



**CLONES DE BATATA IMUNES AO PVY  
DERIVADOS DA cv. CHIQUITA x CLONES  
SIMPLEX PARA O ALELO Ry**

**DIOGO GONÇALVES NEDER**

**2005**

**DIOGO GONÇALVES NEDER**

**CLONES DE BATATA IMUNES AO PVY DERIVADOS DA cv.  
CHIQUITA x CLONES SIMPLEX PARA O ALELO Ry**

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. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2005

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

Neder, Diogo Gonçalves

Clones de batata imunes ao PVY derivados da cv. Chiquita x clones simplex para o alelo Ry / Diogo Gonçalves Neder. – Lavras : UFLA, 2005.  
47 p. : il.

Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto  
Dissertação (Mestrado) – UFLA.  
Bibliografia.

1. Batata. 2. Clone. 3. Cruzamento. 4. Doença. 5. Pinta preta. I.

Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.2194  
-635.65223

**DIOGO GONÇALVES NEDER**

**CLONES DE BATATA IMUNES AO PVY DERIVADOS DA cv.  
CHIQUITA x CLONES SIMPLEX PARA O ALELO Ry**

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”.

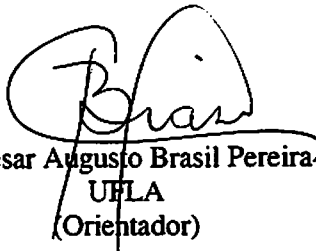
APROVADA em 5 de agosto de 2005

Prof.Dr. João Bosco dos Santos

UFLA

Profª.Dra. Antônia dos Reis Figueira

UFLA



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

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

**Dedico**

**Aos meus pais, Valdir e Dilma, pela vida, apoio e compreensão.**

**À minha namorada Ludmilla, pelo amor, carinho e compreensão.**

**Ofereço**

**À minha avó Maria (in memoriam) por ter existido e contribuído decisivamente para minha formação como pessoa.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a vida.

À Universidade Federal de Lavras, por toda minha formação acadêmica.

Ao Professor Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto pela orientação, tolerância e disponibilidade durante o curso.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos.

A Professora Dra Antônia dos Reis Figueira, pelos conhecimentos transmitidos, apoio e uso do Laboratório de Virologia Vegetal.

Aos Professores João Bosco dos Santos e Magno Patto Ramalho, pelo conhecimentos transmitidos e disponibilidade.

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

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

Aos meus amigos André, Marcelo, Sarah e Matheus, pela amizade durante o curso.

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

À minha namorada, pelo companheirismo, compreensão e afeto.

A todos que contribuíram para elaboração deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 A cultura da batata no Brasil e no mundo.....	3
2.2 Doenças viróticas da batateira .....	4
2.2.1 Vírus Y da batata ( PVY-Potato virus Y).....	5
2.2.2 Vírus X da batata ( PVX-Potato virus X).....	6
2.3 Resistência genética da batata a viroses.....	7
2.3.1 Resistência genética ao PVY.....	8
2.3.2 Resistência genética ao PVX.....	10
2.4 Doenças fúngicas da batateira.....	11
2.4.1 Pinta preta ( <i>Alternaria solani</i> ).....	11
2.4.2 Resistência genética à pinta preta.....	12
2.5 Estratégia de melhoramento visando resistência múltipla a doenças.....	13
2.6 Uso de marcadores no melhoramento visando resistência a doenças.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Material experimental.....	18
3.2 Ensaio para avaliação dos clones DGN em condições de campo.....	20
3.3 Análises estatísticas.....	22
3.4 Extração de DNA.....	24
3.5 Análise de PCR.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26

4.1 Avaliação das famílias DGN em campo.....	26
4.2 Identificação de clones imunes ao PVY com o marcador SCAR....	30
4.3 Avaliação dos clones DGN em campo.....	34
4.4 Seleção dos clones DGN.....	36
5 CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40



## RESUMO

**NEDER, Diogo Gonçalves. Clones de batata imunes ao PVY derivados da cv. Chiquita x clones simplex para o alelo Ry. 2005. 48 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.**

Geraram-se famílias clonais de cruzamentos biparentais entre clones denominados JUG, imunes aos vírus X (PVX) e Y (PVY) e a cv. Chiquita, a qual apresenta alta resistência à pinta preta (*Alternaria solani*) e elevada capacidade geral de combinação para esta característica. O objetivo foi o de reunir a resistência a estas viroses e a resistência à pinta preta em um mesmo genótipo. As 57 famílias originadas foram então avaliadas, quanto ao desempenho agrônômico em campo utilizando um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições e três testemunhas. Destas famílias selecionaram-se 221 clones, os quais foram avaliados em campo utilizando-se um látice simples duplicado, com quatro testemunhas. Procedeu-se à extração de DNA, e a avaliação quanto à resistência ao PVY, utilizando marcador SCAR. Foram identificados 149 clones resistentes ao PVY, tendo quarenta destes se destacado por apresentar boas características agrônômicas e razoável percentagem de matéria seca. O marcador SCAR mostrou ser uma ferramenta eficaz e de fácil uso na identificação de clones imunes, dispensando a inoculação de plantas com o vírus.

---

\* Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto – UFLA.

## ABSTRACT

**NEDER, Diogo Gonçalves. Potato clones immune to PVY from crosses between cv. Chiquita and clones simplex for the Ry allele. Lavras: UFLA, 2004. p. (Master's Dissertation on Plant Genetics and breeding).**\*

Clonal families were obtained from biparental crosses between cv Chiquita and clones (named JUG) immune to PVX and PVY. Cultivar Chiquita presents high levels of resistance to early blight (*Alternaria solani*) and has good general combining ability for this trait. The objective was to generate clones with resistance to the fungus and the viruses diseases. All fifty-seven families were evaluated for agronomic performance in the field in a randomized complete block design with four replications and three control cultivars. From these families 221 clones were selected and evaluated further in a doubled single-lattice design along with four control cultivars. DNA was extracted from all clones and SCAR marker evaluation was carried out for the *Ry* allele which confers resistance to PVY. One hundred forty-nine PVY resistant clones were identified from which 40 were selected due to their good agronomic performance and reasonable tuber dry matter content. The SCAR marker was efficient to identify the PVY resistant clones, eliminating the mechanical inoculation with PVY.

---

\* Adviser Professor: César Augusto Brasil Pereira Pinto – UFLA.

# 1 INTRODUÇÃO

Muitas doenças podem afetar a cultura da batata tanto de origem biótica como abiótica. São conhecidas cerca de 70 doenças bióticas e, dentre estas, pelo menos 25 são causadas por vírus e 1 por viróide (Figueira, 1999). Dentre as viroses mais importantes, destacam-se o PLRV (*Potato leafroll virus* - PLRV) causador de até 80% de perdas de produtividade, o PVY (*Potato virus Y* - PVY) com 50%, o PVX (*Potato virus X* - PVX) e o PVS (*Potato virus S* - PVS), ambos com 10 ou 20% de perdas (Andrade e Figueira, 1992; Wetter, 1971; De Bokx, 1981; Oliveira e Miranda, 1981).

As principais doenças fúngicas da batateira são a requeima, causada por *Phytophthora infestans* e a pinta preta, causada por *Alternaria solani*. A primeira é favorecida por um clima úmido e fresco e provoca danos na parte aérea e apodrecimento de tubérculos, podendo destruir uma lavoura em uma ou duas semanas. A pinta preta ocorre preferencialmente no período chuvoso, favorecida por temperaturas mais elevadas, constituindo um grande risco para a produtividade e para a qualidade de tubérculos (Juliatti, 2001).

Todos os programas de melhoramento de batata no Brasil buscam obter cultivares resistentes às principais doenças da cultura no país (Lopes & Reifschneider, 1999). Uma das estratégias utilizadas 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 variedade (Jellis, 1992). Entretanto alguns fatores interferem neste 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 processamento da progênie na seleção de genótipos resistentes.

O Brasil detém o 19º lugar em produção total e em área plantada, com 3,1 milhões de toneladas por ano em uma área de 150 mil hectares, com uma produtividade média de 20,94 t/ha. Para o plantio dessas áreas, tem importado, anualmente, em torno de 2,126 mil toneladas de batata semente, especialmente dos países Baixos, Chile e Canadá. O estado de Minas Gerais é o maior produtor nacional, apresentando uma produtividade média de 25,46 t/ha, com 989,678 mil toneladas anuais, seguido pelos estados de São Paulo e Paraná (Agrianual, 2005).

