

FLÁVIO HENRIQUE REIS MORAES

**ESTUDO COMPARATIVO DE ALGUMAS PROPRIEDADES
BIOLÓGICAS DE CINCO ISOLADOS DO VÍRUS Y DA BATATA
("Potato Virus Y" - PVY).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora
Prof.^a Dr.^a **Antônia dos Reis Figueira**

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997

Asst. Sec. of the

15745
119027698

FLÁVIO HENRIQUE REIS MORAES

**ESTUDO COMPARATIVO DE ALGUMAS PROPRIEDADES
BIOLÓGICAS DE CINCO ISOLADOS DO VÍRUS Y DA BATATA
("Potato Virus Y" - PVY).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora
Prof.^a Dr.^a **Antônia dos Reis Figueira**



**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997**

Ficha Catalográfica preparada pela Secção de Classificação e Catalogação
da Biblioteca Central da UFLA

Moraes, Flávio Henrique Reis.

Estudo comparativo de algumas propriedades biológicas de cinco
isolados do vírus Y da batata ("Potato virus Y" - PVY) / Flávio Henrique
Reis Moraes. -- Lavras: UFLA, 1997.

87P. : il.

Orientador: Antônia dos Reis Figueira

Dissertação (Mestrado) - UFLA

Bibliografia.

1. Batata - Solanum tuberosum - Doença. 2. Vírus Y da batata - Estirpes.
3. Vírus - Enrolamento. 4. Batata-semente. 5. Diagnose. 6. Planta
hospedeira. 7. Teste sorológico - DAS-ELISA. 8. Vetor. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.2193

FLÁVIO HENRIQUE REIS MORAES

**ESTUDO COMPARATIVO DE ALGUMAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE CINCO
ISOLADOS DO VÍRUS Y DA BATATA ("Potato virus Y" - PVY).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 15 de agosto de 1997



Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza



Dr.ª Neusa de Lima Nogueira



Prof. Dr.ª Antônia dos Reis Figueira
(Orientadora)

A Deus pela dádiva da vida.

Aos meus pais, Felipe e Lourdes, por tudo.

Aos meus irmãos Fábio e Felipe Jr.

As minhas irmãs Fabiane e Fabíola.

A gente humilde da minha região Nordeste.

OFEREÇO E DEDICO

“Segundo Platão, o corpo humano consistia em três partes: cabeça, peito e baixo-ventre. A cada uma dessas partes corresponde determinada característica. A razão pertence à cabeça, a vontade ao peito e o desejo ao baixo-ventre. Cada uma dessas características possuíam também um ideal ou uma virtude. A razão deve aspirar à sabedoria, a vontade deve mostrar coragem e os desejos devem ser controlados, a fim de que o homem possa exercitar a temperança. Somente quando as três partes do homem agem como um todo é que temos o indivíduo harmônico ou íntegro.”

(427-347 a.C.)

“Não há ventos favoráveis
para quem não sabe para
onde quer ir.”

**Sêneca, filósofo romano
Séc. I.**

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade para realizar o curso de Mestrado.

Ao Departamento de Fitopatologia pela boa receptividade e apoio no trabalho de pesquisa.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

À Professora Antônia dos Reis Figueira pela orientação, amizade, solidariedade e apoio nas horas difíceis, além do exemplo de profissionalismo.

Ao professor Ricardo Magela de Souza pelas pela avaliação e sugestões desse trabalho.

À Dr^a Neusa de Lima Nogueira pelo aceite para participar da Banca Examinadora.

Aos demais Professores e Funcionários do Departamento de Fitopatologia - UFLA pelos ensinamentos transmitidos e convívio.

Aos colegas do Curso de Mestrado em Fitopatologia pela amizade.

Aos grandes amigos Andrei, Beto, Eustáquio, Henrique e Jorge pelos momentos de alegria e tristezas, convívios e compartilhados.

Às amigas Paula e Adriana, pelas ajudas e momentos de descontração.

À Inês pelo grande carinho, ajuda nos momentos de dificuldade e sorrisos nos momentos de lazer.

Às amigas Eneida e Adriana pelos apoios prestados e convívio.

À amiga Lucinha pela amizade, grande incentivo e exemplo de vida

Aos amigos(as) do Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais: Rita de Cássia, Eliane, Carlos, Antônio Carlos e Sérgio, pelo total apoio na realização desse trabalho.

À todos que colaboraram de uma maneira ou de outra na execução desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	página viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Víroses da batata.....	4
2.2 PVY - Estrutura, composição e propriedades da partícula viral.....	6
2.3 Estirpes e sintomatologia em batata.....	7
2.4 Caracterização por inoculação em plantas indicadoras e/ou hospedeiras.....	10
2.5 Mecanismo de transmissão (Relação vírus x vetor).....	14
2.6 Resistência da planta madura.....	16
2.7 Utilização dos antissoros Mono e Policlonais na diferenciação de estirpes de PVY.....	20
2.8 PVY ^N - Origem, epidemiologia e situação atual.....	21

3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Obtenção e manutenção dos isolados.....	28
3.2 Levantamento da incidência de PVY e PLRV em diferentes cultivares de batata...	29
3.3 Obtenção e inoculação das plantas indicadoras e/ou hospedeiras para o estudo dos sintomas.....	30
3.4 Teste sorológico DAS-ELISA (Double-antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay), utilizando-se antissoro policlonal (PVY) e monoclonal (PVY ^N).....	31
3.5 Estudo da propriedade das partículas dos isolados de PVY.....	33
3.6 Estudo da multiplicação dos isolados de PVY ao longo do ciclo vegetativo da planta de batata.....	34
3.7 Teste comparativo de transmissibilidade dos isolados de PVY pelo vetor <i>Myzus persicae</i> Sulz.....	34
3.8 Diagnose dos isolados de PVY através da técnica sorológica DAS-ELISA, em diferentes partes dos tubérculos e respectivas plântulas, provenientes de plantas inoculadas no início e final de ciclo.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1 Incidência de PVY e PLRV em lotes de batata-semente.....	37
4.2 Sintomatologia em plantas indicadoras inoculadas com os isolados de PVY.....	43
4.3 Reação dos isolados de PVY, aos diferentes antissoros.....	47
4.4 Propriedade das partículas dos isolados de PVY estudados.....	49
4.5 Multiplicação dos isolados de PVY, ao longo do ciclo vegetativo de plantas de batata.....	51
4.6 Transmissibilidade pelo inseto vetor <i>Myzus persicae</i> Sulz.....	57
4.7 Eficiência da técnica DAS-ELISA para detecção de vírus nas diferentes partes dos tubérculos e respectivas plântulas, oriundos de plantas de batata inoculadas, com os isolados de PVY, no início e no final do ciclo vegetativo.....	59
5 CONCLUSÕES.....	70
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
APÊNDICE.....	83

LISTAS DE TABELAS

Tabela		página
1	Origem e características dos isolados do Vírus Y da Batata (PVY), utilizados no presente trabalho. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	29
2	Incidência de viroses em lotes de batata-semente de diversas cultivares, detectada através do teste sorológico DAS-ELISA. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	38
3	Incidência das estirpes necrótica e comum do PVY em oito lotes de batata-semente produzidos em Minas Gerais. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	39
4	Reação das plantas indicadoras inoculadas com os cinco diferentes isolados de PVY estudados. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	44
5	Diagnose dos isolados de PVY, estabelecidos em plantas de fumo 'TNN', (30 dias após a inoculação) e em plantas de batata 'Achat', com infecção secundária (2 semanas após a emergência), através do teste DAS-ELISA, utilizando-se antissoro policlonal e monoclonal para a estirpe necrótica. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	48
6	Propriedades das partículas dos isolados de PVY, no extrato vegetal de plantas de fumo (<i>N. tabacum</i>) cv.TNN. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	50

7	Transmissão dos isolados de PVY, através do vetor <i>Myzus persicae</i> Sulz. (Temperatura média de 23°C). UFLA, Lavras-MG, 1997.....	57
8	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ^N -UFLA, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	60
9	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ⁰ -07, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	61
10	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ^N -54, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	61
11	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ^N -20, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	62
12	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ^N -Br, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	62
13	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ^N -UFLA, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	63
14	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ⁰ -07, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	63
15	Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY ^N -54, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	64

- 16 Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-20, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997..... 64
- 17 Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-Br, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997..... 65

LISTA DE FIGURAS

Figura		página
1	Incidência de PVY e PLRV, em lotes de batata-semente analisados por pré-cultura e por DAS-ELISA. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	39
2	Incidência das estirpes necrótica (PVY ^N) e comum (PVY ⁰), em plantas de batata infectadas com PVY. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	40
3	Incidência de PVY, em lotes de batata-semente do Estado de Minas Gerais, no período de junho/95 a maio/96. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	41
4	Incidência de PLRV, em lotes de batata-semente do Estado de Minas Gerais, no período de junho/95 a maio/96. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	41
5	Concentração de partículas virais ao longo do ciclo vegetativo da planta, inferida em cinco avaliações consecutivas, com intervalos de dez dias entre elas, pela absorbância obtida no teste DAS-ELISA, empregando tecidos foliares de batata cv. Achat inoculada mecanicamente com os isolados de PVY. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	52
6	Concentração de partículas virais ao longo do ciclo vegetativo da planta, inferida em cinco avaliações consecutivas, com intervalos de dez dias entre elas, pela absorbância obtida no teste DAS-ELISA, empregando tecidos foliares de batata cv. Achat inoculada mecânicamente com os isolados de PVY. UFLA, Lavras-MG, 1997.....	53

- 7 **Comaparação entre as porcentagens de infecção de cada um dos isolados de PVY estudados, nas diferentes partes de tubérculos (tecidos de tubérculos dormentes, brotos e plântulas) provenientes de plantas de batata inoculadas 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997..... 67**
- 8 **Comaparação entre as porcentagens de infecção de cada um dos isolados de PVY estudados, nas diferentes partes de tubérculos (tecidos de tubérculos dormentes, brotos e plântulas) provenientes de plantas de batata inoculadas 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997..... 67**

RESUMO

MORAES, Flávio Henrique Reis. **Estudo comparativo de algumas propriedades biológicas de cinco isolados do vírus Y da batata ("Potato Virus Y" - PVY)**. Lavras: UFLA, 1997. 84p. (Dissertação-Mestrado em Fitopatologia)*

Nesse trabalho, foi investigada, inicialmente, a incidência de estirpes do vírus Y (PVY) e do vírus do enrolamento da folha da batata (PLRV) numa amostragem de lotes de batatas-semente, que foram enviadas para análise no Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais, sediado no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram analisados 17 lotes de batata-semente produzidos em Minas Gerais, 07 no Estado de São Paulo e 01 no Estado de Santa Catarina, totalizando 1828 tubérculos. A incidência de PVY nesses tubérculos foi bem superior, ou seja de 26,9% contra 3,1% de PLRV. Foram detectadas duas estirpes, entre plantas infectadas com PVY, tendo a incidência da estirpe necrótica (PVY^N) predominado sobre a comum (PVY⁰), apresentando valores de 83,6% e 16,4%, respectivamente. Foi feito também um levantamento da incidência, por cultivar, do PVY e do PLRV, em 424 lotes de batata-semente, com 65.159 tubérculos, produzidos pelo Estado de Minas Gerais, no período de junho/95 a maio/96. Destes, 101 lotes apresentaram incidência de PVY acima de 12%, com predominância nas cultivares Achat e Baraka; e 20 lotes apresentaram incidência de PLRV acima de 8%. Em seguida, foram estudadas algumas propriedades biológicas de cinco isolados de PVY, sendo um isolado necrótico detectado no campo, no Sul de Minas Gerais, por volta de 1987 (PVY^N-UFLA) e mantido nas coleções de vírus da UFLA, em plantas de fumo 'TNN'; e quatro provenientes de lotes de batata-semente da cv. Achat, analisados na UFLA nos últimos dois anos (1995/97); três isolados de PVY^N (PVY^N-Br, 54 e 20) e um de PVY⁰ (PVY⁰-07)

* Orientadora: Prof^ª Dr^ª Antonia dos Reis Figueira. Membros da Banca: Dr^ª Neusa de Lima Nogueira; Pr^º Dr. Ricardo Magela de Souza.

No estudo da sintomatologia em plantas indicadoras, o fumo (*Nicotiana tabacum* L.) cv. Turkish NN e *Physalis floridana* Rydb., foram as que melhor diferenciaram os isolados da estirpe necrótica. Em fumo o isolado PVY^N-UFLA foi mais agressivo em todos os sintomas observados, ocasionando um forte colapso das folhas velhas e medianas, além de apresentar a reação mais rápida, cerca de 4-5 dias após a inoculação. Os isolados PVY^N-54 e Br apresentaram sintomas mais suaves. Em *Physalis*, foi observado que o isolado PVY^N-UFLA foi o único a não causar queda das folhas; e os demais isolados foram bastante agressivos, não havendo diferenças marcantes entre o isolado PVY⁰-07 e os PVY^N-54 e Br. Antes da queda das folhas, esses isolados induziram pontos necróticos sistêmicos que escureciam, causando colapso das folhas, restando apenas a haste principal. Nos testes sorológicos DAS-ELISA, todos os isolados reagiram com o antissoro policlonal para PVY (Bohringer Mannheim - Alemanha), porém, somente o isolado mais antigo, da estirpe necrótica (PVY^N-UFLA), reagiu com o antissoro monoclonal (Agdia-USA) específico para PVY^N, indicando que essa nova estirpe necrótica detectada no Brasil é realmente diferente das estirpes que ocorriam no campo há alguns anos atrás. Tanto a longevidade “in vitro” (LIV), como o ponto de inativação térmica (TIP) e o ponto máximo de diluição (DEP) dos cinco isolados de PVY, foram bastante semelhantes. No estudo da multiplicação desses isolados na planta de batata, cv. Achat, através da absorbância obtida em DAS-ELISA, ao longo do ciclo da planta infectada, observou-se que o PVY^N-UFLA diferiu bastante dos outros isolados, apresentando uma concentração bem inferior em todas as épocas investigadas. Os demais isolados apresentaram comportamento semelhante, sendo que a sua concentração apresentou um pico máximo aos 30 dias e um decréscimo significativo aos 40 dias após a inoculação. Nos testes de transmissibilidade por *Myzus persicae* Sulz.; pode-se observar uma alta taxa de transmissão dos isolados estudados, com exceção do isolado PVY⁰-07 (6,25%), que foi muito baixa. Entre os demais isolados o PVY^N-Br e PVY^N-54, apresentaram a maior (80 e 81%, respectivamente); e o PVY^N-UFLA (68,8%) e o PVY^N-20 (50%), a menor transmissibilidade. Na diagnose de tecidos de tubérculos, brotos e respectivas plântulas, provenientes de plantas inoculadas tanto no início como no final de ciclo, observou-se um escape acima de 90% na diagnose do PVY, quando foram utilizados tecidos de tubérculos dormentes, indicando a necessidade do tratamento de tubérculos para quebra de dormência, antes desses sejam submetidos à indexação do PVY, através da técnica DAS-ELISA.

ABSTRACT

COMPARATIVE STUDY OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF FIVE POTATO VIRUS Y ISOLATES.

In this study was firstly investigated the incidence of potato virus Y (PVY) and potato leafroll virus (PLRV) in seventeen seed potato samples from Minas Gerais State, Brazil, seven from São Paulo State and one from Santa Catarina State, making a total of 1,828 tubers. The PVY and PLRV incidence tubers was 26,9% and 3,1%, respectively. Among PVY infected tubers, 16,4% were infected with PVY common strain (PVY⁰) and 83,6% with PVY necrotic strain (PVY^N). Virus occurrence was also investigated in others 424 seed potato samples, amounting 65,159 tubers, from Minas Gerais State, indexed between june/95 and may/96. PVY incidence greater than 12% was detected in 101 seed potatoes lots and PLRV incidence greater than 8%, in 20 seed potato lots. After that were investigated some biological properties of five PVY isolates: one necrotic virus collected from potato field in South part of Minas Gerais State, in 1987 (PVY^N-UFLA), that has been maintained in UFLA virus collection, and four PVY isolates coming from seed potatoes have been indexed on the last two years in Minas Gerais state: one PVY common strain isolate (PVY⁰-07) and three PVY necrotic strains isolates (PVY^N-BR, 54 and 20).

Studies on host symptomatology indicated that tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) cv. TNN and *Physalis floridana* Rybd. were the best hosts to differentiate among necrotic strains

virus. Tobacco plants infected by PVY^N-UFLA reacted earlier and had severe symptoms, showing premature old leaf falling. PVY^N-54 and PVY^N-Br isolates caused mild symptoms. *P. floridana* showed systemic mosaic and very light necrotic local lesions with no leaf falling when infected with PVYN-UFLA isolate. All the others isolates caused more severe symptoms, like systemic necrotic lesions and old leaf falling, from lower part of infected plant. The five PVY isolates showed positive reactions with policlonal antiserum against PVY but only PVY^N-UFLA isolate reacted with monoclonal antiserum in DAS-ELISA technique, indicating that this new PVY^N isolate is different from old PVY^N isolates detected few years ago in Brazil. The observed virus particles properties: "in vitro" longevity (LIV), thermal inactivation point (TIP) and dilution end point (DEP) were similar for all five PVY isolates. The study carried out to detect virus particles concentrations in five life cycle stages of potato plants cv. Achat, based on DAS-ELISA absorbance (405nm) showed that PVY^N-UFLA presented a clear difference from all others four isolates, with lower concentration of virus particles in all the stages evaluated. The four others isolates were similar, with little difference on concentrations among virus particles. It was possible to observe that the particles concentration were greater at 30 days after inoculation and had a significant decrease at 40 days after inoculation. The vector transmission tests with *Myzus persicae* Sulz., revealed that PVY⁰-07 isolate was poorly transmitted, by only 6,3% of inoculated plants. PVY^N-Br and PVY^N-54 showed a transmissibility rates of 80 and 81% respectively and PVY^N-UFLA (68,8%) and PVY^N-20 (50%) had a little lower transmissibility rate. The PVY isolates could not be detected by DAS-ELISA in more than 90% of tissues of dormant tubers, from plants inoculated at 10 and 50 days after emergence. It was found that tuber sprouts are the best material to be used for PVY indexation tests.

