIS, P. J.; PAUL KHURANA, S. M. Management of Diseses Caused by Viruses and Viruslike Pathogens. In: ROWE, R. C. (Ed.). *Potato Health Management*. St Paul, MN: APS press, 1993. Chap. 14, p. 127-133.

BEEEMSTER, A. B. R.; DE BOKX, J. A. Surrey of properties and symptoms. In: DE BOKX, J. A.; WANT, J. P. H.; VANDER. (Ed). *Viruses of potato an seed potato production*. 2. ed. Wageningen: Pudoc, 1987. p. 84-113.

BRANDOLINI, A.; CALIGARI, P. D. S.; MENDOZA, H. A. Combining resistance to potato leafroll virus (PLRV) with immunity to potato viruses X and Y (PVX and PVY). *Euphytica*, Wageningen, v. 61, n. 18, p. 37-42, Apr. 1992.

CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. *Control de Enfermedades Vinóticas Y Similares: informe anual 90*. Lima, 1990. p. 103.

DANIELS, J. Identificação Sorológica de estirpes do vírus Y da batata do Sul do Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, p. 265, ago. 2000. Suplemento.

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.; HUTTINGA, H. *Potato virus Y*. Kew, England: Commoniw. Mycological Institute/Association Biology, 1981.

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^N and Y^O. *Potato Research*, Wageningen, v. 20, n. 3, p. 207-213, 1977.

DE BOKX, J. A.; VAN DER WANT, J. P. H. *Viruses of Potatoes an seed-potato production*. Wageningen: Pudoc, 1987. 259 p.

ELLIS, R.; STACE-SMITH, E. ; DE VILLIERS, D. Identification and geographic distribution of serotypes. *Plant Disease*, St. Paul, v. 81, n. 5, p. 481-484, May 1997.

FERNANDEZ-NORTHCOTE, E. N. Control of virus and virus-like diseases of potato and sweet potato. In: PLANNING CONFERENCE, 3., 1990, Lima, Peru. Report... Lima, Peru, 1990. p. 20-22.

FIGUEIRA, A. R. *Viroses da Batata: Situação Atual e Perspectivas Futuras. Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 86-96, 1999.

FIGUEIRA, A. R.; MORAES, F. H. R.; PINTO, A. C. New PVY necrotic strain is causing great losses in Brazil. *Phytopathology*, St. Paul, v. 86, n. 11, p. 585, Nov. 1996a.

FIGUEIRA, A. R.; PINTO, A. C. S. Estirpe necrótica do vírus Y da batata em sementes importadas está causando problemas ao bataticultor mineiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 20, p. 299, ago. 1995. Suplemento.

FIGUEIRA, A. R.; PINTO, A. C. S.; MORAES, F. H. R. Alta incidência da nova estirpe necrótica do vírus y da batata está ocorrendo em todos os estados produtores do Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 21, p. 432, ago. 1996b. Suplemento.

FIGUEIRA, A. R.; SANTOS, R. C. Caracterização da nova estirpe necrótica do vírus Y da batata. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 22, p. 339, jul. 1997. Suplemento.

FIGUEIRA, A. R.; SOUZA, P. E.; CARDOSO, M. R. O.; GASPAR, J. O.; PÁDUA, J. G. Ocorrência dos Vírus que infectou a batateira da região sul de Minas Gerais. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 10, n. 2, p. 307, jun. 1985b.

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, MG.

GOTTSCHALK, W. The origin of the potato: an open problem. *The Nucleus*, Oxford, v. 27, n. 1, p. 37-44, 1984.

GOULD, W. A. Quality of potatoes for chip manufacture. In: THE POTATO ASSOCIATION OF AMERICA. Symposium of potato quality industry needs for growth. Grand Forks, 1988. p. 10-20.

HAWKES, J. G. History of the potato. In: HARRIS, P. M. (Ed.). **The potato Crop: the scientific basis for improvement**. London: Chapman & Hall, 1978. p 14.

HOOKER, W. J. **Compendium of potato diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, Saint Paul: 1981. 125 p.

HOWARD, H. W. **Genetics of the potato (*Solanum tuberosum*)**. London: Logos Press, 1957.

JAYASINGHE, U. Resistência a los virus de la papa com special enfasis en el virus del enrollamiento de las hojas (PLRV). In: HIDALGO, O. A.; JEFRIES, C. **FAO/EPAGRI. Technical guidelines for the safe movement of germoplasm**. Rome, 1998. 177 p. (Potato, n. 19).