Atualmente, a cadeia produtiva da batata enfrenta grandes problemas, como: queda do consumo per capita, concentração da oferta na safra das águas e limitações de produtividade (Agrianual, 2003). Tais problemas se devem, em grande parte, à falta de cultivares nacionais adaptadas às condições locais, com boa aparência e qualidade culinária, e que sejam produtivas e resistentes às principais pragas e doenças, que ocorrem de forma abundante nas condições climáticas do Brasil. Este fato vem salienta a necessidade do desenvolvimento de cultivares nacionais, de forma a atender um consumidor cada vez mais exigente, bem como elevar a produtividade, reduzindo custos e aumentando a rentabilidade do produtor nacional de batata.

## **2.2 Doenças viróticas da batateira**

Muitas doenças podem afetar a cultura, tanto de origem biótica como abiótica. Mais de 70 doenças bióticas tem sido relatadas dentre as quais pelo menos 40 são causadas por vírus e uma por viróide (Figueira, 1999).

Como já ressaltado, dentre as viroses mais importantes da cultura destacam-se o PLRV, o PVY, o PVX e o PVS (Andrade e Figueira, 1992; Wetter, 1971; De Bokx, 1981; Oliveira e Miranda, 1981). Tais vírus quando em

infecção mista podem apresentar um efeito sinérgico e induzir perdas bem maiores (Mizubuti,1981; De Boks, 1981).

As viroses, além de reduzir a produtividade da cultura da batata, promovem a degenerescência da batata-semente, com as sucessivas multiplicações desta, realizadas especialmente por produtores que utilizam semente própria. Isto ocorre devido ao acúmulo de vírus nos tubérculos, fazendo com que esses originem plantas cada vez menos produtivas, podendo inviabilizar a cultura (Câmara, Cupretino e Filgueira, 1986, Silva, 1987).

### 2.2.1 Vírus Y da batata (PVY – *Potato Virus Y*)

O PVY, membro tipo do gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*, foi descrito pela primeira vez na Inglaterra por Smith em 1931 (citado por De Boks e Huttinga, 1981; Brunt et al, 1996). Causador do mosaico comum da batata, tem sido considerado um dos vírus mais importantes no Brasil (Figueira, 1999). Possui um ssRNA+ com cerca de 9,7 Kb de tamanho e é encapsulado em partícula filamentosas, flexível, medindo em torno de 730nm de comprimento por 11nm de diâmetro com um orifício central em torno de 2-3nm de diâmetro (De Boks, 1981, De Boks & Huttinga, 1981, Andrade & Figueira, 1992 e Brunt et al., 1996).

A transmissão do PVY ocorre por inoculação mecânica e por afídeos vetores, de forma não-persistente, sendo o *Myzus persicae* Sulz considerado o mais importante dentre as espécies transmissoras (De Boks, 1981).

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

As estirpes do PVY que infectam a cultura da batata são divididas em três grupos:

- PVY<sup>0</sup> – que causam mosaico em plantas de fumo e sintomas variáveis em batata, podendo causar mosaicos de diferentes intensidades e necroses;
- PVY<sup>N</sup> – causam necrose das nervuras em plantas de fumo e sintomas variáveis de mosaico em batata, tendo sido relatado na Europa, América do Sul e do Norte (Ellis et al; 1997). Uma variante dessa estirpe é a necrótica PVY<sup>NTN</sup>, indutora de anéis necróticos no tubérculo (Le Romancer et al; 1994);
- PVY<sup>C</sup> – causadores de necrose sistêmica em cultivares de batata que possuem o gene Nc (De Boks e Hullingan, 1981). Apesar de ser considerada não transmissível por afídeos, alguns de seus isolados foram relatados como transmissíveis por *Mizus persicae*. A distribuição deste grupo é restrita, provavelmente devido ao fato de a maioria desses isolados não ser transmitida por afídeos (Blanc-Urgoit et al., 1998) e por induzir reação de hipersensibilidade em diversas cultivares de batata, o que pode limitar a sua disseminação (Ellis et al, 1997).

### 2.2.2 Vírus X da batata (PVX - *Potato vírus X*)

O vírus X é o membro tipo do grupo Potexvirus. Ele possui partículas alongadas e flexíveis, com 515nm de comprimento por 13nm de diâmetro, e o seu ácido nucléico é um ssRNA<sup>+</sup> de fita simples (Berks, 1970, Beemster & De Boks, 1987 e Brunt et al.,1996).

É um vírus que se encontra disseminado no mundo inteiro e foi durante muito tempo, considerado sem importância para a cultura da batata no Brasil.

Entretanto, pode causar a diminuição do número de tubérculos, além de induzir perdas na produtividade (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 (Mizabuti, 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, podendo algumas cultivares apresentar rugosidade (Hooker, 1981).

Segundo Cockerham (1970), citado por Mendoza (1993), as estirpes de PVX podem ser classificadas em quatro grupos, de acordo com a 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*), seguidas por um 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 frequentemente, 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.

### **2.3 Resistência genética da batata a viroses**

Várias formas de resistência a viroses têm sido descritas para a batata, tais como:

- resistência à infecção ou resistência de campo: as plantas não se tornam facilmente infectadas em condições de cultivo (Salazar, 1982).

Controlada por genes menores, exige que ambos os pais possuam, pelo menos, um nível intermediário de resistência, pois uma resistência pronunciadamente baixa diminui consideravelmente o nível de resistência da progênie (Ross, 1986);

- resistência associada à tolerância: apesar da planta ser suscetível ao vírus, não se verifica queda significativa de produtividade (Salazar, 1982);
- tolerância aos vetores: presença de estruturas morfológicas na planta, como os tricomas glandulares que evitam a atividade e desenvolvimento do vetor (CIP, 1990);
- resistência associada à hipersensibilidade: ocorre a morte rápida da célula hospedeira infectada, restringindo a disseminação da partícula viral na planta, conferindo à mesma proteção absoluta (Hooker, 1981);
- imunidade: o vírus não consegue se replicar na célula da planta, nem mesmo após a enxertia de uma planta imune em uma planta infectada, diferentemente da resistência associada à hipersensibilidade que mostra necrose na parte superior do enxerto. Não há alteração da proteção imune pela ação de fatores climáticos, como se observa nos outros tipos de resistência (Salazar, 1982).

### **2.3.1 Resistência genética ao PVY**

A resistência ao PVY baseia-se nos tipos de resistência à infecção, hipersensibilidade e imunidade, sendo altamente herdável, com controle monogênico e considerada durável (Mendoza, 1994). O controle genético da resistência está associado à hipersensibilidade e imunidade, sendo caracterizada por genes maiores da série N e R.



Os genes Ny podem ser encontrados em algumas cultivares, como a 'Pertland Crown', e em híbridos das espécies *S.chacoense*, *S.demissum* e *S.microdontum*. Entretanto, estes são de expressividade média, podendo ocorrer plantas doentes no campo (Ross, 1986). Por outro lado, os genes Ry, originários das espécies *Solanum tuberosum* subespécie *andigena* (Ry<sub>adg</sub>), *S.hougucii* (Ry<sub>hcr</sub>), *S.stoloniferum* (Ry<sub>sto</sub>), *S.chacoense* (Ry<sub>che</sub>) e *S.phureja* (Ry<sub>phu</sub>), controlam um tipo de resistência extrema, também denominada de imunidade, que proporciona uma resistência completa e confere imunidade na forma simplex (Ryryryry)( Bradshaw,1994).

Os genes Ry<sub>adg</sub> e Ry<sub>che</sub> foram mapeados, estando localizados nos cromossomos XI (Brigneti et al, 1997) e IX (Hosaka et al , 2001), respectivamente. O gene Ry<sub>sto</sub> foi identificado recentemente como pertencente ao cromossomo XII (Fils et al; 2004).

Considerando que a resistência à infecção é poligênica e de difícil avaliação, prefere-se trabalhar com os alelos dos genes Ny e Ry. Entretanto, as cultivares da batata apresentam ampla variação quanto este tipo de resistência. O que foi demonstrado no trabalho de Moraes (2003). Trabalhando com 17 cultivares inoculadas com quatro diferentes isolados de PVY, este autor e observou que estes isolados apresentaram ampla variabilidade, tanto com relação à resistência vertical quanto horizontal aos isolados.