1 INTRODUÇÃO

A batata, batatinha ou batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.), originária das regiões andinas do Peru, Bolívia e Chile, tem destaque por ser umas das hortaliças mais cultivadas no mundo. Seu produto comercial, o tubérculo, rico em amido, é utilizado como alimento e como batata-semente, para propagação vegetativa.

No Brasil, a batata ocupa o primeiro lugar entre as culturas oleráceas, tanto em área cultivada, como em produção física e valor de produção, sendo os maiores produtores os estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que são responsáveis por mais de 95% da produção brasileira (Filgueira, 1982). O cultivo da batata, no país, é desenvolvido basicamente por meio da utilização de cultivares importadas, principalmente da Alemanha e da Holanda. Todavia, essas sementes provenientes desses ou de outros países, constituem um dos grandes problemas da cultura, tanto em termos econômicos, como agronômicos, representando mais de 50% do custo de produção (Cardoso e Guglielmelli F^o, 1982).

assim, o custo inicial de implantação de um batatal. Portanto, é de grande interesse do produtor obter batata-semente sadia, pois esta cultura é facilmente afetada por enfermidades fúngicas, bacterianas e viróticas. Tais patógenos são transmitidos de geração a geração, por sucessivas multiplicações vegetativas, adquirindo papel fundamental na degenerescência da “semente”, diminuindo o seu vigor, produtividade e resistência à doenças.

O cultivo de batata (*S. tuberosum* L.) está mundialmente sujeito ao ataque de pouco mais de 70 doenças bióticas, dentre as quais, cerca de 23 são causadas por vírus. Embora as doenças causadas por esses vírus sejam raramente letais, elas reduzem o vigor da planta e o potencial de produção dos tubérculos, principalmente os destinados para sementes. Nas condições de campo, sua identificação torna-se complicada, devido à variação dos sintomas que são causados por diferentes estirpes de vírus, a resposta da planta com relação à maturidade e duração da infecção, a cultivar de batata utilizada e a influência dos fatores do ambiente (Hooker, 1981).

No Brasil, as principais doenças viróticas que ocorrem na cultura da batata são o vírus do enrolamento da folha da batata (PLRV), o vírus Y da batata (PVY) e, muito raramente, o vírus A e os latentes X, M e S. A predominância de insetos vetores, principalmente o afídeo *Myzus persicae* Sulzer, na forma alada, durante todo o decorrer do ano; e a presença de várias espécies de ervas daninhas, servindo de hospedeiras para o inseto-vetor e/ou vírus, tendem a favorecer a disseminação e estabelecimento das principais viroses nos campos de produção.

Apesar da ocorrência do PVY, em baixa incidência no campo, até pouco tempo atrás, somente o PLRV era considerado como o único responsável pela degenerescência do tubérculo-semente das regiões produtoras de São Paulo (Souza Dias, Costa e Ramos, 1984; Souza Dias,

Amâncio e Costa, 1990), sendo então apontado como o principal fator de condenação de campos de produção de batata-semente no Brasil.

Entretanto, a partir de 1995, o PVY, que não era considerado problema de grande importância para a cultura da batata, começou a ser detectado em alta incidência nos campos de batata para semente e consumo, das regiões produtoras de Minas Gerais e outros Estados do país. Devido a essa alta incidência, o Centro de Indexação de Vírus do Estado de Minas Gerais, que utilizava somente testes para detecção do PLRV, em procedimentos rotineiros de indexação de vírus em tubérculos-semente, a partir do mês de junho/95, passou também a incluir o teste para detecção do PVY (Figueira e Pinto, 1995). A partir de então, tornou-se um dos grandes causadores de condenação e desclassificação de batata-semente em Minas Gerais.

Devido à preocupação com o reflexo desse fator, eventualmente novo, na qualidade da batata semente produzida em Minas Gerais, tornou-se necessária a sua caracterização para que medidas efetivas pudessem ser tomadas, visando o seu controle.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Viroses da batata

A cultura da batata está sujeita ao ataque de cerca de 23 doenças viróticas, contudo, o vírus que tem tido maior destaque é do enrolamento da folha da batata (PLRV), ocorrendo praticamente no mundo todo (Peters e Jones, 1981; Peters, 1970). No Brasil, durante os últimos anos, o PLRV tem predominado em condições de campo, ocorrendo em quase todas as áreas de produção, limitando a cultura de batata-semente e consumo, sendo considerado o principal responsável pela degenerescência do tubérculo-semente no Estado de São Paulo (Puttemans, 1934; Silberschmidt, 1937; Costa, 1948, 1965; São Paulo, 1973 ; Siqueira, 1976; Mizubuti, 1981; Souza Dias, Costa e Ramos, 1984; Souza Dias, Amâncio e Costa, 1990); de modo, que era o único incluído no Programa Brasileiro de Indexação de Batata-semente, através de testes sorológicos ELISA. Sua incidência varia de acordo com a cultivar e semente utilizada, época de plantio, tratos culturais, controle dos insetos vetores e condições ambientais, que, sendo favoráveis, podem resultar em infecções de mais de 50% da cultura (Costa, 1965; Tokeshi e Bergamin Fº, 1980; Mallozzi, 1982).

O vírus Y é responsável também, no Brasil, por uma parte da degenerescência na cultura da batata, pois em associação com o vírus X e A, formando complexos, ou sozinho, pode causar severos danos, dependendo da cultivar utilizada (Silberschmidt e Mallozzi, 1967; Tokeshi e Bergamin F°, 1980; Mizubuti, 1981; Filgueira, 1982). Silberschmidt e Kramer (1942), percorrendo, durante 6 anos seguidos, batatais de diversas zonas do estado de São Paulo, verificaram a presença de plantas com sintomas típicos de mosaico, que ao serem reinoculadas em plantas indicadoras, foram identificados como PVY, podendo então estar envolvidos no processo de degenerescência, em plantios sucessivos da batata, nesse estado.

Em meados de 1994, foi detectada em Minas Gerais, na variedade Achat, o aumento de uma doença virótica, em campos de produtores de batata-consumo, que ao ser analisada em plantas indicadoras e teste ELISA, foi caracterizada como a estirpe necrótica do vírus Y da batata. Essa estirpe mostrou características bastante diferentes das detectadas anteriormente na região, sendo sua disseminação bastante rápida, podendo atingir mais de 50% de incidência na geração F₂ e cerca de 80 a 90% na geração F₃. Inicialmente, acreditava-se ser esse um problema regional, apesar da grande probabilidade dessa estirpe ter vindo na semente de 'Achat', importada da Alemanha; e de tornar-se um fator a mais de limitação da cultura da batata no país (Figueira e Pinto, 1995; Figueira, Pinto e Moraes, 1996; Figueira, Moraes e Pinto, 1996). Preocupada com o reflexo desse fato na qualidade da semente produzida em Minas Gerais, a entidade certificadora do estado passou, a partir do mês de junho/95, a incluir o teste para detecção do PVY, na rotina de indexação de vírus nas batatas-sementes mineiras (Figueira e Pinto, 1995).

2.2 PVY - Estrutura, composição e propriedades da partícula viral.

O vírus Y da batata (“Potato virus Y” - PVY) é o membro tipo do gênero *Potyvirus*, pertencente a família *Potyviridae*. A formação de corpos de inclusão viral do tipo cata-vento (“pinwheels”) é induzida por todos os membros desta família, no citoplasma de células infectadas (Edwardson, Christie e Ko, 1984); e também inclusões intranucleares cristalinas, em tecidos infectados com algumas estirpes de PVY (Kitajima, Camargo, 1967; Kitajima, Camargo e Costa, 1968). Um vírion de PVY tem a conformação de uma partícula filamentosa, helicoidalmente construída, flexível e medindo em torno de 730 nm de comprimento por 11 nm de diâmetro (De Bokx, 1981; De Bokx e Huttinga, 1981; Agrios, 1988), com um orifício central em torno de 2-3 nm de diâmetro (Hollings e Brunt, 1981b) e “pitch” (volta completa da hélice) com cerca de 3,3 a 3,5 nm (De Bokx e Huttinga, 1981; Hollings e Brunt, 1981a, b).

A sequência completa de nucleotídeos de diversos membros deste grupo já é conhecida (Allison, Johnston e Dougherty, 1986; Domier et al., 1986; Robaglia et al., 1989; Nicolas e Laliberté, 1992; Vance et al., 1992; Thole et al., 1993). A partícula flexuosa de um *Potyvirus* possui cerca de 9800 nucleotídeos, sendo o genoma constituído de RNA de fita simples, diretamente traduzível (+ssRNA). Esse RNA compreende cerca de 5,4-6,4 % do total da massa da partícula (Stace-Smith e Tremaine, 1970). A proteína viral, covalentemente ligada ao terminal 5' e a uma cauda poly A na extremidade 3', é produto de uma única unidade codificadora traduzível (“open reading frame”- ORF), cujos genes codificam aproximadamente nove proteínas com diferentes funções biológicas (Dougherty e Carrington, 1988; Matthews, 1992)

Segundo De Bokx e Huttinga (1981) e Brunt et al. (1996), as propriedades de partículas do do vírus Y da batata no extrato vegetal, provenientes de folhas de fumo infectadas, são: TIP (Temperatura de inativação térmica) entre 50 e 62°C, DEP (Ponto final de diluição) entre 10^{-2} e 10^{-6} e LIV (Longevidade “in vitro”) de 7 a 50 dias. Já Hollings e Brunt (1981a) afirmam que para o grupo Potyvirus o TIP é de 50 a 75°C, predominado entre 55 a 60°C, LIV de 1 a 50 dias, predominando de 2 a 4 dias e, DEP de 10^{-1} a 10^{-6} , sendo mais frequente 10^{-3} a 10^{-4} .

2.3 Estirpes e sintomatologia em batata

Dentre as estirpes de PVY, as mais comuns na cultura da batata, são a PVY⁰ (estirpe comum), de ocorrência mundial, a PVY^N (estirpe necrótica), ocorrendo na Europa, incluindo a URSS, África e América do Sul; e a estirpe PVY^C, provavelmente presente na Austrália, Índia e em algumas partes da UK e continente da Europa (De Bokx, 1981; De Bokx e Huttinga, 1981; Brunt et al., 1996). Em Minas Gerais, Andrade (1989) e Andrade e Figueira (1992) detectaram, com base na sintomatologia em plantas indicadoras, a ocorrência das estirpes comum (PVY⁰), necrótica (PVY^N) e PVY^C do PVY, com predominância da primeira.

De Bokx (1981) afirma que, em geral, PVY⁰ e PVY^C causam sintomas mais severos nas infecções primárias, em plantas de batata, do que os de PVY^N que induz um fraco mosqueado. Em infecções que ocorrem no final do ciclo, os sintomas foliares quase não aparecem, porém os tubérculos das plantas infectadas podem ser portadores do vírus. De Bokx e Huttinga (1981); Gallotti, Hirano e Bertocini (1992) relatam que as diferenças entre sintomas primários e secundários, induzidos por PVY, são, às vezes, indistinguíveis, devido à diversidade das

cultivares de batata, estirpe de vírus e condições climáticas, que podem variar de pouco perceptíveis até uma pronunciada necrose da folhagem e morte das plantas infectadas, sendo o mais comum, o sintoma de mosaico.

A estirpe necrótica do vírus Y da batata (PVY^N), em sintomas primários, pode causar anéis ou pontos necróticos, porém, seus sintomas são mais fracos, variando de um mosqueado suave a muito suave. Nas infecções secundárias, os sintomas tornam-se mais nítidos, podendo provocar um mosqueado severo, dependendo das condições climáticas (De Bokx e Huttinga, 1981).

Os sintomas primários de PVY⁰, dependendo da cultivar, são necroses, mosqueado ou amarelecimento dos folíolos, queda das folhas e, às vezes, morte prematura. Necroses, que iniciam em pontos ou anéis sobre os folíolos, causam colapso nas folhas (“leafdrop streak”). Plantas com infecção secundária de PVY⁰ apresentam-se menores, com folhas mosqueadas e enrugadas, sendo que, às vezes, ocorrem necroses nas folhas e no caule. Porém, essas são normalmente mais severas nas infecções primárias que nas secundárias. O mosqueado foliar pode ser mascarado em temperaturas abaixo de 10° C e acima de 25 °C, porém, em altas temperaturas, essa doença pode ser identificada por enrugamento e rugosidade nas folhagens (De Bokx, 1981; De Bokx e Huttinga, 1981). A multiplicação da estirpe necrótica de PVY é favorecida por temperaturas entre 22° e 26°C, nos primeiros estágios de crescimento; e entre 14° e 26°C, nos estágios posteriores. Entretanto, a temperatura ótima para multiplicação de PVY⁰ está entre 14° e 22°C, e entre 10° a 18°C, respectivamente (De Bokx e Piron, 1977).

A estirpe PVY^C causa sintomas severos de riscas com pontuações (“stipple-streak”) em cultivares que, quando afetadas, são menores e morrem prematuramente. Geralmente há uma

correlação entre os sintomas foliares e aqueles em tubérculos. Sintomas de mosaico fraco nas folhas, comumente induzido por estirpes necróticas, não são correlacionados com sintomas nos tubérculos, mas, as cultivares que reagem com necroses foliares à infecção de PVY⁰ às vezes mostram, sobre a cutícula do tubérculo, anéis de cor marrom-claro; enquanto que a estirpe PVY^C induz necroses internas e externas, em algumas variedades (De Bokx, 1981; De Bokx e Huttinga, 1981).

Os sintomas apresentados pela estirpe PVY⁰, em seis cultivares de batata, no sul de Minas Gerais, foram de mosaico, cuja intensidade variou do leve ao necrótico, às vezes, na mesma cultivar, ocorrendo também enfezamento e diminuição da área foliar em todas as cultivares. Quanto à estirpe necrótica (PVY^N), os sintomas foram diversos em plantas infectadas, da mesma cultivar, variando de mosaico intenso caracterizado por manchas de cor verde escura, geralmente irregulares e pequenas, até necrótico, delimitado às nervuras; enquanto que, com a estirpe PVY^C, os sintomas foram geralmente semelhantes aos induzidos pelas demais, caracterizando-se por sintomas necróticos, na forma de círculos (anéis) e manchas necróticas, nas nervuras dos folíolos, nos pecíolos e nas hastes. Em alguns casos, houve queda de folhas ou permanência destas, secas e presas ao caule, restando duas ou três folhas na parte superior da planta (“pinheirinho”). Todavia não foi possível fazer uma diferenciação precisa entre as estirpes PVY⁰ e PVY^N, a nível de campo (Andrade, 1989; Andrade e Figueira, 1992).

2.4 Caracterização por inoculação em plantas indicadoras e/ou hospedeiras

Para a caracterização e diferenciação dos sintomas das estirpes de PVY, torna-se necessária a utilização de plantas indicadoras, uma vez que os sintomas em batata variam com a cultivar e a estirpe de vírus, causando, desde fracos sintomas, à severa necrose nas folhas, ocasionando a morte da planta infectada; porém, o sintoma mais comum é o mosaico.

Sabe-se que a estirpe PVY⁰ é diferenciada principalmente por causar fortes sintomas em *Nicotiana glutinosa* L., *Physalis floridana* Rybd. e em algumas cultivares de batata. A PVY^N é assim denominada por produzir severa necrose nas nervuras das plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e a PVY^C difere das outras estirpes por não ser transmitida pelo vetor.

Muitas espécies de plantas, principalmente da família Solanaceae, algumas Amaranthaceae, Compositae, Chenopodiaceae e Leguminosae, são hospedeiras do PVY. Estirpes típicas desse vírus causam mosqueado suave em plantas de *Capsicum* spp., fumo e tomate (De Bokx e Huttinga, 1981). Raramente, na natureza, as plantas perenes atuam como reserva de vírus (De Bokx, 1981).

Diversas hospedeiras experimentais têm sido utilizadas como plantas indicadoras (Delgado-Sanchez e Grogan, 1970; Smith, 1972; De Bokx, 1981; De Bokx e Huttinga, 1981; Brunt et al., 1996). As mais comuns são :

-*Datura stramonium* L. ou *D. tatula*: imune a PVY, serve para eliminá-lo de outros complexos de viroses;

-*Nicotiana tabacum* L.: todas as estirpes, exceto PVY^N, induzem clareamento nas nervuras seguido de mosqueado, duas semanas após a inoculação. Porém as cultivares Samsun

NN e White Burley são utilizadas para diferenciar a estirpe Y^N de Y⁰. A estirpe Y^N induz clareamento nas nervuras e leve epinastia, seguida por lesões necróticas escuras, podendo as folhas sofrerem um colapso prematuro, de modo a restarem poucas folhas no ápice da planta;

- *N. glutinosa*: demonstra mosqueados que variam de suaves a severos, dependendo da estirpe;

-*Solanum demissum* 'A': muitas estirpes de PVY mostram sintomas de lesões locais, diferenciando do vírus A da batata que induz lesões locais necróticas, de três a cinco dias após a inoculação.

-*S. demissum* 'Y' e *S. demissum* x *S. tuberosum* 'A6': produzem lesões necróticas locais, cinco a sete dias após a inoculação, com quase todas as estirpes.

-Algumas cultivares de batata (*S. tuberosum*), com extrema resistência a outros grupos de viroses podem ser utilizadas;

-*Physalis floridana*: PVY^C e PVY^o, causam necroses locais e sistêmicas em plantas jovens, entretanto PVY^N induz somente sintomas de mosaico;

-Outras: *Chenopodium amaranticolor* Coste e Reyn., *C. quinoa* Willd. e algumas espécies de *Lycium* spp. são boas hospedeiras, para algumas estirpes, apresentando lesões locais.

Delgado-Sanchez e Grogan (1966), demonstraram que *C. quinoa* se presta como uma boa indicadora para ensaios de quantificação de infectividade, através das lesões locais; todavia, os melhores resultados foram obtidos com a utilização de plantas com as margens das folhas serrilhadas, inoculadas aos 30-35 dias após o transplante e incubadas entre 21-22°C. Os autores não observaram diferença no tamanho das lesões (1-2 mm) entre nenhuma das três estirpes PVY estudadas; porém, em geral, a aparência das lesões foi diferente; plantas novas (30-35 dias)

apresentaram lesões com áreas bem delimitadas de coloração mais intensa, que aquelas observadas em plantas velhas (40-50 dias), além do que o decréscimo na sensibilidade das plantas velhas, apresentou uma correlação com a iniciação da floração, que se iniciou cerca de 35 dias após o transplântio.