JENSEN, S. G.; D' ARCY, C. J. Effects of barley yellow dwarf on host plants. In: D' ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. **Barley yellow dwarf 40 years of progress**. St. Paul: APS Press/The American Phytopathological Society, 1995. p. 55-74.

KASAI, K.; MORIKAUBA, Y.; SARRI, V. A.; VAP-KONEN, J. P. T.; GEBHARDT, C.; WATANABE, K. N. Development of SCARS markes to the PVY resistance gene Kyady based on a common feature of plant disease resistance genes. **Genome**, Ottawa, v. 43, n. 1, p. 1-8, Feb. 2000.

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

MENDOZA, H. A. Development of potatoes with multiple resistance to abiotic stress. In: ZEHNDER, G. W. M.; POWELSON, M. L.; JANSSON, R. K. **Advances in potato pest: biology and management**. Lima: CIP, 1994. p. 627-642.

MENDOZA, H. A. Merojamento de papa para resistêcia a los vitus Y, X asi como al enrollamiento de los Hojas: Estrategia de investigation de seleccion. In: HIDALGO, O. A; RINCON, H. R. (Ed.). **Avances em el mejoramiento genético de la papa em los paises dol cono sur**. Lima: CIP, 1990. p. 133-147.

MIHOVILOVICH, E. Combatiendo los enfermedades de la papa: Desarrollo de clones parentales inmunes a los virus X e Y de la para. In: HOOKER, W. J.

(Ed). **Compendio de enfermedades de la papa**. Lima: CIP, 1996. v. 22, n. 2, p. 6-9.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores e suas características. In: **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

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

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the method Eto-Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plants traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 40 - 51, 1978.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, New York, v. 262, n. 4, p. 36-43; Apr. 1990.

MULLIS, K. B.; FALLOONA, F. Specific Synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods Enzymology**, San Diego, v. 55, p. 335-350, 1987.

MUÑOZ, F. J.; PLAINSTED, R. L. , THURSTON, H. D. Resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. **American Potato Journal**, Orono, v. 52, n. 4, p. 107-115, Apr. 1975.

PAINTING, K. **Measuring genetic variation using molecular markers**. Roma: Brain Ford-Lloyd/International Plant Genetic Resource, 1996. 82 p.

PASSOS-BUENO, M. R.; ZATZ, M. A. A técnica de PCR e suas aplicações em doença genéticas humanas. In: LARA, F. J. S. (Org.). **Hibridação de ácidos nucléicos**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. p. 72-98.

PINTO, C. A. B. P. Cultivares de batata resistentes a viroses. **Batata Show**, Itapetinga, v. 3, n. 7, p. 11, jul. 2003.

PINTO, C. A. B. P. Melhoramento genético da batata. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 120-128, 1999.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 6. ed. São Paulo: Globo, 2001. 550 p.

RIBEIRO, A. M.; PINTO, C. A. B. P.; SILVA, O. A.; FIGUEIRA, A. R. Identificação de clones de batata imunes ao PVY. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro, B, 2003. Anais... Porto Seguro, 2003.

RINCON, H. R. (Ed.). *Avances em el mejoramiento genético de la papa em los países del como sur*. Lima: CIP, 1990. p. 121-131. .

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

SALAZAR, L. F. *Enfermedades virósas de la papa*. Lima: CIP, 1982. 111 p.

SEQUEIRA, J. C. Técnicas sorológicas e biomoleculares de diagnóstico de vírus e de viróides em plantas. *Summa Phythopathologica*, Oeiras, v. 18, n. 2, p. 80-110, abr./jun. 1992.

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, MG.

SLACK, S. A. Identification of an isolate of the Andean strain of potato virus Sin North America. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 67, p. 786-789, 1993.

SOUZA-DIAS, J. A. C. Batata-semente certificada da Argentina encontra-se dentro dos padrões brasileiros de sanidade a vírus, mas a presença dos vírus Y^N e do mosaico da alfafa suscita preocupações. *Summa Phythopathologica*, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 35, 1992.

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

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

SWIEZYNSKI, K. M. Inheritance to resistance to viruses. In: BRADSHAW, J. E.; MACKAY, G. R. *Potato Genetics*, Walling ford: CAB International, 1994. p. 339-363.

TAMADA, T.; HARRISON, B. D. Quantitative Studies on the uptake and retention of potato leafroll virus by aphids in laboratory and field conditions. *Annals... Wellesbourne*, v. 98, p. 261-276, 1981.

WEIDEMANN, H. L. Importance and Control of potato virus Y^N (PVY^N) in seed potato production. *Potato Research*, Wageningen, v. 31, n. 1, p. 85-94, 1988.