Um problema grave para identificar plantas infectadas por PVY, tem sido a ocorrência de infecções latentes, isto é, a dificuldade em se reconhecer à infecção em algumas cultivares e a confiabilidade do teste utilizado para verificação da reação das plantas aos vírus. Diversas metodologias podem ser utilizadas na diagnose de viroses, desde métodos tradicionais que consideram os tipos de sintomas induzidos em plantas-testes, as formas de transmissão dos vírus por vetores, as propriedades físicas *in vitro* do vírus, os resultados de testes sorológicos, os tipos de inclusões observadas ao microscópio ótico, o formato de

partículas em extratos ou os efeitos citopatológicos observados ao microscópio eletrônico. Entretanto, esses métodos podem apresentar desvantagens quanto à demanda de espaço, tempo, utilização de equipamentos caros e sensibilidade. Contudo a introdução de técnicas imunológicas de alta sensibilidade e outros métodos derivados da biologia molecular abriu novas possibilidades de diagnose, sendo o teste DAS-ELISA (“enzyme-linked immunosorbent assay”) o mais utilizado. Entretanto este é altamente limitado pela quantidade e qualidade do anti-soro, podendo gerar detecções inconsistentes (Zambolim, 1999).

### **2.3.2 Resistência genética ao PVX**

A resistência ao PVX é baseada nos tipos de resistência à infecção, hipersensibilidade localizada e imunidade. Apesar de algumas cultivares apresentarem níveis elevados de resistência a infecção, é necessário que ambos os pais em cruzamento apresentem níveis elevados de resistência (Silva, 1999). Por outro lado, existem genes de hipersensibilidade específicos, como o Nb, o Nx e os genes da série Rx, que conferem imunidade ao vírus PVX, sendo monogênica, dominante e altamente herdável (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.

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 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 conhecer o isolado empregado para comprovar a resistência de clones de batata ao PVX.

## 2.4 Doenças fúngicas da batateira

As doenças fúngicas da cultura da batata constituem um dos principais fatores que podem interferir negativamente no processo produtivo, induzindo a perdas que podem chegar a 100% da produção e ou da qualidade do produto. (HooKer, 1981; Lopes & Reifshneider, 1999). As principais doenças fúngicas da batateira são a requeima e a pinta preta. A primeira é favorecida por um clima úmido e fresco (UR>90% e temperaturas na faixa de 18<sup>o</sup>C) causando danos à parte aérea e apodrecimento de tubérculos e podendo destruir uma lavoura em uma ou duas semanas. A pinta preta ocorre preferencialmente no período chuvoso, favorecida pelas chuvas frequentes e temperaturas mais elevadas, constituindo um grande risco para a produtividade e para a qualidade de tubérculos (Juliatti, 2001).

### 2.4.1 Pinta preta (*Alternaria solani*)

Relatada pela primeira vez por Gallowez, em 1913, segundo Steven (1981), a pinta preta da batata é uma doença freqüente no período chuvoso, consistindo em um dos principais fatores limitantes do cultivo de verão, podendo causar perdas consideráveis pela desfolha precoce das plantas (Juliatti, 2001).

A *Alternaria solani* ataca 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 um formato ovóide, delimitado pelas nervuras das folhas, de coloração escura e com zonas concêntricas características. 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, 1997).

O 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 (Roten, 1968).

#### **2.4.2 Resistência genética à Pinta preta**

Diversos trabalhos (Douglas e Pavek, 1972; Hooker, 1981, Johanson e Thurston, 1990), relacionam a resistência à pinta preta com o ciclo tardio dos materiais, tendo em vista que os sintomas ocorrem principalmente em tecidos mais desenvolvidos (Juliatti, 2001).

Entretanto, observando três cultivares com o mesmo ciclo de maturação, 'Kennebec', 'Chiftain' e 'Norchip', Hall e Hoffstra (1983) verificaram variações significativas nas respostas destas cultivares à infecção por *Alternaria solani* e concluíram que estes materiais apresentaram diferentes níveis de resistência genética, uma vez que o ciclo vegetativo destas cultivares foram semelhantes.

Diferentes conceitos de resistência têm sido relatados na literatura, O tipo de resistência à pinta preta apresentado pelas cultivares Kennebec e Chieftain foi conceituado por Herriot et al (1990), como resistência redutora da taxa de infecção (rate-reducing) (Nelson, 1978). A resistência que reduz ou retarda o estabelecimento de uma epidemia tem sido utilizada como sinônimo de resistência horizontal (Van der Plank, 1963) e resistência parcial ou quantitativa, (Chakraborty et al; 1990).

Nunes (1983), baseando-se na taxa de progresso da doença, verificou que as cultivares Achat e Bintje apresentam baixo nível de resistência horizontal, enquanto 'Chiquita', 'Mantiqueira' e 'Mineira', comparativamente apresentam alto nível de resistência.

De forma semelhante, estudos foram realizados por Martins e Pinto (1996) para estimar a capacidade de combinação de oito genótipos de batata, quanto à resistência à pinta preta e caracteres de produção e peso específico. Estes autores identificaram a capacidade geral de combinação (CGC) como o mais importante no controle genético da resistência, tendo se destacado as cultivares Aracy, I 853 e Chiquita, enquanto a capacidade específica de combinação (CEC) foi o parâmetro mais importante para caracteres de produção e peso específico, indicando não ser possível prever o valor médio das progênes com base apenas a CGC dos parentais. Entretanto, os genótipos 'Baraka', CFK 69.1 e 'Chiquita' foram os que apresentaram a maior estimativa de CGC para caracteres de produção e peso específico. De todos os genótipos avaliados, a cultivar Chiquita foi a única a apresentar altos valores de CGC para todos os caracteres avaliados, fato este que evidencia um bom potencial para uso em cruzamentos.

## **2.5 Estratégia de melhoramento visando resistência múltipla a doenças**

De forma geral, os programas de melhoramento de batata no Brasil buscam obter cultivares resistentes às principais doenças da cultura (Lopes & Reifschneider, 1999). O cruzamento entre genótipos com bons níveis de resistência a doenças, seguido de um *screening*, é uma estratégia eficiente para reunir alelos de resistência a mais de um tipo de patógeno em uma mesma variedade (Jellis, 1992).

Alguns fatores interferem neste processo, como a pobreza em características agronômicas e qualitativas, muitas vezes observadas em genótipos de alta resistência (Jellis, 1992). Outro problema é o que acontece na seleção de clones resistentes ao PLRV, no qual se observa interação entre este vírus e o PVY e PVX, pois se, eventualmente, um clone resistente ao PLRV for infectado por um destes vírus, o grau de resistência inicial diminui drasticamente (Brandolini, Caligari e Mendoza, 1992).

Silva (1999), visando obter genótipos imunes ao PVX e PVY, realizou cruzamentos biparentais entre clones portadores dos genes  $RX_{adg}$  e  $RY_{adg}$  na forma simplex, provenientes do Centro Internacional de la Papa (CIP), no Peru, obtendo famílias clonais, que foram avaliadas quanto seu desempenho agronômico 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, denominados OAS, com bom desempenho agronômico e boa qualidade para processamento.

Procurando uma melhor utilização de todas as fontes de resistência, desenvolve-se no CIP, uma estratégia de melhoramento populacional baseada na aplicação de ciclos de seleção recorrente com testes de progênie (Mendonza, 1990). A batata é uma espécie autotetraplóide, de herança tetrassômica (Mihovilovich, 1996), podendo apresentar, para cada loco gênico, cinco constituições genéticas diferentes em função do número de alelos dominantes: AAAA - quadriplex; AAAa - triplex; AAaa - duplex; Aaaa - simplex e aaaa - nuliplex. As reações de hipersensibilidade e imunidade são controladas por genes maiores que atuam na condição simplex, entretanto, o cruzamento com cultivares suscetíveis (nuliplex) produz apenas 50% de descendentes imunes. Por meio da estratégia desenvolvida no CIP, pode-se aumentar a frequência dos alelos para imunidade ao PVY e PVX, possibilitando, primeiramente, a identificação de genitores simplex imunes, e posteriormente, os

genitores duplex. Do intercruzamento de clones duplex, pode-se obter genótipos imunes triplex e quadriplex (Mihovilovich,1996) que, quando cruzados com qualquer outro genótipo, geram 100% de indivíduos resistentes na descendência.