Alexandre e Barradas (1982), procurando novas hospedeiras para vírus que infectam culturas de valor econômico, observaram que *Solanum mammosum* L., vulgarmente conhecida como peito-de-moça, apresentava um mosqueado típico e generalizado nas folhas, quando inoculada com PVY (reação sistêmica) e como hospedeira latente do PVY^N. Nas repetições do experimento, os resultados obtidos foram sempre os mesmos, o que levou as autoras a sugerirem a utilização da referida solanácea silvestre, como planta indicadora opcional para diferenciar estirpes do vírus Y da batata. Além disso, alertaram para o fato de que a mesma pode vir a servir como hospedeira a nível de campo, sem apresentar sintomas nítidos.

A partir de determinações sorológicas por precipitação e visualização de partículas purificadas, Kudamatsu, Alba e Chagas (1981) detectaram nas solanáceas silvestres, *Solanum viarum* Dun. e *S. ciliatum* Lam., naturalmente infectadas, dois isolados do vírus Y da batata. Como estas plantas ocorrem em diversas regiões do Brasil, podem servir como hospedeiras do PVY para plantas cultivadas.

Barradas, Chagas e Kitajima (1984), examinando preparações “leaf-dip”, de plantas de *Solanum palinacanthum* Dun., com diferentes sintomas, coletadas em três regiões do Estado de São Paulo (Tatui, Jacareí e “campus” da USP), verificaram partículas virais alongadas e flexuosas. Em cortes ultra-finos de folhas sistemicamente infectadas, de *Nicotiana tabacum* cv. White Burley (USP e Tatui) e *N. glutinosa* (Jacareí), esses autores detectaram, nos três casos, a

presença de inclusões do tipo catavento. Inicialmente, em estudos sobre círculo de hospedeiras, sintomatologia, ponto final de diluição, ponto de inativação térmica e longevidade “In vitro”, esses autores suspeitaram que os vírus da USP e de Tatuí possuíam semelhanças com a estirpe necrótica do PVY (PVY^N). Posteriormente Colariccio (1996), estudando o isolado Jacarei em hospedeiras diferenciais e através de sorologia, com antissoros poli e monoclonais, concluiu que se tratava da estirpe comum do PVY.

Andrade (1989) utilizou em seu trabalho as seguintes plantas indicadoras para PVY e PRLV: fumo (*Nicotiana tabacum* L.) cultivares Turkish e Turkish NN; *Chenopodium quinoa* Willd.; *C. amaranticolor* Coste e Reyn.; *Gomphrena globosa* L.; *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn; *Datura stramonium* L. e *Physalis* sp.

Singh e Singh (1994), sugeriram a utilização de *Solanum brachycarpum* em substituição a plantas de fumo, para ser utilizada como planta indicadora em bioensaios na caracterização de PVY^N, pois, a mesma foi capaz de reagir com sintomas rápidos, quando inoculada com várias estirpes necróticas do PVY. Os sintomas consistiram de lesões necróticas locais, murchamento dos folíolos, colapso do pecíolo e morte total da planta, entre 7 a 10 dias após a inoculação. Além disso, inoculações de PVY^N e PVY^o, na presença de PVX, não alteraram o desenvolvimento dos sintomas causados por essa estirpe, o que em outros casos seria um fator limitante nesse processo.

2.5 Mecanismos de transmissão (Relação vírus x vetor)

As estirpes de PVY são facilmente transmitidas por inoculação mecânica da seiva, por meio de enxertia de hastes e por afideos de maneira não-persistente (De Bokx e Huttinga, 1981). Entre os insetos vetores, a ordem Homoptera tem uma especial importância, por representar praticamente 90% dos vetores conhecidos. Esses insetos adquirem os vírus, ao se alimentarem nas plantas doentes em que nasceram, ou ainda durante os vários vôos à procura de sua planta hospedeira (“vôos-apetitivos”), transportando as partículas, acabando por inoculá-las nas plantas hospedeiras do vírus, que não são necessariamente hospedeiras do vetor (Yuki, 1982).

O grupo Potyvirus, que abriga um grande número de membros de importância agrônômica, é o mais importante dentre os vírus transmitidos por afideos de forma não-persistente (não-circulativa ou estiletar). Embora um Potyvirus possa ser transmitido por diversas espécies de afideos, considerável especificidade ocorre, havendo diferenças na eficiência de transmissão entre diferentes clones ou colônias de uma espécie de afideo, ou entre diferentes estirpes de um mesmo vírus (Hollings e Brunt, 1981a).

A transmissão dos potyvirus por afideos envolve a aquisição das partículas, assim como a produção de uma proteína não estrutural “helper component” (Thornbury et al., 1990), de peso molecular de 53 a 58 kDa, denominada HC-Pro, que é codificada pelo vírus (Dougherty e Carrington, 1988). A ação dessa proteína, provavelmente, é facilitar a adesão da partícula do vírus à superfície do estilete dos afideos.

Pouco mais de 25 espécies de afideos são mencionadas como capazes de transmitir o PVY, porém, pouco se conhece sobre a eficiência desses. Contudo, sabe-se que o *Myzus persicae*

é o mais eficiente das espécies em muitas regiões e épocas do ano (De Bokx, 1981; De Bokx e Huttinga, 1981). Este, sozinho, é capaz de transmitir mais de 80 tipos de vírus, sendo que outros vetores também podem transmitir o PVY, como: *Aphis fabae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus certus*, *Phorodon humuli* e *Rhopalosiphum insertum* (Kennedy, Day e Eastop, 1962, citados por De Bokx e Huttinga, 1981; Yuki, 1982).

Yuki (1982), cita além de *M. persicae* (Sulz.), outros vetores de menor importância tais como : *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Aulacorthum solani* (Kltb.), *Aphis gossypii* (Glover), *Rhopalosiphum rufiabdominalis* (Sasaki) e *Rhopalosiphonimus latysiphon* (Davison).

Durante o período de 1983-1987, em campos de produção de batata da Holanda, foram capturados em armadilhas do tipo Ashby, um total de 122 espécies de afideos. Embora somente quatro dessas espécies (*Aphis nasturtii*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae* e *Myzus persicae*) são aptas para colonizar batata, 26 foram capazes de transmitir PVY^N entre plantas de batata, em condições de laboratório. Nesse estudo, foram feitos os primeiros registros de *Aphis sambuci*, *Crypomyzus galeopsidis*, *Dysaphis* spp., *Hyadaphis foeniculi*, *Hyalopterus pruni* e *Myzus cerasi* como vetores de PVY^N na Holanda. O número de afideos capturados por espécie foi diferente entre as estações e também a taxa de transmissão de alguns vírus foi flutuante de um ano para outro, como, por exemplo, para *Brachycaudus helichrysi* (De Bokx e Piron, 1990).

Cupertino et al. (1992) e Cupertino, Costa e Silva (1993), observaram que ápteros de *Myzus nicotiane* (pulgão vermelho do fumo), foram capazes de transmitir três estirpes de PVY oriundas da batata (Y^o), pimentão (Y^M) e tomate (Y^w), respectivamente, sendo que a porcentagem de plantas infectadas variou de acordo com o número de afideos utilizados na transmissão, a indicadora testada e a fonte de vírus usada.

A disseminação dos vírus é determinada pela suscetibilidade da cultivar de batata ao vírus, o número de fontes de vírus (a quantia de inóculo do vírus) e o número de vetores (afídeos) com capacidade de transmitir o vírus (De Bokx e Piron, 1990). As espécies de afídeos não diferem somente na morfologia e habilidade de transmitir os vírus da batata, mas também na forma, ciclo de vida e comportamento, dependendo das condições ambientais (temperatura, umidade relativa, fotoperíodo e condições da planta hospedeira), as quais o afídeo progenitor é exposto. Assim, o ciclo de vida de uma espécie em particular não vem a ser o mesmo, em diferentes partes do mundo. Em climas suaves, fêmeas ovíparas (que produzem ovos sexualmente fertilizados no inverno) não ocorrem, enquanto fêmeas partenogênicas e vivíparas (produzem assexuadamente, formas jovens chamadas ninfas), são produzidas o ano inteiro (MacGillivray, 1981).

Costa (1970), estudando as variações sazonais da migração de *Myzus persicae*, em Campinas-SP durante os anos de 1967 a 1969, coletou fêmeas vivíparas, partenogênicas e aladas em todas as semanas, durante o período de observação, sendo que as maiores migrações ocorreram nos meses de maio a setembro.

2.6 Resistência da planta madura

Após as partículas de vírus serem introduzidas nas células da superfície foliar, pelo vetor ou por inoculação mecânica, provavelmente esta não se moverá imediatamente, iniciando primeiramente o processo de multiplicação, em alguma célula infectada. Os vários tipos de vírus diferem quanto a sua velocidade de multiplicação, em diferentes espécies de hospedeiras e condições ambientais. Aparentemente, a taxa de replicação do vírus diminui, no sentido da ponta

para os tubérculos, à medida que a planta se torna velha e, conseqüentemente, os tubérculos poderão vir a não se tornar infectados. Este fenômeno é conhecido como resistência da planta madura (Beemster, 1987).

O vírus Y da batata, transmitido para todos os tubérculos da planta como infecção secundária, pode ocasionar reduções de 10 a 80% na produção, dependendo da estirpe, cultivar de batata e época de infecção (De Bokx e Huttinga, 1981). Beemster (1976), estudando a translocação das estirpes comum e necrótica do vírus Y da batata, inoculadas mecanicamente, observou que o PVY^N foi translocado muito mais rápido do que o PVY⁰, causando alto grau de infecção nos tubérculos; e que a resistência da planta foi demonstrada para ambos os vírus, em inoculações tardias (68 dias pós-plantio), tendo esta sido mais pronunciada nos experimentos com PVY⁰ do que com PVY^N.

Trabalhos desse mesmo autor (Beemster, 1987) mostram ainda que a taxa de infecção do PVY^N em tubérculos é bem menor em grupos de plantas inoculadas na 13^a e 14^a semana, após o plantio do que em plantas inoculadas na 8^a semana. Porém, Gibson (1991) detectou que plantas de batata inoculadas por vetor, apresentaram também resistência similar para PVY⁰ e PVY^N em plantas inoculadas nas últimas semanas (8^a e 13^a) após a emergência. Entretanto, a resistência a PNY^N também foi desenvolvida nos primeiros estágios da planta (1^a semana após a emergência). O autor cita que esta discrepância talvez tenha ocorrido devido às diferenças nas cultivares, nos isolados de vírus e nos métodos de inoculação, ficando muito difícil identificar a verdadeira razão. Sabe-se que a taxa de translocação do vírus depende da taxa de replicação do mesmo (Beemster, 1958, citado por Beemster, 1987) e que esta taxa de replicação aparentemente difere entre cultivares, devido a propriedades genéticas da planta e ao seu grau de suscetibilidade à infecção.

A resistência da planta madura, contra PVY⁰, também foi observada por Sigvald (1985) na cultivar Bintje, em inoculações mecânicas. Nesse trabalho, o autor verificou que a suscetibilidade da planta permaneceu alta em plantas inoculadas nas primeiras semanas após a emergência, havendo, em seguida, um rápido declínio, aproximando-se do valor zero nas semanas subsequentes (4^a- 6^a).

Sangar, Agrawal e Nagaich (1988), estudando o efeito da idade de plantas de batata, inoculadas mecanicamente em campo e casa-de-vegetação, com os vírus X e Y da Batata, observaram que ocorreu maior perda na produção de plantas infectadas com PVY do que com PVX, e que plantas inoculadas aos 50 dias após o plantio apresentaram perdas maiores do que as plantas velhas (65, 80 e 95 dias). As plantas inoculadas aos 95 dias após plantio apresentaram os mesmos valores da testemunha para ambos vírus.

No estudo da translocação de PVY e PVX, Sangar, Agrawal e Nagaich (1993), observaram que o vírus X levou de 4 a 8 dias, enquanto que o vírus Y de 4 a 6 dias para se translocar de folhas inoculadas mecanicamente para as hastes de batata, enquanto que na translocação para os tubérculos os mesmos levaram de 6-10 e 6-8 dias, respectivamente. Com base nos resultados obtidos, esses autores sugeriram que, provavelmente, a translocação dos vírus estudados não se deu imediatamente após a inoculação e que a diferença nos períodos de translocação para as diversas variedades pode ter ocorrido devido às características genéticas das mesmas.

Plantas inoculadas nos últimos estágios de desenvolvimento com PVY⁰ ou PVY^N apresentam mais provavelmente uma mistura de tubérculos-filhos infectados e não-infectados, do que plantas inoculadas nos primeiros estágios. Assim sendo, a proporção de tubérculos sadios e/ou

infectados depende da época da inoculação em relação à idade da planta e período entre a inoculação e colheita (Beemster, 1987). Mizubuti (1981) relata que em cultivares muito sensíveis, que reagem com sintomas de hipersensibilidade como necrose severa, paralização de crescimento e seca das folhas, tendem a produzir tubérculos sadios. Porém, cultivares que reagem à infecção com sintomas moderados, geralmente produzem plantas com alta taxa de infecção na geração seguinte.

Várias foram as tentativas de se demonstrar o início da resistência da planta à infecção do vírus, porém, isto é amplamente variável, dependendo, por exemplo, da composição de fertilizantes, condições ambientais e propriedades das cultivares (Beemster, 1976 e 1987) e de características morfológicas da planta (Schepers e Reestmann, 1975, citado por Beemster 1987). Braber, Bus e Schepers (1982), analisando vários critérios (matéria seca, nitrogênio orgânico, clorofila e teor de proteína solúvel e atividade de peroxidase) em folhas de batata cv. Bintje, concluíram que nenhum dos fatores estudados provou ser conclusivo para estabelecer ou prognosticar com exatidão o tempo de ocorrência de um alto nível de resistência da planta madura. Porém Sigvald (1985) observou que as plantas de batata haviam adquirido considerável resistência, quando estas alcançaram o estágio onde as folhagens e os brotos haviam cessado o crescimento.

2.7 Utilização dos antissoros Mono e Policlonais, na diferenciação de estirpes de PVY

Vários trabalhos têm sido realizados na produção de antissoros monoclonais e sua utilização e comparação com antissoros policlonais, para a detecção de estirpes de PVY (Gugerli e Fries, 1983; Rose e Hubbard, 1986; Rose, McCarra e Mitchell, 1987; Sanz et al., 1990; Singh, et al. 1993).

Mcdonald e Kristjansson (1993), comparando nove estirpes de PVY, isoladas de culturas de fumo e batata, através da análise dos sintomas provocados em um grupo de plantas indicadoras e do estudo de suas propriedades sorológicas por DAS-ELISA, utilizando anticorpo policlonal para PVY⁰ e monoclonal para PVY^N e PVY⁰, concluíram que a utilização de anticorpos monoclonal para PVY⁰ e PVY^N demonstrou ter um grande potencial para diferenciar estirpes. Porém, devido à ocorrência de falsas reações positivas (reações cruzadas), não se deve ter absoluta confiança no primeiro teste diagnóstico. Pelo contrário, este sempre deve vir acompanhado de um teste sorológico consecutivo com anticorpos monoclonais e com testes biológicos de amostras suspeitas (Mcdonald et al., 1994).

Recentemente, Chrzanowska (1994) observou que um novo isolado da estirpe necrótica de PVY não reagiu com um anticorpo monoclonal específico para PVY^N (Bioreba Company, Switzerland).

2.8 PVY^N - Origem , epidemiologia e situação atual

O Vírus Y da Batata foi, primeiramente, descrito na Inglaterra por Smith em 1931 (Citado por De Bokx e Huttinga, 1981; Brunt et al. 1996), porém, Nobrega e Silberschmidt (1944) relataram na América do Sul, a ocorrência de um provável variante desse vírus, oriundo de uma planta da variedade peruana ‘Serrana Negra’. A doença, que os autores denominaram de necrose das nervuras, em folhas de fumo, apresentou o primeiro sintoma, na forma de clareamento das nervuras das folhas novas, em geral dentro da primeira semana após a inoculação. Em seguida eles notaram certo escurecimento ou, às vezes, um umedecimento geral ou parcial dessas nervuras. Este sintoma evoluiu para uma necrose, que podia ser vista tanto na parte superior como na parte inferior da folha; e que na maioria dos casos atingiu as nervuras terciárias e, às vezes, ocupou áreas relativamente extensas entre estas. Alguns tecidos, situados entre as nervuras afetadas pela necrose, apresentavam-se de cor verde-escuro e pronunciadamente elevados. Esta necrose foi considerada pelos autores como sendo o sintoma mais característico da doença. Com o desenvolvimento da doença, as folhas basais amareleceram rapidamente e, as que iam nascendo eram menores, constituindo, assim, o início do enfezamento. Passadas mais de 4 semanas, a partir da data da inoculação, encontravam-se as folhas com inúmeras plaquinhas necróticas, esbranquiçadas ou castanhas, sobre e entre as nervuras.

Silberschmidt (1960) alertou para o fato de estirpes necróticas do PVY serem introduzidas no Brasil, provenientes de batata-sementes oriundas da Alemanha e outros países da Europa Central. Em 1959, foram testadas amostras de lotes de diversas variedades importadas da Alemanha, Holanda, Suécia e Dinamarca e se observou que nenhum lote oriundo da Holanda,

Suécia e Dinamarca apresentou a estirpe necrótica de PVY; e que três de nove lotes da Alemanha, continuam essa estirpe, em especial a cultivar 'Augusta', com cerca de 85% de infecção. Em outras amostras de 'Benedikta' também da Alemanha, verificou-se a incidência de até 85 % com PVY^N.

Ultimamente, vários trabalhos (Weidemann, 1988; Chrzanowska, 1991e 1994; Figueira e Pinto, 1995; Figueira, Pinto e Moraes, 1996; Figueira, Moraes e Pinto, 1996) vêm relatando a ocorrência de uma estirpe diferente de PVY em várias partes do mundo, e alertando para o crescente aumento na incidência dessa estirpe, o que sugere ser uma nova variante da estirpe necrótica desse vírus.

Weidemann (1988), em sua revisão, chama a atenção para a importância e controle da estirpe necrótica do Vírus Y da Batata (PVY^N) em campos de produção de batata-semente. Além disso, este cita a severa epidemia que esta estirpe causou, nos anos 50, em diversos países da Europa, tornando-se economicamente importante, primeiro na Alemanha, em certas cultivares comerciais, completamente infectadas, porém sem apresentar sintomas bem visíveis.

Zimmerman-Gries e Harpaz (1970), estudando durante dois anos consecutivos o estoque básico de batata-sementes de Israel, em campos de produção, através de testes de crescimento e inoculação em plantas indicadoras, verificaram a seguinte incidência de vírus : PVX (0%), PVY (3,9 e 1,2 %), PLRV (0,3 e 0,4%) e vírus do mosaico da alfafa (0,3 e 6,0%). Porém, durante os meses mais quentes do verão, nenhum sintoma foi observado a nível de campo, o que os autores sugeriram ser um mascaramento dos sintomas devido às altas temperaturas. Do total de incidência de PVY, verificada em plantas indicadoras, cerca de 50% pertenciam à estirpe necrótica. O tamanho dos tubérculos, provenientes da 1ª geração, também foi outro fator de

importância na disseminação dos vírus Y, nos quais se observou que os tipos maiores (tipo AA, > 100g, e A, 60-100g) apresentaram maior incidência de vírus, em relação aos do tipo B(40-60g) e C(< 40g).

Gooding, Lapp e Wilson (1982), estudando a infecção de viroses em batata-sementes oriundas do Canadá, Maine, Minnesota, New York, Dakota do Norte, Nebraska, Pennsylvania e Wisconsin, e campos de produção da Carolina do Norte, durante três anos, verificaram incidência de PLRV de 0 a 5,2% (média = 0,57 %) e PVY de 0 a 5,6% (média = 0,62%). Os mesmos autores observaram que todos os isolados de batata testados (num total de 177), causaram clareamento das nervuras e mosqueado nas cultivares de fumo NC 95 e NC 2326. Não houve diferença sorológica entre estes isolados e a estirpe comum de PVY, oriunda de plantas de fumo da Carolina do Norte. Nesse estudo, não houve diferença significativa entre as incidências iniciais e finais de PVY.

Figueira et al. (1985) observaram que em Minas Gerais, em variedades multiplicadas mais de uma vez, em condições de campo, a taxa de PVY (19,5 %) se encontrava acima das relatadas em outros estados. Posteriormente Figueira, Souza e Gaspar (1985) detectaram cinco estirpes necróticas, causando diferentes severidades de sintomas em fumo e as denominaram, inicialmente, de Y₁ a Y₅.

Andrade (1989) e Andrade e Figueira (1992), estudando as estirpes do vírus Y (PVY), nas regiões produtoras de batata do sul de Minas Gerais, detectaram, com base nos sintomas observados em plantas indicadoras, a ocorrência dos 3 principais grupos de estirpes PVY⁰, PVY^N e PVY^C, sendo que, entre as plantas infectadas, a maioria apresentou a estirpe comum, cuja a incidência foi superior a 80% em todas as cultivares testadas, ficando em segundo lugar a PVY^N,

variando entre 1,5 e 12,4% com maior incidência nas cultivares Bintje e Monalisa e, finalmente, a PVY^C, com incidência máxima de 6,2% na cultivar Monalisa.

Em 1989, em áreas de produção de fumo, no sul de Ontário, foi detectado um surto epidêmico de necrose das nervuras em folhas de fumo, sendo então a causa da doença atribuída a estirpe necrótica do PVY (PNY^N), a qual reagiu positivamente ao anticorpo monoclonal em DAS-ELISA (McDonald e Kristjansson, 1993). Posteriormente, o órgão responsável pela Agricultura no Canadá, anunciou a detecção de PNY^N em Prince Edward Island, New Brunswick, Nova Scotia, Quebec e Ontario, em estoques de batatas importadas da Califórnia. Em seguida, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos informou também a detecção de PNY^N na Flórida. Devido à tolerância na América do Norte ser zero para PNY^N, em 1992, Canadá e Estados Unidos tomaram medidas regulatórias para minimizar o risco de disseminação em áreas, onde o vírus foi detectado (McDonald e Kristjansson, 1993; McDonald et al., 1994).

Chrzanowska (1991 e 1994) relatou a ocorrência de um novo isolado de PVY^N, detectado em 1984 na cv. 'Wilga' em campos do Nordeste da Polônia, em altas concentrações, com alta disseminação e mais infectivo em plantas de batata, induzindo sintomas suaves da doença, em comparação com os isolados previamente conhecidos. As cultivares de batata de padrões resistentes para o tipo de PNY^N, apresentaram-se susceptíveis ao novo isolado. O Autor evidencia também a importância do acúmulo do vírus Y da batata, que nos últimos anos vem aumentando na Europa, associado com as mudanças na composição das estirpes deste vírus.

No Brasil, a partir de 1994, começaram a aparecer reclamações de consumidores de batata-semente certificada, da cv. 'Achat', de Minas Gerais, que estavam observando uma incidência de mais de 50% de mosaico em suas plantações. As plantas afetadas apresentavam

ramas mais compridas e estioladas, as folhas pequenas e ligeiramente rugosas, com mosaico variando de verde normal a ligeiramente mais escuro, sendo, na maioria das vezes, imperceptível aos olhos que não estão bem treinados para detectá-lo. Os tubérculos apresentam estolões curtos e ficam aderidos à haste, sofrendo redução em número e tamanho, o que pode levar a perdas de até 50% da produção. Testes sorológicos e de inoculação em plantas indicadoras, indicaram ser essa uma estirpe necrótica do PVY, porém bastante diferente das já observadas anteriormente (Figueira e Pinto, 1995).

Em pouco tempo, essa estirpe passou a aparecer em campos de produtores de outros estados do país, o que só foi descoberto no início porque os produtores mineiros, numa tentativa de fugir à incidência desse vírus, adquiriram sementes de produtores do Rio Grande do Sul e Santa Catarina; e estas apresentaram incidência de até 60% dessa estirpe necrótica do PVY; e algum tempo depois, materiais recebidos de São Paulo mostraram também alta incidência desse vírus (Figueira, Pinto e Moraes, 1996).

Pelas suas características e comportamento a nível de campo, suspeitou-se que essa estirpe poderia ser a mesma descrita por Chrzanowska (1991 e 1994).

Testes sorológicos realizados na EMBRAPA-SPSB, em Canoinhas-SC, de 1981 a 1991, indicaram que o PLRV e PVY foram os principais vírus encontrados em campos de produção de sementes básicas (PB2, PB3 e B), na região do Planalto Norte de Santa Catarina e que, dependendo do ano, podia ocorrer maior percentagem de infecção do PVY que PLRV e vice-versa, porém na média geral, a incidência de PVY foi ligeiramente superior a do PLRV (Gallotti, Hirano e Bertocini, 1992).

Souza-Dias et al.(1992), inspecionando três campos no Estado de São Paulo, plantados com batata-semente Argentina (importação 1991), cvs. ' Bintje' e 'Achat', com limites de virose dentro dos padrões de tolerância para a categoria de batata-semente básica brasileira e praticamente com ausência total do PRLV, observaram algumas plantas com sintomas de viroses não usualmente encontradas nos batatais paulistas. Após teste biológico, eles foram caracterizados como sendo dois vírus, o do Mosaico da Alfafa (AMV) e o PVY^N, com uma incidência 0,3% e 4,5%, respectivamente. Esses autores observaram ainda que os sintomas apresentados pelo PVY^N, foram mais severos que os eventualmente presentes em lotes de batata-semente certificada nacional ou importada da Europa, e que a ocorrência dessa estirpe nos batatais paulistas era bastante rara.

Souza-Dias, Tristão e Miranda F° (1995), informaram sobre a incidência de 7 a 16 % de plantas com sintomas secundários de PVY na cultivar Atlantic, originária do Canadá, nos últimos 3 anos, em 7 batatais, nas regiões de Tatui-Itapetininga-SP e Guarapuava-PR. Testes de inoculação mecânica em plantas de fumo revelaram a presença da estirpe PVYN em parte dessas plantas de batata. Esses autores alertam para o fato de que, mesmo essa batata-semente estando dentro dos padrões de tolerância nas normas do Brasil, apresentavam incidências 3 a 8 vezes acima do nível tolerável naquele país.

Pio-Ribeiro et al.(1994) detectaram na região de Serra Talhada-PE, em cultivares de batatas mantidas no campo da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), a presença de infecção mista de PLRV e PVX, e infecções simples de PLRV, PVX E PVY, através de testes sorológicos (DAS-ELISA), utilizando-se antissoros policlonais para cada vírus. O PVY foi detectado, em maior número de amostras, na forma de infecção simples nas cvs. 'Crebella',

'Mondial' e 'Vangoth', e infecção associada ao PLRV, na cv. 'Korringane'. Esses autores deduziram que a ocorrência de vírus em coleção de germoplasma de batata, mantida vegetativamente por várias gerações, a partir de sementes básicas, pode ser explicada pela multiplicação e disseminação de inóculos virais que escaparam durante o processo de indexação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP / UFLA), no período fevereiro/ 96 a junho de 1997.

3.1 Obtenção e manutenção dos isolados

As diferentes estirpes de PVY utilizadas para estudo comparativo de concentração, transmissibilidade e caracterização das partículas, através de técnicas bioquímicas, estão representadas na tabela 1. Os isolados, após detecção e caracterização em plantas indicadoras, foram mantidos em plantas de fumo 'TNN' colocados dentro de gaiolas à prova de insetos, sob condições de casa-de-vegetação, sendo, periodicamente, reinoculados mecanicamente em plantas jovens para manutenção. Paralelamente, estes isolados também foram armazenados "in vitro", em folhas desidratadas em cloreto de cálcio (CaCl_2).

TABELA 1 - Origem e características dos isolados do vírus Y da batata (PVY), utilizados no presente trabalho. UFLA, Lavras-MG, 1997.

Vírus (Isolado)	Planta Hospedeira	Origem	Classificação Biológica	Necrose em <i>N. tabacum</i> cv. TNN	Denominação neste trabalho
PVY 315-7	Batata cv. Achat	Itajubá-MG	PVY ⁰	-	PVY ⁰ -07
PVY 315-10	“	“	PVY ^N	+	PVY ^N -Br (Novo)
PVY 315-54	“	“	PVY ^N	+	PVY ^N -54
PVY 199-20	“	Maria da Fé-MG	PVY ^N	++	PVY ^N -20
PVY	Fumo ‘TNN’	Coleção do DFP/UFLA	PVY ^N	+++	PVY ^N -UFLA (Velho)

3.2 Levantamento da incidência de PVY e PLRV em diferentes cultivares de batata.

As plantas de batata analisadas foram obtidas através do plantio de 25 lotes de batatas de diferentes cultivares, totalizando 1828 tubérculos, recebidos para análise no Centro de Indexação de Vírus Minas Gerais (IMA/UFLA), com índices variáveis de infecção. Antes do plantio, os tubérculos de batata foram submetidos ao tratamento de forçamento de brotação com bissulfureto de carbono (25 ml/m³) por 72h., seguido de imersão em solução de ácido giberélico (5 ppm) por 5 minutos; e, a seguir, plantados individualmente em vasos de 5kg, devidamente etiquetados. Aos trinta dias, todas as plantas foram avaliadas visualmente e submetidas ao teste sorológico DAS-ELISA. Plantas com sintomas visíveis e ELISA positivo para o PVY, de oito desses lotes, foram inoculadas mecanicamente em plantas de fumo ‘TNN’, para diferenciação de

estirpes. A incidência de PVY e PLRV em lotes de batata-semente, produzidos em Minas Gerais, no período de junho/95 a maio/96, foi determinada através do levantamento dos dados dos boletins de análise emitidos pelo Centro de Indexação de Vírus nesse período.

3.3 Obtenção e inoculação das plantas indicadoras e/ou hospedeiras para o estudo dos sintomas

As plantas hospedeiras e/ou indicadoras foram obtidas através de semeadura em bandejas de isopor, sendo transplantadas, ao atingir o tamanho ideal, para vasos com capacidade de 2 kg, contendo, como substrato, terra, areia e esterco fumigados, na proporção 3:1:1, e mantidas em casa-de-vegetação. Foram utilizadas as seguintes plantas indicadoras, nos testes de diagnose das estirpes de PVY: *Gomphrena globosa* L., *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., *C. quinoa* Willd., *Physalis floridana* Rybd., *Solanum tuberosum* L. cv. Achat, *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Stª Clara, *Datura stramonium* L., *Nicandra physaloides* Gaertn., *Capsicum annuum* L. cv. Agrônômico 10G e *Nicotiana tabacum* L. cv. Turkish NN ('TNN').

As plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.) cv Achat utilizadas, foram obtidas, como descrito anteriormente. Cinco dias após a emergência, todas as plantas foram inspecionadas e analisadas através do teste sorológico DAS-ELISA (Double-antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay), para confirmação de sanidade. Um dia antes da inoculação mecânica, as plantas sadias foram submetidas ao desbaste, deixando-se apenas uma haste por planta.

A cultivar Achat, de origem Alemã, considerada precoce, possui tubérculos de formato alongado e achatado, com olhos semi-profundos e polpa amarelo-clara, sendo descrita como resistente ao PVY e suscetível ao PLRV.

As inoculações mecânicas foram realizadas, utilizando-se extratos obtidos de folhas de plantas infectadas, através da trituração em almofariz esterilizado, na proporção de 1:5 (p/v) em tampão fosfato 0,01M, pH 7, contendo sulfito de sódio na mesma molaridade. Este extrato foi friccionado com algodão umedecido, nas folhas das plantas sadias previamente polvilhadas com carborundum (500 a 600 mesh), mantendo-se as mãos protegidas por saco plástico. Após a lavagem das folhas inoculadas, com água, as plantas foram mantidas em casa de vegetação.

Todas as plantas de reação sistêmica que não foram positivas ao teste sorológico DAS-ELISA, e que não apresentaram sintoma visual perceptível, foram então reinoculadas em plantas de fumo cv. 'TNN', para detecção de sintomas latentes.

3.4 Teste sorológico DAS-ELISA (Double-antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay), utilizando-se antissoro policlonal (PVY) e monoclonal (PVY^N)

Para diagnose através do teste sorológico DAS-ELISA, foram utilizados antissoros para PVY (Boehringer Mannheim- Alemanha) e para PVY^N (Agdia-USA). Os tampões para cobertura (carbonato-bicarbonato 0,025M, pH 9,6, contendo 0,2 g/l de azida de sódio) para extração da amostra (fosfato salino, PBS, pH 7,4, contendo 0,05% de Tween-20 e 2% de polivinilpirrolidona-PVP), para o conjugado (PBS, contendo 0,1% de leite em pó desnatado e 0,1% de Tween-20) para o substrato (dietanolamina, pH 9,8 contendo 0,02% de azida sódica), para bloqueio de sítios

inespecíficos (PBS mais 0,5% de leite em pó desnatado) e lavagem (PBS contendo 0,05% de Tween-20), foram preparados no laboratório de Fitovirologia do DFP / UFLA. As diluições dos antissoros seguiram as instruções do fabricante. Foram utilizadas microplacas padrões, com 96 orifícios. O teste seguiu as seguintes etapas:

1 - Cobertura inicial das placas: 50µl/orifício dos antissoros para PVY (policlonal) diluído em 1:5000 e do PVY^N (Monoclonal) diluído em 1:1000. Incubação por 2h a 37°C (policlonal) e 4h. a temperatura ambiente (monoclonal);

2 - Lavagem: 4-5 vezes com água deionizada e 2 vezes com tampão de lavagem (idêntica em todos os passos).

3 - Adição de 100µl /orifício da solução de bloqueio (etapa realizada só para antissoro policlonal). Incubação por 1-2h. a 37°C e descarte dessa solução sem lavagem da placa.

4 - Adição do antígeno: 50µl/orifício do extrato de tecidos de plantas e/ou tubérculos infectados, diluído 1:10 ou 1:5 (p/v) em PBS seguindo a distribuição na placa de acordo com o protocolo elaborado. Incubação a 4°C de um dia para o outro, seguida de nova lavagem.

5 - Adição do conjugado: 50µl/orifício de anticorpo (policlonal para PVY em geral e monoclonal para a estirpe necrótica) conjugado com a enzima fosfatase alcalina, diluído em 1:5000 e 1:1000, respectivamente. Incubação por 2-3h a 37°C (policlonal) e à temperatura ambiente (monoclonal) e lavagem.

6 - Adição do substrato: 50µl/orifício de p-nitrofenilfosfato (1mg/ml), incubação à temperatura ambiente por 1-2 horas e leitura a 405nm no aparelho MRX (Dynatech).

Foram consideradas positivas as amostras cujas absorbâncias foram maiores ou iguais a duas vezes a média de absorbância do controle.

3.5 Estudo da propriedade das partículas dos isolados de PVY

Para o estudo das propriedades das partículas, investigou-se a estabilidade do vírus no extrato vegetal, determinando a sua longevidade “in vitro” (LIV), o ponto de inativação térmica (TIP) e o ponto máximo de diluição (DEP). Para a determinação do TIP, extratos de folhas de fumo ‘TNN’, anteriormente trituradas na proporção de 1:5 (p/v) em tampão fosfato 0,01M de pH7,0 contendo sulfito de sódio na mesma molaridade, infectadas com os isolados, foram colocados em tubos de ensaio e submetidos aos diferentes tratamentos (0°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C) por 10 minutos em banho-maria. Para se determinar o DEP, os extratos das folhas, obtidos como descrito acima, foram submetidos às seguintes diluições: 1:10, 1:100, 1:1.000, 1:1.500, 1:8.000, 1:10.000 e 1:1.000.000, sendo então inoculados mecânicamente em plantas de fumo (2 plantas/isolado/tratamento). A seguir as plantas foram mantidas em casa de vegetação por um período de 30 dias, para visualização dos sintomas. Na determinação do LIV, 200 ml de extrato de folhas de plantas infectadas foram colocados em Erlenmeyer e mantidos em temperatura ambiente para posteriores inoculações. As plantas foram inoculadas a partir do primeiro dia de armazenamento do extrato, e, posteriormente, as inoculações foram efetuadas em intervalos de 5 dias, até 30 dias após a extração do inóculo.