Gadum (2001) obteve clones a partir de cruzamentos biparentais entre clones imunes, da mesma forma que Silva (1999), realizando cruzamentos entre clones imunes ao PVY e a cultivar Chiquita. O seu objetivo foi o de identificar as constituições genéticas destes clones para o loco Ry e selecionar clones duplex, utilizando, para isso, a inoculação mecânica do vírus e a detecção por meio do teste sorológico DAS-ELISA, além de testes com enxertia em plantas de tomate previamente infectadas. Entretanto nesse trabalho não foi possível identificar os clones de constituição duplex, tendo a inoculação dos clones de batata e tomateiro se mostrado ineficaz na determinação da imunidade.

Considerando um programa de melhoramento cujo objetivo é reunir, em uma mesma variedade, resistência a diversas doenças, deve-se proceder o cruzamento entre genótipos com bons níveis de resistência a doenças cujo mecanismo de controle seja poligênico, como a requeima e a pinta preta, com genótipos portadores de genes de imunidade, como os genes Ry e Rx, obtendo famílias clonais com ampla variabilidade. Dessa forma, por meio de ciclos sucessivos de avaliação e seleção pode-se obter clones com boas características agronômicas, culinárias e resistência a diversas doenças de interesse.

## **2.6 Uso de marcadores moleculares no melhoramento visando resistência a doenças**

Podendo ser utilizados para identificar diferenças na constituição genética entre dois ou mais indivíduos, os marcadores moleculares consistem em todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso (Ferreira e Grattapaglia,1998). Os diferentes tipos de marcadores moleculares podem ser

classificados em dois grupos, conforme a metodologia utilizada: hibridação ou amplificação de DNA. Entre os identificados por hibridação estão os marcadores RFLP (restriction fragment length polymorphism) e minissatélites ou locos VNTR (variable number of tandem repeats). Já aqueles revelados por amplificação incluem o PCR (polymerase chain reaction), RAPD (random amplified polymorphic DNA), SCAR (sequence characterized amplified Regions), Microsatélites ou SSR (single sequence repeat) e AFLP (amplified fragment length polymorphism).

Os marcadores moleculares podem ser utilizados na construção de mapas genéticos, para identificação e discriminação de genótipos e clonagem de genes para uso em transformação genética, entre outras aplicações. (Ferreira e Grattapaglia, 1998)

Dentre as técnicas mais utilizadas está a PCR, desenvolvida por Kary Mullis (Mullis & Falloona, 1987) que consiste na amplificação *in vitro* de fragmentos de DNA, usando oligonucleotídeos iniciadores ou *primers* de sequência conhecida e complementar às extremidades do segmento a ser amplificado, utilizando, para isto, ciclos repetidos de amplificação direcionadas (Mullis, 1990). Dessa forma, ocorre a síntese diferencial de certos segmentos do DNA genômico, que poderá então ser observado pelo uso da eletroforese. Todos os fragmentos de DNA de diferentes tamanhos serão separados, tanto os amplificados quanto os que não foram.

Cada ciclo de amplificação consiste em três etapas:

- desnaturação da molécula de DNA, com temperaturas entre 91°C e 94°C;
- anelamento dos *primers* as regiões complementares
- extensão dos *primers* pela DNA polimerase



Desenvolvida a partir da PCR, o marcador RAPD utiliza um único *primer* de seqüência arbitrária, usualmente de oito a dez nucleotídeos, com grande poder na detecção de polimorfismo, sendo esta uma grande vantagem na detecção de variabilidade genética. Porém, esta técnica apresenta algumas desvantagens, como: o baixo poder de um *primer* específico para discriminar entre distintos sítios de amplificação, a competição entre diferentes sítios de amplificação por substrato e enzima, podendo ocorrer interferência de um substrato devido à presença de outro e problemas associados à padronização das condições de amplificação (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Uma alternativa para solucionar estes problemas é o uso do procedimento SCAR que consiste no sequenciamento do alelo de interesse a partir do isolamento da região amplificada pelo RAPD, construindo-se um par de *primers* maiores para serem utilizados como um PCR.

Utilizando este procedimento, Kasai et al. (2000) desenvolveram um par de *primers* que amplifica um fragmento de DNA (321 pb), que está intimamente ligado ao alelo  $Ry_{adj}$ , o qual confere resistência ao PVY. Estes marcadores foram testados utilizando-se 103 linhas melhoradas de batata e cultivares com grande diversidade genética. O conjunto de *primers* designado de RYSC3, descritos pelo autor, mostrou eficiência de 100% na detecção do referido alelo.

Recentemente, Ribeiro (2004) com o objetivo de identificar clones de batata imunes ao PVY, com constituição genética duplex para o alelo  $Ry$ , fez uso do marcador SCAR RYSC3, para avaliar clones pertencentes a famílias originárias do cruzamento entre clones comprovadamente imunes ao vírus Y com a cultivar Chiquita. Dessa forma, foi possível identificar genótipos com constituição duplex e comprovar a eficiência do marcador SCAR RYSC3 em identificar clones imunes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Material experimental**

Avaliaram-se duzentos e vinte um clones de batata (denominados DGN), obtidos no programa de melhoramento genético da UFLA, por meio de cruzamentos biparentais entre 57 clones designados JUG e a cultivar Chiquita. A genealogia dos clones DGN encontram-se na tabela 1.

As sementes botânicas obtidas dos cruzamentos foram submetidas a tratamento com solução de ácido giberélico a 1500ppm por 24 horas, para a quebra de dormência, sendo em seguida secadas a sombra. Posteriormente, foi realizada a semeadura em bandejas, com substrato comercial para plantio, onde permaneceram por 30 dias até o transplântio para vasos. Após um período de aproximadamente 90 dias, em casa de vegetação, foi feita a colheita dos minitubérculos.

**TABELA 1.** Genealogia e número dos clones obtidos do cruzamento de clones imunes ao PVY (clones JUG) e a cultivar Chiquita.

Famílias	Genitores	Número de clones	Famílias	Genitores	Número de clones
DGN 1	JUG 1-05 x Chiquita	4	DGN 30	JUG 4-06 x Chiquita	1
DGN 2	JUG 1-08 x Chiquita	2	DGN 31	JUG 4-09 x Chiquita	3
DGN 3	JUG 1-09 x Chiquita	1	DGN 32	JUG 4-17 x Chiquita	7
DGN 4	JUG 1-14 x Chiquita	2	DGN 33	JUG 4-20 x Chiquita	3
DGN 6	JUG 1-21 x Chiquita	1	DGN 34	JUG 4-22 x Chiquita	2
DGN 7	JUG 2-02 x Chiquita	2	DGN 35	JUG 5-01 x Chiquita	4
DGN 8	JUG 2-04 x Chiquita	3	DGN 36	JUG 5-03 x Chiquita	2
DGN 9	JUG 2-05 x Chiquita	5	DGN 37	JUG 5-07 x Chiquita	9
DGN 10	JUG 2-12 x Chiquita	2	DGN 38	JUG 5-08 x Chiquita	9
DGN 11	JUG 2-13 x Chiquita	6	DGN 39	JUG 5-11 x Chiquita	10
DGN 12	JUG 2-15 x Chiquita	6	DGN 40	JUG 5-12 x Chiquita	10
DGN 13	JUG 2-16 x Chiquita	1	DGN 41	JUG 5-16 x Chiquita	6
DGN 17	JUG 2-28 x Chiquita	7	DGN 42	JUG 5-17 x Chiquita	3

“...continua...”

"TABELA 1. Cont."