3.6 Estudo da multiplicação dos isolados de PVY ao longo do ciclo vegetativo da planta de batata.

Plantas de batata cv. Achat, com uma haste, foram inoculadas separadamente pelo método mecânico, como descrito acima, com os diferentes isolados de PVY estabelecidos em fumo. Essas plantas foram mantidas em casa-de-vegetação até o final do ciclo (aproximadamente 70 dias). A avaliação da concentração de vírus, nestas plantas, foi realizada através do teste sorológico DAS-ELISA, nas folhas do ápice, colhidas separadamente, a cada 10 dias após a data de inoculação, sendo realizados cinco testes durante o ciclo vegetativo da planta. As ramas foram eliminadas mecanicamente no final do ciclo, uma semana antes da colheita dos tubérculos. Esses, após colhidos separadamente, foram acondicionados em sacolas de papel, identificados e armazenados em câmara fria, para posterior utilização em testes.

3.7. Teste comparativo de transmissibilidade dos isolados de PVY pelo vetor *Myzus persicae* Sulz.

Utilizou-se, como inseto-vetor, o afideo *M. persicae*, do insetário do DFP/UFLA, o qual foi multiplicado em plantas sadias de *Capsicum annuum* (pimentão) cv. Agrônômico 10G, *Datura stramonium* e *Nicandra physaloides*, mantidas em gaiolas apropriadas, à temperatura ambiente. Inicialmente, os afideos foram submetidos a jejum de 30 minutos, em placas de Petri, e depois deixados por um período de 20-30 minutos em plantas de batata 'Achat' ou fumo 'TNN' infectados com os diferentes isolados de PVY para aquisição do vírus. Posteriormente, estes

foram transferidos para fumo ou batata (10 afídeos/planta), por um período de aproximadamente 60 minutos. Finalmente, estes foram eliminados com inseticida Orthene 750Br (Acephate) e as plantas mantidas em casa de vegetação por quatro semanas, até a observação final dos sintomas. Todas as plantas inoculadas foram submetidas ao teste sorológico DAS-ELISA, três semanas após inoculação, para confirmação dos resultados.

3.8 Diagnose dos isolados de PVY através da técnica sorológica DAS-ELISA, em diferentes partes dos tubérculos, e respectivas plântulas, provenientes de plantas inoculadas no início e final de ciclo.

Os tubérculos sem brotação, oriundos das plantas de batata cv Achat obtidos do experimento de multiplicação dos diferentes isolados, foram utilizados para o estudo de concentração do vírus nos tecidos, pelo teste DAS-ELISA, através de extrato obtido de cilindros, retirados destes, com auxílio de um furador de rolha, e macerados em tampão de extração (PBS) na proporção de 1:5 (p/v). Esses tubérculos foram submetidos ao forçamento da brotação com ácido giberélico, e os brotos com aproximadamente 0,5 cm de comprimento, macerados em PBS (1:10). Em seguida esses mesmos tubérculos brotados foram plantados em casa-de-vegetação, e as plântulas emergentes foram também maceradas em PBS (1:10).

Plantas de batata provenientes de tubérculos saudáveis, com apenas uma haste, foram inoculadas mecanicamente, aproximadamente 50 dias após a emergência, por fricção com carborundum, conforme descrito anteriormente, com os diferentes isolados de PVY. Estas foram mantidas em casa de vegetação até o final do ciclo, aproximadamente 20 dias após a inoculação,

sendo realizados dois testes sorológicos DAS-ELISA, antes da colheita, para confirmação de infecção. Posteriormente, foram realizados, como citado acima, testes diagnósticos empregando-se tecidos infectados provenientes dos tubérculos sem brotação, brotos com aproximadamente 0,5 cm de comprimento e plântulas oriundas desses tubérculos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Incidência de PVY e PLRV em lotes de batata-semente

Os dados da tabela 2 e figura 1 representam uma amostragem feita ao acaso, em 25 lotes de batata-semente provenientes de diferentes regiões de Minas Gerais e de outros estados. Esses dados demonstram que o PVY está apresentando uma tendência a tornar-se mais importante que o PLRV na bataticultura brasileira, pois, em 1828, tubérculos analisados, 491 (26,9%) apresentaram infecção por PVY e somente 57 (3,1%) estavam infectados por PLRV. Esses dados são direcionados ao Estado de Minas Gerais porque os lotes foram provenientes do Centro de Indexação de Vírus deste estado, porém, esse quadro tem se repetido também em outros estados produtores de batata (Figueira, Pinto e Moraes, 1996). Na tabela 3 e figura 2 pode-se observar que a estirpe necrótica (PVY^N) representou cerca de 83,6% da incidência nos 08 lotes de batata-semente analisados, enquanto que a estirpe comum (PVY⁰) só representou 16,4%. Chrzanowska (1996)*, relata que atualmente a estirpe necrótica (PVY^N), na Polônia, é responsável por cerca de 90% de infecção em plantas de batata a nível de campo, enquanto que a comum (PVY⁰) é responsável por somente 10 %.

*Prof. Dr. Mirosława Chrzanowska, Professor pesquisador do Instituto de Pesquisa de Batata (Potato Research Institute. Research Center for Genetics, Breeding and Virology), Młochów, Polônia. Comunicação por correspondência.

TABELA 2 - Incidência de viroses em lotes de batata-semente, de diferentes cultivares, detectada através do teste sorológico DAS-ELISA. UFLA, Lavras-MG, 1997.

LOTE (Nº/ANO)	ORIGEM	Tubérculos	Infectados		Infectados	
		Análisados	PVY		PLRV	
		Nº	Nº	%	Nº	%
80/95 ^{1/}	Santa Catarina	100	15	15,0	01	1,0
111/95 ^{2/}	Araxá-MG	64	27	42,2	06	9,4
199/95 ^{1/}	Maria da Fé -MG	07	03	42,9	01	14,3
265/96 ^{3/}	Delfim Moreira-MG	350	140	40,0	01	0,3
280/95 ^{1/}	Maria da Fé -MG	05	02	40,0	00	0,0
318/95 ^{1/}	Ipuiuna-MG	37	03	8,1	01	2,7
330/95 ^{1/}	Nova Resende-MG	50	49	98,0	00	0,0
337/95 ^{4/}	São João da Boa Vista - SP	19	02	10,5	01	5,3
340/95 ^{1/}	“	18	01	5,6	00	0,0
342/95 ^{5/}	“	16	05	31,3	00	0,0
350/95 ^{1/}	Senador Amaral-MG	100	01	1,0	10	10,0
09/96 ^{1/}	Três Corações-MG	66	05	7,6	01	1,5
40/96 ^{1/}	Formiga-MG	50	18	36,0	00	0,0
45/96 ^{1/}	Paraguaçu - MG	12	06	50,0	00	0,0
47/96 ^{1/}	“	50	06	12,0	02	4,0
57/96 ^{1/}	Bragança Paulista-SP	100	15	15,0	01	1,0
58/96 ^{1/}	“	100	53	53,0	01	1,0
59/96 ^{1/}	“	98	20	20,4	03	3,1
60/96 ^{1/}	“	100	70	70,0	00	0,0
73/96 ^{1/}	Cons. Lafayette - MG	100	09	9,0	03	3,0
78/96 ^{1/}	“	99	03	3,0	02	2,0
83/96 ^{6/}	Ibiá-MG	42	04	9,5	01	2,4
299/96 ^{1/}	Camanducaia-MG	100	09	9,0	16	16,0
315/96 ^{1/}	Itajubá - MG	89	21	23,6	05	5,6
359/96 ^{1/}	Campos Gerais - MG	56	04	7,1	01	1,8
TOTAL		1828	491	26,9	57	3,1

Obs: Lotes de batata cultivares : 1/ Achat, 2/ Bintje, 3/ Baraka, 4/ Monalisa, 5/ Elvira, 6/ Monalisa

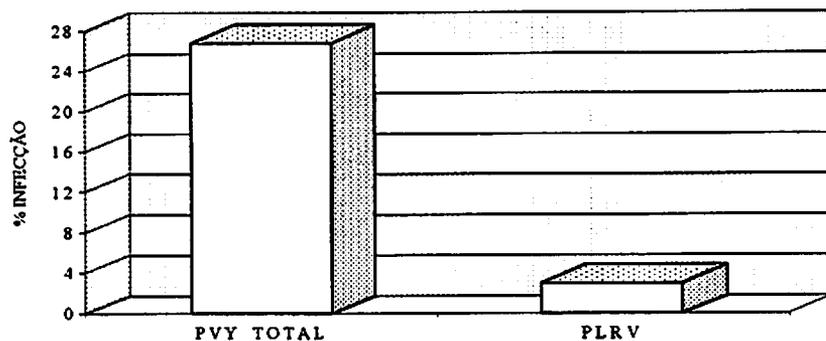


FIGURA 1 - Incidência de PVY e PLRV em lotes de batata-semente analisados por pré-cultura e por DAS-ELISA. UFLA, Lavras-MG, 1997

TABELA 3 - Incidência das estirpes necrótica e comum de PVY em 08 lotes de batata-semente, produzidos em Minas Gerais. UFLA, Lavras-MG, 1997.

LOTE (Nº/ANO)	Nº de tubérculos infectados c/ PVY	% PVY ⁰ (Nº infectados)	% PVY ^N (Nº infectados)
111/95 ^{1/}	27	18,5 (05)	81,5 (22)
199/95 ^{2/}	03	0,0 (00)	100,0 (03)
280/95 ^{2/}	02	100,0 (02)	0,0 (00)
340/95 ^{2/}	01	0,0 (00)	100,0 (01)
45/96 ^{2/}	06	0,0 (00)	100,0 (06)
78/96 ^{2/}	03	0,0 (00)	100,0 (03)
315/96 ^{2/}	21	19,1 (04)	81,0 (17)
359/96 ^{2/}	04	0,0 (00)	100,0 (04)
Total	67	16,4 (11)	83,6 (56)

Obs: cv. 1/ Bintje, 2/Achat

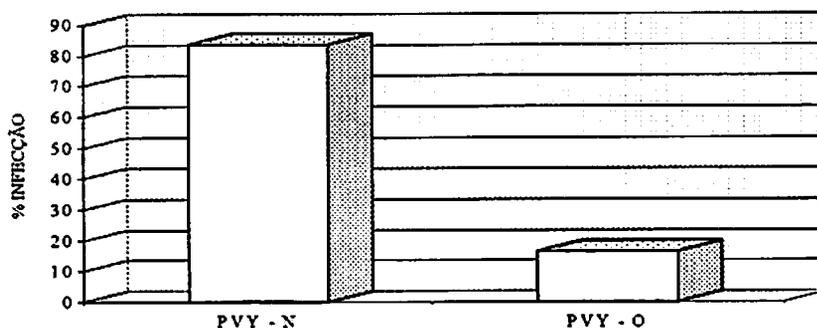


FIGURA 2 - Incidência das estirpes necróticas (PVY^N) e comum (PVY^O) em plantas de batata infectadas com PVY. UFLA, Lavras-MG, 1997.

A prevalência de estirpes do PVY, atualmente observadas no Brasil, representa uma completa reversão dos dados observados para as mesmas, há uma década atrás, quando o PLRV era o vírus predominante e principal causador da degenerescência da batata no país (Puttemans, 1934; Costa, 1948, 1965; Souza Dias, Costa e Ramos, 1984; Souza Dias, Amâncio e Costa, 1990). Além disso, estudos realizados por Andrade (1989) e Andrade e Figueira (1992), no período de 1983 a 1988, mostraram que a incidência das estirpes necróticas encontradas no Brasil, em materiais originados de sementes registradas, certificadas e consumo, variavam de 1,5 a 12%, com a predominância da estirpe comum, que apresentava incidências variando de 81 a 100%.

Nas figuras 3 e 4 encontram-se representados os resultados obtidos pelo Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais, na análise 424 lotes de batata-semente produzidos nesse estado, efetuada no período de junho/95 a maio/96, com um total de 65.159 tubérculos.

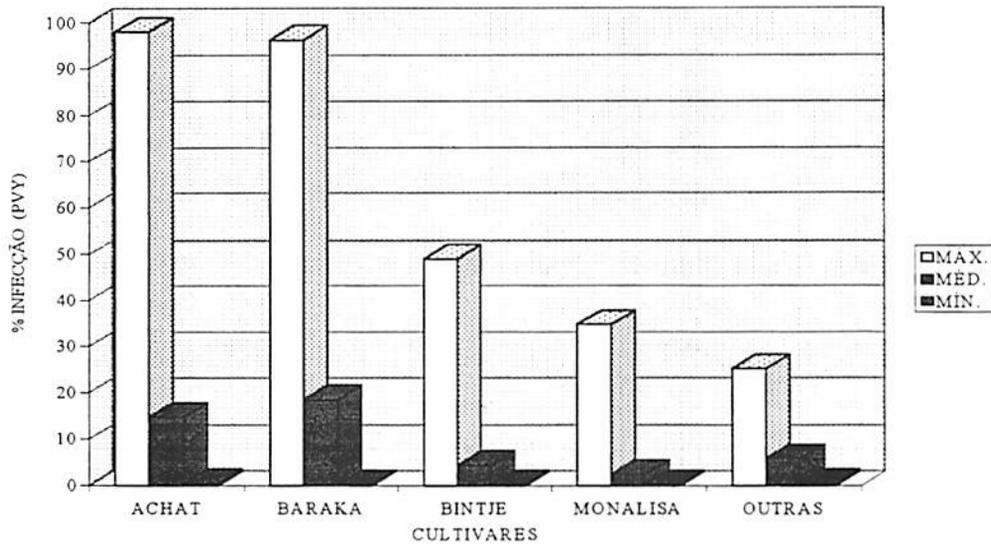


FIGURA 3 - Incidências de PVY, em lotes de batata-semente, de Minas Gerais, no período de junho/95 a maio/96. UFLA, Lavras-MG, 1997.

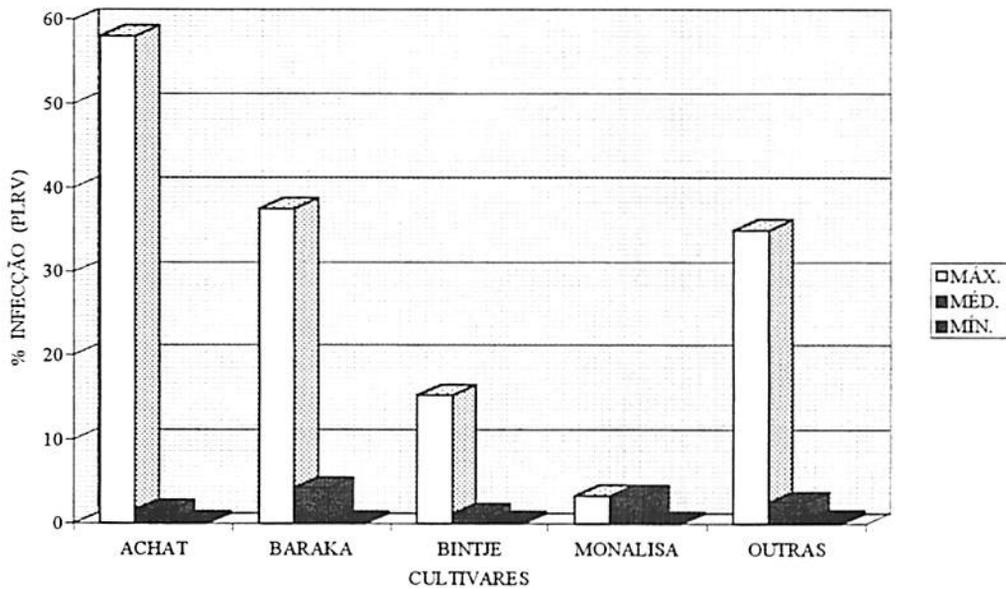


FIGURA 4 - Incidência de PLRV, em lotes de batata-semente de Minas Gerais, no período de junho/95 a maio/96. UFLA, Lavras-MG, 1997.

Dentre esses lotes, 101 apresentaram incidência de PVY superior a 12% e somente 20 lotes apresentaram incidência acima de 8% de PLRV, incidências essas que representam o limite de tolerância para batata-semente registrada em Minas Gerais. Segundo Figueira, Pinto e Moraes (1996), o problema com PVY não é única e exclusivamente de Minas Gerais, pois em lotes provenientes do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, foram detectadas incidências acima de 45%, e amostras de Bragança Paulista e São João da Boa Vista, ambas do estado São Paulo, apresentaram incidências de 14,6% e 61,7% de PVY, respectivamente.

Plantas de batata com freqüentes infecções com PVY têm ocorrido desde 1984 no leste da Alemanha (Pfeffer et al., 1989, citado por Chrzanowska, 1991). Ao mesmo tempo, a importância do PVY^N tem aumentado em campos de batata-semente e batata-consumo na Holanda, Alemanha (Weidemann, 1988) e Polônia (Chrzanowska, 1991). Weidemann (1988), relata que PVY^N, originário da América do Sul (Nobrega e Silberschmidt, 1944), foi introduzido na Europa, provavelmente com a importação de espécies de batata silvestres ou nativas cultivadas para propósito de melhoramento. O mesmo autor cita que PVY^N e PVY⁰ talvez ocorram juntos, porém, é notável a diferença de importância econômica do PVY^N em diversos países da Europa. Além disso, até o momento, essa variação não possui uma explicação aceitável, porém, é possível que as variações climáticas possam ser as principais responsáveis. De qualquer modo, parece que essa predominância do PVY se deve à vinda de estirpes mais agressivas em batata-semente importada da Europa. O fato de que as maiores incidências têm sido observadas na cultivar alemã Achat (Figuras 3 e 4), bastante plantada no país, reforça essa suspeita. A cultivar holandesa Baraka, apesar de menos plantada que a 'Achat', e a exemplo desta, é considerada resistente ao

PVY, também tem apresentado um alto índice de PVY, semelhante ao encontrado na cv. Achat (Figuras 3 e 4).