DGN 18	JUG 3-03 x Chiquita	8	DGN 43	JUG 5-18 x Chiquita	6
DGN 19	JUG 3-04 x Chiquita	10	DGN 46	JUG 5-27 x Chiquita	2
DGN 20	JUG 3-10 x Chiquita	2	DGN 48	JUG 6-03 x Chiquita	2
DGN 21	JUG 3-11 x Chiquita	12	DGN 49	JUG 6-04 x Chiquita	5
DGN 22	JUG 3-17 x Chiquita	6	DGN 50	JUG 6-06 x Chiquita	5
DGN 23	JUG 3-22 x Chiquita	3	DGN 51	JUG 6-08 x Chiquita	5
DGN 24	JUG 3-25 x Chiquita	4	DGN 52	JUG 6-09 x Chiquita	13
DGN 25	JUG 3-26 x Chiquita	3	DGN 53	JUG 6-12 x Chiquita	5
DGN 26	JUG 3-27 x Chiquita	5	DGN 55	JUG 6-20 x Chiquita	2
DGN 28	JUG 4-02 x Chiquita	3	DGN 56	JUG 6-21 x Chiquita	1
DGN 29	JUG 4-03 x Chiquita	2	DGN 57	JUG 6-25 x Chiquita	5

### **3.2 Ensaio para avaliação dos clones DGN em condições de campo**

Para a avaliação dos caracteres agronômicos, foram conduzidos dois experimentos distintos na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras e no setor de Olericultura do Departamento de Fitotecnia, em solo classificado como Latossolo Vermelho Escuro distrófico, textura argilosa e relevo suavemente ondulado.

O primeiro experimento foi realizado na safra de inverno de 2004 (abrangendo os meses de julho a outubro) para a avaliação das famílias dos clones DGN. Foi empregado o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, composto de 57 famílias e 3 testemunhas ('Asterix', 'Atlantic' e 'Achat'), montado com parcelas de 10 plantas espaçadas de 0,50m x 0,80m entre as linhas. Neste avaliaram-se:

- a) a produção média de tubérculos das famílias;
- b) a porcentagem média de matéria seca dos tubérculos.

Os clones foram então selecionados com base na aparência dos tubérculos, levando-se em consideração o formato, a cor da película, a profundidade de olhos ou gemas e a ocorrência de defeitos.

O segundo experimento, conduzido no setor de Olericultura do Departamento de Fitotecnia consistiu num látice simples duplicado 15 x 15, conduzido na safra da seca de 2005 (abrangendo os meses de fevereiro a junho) para avaliação dos clones individuais. As parcelas foram constituídas de duas plantas espaçadas de 0,35m x 0,75m. Como testemunhas foram empregadas as cultivares Monalisa, Asterix e Atlantic.

A adubação de plantio em ambos os experimentos foi feita com a formulação 4-14-8 (N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O) na dosagem de 3,0 t/ha. Cerca de 30 a 40 dias após o plantio, realizou-se a adubação nitrogenada em cobertura, com 300 kg/ha de sulfato de amônio, seguida da operação de amontoa. Os tratos

fitossanitários foram realizados durante a condução dos experimentos, visando mantê-los sem a competição de plantas invasoras e danos de pragas e doenças.

Avaliaram-se, no experimento de clones, os seguintes caracteres:

- a) produção de tubérculos por planta: produção total dividida pelo número de plantas da parcela (g/planta);
- b) produção média de tubérculos graúdos por planta: produção de tubérculos com diâmetro transversal > 45 mm, dividida pelo número de plantas da parcela (g/planta);
- c) porcentagem de tubérculos graúdos: produção de tubérculos com diâmetro transversal > 45 mm, dividida pela produção total e multiplicada por 100;
- d) porcentagem de matéria seca dos tubérculos – estimada pela expressão  $MS = -217,2 + 221,2D$  (Schippers, 1976), em que D é o peso específico de tubérculos, obtido pela fórmula:  $D = \text{peso no ar} / (\text{peso ar} - \text{peso água})$ . Os pesos no ar e na água foram determinados em balança hidrostática;
- e) número de tubérculos por planta: número total de tubérculos dividido pelo número de plantas da parcela (g/planta).

Os clones foram classificados pelo índice da soma de postos de Mulamba e 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.

### 3.2 Análises estatísticas

Foram realizadas análises de variância e testes de médias de Scott-Knott utilizando-se os programas SAS e Genes, respectivamente.

A herdabilidade no sentido amplo para cada característica foi estimada de acordo com o procedimento apresentado por Vencovsky & Barriga (1992) e o

intervalo de confiança segundo a expressão de Knapp et al (1985), por meio das seguintes expressões:

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

em que:

$\sigma_G^2$  : é a variância genética

$\sigma_E^2$  : é a variância ambiental.

$$LI = \{ 1 - [ (QM \text{ Clones}/QM \text{ Erro}) F_{1-\alpha/2; GL \text{ Erro}; GL \text{ Clones}}]^{-1} \}$$

$$LS = \{ 1 - [ (QM \text{ Clones}/QM \text{ Erro}) F_{\alpha/2; GL \text{ Erro}; GL \text{ Clones}}]^{-1} \}$$

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;

$\mu$ : é a média geral do ensaio.

### 3.3 Extração de DNA

Para a extração de DNA, foi utilizado o método descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998) com modificações. Utilizaram-se 150mg de folhas coletadas dos clones, as quais foram maceradas com nitrogênio líquido, juntando-se ao macerado 700µl de um tampão de extração (0,2g de brometo de centiltrimetilamônio; 1mL de Tris 1M, 0,4mL de EDTA 0,5M, 0,82g de NaCl, 0,1g de polivinilpirrolidona 40.000, 8,6mL de água pura) previamente adicionado de 2-β-mercaptoetanol na proporção de 2%. Em seguida, o macerado foi mantido em banho-maria a 65°C por 60 minutos, agitando-se 5 vezes. Passado este período adicionaram-se 600µl de da solução 24 clorofórmio:1álcool isoamílico, seguindo para a centrifugação do material por 5 minutos a 15.000rpm e a separação do sobrenadante, ao qual adicionaram-se 400µl de isopropanol frio. Este preparado foi, então, mantido a -20°C por cerca de uma hora para a precipitação do DNA. Em seguida, foi centrifugado por 5 minutos a 15.000rpm, para a formação de um pellet. O sobrenadante foi, então, descartado e o pellet submetido a duas lavagens, uma com 1mL de etanol a 70% e uma em etanol absoluto, intercalando-se com centrifugações por 5 minutos a 15000 rpm. Eliminado o etanol, na última lavagem, deixou-se o pellet secar e realizou-se a sua diluição com 50µl de TE (Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 8,0). O DNA extraído foi quantificado comparando-se com padrões de DNA lambda, nas concentrações de 10, 25 e 100 ng/µl, por meio de eletroforese em TBE (tris, ácido bórico e EDTA) sob uma corrente de 100V.

### 3.3 Análises de PCR

A reação de PCR para identificar genótipos portadores do alelo Ry<sub>adg</sub> foi realizada misturando-se os seguintes reagentes com as respectivas concentrações: 250µM dNTPs, 0,6 unidades de Taq DNA polimerase, 0,26µM



de cada *primer*, tampão de reação (50mM TRIS, 2,0mM MgCl<sub>2</sub>; 20mM KCl; 250µg/mL de albumina soro bovino; 1% de ficoll 400; 1mM de tartrazine, 50ng de DNA genômico e água pura até completar o volume de 10µl. O par de *primers* SCAR utilizado, designado de RYSC3 de acordo com Kasai et al; (2000), apresenta a seqüência: 5' ATACA CT CATCTAAATTTGA TGG 3' e 5' AGGATATACGGCATCATTTTTCCA 3', que amplifica uma região dentro do gene Ry, produzindo fragmentos de 321 pb.

As reações de amplificação foram realizadas em microtubos de 0,2mL, utilizando termociclador PCT-100 (MJ Research, Inc.USA), utilizando-se o seguinte programa: 92°C por 4 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 45', 60°C por 45' e 72°C por 1 minuto, seguido 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, durante uma hora. Os fragmentos de DNA foram corados com brometo de etídio a uma concentração de 0,5ng/µl por 20 minutos sob agitação. O gel foi fotografado em câmara digital Kodak DC290 Zoom, em luz ultravioleta.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação das famílias DGN em campo

Nesta avaliação as famílias diferiram significativamente para a produção média de tubérculos, indicando a existência de variabilidade genética para esta característica. Não houve diferença significativa para a porcentagem de matéria seca nos tubérculos, indicando um comportamento similar entre as mesmas, fato este que não elimina a possibilidade de existirem diferenças entre os clones dentro destas famílias. O resumo das análises de variância para as características avaliadas, encontram-se na tabela 2.

Os coeficientes de variação experimental (CV) situaram-se entre 12,48%, para a porcentagem de matéria seca, a 39,07%, para a produção de tubérculos. Coeficientes de variação experimental dessas magnitudes são comuns em experimentos com a cultura da batata (Vermeer, 1990). O CV observado para a produção de tubérculos das famílias foi semelhante ao encontrado por Silva (1999) e Gadum (2001), que trabalharam com clones imunes ao PVY em condições semelhantes às do presente trabalho. Um fator que pode explicar os valores de CV observado é a existência de diferenças significativas entre os números de plantas/parcela entre as famílias avaliadas, demonstrando a existência de variabilidade genética para esta característica, afetando diretamente o CV, devido aos efeitos de compensação observados na cultura da batata (Tabela 2). Outro fator é a grande diferença em tamanho dos tubérculos-sementes utilizados. É amplamente conhecido que o tamanho do tubérculo-semente afeta o desenvolvimento e a produtividade da planta de batata.

As médias gerais para todas as características avaliadas são apresentadas também na Tabela 2. A produção média de tubérculos foi de 512,7g/planta e a

porcentagem de matéria seca foi de 16,3%. Dentre as 57 famílias avaliadas 7 superaram as cultivares Asterix, Atlantic e Achat em produção e 50 não diferiram das mesmas, mostrando o potencial produtivo destas famílias. Com relação à porcentagem de matéria seca dos tubérculos as famílias apresentaram um comportamento semelhante às cultivares (Tabela 3).

A herdabilidade no sentido amplo, estimada para produção média de tubérculos, foi de 55,10%, um valor adequado para a realização da seleção de famílias superiores, com bom potencial produtivo.

Devido à grande variabilidade existente dentro das famílias e às perdas de plantas ocorridas nas parcelas do experimento, realizou-se uma seleção fenotípica com base na produção e aparência dos tubérculos dentro das famílias, para a avaliação de clones quanto ao comportamento agrônomico e à resistência ao PVY.

TABELA 2. Resumo da análise de variância do experimento de famílias DGN e estimativa dos parâmetros genéticos de herdabilidade de famílias, coeficientes de variação genéticos ( $CV_g$  %) e ambiental ( $CV_e$  %), para os caracteres de produção por planta.

FV	GL	Número de plantas/parcela	QM	
			Produção/planta (g)	Matéria seca (%)
Famílias	59	6,1482**	89402,3630**	4,1853 ns
Erro	177	2,8472	40133,9200	4,1593
CV(%)		22,48	39,07	12,48
Média geral		7,5	512,7	16,3
$h^2_a$		-	55,10 (30,15 - 69,8)	-
$CV_g$		-	21,64	-
$CV_e$		-	39,07	-
$CV_g/CV_e$		-	0,55	-

\*\* , ns significativo a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente pelo teste F.

**TABELA 3.** Médias para a produção de tubérculos por planta (g) e porcentagem de matéria seca das famílias e das testemunhas.

Famílias	Produção/planta (g)	Matéria seca (%)	Famílias	Produção/ planta (g)	Matéria seca (%)
21	996,2 a	17.604 a	3	490,1 c	13.954 a
52	982,8 a	17.051 a	8	489,9 c	15.558 a
45	956,7 a	16.940 a	42	488,1 c	17.770 a
26	769,1 b	17.161 a	23	486,1 c	14.784 a
41	713,3 b	17.217 a	35	478,8 c	15.613 a
53	703 b	18.765 a	27	477,6 c	15.779 a
19	675,1 b	16.443 a	50	474,7 c	17.604 a
40	619,7 c	17.880 a	14	473,3 c	18.489 a
28	594,9 c	16.332 a	38	463,9 c	15.945 a
10	592,7 c	17.714 a	5	452,8 c	16.664 a
43	588,4 c	17.604 a	Asterix	450,6 c	17.217 a
39	585,6 c	16.221 a	7	436,8 c	16.166 a
47	578,9 c	16.830 a	29	433,1 c	16.830 a
37	570,5 c	15.779 a	55	432,5 c	15.945 a
12	564,8 c	16.774 a	2	430 c	15.060 a
49	564,3 c	16.940 a	44	429,9 c	15.226 a
4	563,8 c	15.834 a	57	420,9 c	16.166 a
24	560,2 c	16.166 a	9	392,4 c	16.996 a
33	549,7 c	15.558 a	31	381,3 c	15.779 a

"continua"

continua

"TABELA 3, Cont."

18	548,6	c	16.387	a	Atlantic	379,5	c	17.161	a
22	546,1	c	16.443	a	16	371,5	c	16.000	a
32	540,8	c	16.000	a	56	363,2	c	15.171	a
36	536,6	c	15.779	a	54	355,8	c	17.217	a
20	535,9	c	16.885	a	1	351,9	c	15.779	a
34	529,3	c	16.387	a	6	348,1	c	15.005	a
15	506,3	c	15.779	a	Achat	340,3	c	15.005	a
17	503,8	c	18.102	a	25	336,2	c	15.115	a
46	498,8	c	16.940	a	11	312,8	c	14.065	a
48	492,7	c	14.673	a	30	304,7	c	16.166	a
51	492,7	c	16.111	a	13	255,9	c	15.834	a

#### **4.2 Identificação de clones imunes ao PVY com o marcador SCAR.**

O marcador RYSC3 (Kasai et al; 2000) mostrou-se eficiente na identificação de plantas imunes ao PVY, fácil de ser realizada, eliminando trabalhos de manutenção de isolados, inoculação e avaliação, assim como possíveis erros no processo. A metodologia mostrou ser simples e rápida, podendo ser utilizada plantas em qualquer fase de desenvolvimento, não deixando dúvidas quanto à presença do alelo RYadg.

Utilizando esta técnica foi possível identificar 149 clones entre os 221 avaliados (Tabela 4), resultado este superior ao esperado, caso os clones genitores JUG fossem simplex, sugerindo a existência de genótipos duplex para o alelo RY. Um reforço para esta hipótese é a frequência de clones com bandas observadas em algumas famílias, como DGN-19, na qual dos 10 clones avaliados provenientes desta família, todos apresentaram bandas e a família DGN-52, em que, dos 12 clones, apenas um mostrou-se suscetível. Este fato permitiu a obtenção de um maior número de clones imunes, favorecendo a possibilidade de se realizar a seleção de um maior número de clones com base em características agronômicas. É possível que os clones genitores JUG 3-04 e JUG 6-09 sejam duplex e deverão ser testados em futuros cruzamentos.

Por meio da Figura 1 pode-se observar o produto da análise de PCR. Em cada análise foi incluído um marcador de tamanho de bandas, dois controles conhecidamente imunes, os clones XY4 e XY9 fornecidos pelo CIP e genitores dos clones JUG e dois controles suscetíveis, as cultivares Chiquita e Monalisa.

M R1R2 S1 S2



**FIGURA 1.** Presença ou ausência do alelo Ry, identificadas pelo par de *primers* RYSC3 em 20 clones (1 a 20) e das testemunhas resistentes R1 (XY4) e R2 (XY9) e suscetíveis S1 (Chiquita) e S2 (Monalisa), M é marcador de tamanho de banda 100 pb. Note a presença de 12 clones com presença da banda (imunes) e de 8 plantas sem a banda (suscetíveis). UFLA, 2005.

**TABELA 4.** Clones DGN avaliados e resultado quanto à presença (+) ou ausência do alelo Ry (-).

Clones	Ry	Clones	Ry	Clones	Ry	Clones	Ry	Clones	Ry	Clones	Ry
13-1	-	40-8	+	34-1	+	21-9	-	4-2	-	41-3	+
12-1	-	40-9	+	34-2	+	21-10	+	37-1	-	41-4	+
12-2	-	40-10	+	40-1	+	21-11	+	37-2	+	41-5	+
12-3	+	10-1	+	40-2	+	21-12	+	37-3	-	41-6	+
12-4	+	10-2	-	40-3	+	25-1	+	37-4	+	33-1	+
12-5	+	9-1	+	40-4	-	25-2	-	37-5	+	33-2	+
24-1	+	9-2	-	40-5	+	25-3	-	37-6	-	33-3	+
24-2	+	9-3	+	40-6	+	11-1	-	11-6	+	20-1	-
24-3	-	9-4	+	40-7	-	11-2	-	37-7	-	20-2	+
24-4	+	9-5	+	30-1	+	11-3	-	37-8	+	57-1	+
26-1	+	50-1	-	6-1	+	11-4	-	37-9	+	57-2	-
26-2	-	50-2	+	29-1	-	11-5	-	22-1	+	57-3	-
26-3	-	50-3	+	1-3	-	49-1	-	22-2	+	57-4	+
26-4	-	50-4	-	1-4	+	49-2	-	22-3	-	57-5	+
26-5	-	50-5	-	56-1	+	49-3	+	22-4	+	7-1	-
21-1	-	51-1	-	23-1	+	49-4	-	22-5	+	7-2	-
21-2	-	51-2	+	23-2	-	49-5	-	22-6	+	28-1	+
21-3	+	51-3	-	23-3	-	48-1	-	22-7	-	28-2	+
21-4	+	51-4	+	31-1	+	48-2	+	32-1	+	28-3	+
21-5	-	51-5	+	31-2	+	1-1	-	32-2	+	8-1	+
21-6	-	2-1	-	31-3	+	1-2	-	32-3	+	8-2	+
21-7	+	2-2	+	41-1	+	3-1	+	32-4	+	8-3	-
21-8	+	4-1	+	41-2	+	46-1	+	32-5	+	32-1	+