4.2 Sintomatologia em plantas indicadoras inoculadas com os isolados de PVY.

Na sintomatologia em plantas indicadoras, inoculadas com os diferentes isolados de PVY em estudo, pode-se observar que as plantas de *Gomphrena globosa* e *Datura stramonium* não apresentaram sintomas (Tabela 4), confirmando que *D. stramonium* não é susceptível a PVY (De Bokx e Hutinga, 1981), sendo muito utilizada para eliminar PVY em complexos virais e também para detectar outras viroses presentes. Já a *G. globosa* foi utilizada com a intenção de detectar o vírus X da batata (PVX).

As espécies da Família *Chenopodiaceae*, reagiram com nenhuma ou poucas lesões necróticas locais e pontos cloróticos locais, com exceção de *Chenopodium quinoa*, que não apresentou reação com os isolados necrótico PVY^N-54 e 20. Delgado-Sanchez e Grogan (1966), observaram que plantas de *C. quinoa* inoculadas em temperaturas de 25°-26°C produziram menos lesões que as inoculadas em 21°-22°C, e que plantas inoculadas aos 30-35 dias após o transplântio, produziram mais lesões (de 184-219) que aquelas inoculadas com 15 dias (de 0-5). Nesse estudo, todas as plantas utilizadas foram inoculadas com aproximadamente 10 dias após o transplântio, além do que existe uma certa variabilidade de resposta em plantas inoculadas mecanicamente, provenientes das diferenças de agressividade de cada isolado.

Dentre as espécies da família *Solanaceae*, as plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) cv. TNN e *Physalis floridana*, foram as que melhor diferenciaram os isolados da estirpe necrótica.

TABELA 4 - Reação de plantas indicadoras inoculadas com os cinco diferentes isolados de PVY estudados. UFLA, Lavras-MG, 1997.

INDICADORAS FÁMILIAS E ESPÉCIES	SINTOMAS INDUZIDOS PELOS ISOLADOS DE PVY				
	PVY ⁰ -07	PVY ^N -Br	PVY ^N -54	PVY ^N -20	PVY ^N -UFLA
Amaranthaceae					
<i>Gomphrena globosa</i>	0	0	0	0	0
Chenopodiaceae					
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	LNL ^{1/}	PCL,LNL	PCL,LNL	PCL,LNL	PCL,LNL
<i>C. quinoa</i>	PCL	PCL	0	0	PCL
Solanaceae					
<i>Datura stramonium</i>	0	0	0	0	0
<i>Nicandra physaloides</i>	LCN,CL	LCN,CL	CL	0 ^{2/}	LCN,CL
<i>Capsicum annuum</i> 'Agrônômico 10G'	ML	ML	ML	ML	ML
<i>Lycopersicon esculentum</i> 'St ^a Clara'	ML	ML	ML	ML	ML
<i>Nicotiana tabacum</i> 'TNN'	CNF,MI	CN,NNL, EQL,M,PNL	CN,NNL, EQL,M	CN,NN,EQ,M PNL	CN,NNF,EQF, PNLF,CFV
<i>Solanum tuberosum</i> 'Achat'	MLI,NN,AN	MLI,MR,NN AN	MLI,MR,AN NNL,PNL	MLI,MR,NNF AN,PNL	ML,R,NNL PNL
<i>Physalis floridana</i>	M,PCS,LNL PNSL,NA,DEF	LCN,M,PCS PNSL,NA,DEF	M,PCS,LNL DEL	LCN,M,LNL PNSL,NA,DEF	LNC,MF,NA

0 = ausência de sintomas, ^{1/} LNL - lesões necróticas locais; PCL - pontos cloróticos locais; CL - clorose leve; M - mosaico; MLI - mosaico variando de leve a intenso; MI - mosaico intenso; MR - mosaico rugoso; R - rugosidade; CN - clareamento das nervuras; LCN - leve clareamento das nervuras; EQ - encarquilhamento; EQ F ou L - encarquilhamento forte ou leve; NN - necrose das nervuras; NN F ou L - necrose das nervuras forte ou leve; AN - anéis necróticos; PNL - pontos necróticos locais; PNLF - pontos necróticos locais fortes; PNSL - pontos necróticos sistêmicos locais; PCS - pontos cloróticos sistêmicos; NA - nanismo; DE F ou L - desfolha forte ou leve; CNF - clareamento das nervuras forte; CFV - colapso das folhas velhas. ^{2/} Infecção Latente (sem sintomas na planta, mas positivo em DAS-ELISA)

Plantas de *Nicandra physaloides* reagiram com leve clareamento das nervuras e leve clorose, quando inoculada com todos os isolados, exceto para o isolado PVY^N-20, que não induziu nenhum sintoma, embora sua infecção tenha sido detectada pelo teste sorológico DAS-ELISA (infecção latente) e as partículas virais tenham sido recuperadas através da inoculação mecânica em plantas de fumo 'TNN'.

Todos os isolados inoculados em fumo apresentaram reação inicial de clareamento das nervuras (CN), o que é típico do grupo PVY (De Bokx e Huttinga, 1981). Para o isolado PVY⁰-07, esse sintoma foi mais acentuado que os demais, apresentando um clareamento forte das nervuras (CNF). Entre os isolados necróticos, o isolado PVY^N-UFLA foi o mais agressivo em todos os sintomas observados, ocasionando um forte colapso das folhas velhas e medianas, além de apresentar a reação mais rápida, cerca de 4-5 dias após a inoculação. Os isolados mais novos (PVY^N-54 e Br), apresentaram sintomas mais suaves.

Em *Physalis floridana*, observou-se que o isolado mais antigo (PVY^N-UFLA) foi o único a não causar queda das folhas, na qual induziu mosaico sistêmico e lesões necróticas locais leves, com nanismo menos acentuado. Os demais isolados foram bastante agressivos, não havendo diferenças marcantes entre o isolado comum e os isolados novos da estirpe necrótica. Antes da queda das folhas, esses isolados induziram pontos necróticos sistêmicos que escureciam, causando o colapso das folhas, restando apenas a haste principal. De Bokx e Huttinga (1981) citam que em *P. floridana*, a estirpe necrótica induz somente mosqueado sistêmico, enquanto a PVY⁰ induz necroses sistêmicas.

As plantas de tomate 'St.^a Clara' e pimentão 'Agrônômico 10G', positivas em DAS-ELISA, demonstraram sintomas fracos de infecção quase imperceptível na forma de mosaico leve,

quando inoculadas com todos os isolados, sendo o vírus recuperado quando reinoculado em fumo 'TNN'. De Bokx e Huttinga (1981) e Brunt et al. (1996), relataram que muitas estirpes de PVY causam mosqueados em pimentão (*Capsicum* spp.) e tomate. McDonald e Kristjansson (1993) trabalhando com estirpes de PVY^N e PVY⁰, observaram que estas induziram somente mosaico leve quando inoculadas em plantas de tomate 'Sheyenne', e não infectaram pimentão 'Calwonder'. Le Romancer, Kerlan e Nedellec (1994), estudando as características biológicas de isolados de PVY, demonstraram que tomate 'Monalbo', quando inoculado com isolados da estirpe necrótica e comum de PVY, reagiu com fracos sintomas de infecção, enquanto que o pimentão cvs. Batisdon e Yolo Wonder foram resistentes. Esses autores também classificaram as plantas de tomate, no grupo de plantas hospedeiras suscetíveis, juntamente com *N. physaloides*. Os isolados de PVY oriundos de pimentão, tem sido colocados em dois grupos denominados de grupo N e grupo W, os quais são identificados pela reação de *N. physaloides* e de fumo 'TNN' à infecção viral, e pela capacidade de infectar pimentão e tomate em condições naturais (Brioso, Ferreira e Oliveira, 1996).

Em plantas de batata 'Achat', todos os isolados induziram mosaico e necrose nas nervuras, variando de leve a intenso, sendo que os isolados necróticos (Y^N-20, Y^N-54 e Y^N-Br), também induziram o mosaico rugoso. Anéis necróticos foram observados em todos os isolados, com exceção do mais antigo (PVY^N-UFLA). Entre os novos isolados necróticos, o isolado PVY^N-20 foi o que induziu as necroses mais fortes das nervuras.

Pontos cloróticos locais e posteriormente pontos necróticos locais, típicos de reação de hipersensibilidade, foram observados em plantas de batatas inoculadas com o isolado necrótico velho (PVY^N-UFLA). Santos, Andrigueto e Camargo (1986), descreveram a cultivar Achat como

resistente ao vírus Y da batata, o que, de fato, foi observado nos estudos de concentração nos tecidos da planta para o isolado mais antigo. Mizubuti (1981) destaca que plantas, que reagem através da hipersensibilidade, produzem grande quantidade de tubérculos sadios.

Os novos isolados da estirpe necrótica demonstraram ser bastante infectivos na cultivar em estudo, sugerindo que a característica de resistência da cultivar Achat foi quebrada pelos novos isolados, como detectado anteriormente por Chrzanowska (1991).

4.3 Reação dos isolados de PVY, aos diferentes antissoros.

No estudo de comparação de testes sorológicos DAS-ELISA com extratos provenientes de batata e fumo, utilizando-se antissoros policlonal para PVY e monoclonal específico para PVY^N, verificou-se que todos os isolados reagiram com o antissoro policlonal, porém, somente o isolado mais antigo (PVY^N-UFLA), da estirpe necrótica reagiu com o antissoro monoclonal (Tabela 5). Estes dados indicam que os isolados novos devem pertencer ao mesmo grupo de estirpes oriundas de campos de produção de batata da Europa, descritas por Chrzanowska (1991). Este autor observou também que os seus isolados não reagiram com os anticorpos monoclonais (Chrzanowska, 1994), semelhantes aos utilizados neste trabalho.

Vários são os trabalhos que chamam a atenção sobre o potencial de utilização de anticorpos monoclonais na detecção e diferenciação de isolados de PVY (De Bokx, Piron e Maat, 1982; Gugerli e Fries, 1983; Rose e Hubbard, 1986; Rose, McCarra e Mitchell, 1987; Sanz et al., 1990; Singh et al., 1993).

TABELA 5 - Diagnose dos isolados de PVY estabelecidos em plantas de fumo 'TNN' (30 dias após a inoculação), e em plantas de batata 'Achat' com infecção secundária (2 semanas após a emergência), através do teste DAS-ELISA, utilizando-se antissoro policlonal e monoclonal para a estirpe necrótica. UFLA, Lavras-MG, 1997.

ISOLADOS	Valores de Absorbância a 405nm obtidos por DAS-ELISA			
	^{1/} Policlonal	^{1/} Monoclonal	^{2/} Policlonal	^{2/} Monoclonal
PVY ^N -UFLA	1,939 (+)	0,261 (+)	^{3/} 0,356 (+)	^{3/} 1,016 (+)
PVY ^N -Br	2,478 (+)	0,100	0,798 (+)	0,149
PVY ^N -54	2,250 (+)	0,095	0,668 (+)	0,123
PVY ^N -20	2,296 (+)	0,094	0,718 (+)	0,125
PVY ⁰ -07	1,738 (+)	0,089	0,759 (+)	0,125
Controle Sadio	0,131	0,115	0,086	0,130

1/Média 01 planta com 08 repetições; 2/ Média de 04 plantas com 03 repetições; 3/ Média de 02 plantas com 03 repetições. + = Valor da absorbância maior que duas vezes a média dos controles

Os anticorpos monoclonais produzidos pela tecnologia de hibridização celular têm se mostrado bastante precisos para caracterização e análise de variantes e estruturas antigênicas de vírus. Em muitos casos, estes possuem um valor especial, por reagirem somente com uma parte do sítio antigênico de todos os membros de um grupo de vírus em particular (Gugerli e Fries, 1983). Os dados obtidos com o uso de antissoro monoclonal, nesse trabalho, confirmam que os novos isolados da estirpe necrótica, parecem pertencer a um novo grupo de variantes genéticas, pois os anticorpos monoclonais possuem alta especificidade, reagindo somente com um único epitopo. Para se conseguir detectá-los, haveria a necessidade da produção de um novo anticorpo específico para novos epitopos que fossem exclusivos desses variantes.

Pode-se também verificar que a absorbância obtida para o isolado mais antigo (PVY^N-UFLA) com o anticorpo policlonal, foi menor, com relação às outras estipes necróticas, tanto em

batata quanto em fumo, indicando uma menor concentração de partículas nessas plantas. Por ocasião deste teste, o isolado mais antigo apresentou uma concentração mais próxima do isolado comum (PVY⁰-07) em plantas de fumo. Já em batata, a sua concentração ficou bem abaixo da observada, para a estirpe comum; e os demais isolados apresentaram concentração semelhantes. Essas diferenças, se dão tanto à interação diferencial entre essas estirpes e as diferentes hospedeiras, como a variações de temperatura, que podem favorecer a multiplicação diferencial de cada uma delas (De Bokx e Piron, 1977).

4.4 Propriedade das partículas dos isolados de PVY.

No estudo das propriedades da partícula viral, no extrato vegetal, os resultados obtidos demonstram que houve pouca ou quase nenhuma diferença entre os isolados (Tabela 6). Porém, como todos os isolados são estirpes de um mesmo vírus (PVY), essa semelhança é aceitável. Smith (1972), cita que para o PVY o TIP é de 62°C, DEP 2×10^{-5} (1:50.000) e LIV de cerca de 50 dias. Delgado-Sanchez e Grogan (1970) e Beemster e De Bokx (1987) relatam que extrato vegetal oriundo de plantas de fumo apresenta TIP 55-60°C e 52-62°C, respectivamente, DEP 10^{-2} a 10^{-3} e LIV dentro de 48-72hr. Segundo De Bokx e Huttinga (1981) e Brunt et al. (1996), a estabilidade do vírus Y da batata no extrato vegetal, proveniente de folhas de fumo infectadas são: TIP entre 50 e 62°C, DEP entre 10^{-2} e 10^{-6} e LIV (18-22 °C) de 7 a 50 dias. Já Hollings e Brunt (1981a) afirmam que para o grupo Potyvirus o TIP é de 50 a 75°C, predominando entre 55 a 60°C, LIV de 1 a 50 dias, freqüentemente de 2 a 4 dias e, DEP de 10^{-1} a 10^{-6} , sendo mais freqüente 10^{-3} a 10^{-4} .

TABELA 6 - Propriedades das partículas dos isolados de PVY no extrato vegetal de plantas de fumo (*N. tabacum*), cv. TNN. UFLA, Lavras-MG, 1997.

Estirpe (isolado)	Propriedades		
	DEP	TIP (°C)	LIV (Dias)
PVY ⁰ -07	10 ⁻⁴	55 - 60	10-15
PVY ^N -Br	6,7 x 10 ⁻⁴	“	10-15
PVY ^N -54	10 ⁻⁴	“	15-20
PVY ^N -20	10 ⁻⁴	“	10-15
PVY ^N -UFLA	6,7 x 10 ⁻⁴	“	15-20

Comparando os resultados citados acima, com os obtidos nesse trabalho, pode-se observar que os isolados em estudo se comportam como os demais membros do grupo do vírus Y da Batata (PVY), família *Potyviriidae*.

Colariccio et al. (1997), estudando um isolado de PVY⁰, observou que o ponto de inativação térmica foi de 63°C, o ponto de diluição máxima igual a 10⁻⁴ e a longevidade “in vitro” foi de um dia à temperatura ambiente, 3 dias em geladeira e 70 dias em congelador.

De Bokx, Kratchanova e Maat (1975), trabalhando com alguns isolados de PVY, observaram variações quanto as suas propriedades físicas, principalmente na longevidade “in vitro”. Esta variou de 7 a 11 dias em extratos provenientes de plantas de batata e 38 a 50 dias em extrato de plantas de fumo, tanto entre as estirpes PVY⁰ como entre as PVY⁰ e as PVY^N. Já Gooding e Tolin (1973) não observaram diferenças nas propriedades de inativação de três isolados oriundos de plantas de fumo. Contudo, o que se pode notar é que dentre as características de

estabilidade do vírus no extrato vegetal, citadas na literatura, a longevidade “in vitro” (LIV) e o ponto final de diluição são as que possuem maior variabilidade entre as estirpes de PVY.

4.5 Multiplicação dos isolados de PVY ao longo do ciclo vegetativo de plantas de batata.

As absorvâncias obtidas no teste DAS-ELISA, na diagnose dos isolados de Potyvirus ao longo do ciclo vegetativo da cultivar Achat, inoculada separadamente aos 10 dias após a emergência, com cada um dos isolados de PVY, estão representadas nas Figuras 5 e 6. Essas inoculações foram feitas em dois períodos, diferentes, com um intervalo aproximado de um mês entre elas, mas em ambos os períodos, foi possível notar uma rápida multiplicação das partículas, pelo aumento da absorvância obtida no teste DAS-ELISA, de todos os isolados nos primeiros trinta dias após a inoculação, com exceção do isolado velho (PVY^N-UFLA). Isso corresponderia aproximadamente ao período entre 35 e 50 dias após a emergência. Entre 30 e 40 dias após a inoculação (50-60 dias pós-emergência), houve um rápido declínio na concentração das partículas, que aumentou novamente no final do ciclo, ou seja, 70-80 dias após a emergência.