"continua"





### 4.3 Avaliação dos clones DGN em campo.

Neste experimento, para todas as características avaliadas, observaram-se diferenças significativas entre os clones, mostrando a existência de ampla variabilidade genética. O resumo das análises de variância para as características avaliadas encontram-se na tabela 4..

Os coeficientes de variação ambiental situaram-se entre 18,11% para porcentagem de matéria seca e 67,10% para o produção de tubérculos graúdos (Tabela 4). É comum encontrar altos valores de coeficientes de variação ambiental para várias características na batata, entretanto, os valores obtidos foram superiores aos comumente encontrados. Este fato se deveu, em parte, a ocorrência da doença fúngica requeima, pois apesar das medidas de controle terem sido empregadas, não foi possível evitar danos sobre as plantas do experimento. Outro fator é a desuniformidade no número de plantas observado por parcela, o qual se mostrou significativamente influenciado pelos clones.

As médias gerais para todas as características são apresentadas também na Tabela 4. Para a produção de tubérculos, a média foi de 574,2, com 50,9% dos clones apresentando tubérculos graúdos. Aproximadamente 30,6% dos clones apresentaram médias de produção acima das cultivares testemunhas.

A porcentagem de matéria seca dos tubérculos apresentou média de 17%, considerada baixa em relação aos valores desejados para qualidade de tubérculos para utilização industrial (Gould, 1988), devendo levar em consideração a redução natural na matéria seca em experimentos plantados nas épocas mais quentes do ano. Entretanto, quase a totalidade dos clones, cerca de 90%, apresentou porcentagem de matéria seca igual à da cultivar Atlantic, considerada padrão para processamento industrial.

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo foram moderadas para todos os caracteres, devido ao à grande influência do ambiente sobre estes

caracteres. Entretanto, os valores encontrados são favoráveis à seleção de clones com bom potencial agrônômico.

**TABELA 5.** Resumo das análises de variância para número de plantas/parcela, produção/planta, número de tubérculos/planta, porcentagem de tubérculos graúdos, porcentagem de matéria seca do experimento de clones DGN.

QM							
FV	GL	Número de plantas/parcela	Produção/planta (g)	Número de tubérculos/planta	% Tubérculos graúdos	Produção de tubérculos graúdos (g)	% Matéria seca
Clones	224	0,2387**	132575**	10,0099**	430,34**	99992,43**	13,4356**
Erro	585	0,1809	75748	6,9194	339,1864	61223,63	9,4843
CV(%)		24,36	47,26	44,63	50,94	67,10	18,12
Média geral		1,7	574,1	5,8	36,1	368,7	17,0

\* \*, ns significativo a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente pelo teste F.

**TABELA 6.** Estimativas das herdabilidades ao nível de clones ( $h^2_a$  %), dos coeficientes de variação genéticos ( $CV_g$  %) e ambiental ( $CV_e$  %), variância genética ( $\sigma_g^2$ ) e índice b para os caracteres de produção por planta, número de tubérculos por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, produção de tubérculos graúdos e porcentagem de matéria seca para os clones avaliados na safra da águas 2004 em Lavras, MG.

Parâmetros	Produção/planta a (g)	Número de tubérc/planta	Porcentagem de tubérculos graúdos	Produção de tubérculos graúdos (g)	% Matéria seca
$h^2_a(\%)$	45,15 (28,5-53,82)	39,56 (16,62-47,34)	26,29 (1,47-36,38)	45,10 (24,56-51,28)	32,23 (12,65-43,60)
$CV_g$	22	18,05	15,21	30,41	6,25
$CV_e$	29,15	44,36	50,94	22,63	18,12
$\sigma_g^2$	15584,1	1,132521	30,255	12574,1	1,12791
b	1,15	0,40	0,30	1,34	0,35

#### **4.4 Seleção dos clones DGN**

Os clones imunes ao PVY, identificados pelo marcador SCAR, foram selecionados quanto às características agronômicas e de qualidade de tubérculos avaliados. Para isso utilizou-se o índice de Mulamba & Mock, devido à simplicidade de sua aplicação, selecionando-se os 40 clones com os menores índices, apresentados na Tabela 7.

Observou-se que todos os clones selecionados superaram as cultivares testemunhas, em produção, sendo a média dos clones de 796,8g, enquanto que a produção da Asterix foi de 300g, a de Monalisa foi de 365,6g e da cultivar Atlantic foi de 500g. Para % de matéria seca, a média selecionada foi de 17,3%, acima da cultivar Monalisa com 13,9%, porém, abaixo das cultivares Asterix e Atlantic com 17,6% e 18,88%, respectivamente.

Vale ressaltar que, embora a média da produção seja inferior em relação a essas cultivares os clones selecionados não diferiram estaticamente. De forma geral, foi possível selecionar clones imunes com boas qualidades agronômicas e, provavelmente, variabilidade para outras características, especialmente resistência à pinta preta, o que poderá ser explorado em experimentos futuros.

**TABELA 7. Clones DGN imunes selecionados com base no índice de Mulamba & Mock.**

Clones	Produção (g/plantas)	Número de tubérculos	Produção de tubérculos graúdos	Porcentagem de matéria seca	Porcentagem de tubérculos graúdos	Índice
52-5	825 a	13,000 a	616,7 a	18.579 a	71.15 a	90
34-1	1021,9 a	10,625 a	721,9 a	17.810 a	48.56 a	115
38-3	1053,1 a	9,000 a	825 a	16.902 a	48.84 a	171
9-5	790,6 a	10,333 a	440,6 a	20.024 a	40.53 a	173
19-9	668,8 a	7,750 b	443,8 a	19.642 a	51.06 a	179
56-1	856,3 a	8,833 a	845,8 a	17.632 a	40.32 a	181
38-5	862,5 a	5,000 c	668,8 a	21.085 a	58.15 a	191
21-12	1037,5 a	10,125 a	700 a	18.906 a	32.45 b	192
40-2	929,2 a	8,000 b	725 a	16.824 a	50.07 a	192
12-3	987,5 a	9,625 a	709,4 a	16.935 a	43.64 a	194
24-2	1400 a	10,167 a	1233,3	15.400 a	56.21 a	203
31-1	787,5 a	7,875 b	643,8 a	17.393 a	45.69 a	204
51-5	709,4 a	8,000 b	734,4 a	16.730 a	58.89 a	212
33-1	884,4 a	9,833 a	709,4 a	15.614 a	59.61 a	214
19-3	843,8 a	6,333 b	656,3 a	16.890 a	77.73 a	227
6-1	812,5 a	8,000 b	640,6 a	17.112 a	39.57 a	247
37-4	859,4 a	8,875 a	550 a	16.839 a	42.44 a	250
50-3	600 b	7,000 b	541,7 a	19,048 a	40,01 a	260
43-5	771,9 a	9,167 a	503,1 a	17,294 a	38,41 a	265
31-2	796,9 a	10,667 a	595,8 a	16,154 a	43,19 a	269
37-8	881,3 a	9,333 a	628,1 a	15,526 a	45,61 a	271
46-1	659,4 a	5,833 c	537,5 a	19,167 a	40,46 a	283
32-1	575 b	6,125 b	446,9 a	22,073 a	41,82 a	299
9-1	640,6 a	6,500 b	478,1 a	17,171 a	47,77 a	302
22-6	725 a	6,250 b	556,3 a	16,926 a	46,29 a	303
49-3	434,4 b	9,000 a	575 a	17,181 a	61,59 a	313
55-2	579,2 b	5,667 c	408,3 b	20,161 a	49,08 a	315
2-2	771,9 a	7,875 b	587,5 a	16,387 a	38,84 a	317
33-2	1050 a	6,500 b	862,5 a	14,818 a	41,07 a	334
34-2	865,6 a	5,875 b	700 a	15,934 a	45,58 a	335
21-4	821,9 a	7,375 b	603,1 a	16,537 a	35,87 b	337
18-1	825 a	8,500 a	506,3 a	14,658 a	43,7 a	341
40-8	753,1 a	8,333 a	500 a	15,892 a	39,52 a	343
28-1	653,1 a	6,500 b	637,5 a	15,177 a	53,09 a	343
24-1	558,3 b	6,750 b	512,5 a	16,775 a	51,29 a	346

“continuação”

“ TABELA 7, Cont.”