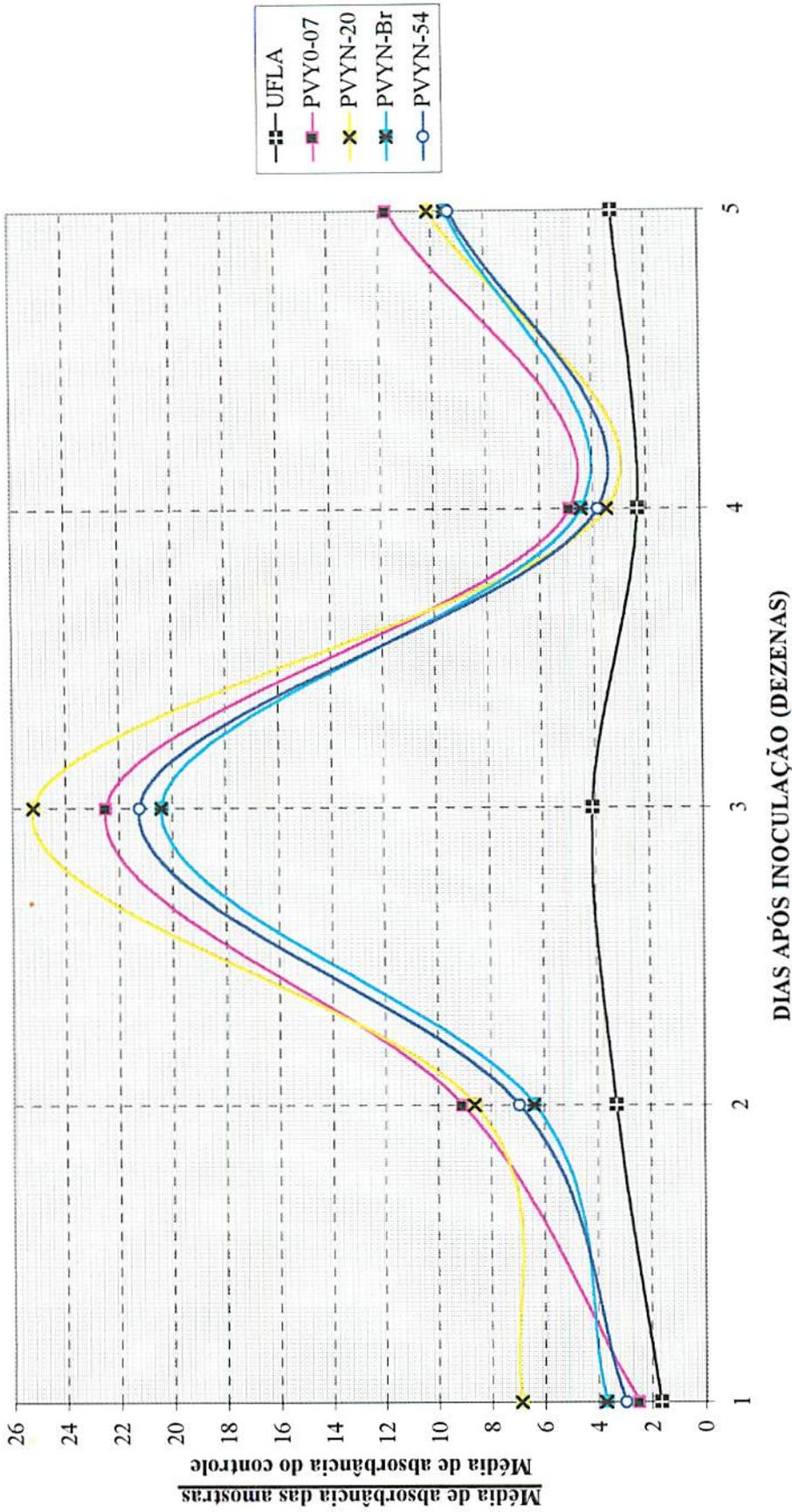


FIGURA 5 - Concentração de partículas de virais ao longo do ciclo vegetativo da planta, inferida em cinco avaliações consecutivas, com intervalos de dez dias entre elas, pela absorbância obtida no teste DAS-ELISA, empregando tecidos foliares de batata cv. Achat inoculada mecanicamente com os isolados de PVY: UFLA, Lavras-MG, 1997.

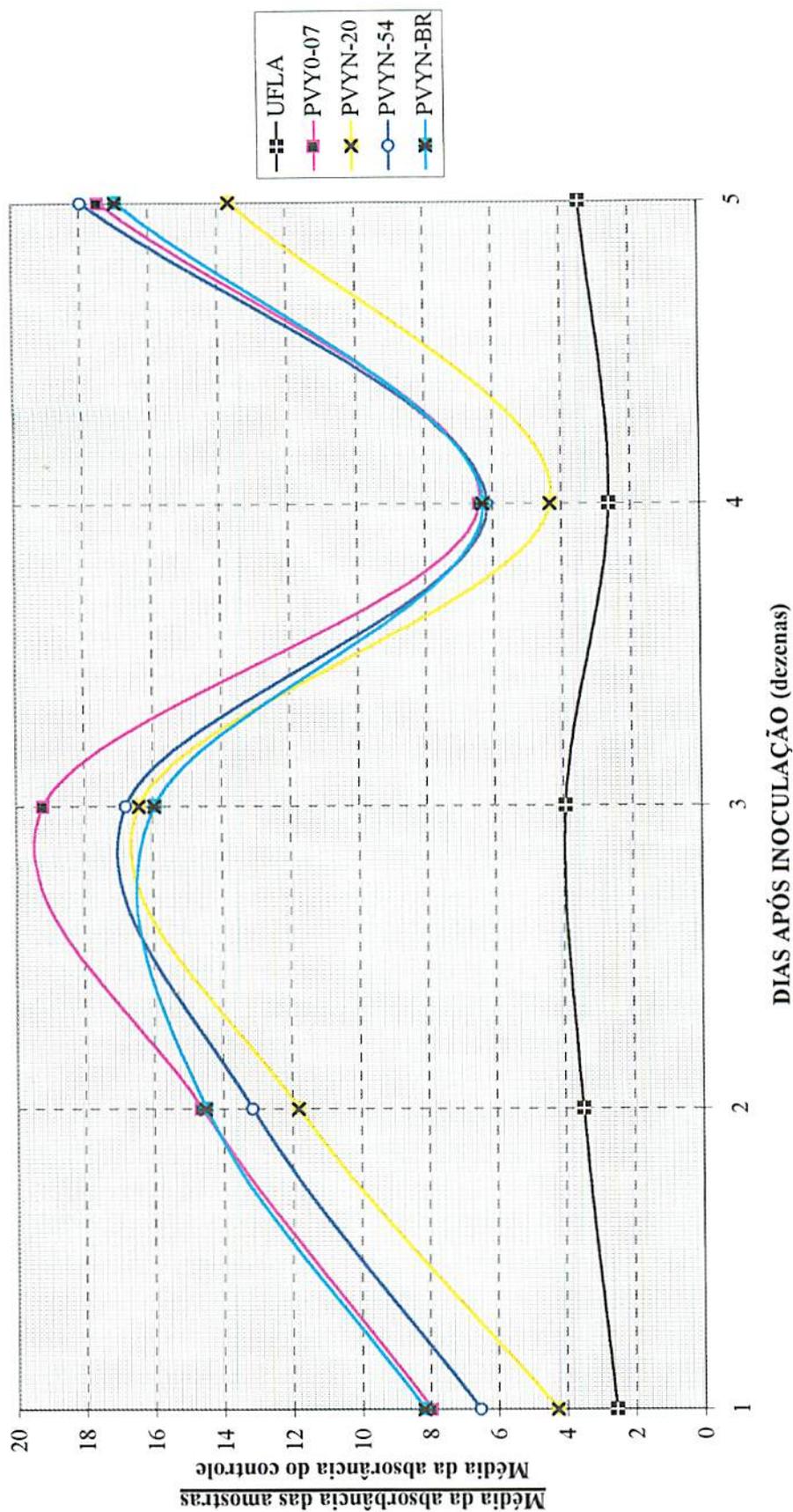


FIGURA 6 - Concentração de partículas de virais ao longo do ciclo vegetativo da planta, infértil em cinco avaliações consecutivas, com intervalos de dez dias entre elas, pela absorvância obtida no teste DAS-ELISA, empregando tecidos foliares de batata cv. Achat inoculada mecanicamente com os isolados de PVY. UFLA, Lavras-MG, 1997.

Apesar das curvas obtidas nos dois experimentos serem bastante semelhantes, pode-se notar uma diferença nítida no comportamento dos isolados, nas duas diferentes épocas, nos primeiros vinte dias após a inoculação. A concentração da maioria dos isolados, ao décimo e vigésimo dia após a inoculação, foi maior no experimento realizado entre outubro e dezembro/96, sendo que a do PVY^N-UFLA apresentou menor variação e a do PVY⁰-07 e PVY^N-BR apresentaram maior aumento. Do vigésimo ao trigésimo dia após a inoculação, pode-se observar, nas duas épocas, também uma variação no comportamento dos isolados, porém todos eles mostraram uma clara tendência de apresentar um aumento significativo na planta hospedeira. Essas diferenças nas multiplicações dos isolados entre o primeiro e segundo ensaio podem ter alguma correlação com a temperatura na casa-de-vegetação, onde foi conduzido o experimento, pois sabe-se que diferentes estirpes podem ter exigências diferentes em termos de temperatura ótima para a sua multiplicação (De Bokx e Piron, 1977). A estirpe PVY⁰, que foi descrita por esses autores como sendo favorecida por temperaturas menores que as ótimas para a estirpe PVY^N, apresentou em altas temperaturas, concentração igual ou superior a das estirpes necróticas. Isso pode estar relacionado com a cultivar empregada nos ensaios ou mesmo à constante variabilidade que essas estirpes vêm apresentando no campo, e a competitividade entre elas poderia certamente ser um constante fator de pressão de seleção.

Entre os trinta e quarenta dias após a inoculação, houve uma queda rápida da concentração, com um novo aumento entre o quadragésimo e quinquagésimo dias, de todos os isolados na planta. Somente o isolado necrótico mais antigo (PVY^N-UFLA), apresentou uma concentração praticamente uniforme, durante todo o ciclo da planta, muitas vezes menor que a concentração dos demais vírus, quando esses atingiram o ponto mais alto de concentração na

planta, cerca de 30 e 50 dias após a inoculação, e no final do ciclo. Esse isolado certamente deve pertencer ao grupo de isolados para os quais foi originalmente desenvolvida a resistência da cultivar Achat na Alemanha, pois esta é descrita como resistente aos vírus X e Y da batata (Santos, Andrigueto e Camargo, 1986). Os demais isolados necróticos, possivelmente, foram os responsáveis pela quebra de resistência dessa cultivar. Chrzanowska (1991; 1994), verificou fato semelhante em cultivares resistentes na Polônia.

O aumento acentuado da concentração dos vírus na planta, até o trigésimo dia, seguido por uma brusca queda entre o trigésimo e quadragésimo dia e um novo aumento entre o quadragésimo e quinquagésimo dia após a inoculação, poderia ser explicado pelo desenvolvimento fisiológico próprio da planta ao longo do seu ciclo vegetativo. Rowe (1993), descrevendo os estágios de crescimento das plantas de batata, ressalta que a sua fase vegetativa pode ser dividida em cinco estágios de desenvolvimento. O primeiro estágio (I) é conhecido como fase desenvolvimento dos brotos, ou seja, emergência das plântulas; o segundo estágio (II) é o de crescimento vegetativo da planta, quando ocorre um rápido desenvolvimento de folhas e hastes. Esses dois estágios duram de 30 a 70 dias, dependendo de vários fatores entre os quais as características particulares de cada variedade. No terceiro estágio (III), que dura de 10 a 14 dias, ocorre o início de formação dos tubérculos, pelos estolões, porém não há apreciável expansão desses. No quarto estágio (IV) verifica-se o aumento de volume dos tubérculos pré-formados, pelo acúmulo de água, nutrientes e carboidratos. Nessa fase, ocorre um acentuado direcionamento de carboidratos para os tubérculos, e um grande estímulo na mobilidade dos nutrientes inorgânicos na planta. O quinto e último estágio (V) é marcado pela maturação dos tubérculos, quando a planta

sofre um declínio gradual em sua taxa de fotossíntese, diminuindo o crescimento dos tubérculos e alcançando o máximo de matéria seca.

A rápida multiplicação verificada nas três primeiras análises, aproximadamente 25 a 45 dias após a emergência, demonstrada pelos pontos 1 a 3 (10 a 30 dias após a inoculação) das figuras 5 e 6, coincide com os estágios II e III citados acima, onde o vírus é favorecido pela alta taxa de desenvolvimento vegetativa da planta, atingindo o máximo ao trigésimo dia após a inoculação. Entre 30 e 40 dias após a inoculação, provavelmente ocorreu o início da fase de translocação e acúmulo de água, nutrientes e carboidratos da planta para os tubérculos, havendo também a translocação e diminuição da concentração de partículas dos isolados nas folhas. O aumento verificado entre o quadragésimo quinquagésimo dia após a inoculação pode ser devido à estabilização da translocação de nutrientes dentro da planta, fase em que o tubérculo deve perder a prioridade de captação de carboidratos.

A alta concentração do isolado PVY⁰-07 verificada nas condições deste trabalho, foi surpreendente pelo fato de a estirpe necrótica ter sido verificada em altas concentrações, a nível de campo em infecções primárias (Weidemann, 1988; Chrzanowska 1991 e 1994; Figueira e Pinto, 1995; Figueira, Pinto e Moraes, 1996, Figueira, Moraes e Pinto, 1996), e secundárias em lotes de batata-semente, muitas vezes ultrapassando os novos isolados necróticos em estudo (Tabela 2 e Figura 1). Chrzanowska (1991) verificou, em infecções primárias, que o novo isolado da estirpe necrótica alcançou concentrações rápidas e altas, em relação ao isolado velho e um isolado comum, porém, em infecções secundárias, ambos os isolados tiveram comportamento semelhante.

4.6 Transmissibilidade pelo inseto vetor *Myzus persicae* L.

Estudando-se a transmissibilidade das diferentes estirpes pelo inseto vetor *M. persicae* (Tabela 7) pode-se observar uma alta taxa de transmissão dos isolados estudados, com exceção do isolado PVY⁰-07. Os isolados mais novos, ou seja as estirpes necróticas (PVY^N-Br e PVY^N-54), apresentaram entre 80 e 81% de transmissibilidade, contra 68,75% para o isolado mais velho (PVY^N-UFLA), que apresentou uma transmissibilidade ligeiramente menor. O isolado PVY^N-20 apresentou a menor transmissibilidade entre os necróticos, enquanto que o isolado PVY⁰-07 teve a transmissibilidade mais baixa de todas.

TABELA 7 - Transmissão dos diferentes isolados de PVY, através do vetor *Myzus persicae* Sulz. (Temperatura média de 23°C). UFLA, Lavras-MG, 1997.

ESTIRPE (Isolado)	FONTE DE INÓCULO	INDICADORA	Nº PLANTAS (Inf./Inoc.*)	% TRANSMISSÃO
PVY ⁰ -07	Batata 'Achat'	Fumo 'TNN'	1/16	6,3
PVY ^N -Br	Batata 'Achat'	Fumo 'TNN'	13/16	81,3
PVY ^N -54	Batata 'Achat'	Fumo 'TNN'	12/15	80,00
PVY ^N -20	Batata 'Achat'	Fumo 'TNN'	8/16	50,00
PVY ^N -UFLA	Fumo 'TNN'	Fumo 'TNN'	11/16	68,8
TESTEMUNHA	-----	Fumo 'TNN'	0/16	0,0

* Resultados confirmados pelo teste serológico DAS-ELISA.

O fato de os isolados necróticos terem uma maior transmissibilidade pelo inseto vetor tem sido atribuído a uma maior concentração das estirpes necróticas nos tecidos das plantas, como já comprovado por alguns autores (Weidemann, 1988; Chrzanowska, 1991 e 1994; Figueira e Pinto, 1995; Figueira, Pinto e Moraes, 1996; Figueira, Moraes e Pinto, 1996).

Entretanto, os dados obtidos, representados nas figuras 5 e 6, mostram que a concentração de todos os isolados estudados foi bastante semelhante durante todo o ciclo vegetativo da batata, com excessão do isolado PVY^N-UFLA, que se manteve menor durante todo o ciclo de vida da planta. Surpreendentemente, o isolado PVY⁰-07, que obteve uma das menores transmissibilidades através do vetor, foi o que geralmente apresentou uma maior multiplicação na planta de batata.

Existem exemplos de que determinadas estirpes de vírus podem ganhar ou perder a habilidade de serem transmitidas por um afídeo em particular (Matthews, 1992). Por outro lado, a eficiência de um vetor pode ser diferente para diferentes estirpes de vírus, dependendo de propriedades ligadas à variabilidade das proteínas do capsídeo (Katis, Carpenter e Gibson, 1986; Gera, Loebenstein e Raccah, 1979). Sabe-se que a transmissão dos potyvirus depende de uma proteína capsidial com peso molecular entre 53 e 58 kDa, denominada de “helper component” ou HC-Pro (Dougherty e Carrington, 1988; Thornbury et al., 1990).

Outro fator a ser considerado é a variabilidade na capacidade de indivíduos de uma mesma população de afídeos em transmitir vírus. Pirone e Thornbury (1977), trabalhando com afídeos alimentados artificialmente através de uma membrana, calcularam que cada afídeo da espécie *M.persicae*, submetido a um período fixo de alimentação, pode adquirir quantidades que variaram de 10 a 4000 partículas de vírus.

Durante os experimentos, observou-se que houve um efeito significativo da planta hospedeira sobre a colonização do afídeo. Verificou-se que *M. persicae* se desenvolveu melhor em plantas de *N. physaloides* que em pimentão (*C. annuum*) e *D. stramonium*, onde foram criados afídeos maiores e melhores de se manejar, porém, o pimentão apresentou-se mais tolerante aos afídeos, durando mais dias, sem apresentar definhamento. As colônias provenientes do pimentão apresentavam pulgões pequenos, ou seja, a colônia apresentava-se quase que totalmente homogênea. Quanto à *Datura*, foi a que apresentou maior tolerância à colonização, porém, essa planta é ótima hospedeira para ácaros e, em determinada época do ano, pode inviabilizar a criação.

Se a baixa transmissibilidade da estirpe PVY⁰ fosse devida ao fato de esta estar perdendo a habilidade de ser transmitida, durante os últimos tempos, isso poderia explicar a predominância das novas estirpes necróticas desse vírus no campo. Por outro lado, essas novas estirpes poderiam também possuir propriedades biológicas específicas que favorecessem a sua disseminação por afídeos, como por exemplo, ter uma proteína capsidial com maior habilidade para promover a interação vírus-vetor, incrementando a sua transmissibilidade.

4.7. Eficiência da técnica DAS-ELISA para detecção de vírus nas diferentes partes dos tubérculos, e respectivas plântulas, oriundos de plantas de batata inoculadas, com os isolados de PVY, no início e no final do ciclo vegetativo.