40-3	584,4	b	9,500	a	431,3	a	19,925	a	28,27	b	348
26-1	809,4	a	7,667	b	625	a	16,872	a	31,14	b	354
40-5	758,3	a	7,833	b	458,3	a	17,406	a	30,83	b	354
8-1	825	a	10,000	a	437,5	a	14,413	a	42,28	a	358
8-2	603,1	a	6,333	b	541,7	a	16,040	a	53,26	a	359
Asterix	300	b	2,000	c	150	b	17,608	a	37,5	a	800
Monalisa	365,6	b	3,625	c	200	b	13,918	b	28,13	a	962
Atlantic	500	b	6,000	b	237,5	b	18,878	a	46,88	a	463
Média	796,8		8,148		613,47		17,3		20,78		

## 5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nos experimentos realizados, pôde-se concluir que:

- O marcador RYSC3 se mostrou eficiente e de fácil aplicação na seleção de clones imunes ao PVY;
- Foram identificados e selecionados 40 clones com imunidade ao PVY, com boas características agrônômicas teores razoáveis de matéria seca nos tubérculos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL 2003 - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2003.
- AGRIANUAL 2005 - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2005.
- 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.
- ÁVILA, A. C. Produção de semente. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Produção de batata**. Brasília: Linha Gráfica, 1987. p. 103-117.
- BANTTARI, E. E.; ELLIS, P. J.; PAUL KHURANÁ, S. M. Management of Dياسes 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.
- BEEMSTER, A. B. R.; DE BOKX, J. A. Surrey of properties and symptoms. In: DE BOKX, J. A.; WANT, J. P. H. V. (Ed). **Viruses of potato an seed potato production**. 2. ed. Wageningen: Pudoc, 1987. p. 84-113.
- BERCKS, R. **Potato virus X**. Kew: Commonwealth mycological institute/ Association of Applied Biologists, 1970. 4 p. (Descriptions of Plant Viruses, 4).
- BLANCO-URGOITI, B.; SANCHEZ, F.; SAN 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*, London, v. 79, pt. 8, p. 2037-42, Aug. 1998a.
- 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. 1, p. 37-42, Apr. 1992.
- BRADSHAW, J.; EMACKAY, G. R. **Potato fenetics**. Wallingford, U. K: Cab International, 1994. 552 p.



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.

CÂMARA, F. L. A.; CUPRETINO, F. P.; FILGUEIRA, F. A. R. Incidência de vírus em cultivares de batata multiplicadas sucessivamente em Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 3, p. 711-716, out. 1986.

CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. **Control de enfermedades vinóticas y similares.** Lima, 1990. p. 103. (Informe anual).

CHAKRABORTY, S., PETTITT, A.N., BOLAND, R.M. & CAMERON, D.F. Field evaluation of quantitative resistance to anthracnose in *Stylosanthes scabra*. **Phytopathology** 80:1147-1154. 1990.

DANIELS, J. Identificação Sorológica de estirpes do vírus Y da batata do Sul do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 265, set. 2000.

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: Commonwealth 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<sup>N</sup> and Y<sup>O</sup>. **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. Wagenirgen: Pudoc, 1987. 259 p.

DOUGLAS, D. R.; PAVEK, J. J. Screening potatoes for field resistance to early blight. **American Potato Journal**, Orono, v. 49, n. 1, p. 1-16, Jan. 1972.

ELLIS, R.; STACE-SMITH, E.; DE VILLIERS, D. Identification and geographic distribution of serotypes of potato vírus Y. **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.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa-CENARGEN, 1998. 220 p

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. 1996.

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. 1985.

FLIS, B.; HENNIG, J.; STRZELCZYK-ZYTA, D.; GEBHARDT, C.; MARCZEWSKI, W. **The Ry-f<sub>500</sub> from *Solanum stoloniferum* for extreme resistance 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**, v. 15, p. 95-101, 2004.

FORTES, G. R. de L.; PEREIRA, J. E. S. **Classificação e descrição botânica**. In: PEREIRA, A. DA S.; DANIELS J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2003. p. 69-79.

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.

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

GODOY, R. C. B. de.; SCOTTI C. A.; BUENO L. A. de P. A Batata no Estado do Paraná. In: PEREIRA, A. DA S.; DANIELS J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2003. p. 25-37.

GOTTSCHALK, W. The origin of the potato: an open problem. **The Nucleus**, London, 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, p. 10-20, 1988.

HAWKES, J. G. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: HAWKES, J. G. (Ed.). **Genetic potato**. Wallingford: CAB International, 1994. p 3-42.

HÄMÄLÄINEN, J. H.; WATANABE, K. N.; VALKONEN, J. P. T.; ARIHARA, A.; PLAINSTED, 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 Genet**, Berlin, v. 94, n. 2, p. 192-197, Feb. 1997.

HERRIOT, A. B.; HAYNES, Jr. F. L.; SHOEMAKER, P. B. Inheritance of resistance to early blight disease in tetraploid x diploid crosses of potatoes. **Horticultural Science**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 224-226, Feb. 1990.

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

HOSAKA, K.; HOSAKA, Y.; MORI, M.; MAIDA, T.; MATSUGA, H. Detection of a simplex RAPD marker linked to resistance to potato virus y in a tetraploid potato. **American Journal Potato Research**, Orono, v. 78, n. 3, p. 191-196, May/June 2001.

JELLIS, G. J. Multiple resistance to diseases and pests in potatoes. **Euphytica**, Wageningen, v. 63, n. 1/2, p. 51-58, 1992.

**RIBEIRO, A. M. Identificação de clones de batata imunes ao PVY, simplex e duplex e agronomicamente promissores.** 2004. Dissertação (Mestrado em Genético e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

**ROWE, R C.** **Potato health management.** St. Paul: APS Press, 1993. 177 p.

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

**SALAZAR, L. F.** **Enfermedades virosas de la papa.** Lima: Centro Internacional de la Papa, 1982. 111 p.

**SAIKI, R.; GELFAND, D. H.; STOEFFEL, S.; SHARF, S. J.; HIGUCHI, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A.** Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, Washington, v. 239, n. 4839, p. 487-491, Jan. 1988.

**SCHIPPERS, P. A.** The relationship between specific gravity and percentage dry matter in potato tubers. *American Potato Journal*, Orono, v. 53, n. 4, p. 111-112, Apr. 1976.

**SILVA, M. da S.** Multiplicação rápida. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Produção de batata.** Brasília: Linha Gráfica, 1987. p. 194-200.

**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, MG.

**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.

**SILVA, O. A.; PINTO, C. A. B. P.; FIGUEIRA, A. R.** Identificação de clones de batata imunes aos vírus X (PVY) e Y (PVY), adaptados à região sul de Minas Gerais. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 385-390, out./dez. 2000.

SOUZA DIAS, J. A. C. de; IMAUTI, 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.

STEVENS, F. L. **The fungi which cause plant disease**. New York: The Macmillan Company, 1913. 754 p.

STIENBERG, D.; FRY, W. E. Quantitative analysis method 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. 303-307, May 1990.

VAN DER PLANK. **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968. 206 p.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.

WETTER, C. **Potato virus S**. Kew: Commonwealth Mycological Institute/ Association of Applied Biologists, 1971. 3 p. (Descriptions of Plant Viruses, 60).

ZAMBOLIM, E. M. Métodos de diagnose em vírus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 236-237, ago. 1999. Suplemento.