Os resultados obtidos na análise dos diferentes tecidos de tubérculo e plântulas provenientes de plantas inoculadas, no início e no final do ciclo, estão representados nas tabelas de número 8 a 17. O número de tubérculos infectados por planta, quando esta foi inoculada

mecanicamente no início do ciclo, foi acima de 90% para a maioria dos isolados estudados. A única exceção ocorreu com os tubérculos provenientes de plantas infectadas com o PVY^N-UFLA, o isolado mais antigo da estirpe necrótica do PVY, estudado nesse trabalho, pois estes apresentaram um índice médio de infecção de apenas 24,4% (tabela 8). Como esse isolado foi o que menos se multiplicou na planta durante todo o ciclo vegetativo, isso poderia, de fato, resultar em uma menor translocação de partículas virais para os tubérculos. Chrzanowska (1991) também relatou um alto índice de infecção de vírus nos tubérculos de plantas de batata infectadas com os isolados de PVY, por ele estudados, e observou ainda que um isolado necrótico novo apresentou na planta, em infecções secundárias, a mesma concentração que a estirpe PVY⁰.

TABELA 8 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-UFLA, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	08	00	0,0	01	12,5	01	12,5
2	01	00	0,0	00	0,0	00	0,0
3	07	00	0,0	01	14,3	01	14,3
4	08	00	0,0	01	12,5	02	25,0
5	08	00	0,0	01	12,5	02	25,0
6	09	00	0,0	01	11,1	01	11,1
7	09	00	0,0	03	33,3	03	33,3
8	08	01	12,5	03	37,5	03	37,5
9	08	01	12,5	02	25,0	03	37,5
TOTAL	66	02	3,0	13	19,7	16	24,4

TABELA 9 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY⁰-07, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	04	00	0,0	02	50,0	04	100
2	03	00	0,0	01	33,3	03	100
3	10	01	10	07	70	10	100
4	07	00	0,0	06	85,7	06	85,7
5	05	00	0,0	03	60,0	03	60,0
6	09	01	11,1	07	77,8	08	88,9
7	07	01	14,3	06	85,7	06	85,7
8	09	02	22,2	08	88,9	09	100
9	06	01	16,7	05	83,3	06	100
10	04	01	25,0	03	75,0	04	100
TOTAL	64	07	10,9	48	75,0	59	18,6

TABELA 10 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-54, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	04	00	0,0	02	50,0	04	100
2	07	00	0,0	07	100	07	100
3	06	00	0,0	04	66,7	06	100
4	03	00	0,0	02	66,7	02	66,7
5	06	01	16,7	03	50,0	06	100
6	03	00	0,0	03	100	03	100
7	03	00	0,0	02	66,7	03	100
8	07	00	0,0	05	71,4	07	100
9	07	00	0,0	04	57,1	06	85,7
TOTAL	46	01	2,17	32	69,6	44	95,7

TABELA 11 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-20, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	06	00	0,0	06	100	06	100
2	07	02	28,6	05	71,4	05	71,4
3	02	00	0,0	01	50,0	02	100
4	04	01	25,0	04	100	04	100
5	04	00	0,0	04	100	04	100
6	11	00	0,0	08	72,7	11	100
7	08	00	0,0	05	62,5	08	100
8	10	01	10,0	08	80,0	10	100
9	04	01	25,0	03	75,0	04	100
TOTAL	56	05	8,9	44	78,5	54	96,4

TABELA 12 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-BR, inoculadas aos 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	07	00	0,0	05	71,4	06	85,7
2	05	00	0,0	04	80,0	05	100
3	08	01	12,5	05	62,5	08	100
4	05	01	20,0	05	100	05	100
5	06	00	0,0	05	83,3	06	100
6	06	00	0,0	04	66,7	05	83,3
7	04	00	0,0	04	100	04	100
8	05	00	0,0	04	80,0	04	80,0
9	07	00	0,0	04	57,1	06	85,7
TOTAL	53	02	3,8	40	75,5	49	92,5

TABELA 13 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-UFLA, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	05	00	0,0	00	0,0	00	0,0
2	03	00	0,0	02	66,7	02	66,7
3	05	00	0,0	01	20,0	02	40,0
4	03	00	0,0	00	0,0	00	0,0
5	04	00	0,0	00	0,0	00	0,0
6	03	00	0,0	00	0,0	00	0,0
TOTAL	23	00	0,0	03	13,0	04	17,4

TABELA 14 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY⁰-07, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	04	00	0,0	02	50,0	02	50,0
2	02	00	0,0	01	50,0	01	50,0
3	06	00	0,0	01	16,7	01	16,7
4	07	00	0,0	06	85,7	07	100
5	09	00	0,0	07	77,8	09	100
6	06	02	33,3	06	100	06	100
TOTAL	34	02	5,9	23	67,7	26	76,5

TABELA 15 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-54, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	02	00	0,0	00	0,0	00	0,0
2	03	00	0,0	00	0,0	00	0,0
3	02	00	0,0	01	50,0	01	50,0
4	03	00	0,0	01	33,3	01	33,3
5	04	01	25,0	03	75,0	04	100
6	05	00	0,0	00	0,0	00	0,0
TOTAL	19	01	5,3	05	26,3	06	31,6

TABELA 16 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-20, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.	%	Infec.	%
1	07	00	0,0	00	0,0	00	0,0
2	04	00	0,0	01	25,0	01	25,0
3	02	00	0,0	01	50,0	01	50,0
4	03	00	0,0	00	0,0	00	0,0
5	07	01	14,3	06	85,7	07	100
6	05	00	0,0	00	0,0	00	0,0
TOTAL	28	01	3,6	08	28,6	09	32,1

TABELA 17 - Incidência de vírus nas diferentes partes do tubérculo e respectivas plântulas, provenientes das plantas infectadas com o isolado PVY^N-Br, inoculadas aos 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

PLANTA	Nº tub. prod. testados	Tecidos		Brotos		Plântulas	
		Infec.	%	Infec.		Infec.	%
1	03	00	0,0	01	33,3	01	33,3
2	03	00	0,0	01	33,3	01	33,3
3	03	00	0,0	03	100	03	100
4	04	00	0,0	00	0,0	00	0,0
5	04	00	0,0	01	25,0	02	50,0
6	09	02	22,2	09	100	09	100
TOTAL	26	02	7,7	15	57,7	16	61,5

Nos experimentos em que as plantas de batata foram inoculadas no final do ciclo, como era de se esperar devido à resistência de plantas maduras, o número de tubérculos infectados com o isolado PVY^N-UFLA foi ainda menor, ou seja, caiu para 17% (tabela 13). A translocação dos outros isolados de PVY também diminuiu, sendo que a menor foi observada para as estirpes comum, PVY⁰-07 e PVY^N-Br que infectaram, respectivamente, 76,5 e 61,5% dos tubérculos.

A resistência de plantas de batata no final do ciclo, comumente chamada de resistência de plantas maduras, tem sido observada e estudada por diversos autores (Beemster, 1976; 1987; Sangar, Agrawal e Nagaich, 1988; Gibson, 1991). Beemster (1976) observou que, em infecções tardias, a estirpe necrótica do PVY foi capaz de se translocar para os tubérculos, de quatro cultivares de batata, a uma taxa muito mais alta que a estirpe comum. Nesse trabalho, o isolado mais antigo da estirpe necrótica do PVY apresentou uma taxa de translocação bem inferior, enquanto que a estirpe necrótica nova apresentou uma translocação semelhante à estirpe comum.



Provavelmente essa diferença, em relação aos resultados obtidos por Beemster (1976), seja devida à resistência genética ao PVY, apresentada pela cultivar Achat, conforme comentado anteriormente, uma vez que houve resistência à translocação desse isolado também quando as plantas foram inoculadas no início do ciclo. Outro fato observado durante esses experimentos foi que a porcentagem total de plantas infectadas caiu de uma média aproximada de 95%, entre as plantas mecanicamente inoculadas no início do ciclo para, no máximo, 50% entre as plantas que foram inoculadas no final do ciclo, com os isolados de PVY. Desse modo, verificou-se também uma alta resistência da planta madura à infecção por inoculação mecânica.

Os dados das figuras 7 e 8 permitem observar que a porcentagem de escape na diagnose do PVY, pela técnica DAS-ELISA, foi bastante grande, quando utilizaram-se tecidos de tubérculos sem brotar, mesmo nas plantas inoculadas no início do ciclo, chegando a mais de 90%, para certos isolados. Isso confirma que não se deve utilizar tubérculos antes da brotação, para serem submetidos à indexação do PVY através dessa técnica. Por outro lado, o escape observado quando a diagnose foi feita em brotos de tubérculos originados de plantas inoculadas, tanto no início quanto no final do ciclo, foi consideravelmente menor, chegando no máximo a 20% para a maioria dos isolados. Isso porque, nesses experimentos, foi empregada a concentração de 1g de tecido/10 ml de solução extratora. Alguns experimentos feitos posteriormente (dados não publicados) mostraram que esse escape pode diminuir, quando utiliza-se a concentração de 1g de tecido/5ml de solução.

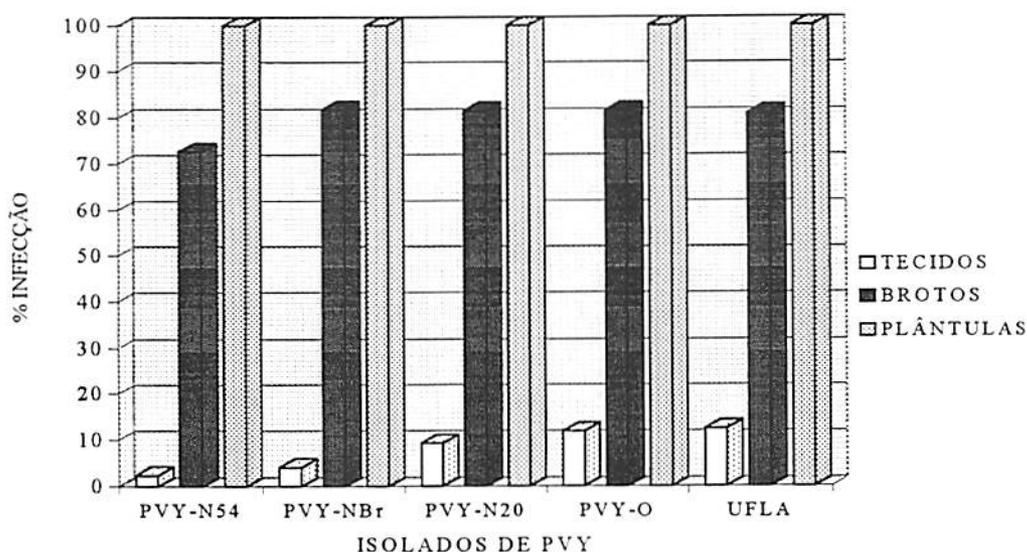


FIGURA 7 - Comparação entre as porcentagens de infecção de cada um dos isolados de PVY estudados, nas diferentes partes de tubérculos (tecidos de tubérculos dormentes, brotos e plântulas) provenientes de plantas de batata inoculadas 10 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

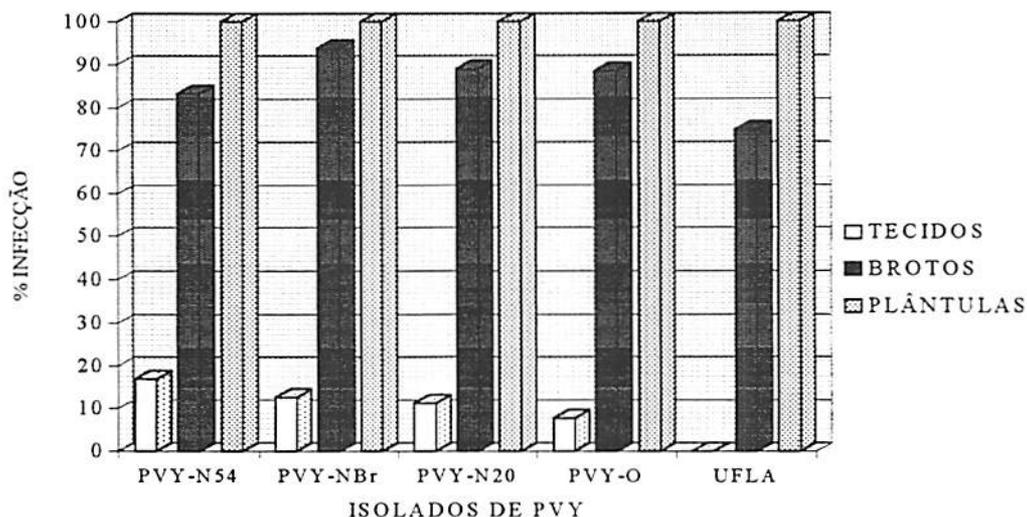


FIGURA 8 - Comparação entre as porcentagens de infecção de cada um dos isolados de PVY estudados, nas diferentes partes de tubérculos (tecidos de tubérculos dormentes, brotos e plântulas) provenientes de plantas de batata inoculadas 50 dias após a emergência. UFLA, Lavras-MG, 1997.

Resultados semelhantes foram encontrados e descritos por outros autores. Hill e Jackson (1984), investigando a sensibilidade do teste DAS-ELISA na detecção de PLRV e PVY, observaram que o teste realizado nos tubérculos subestimou a incidência de ambos os vírus, tendo sido menos eficiente que os testes de pré-cultura e a diagnose direta nas folhas das plântulas, fato que os autores atribuíram à ausência do tratamento de quebra de dormência. Vários trabalhos demonstraram que a quebra de dormência favorece a detecção de PVY em tubérculos infectados (De Bokx, 1976; De Bokx e Maat, 1979; Gugerli e Gehriger, 1980; Reust e Gugerli, 1984; McDonald e Coleman, 1988).

Comparando-se as taxas de incidência de vírus nos brotos e plântulas provenientes de tubérculos produzidos por plantas inoculadas, no início e no final do ciclo, pode-se notar que as taxas de escape foram menores nos brotos dos tubérculos de plantas inoculadas no final do ciclo, quando o resultado esperado seria exatamente o contrário. A explicação para esses dados pode estar no tempo de armazenamento desses tubérculos, em câmara fria, após a quebra da dormência., antes de terem sido submetidos aos testes de diagnose. Apesar de terem sido colhidos na mesma época, os tubérculos das plantas inoculadas no início e no final do ciclo foram também submetidos à quebra de dormência na mesma época, mas os primeiros foram analisados cerca de 60 dias antes que os das plantas inoculadas no final do ciclo.

Gugerli e Gehriger (1980) observaram que a diagnose do PVY em tubérculos, que permaneceram armazenados por duas ou três semanas a 22°C, permitiu uma avaliação mais acurada da incidência desse vírus. Resultados semelhantes foram obtidos também por outros pesquisadores (Reust e Gugerli, 1984; McDonald e Coleman, 1988). De Bokx e Maat (1979), encontraram evidências que a diagnose de PVY^N em tubérculos, estocados após a brotação, foi

mais eficiente do que a realizada logo após o aparecimento dos primeiros brotos. Isso os levou a postular que o fato de ocorrer multiplicação do vírus nos tubérculos, durante o período de estoque, ou mesmo outros fatores fisiológicos relacionados com o final da dormência, que força a liberação das partículas já presentes, poderiam ter contribuído para aumentar essa eficiência.

De qualquer modo, como o número de tubérculos provenientes das plantas inoculadas no final do ciclo, analisados no presente trabalho, foi relativamente pequeno, existe a necessidade de se estender esses testes a um maior número de tubérculos para uma confirmação dos resultados obtidos.

5 CONCLUSÕES

- No levantamento da incidência das principais viroses em lotes de batata-semente observou-se que o PVY apresentou altas taxas com relação ao PLRV; e que a sua estirpe necrótica (PVY^N) foi a que predominou quando comparada com a estirpe comum (PVY⁰).

- As cultivares 'Achat' (Alemã) e 'Baraka' (Holandesa), ambas descritas como resistentes ao PVY, foram as que apresentaram maior incidência em lotes de batata-semente, no período de junho/95 a maio/96, sugerindo que a vinda das estirpes mais agressivas pode ter sido através de batata-semente importada de países da Europa.

- As plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) cv 'TNN' e *Physalis floridana* Rydb, foram as que apresentaram diferenças mais nítidas entre os isolados da estirpe necrótica de PVY, demonstrando potencial para diferenciação entre os isolados novos e antigo de PVY^N.

- Plantas de batata cv. 'Achat' comportaram-se como resistentes ao isolado antigo de PVY^N, e altamente susceptíveis aos novos isolados da estirpe necrótica e comum de PVY, indicando que esses podem ter sido os reponsáveis pela quebra de resistência ao PVY, a nível de campo.

- A reação positiva ao antissoro monoclonal só para o isolado mais velho, PVY^N-UFLA), leva à confirmação de que os novos isolados da estirpe necrótica são realmente diferentes, havendo a necessidade de produção de antissoros monoclonais que sejam específicos para esses novos variantes.

- Não foi verificada nenhuma diferença nas propriedades das partículas dos isolados analisados, levando à confirmação de que tais características não podem ser utilizadas para diferenciação entre isolados pertencentes a um mesmo grupo de vírus.

- A concentração de partículas virais dos isolados estudados, com exceção do PVY^N-UFLA, variou consideravelmente com as principais fases vegetativas das plantas de batata cv. 'Achat'.

- Houve uma maior translocação em plantas inoculadas no início do ciclo, quando comparada com as inoculadas no final do ciclo.

- Foi observado um grande escape em plantas inoculadas, no início e final de ciclo, quando se utilizaram extratos de tubérculos sem brotar, na indexação de PVY, havendo então a necessidade de submeter os tubérculos a forçamento de brotação antes da indexação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology** 3.ed. San Diego: Academic, 1988. 803p.
- ALEXANDRE, M.A.V.; BARRADAS, M.M. *Solanum mammosum* L., nova hospedeira diferencial para o vírus Y da batata (PVY) e sua estirpe necrótica (PVY^N). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, n.1, p.105-109, fev. 1982.
- ALLISON, R.; JOHNSTON, R.E.; DOUGHERTY, W.G. The nucleotide sequence of the coding region of Tobacco Etch Virus genomic RNA; evidence for synthesis of a single polyprotein. **Virology**, New York, v.154, n.1, p.9-20, 1986.
- ANDRADE, E.R.D. **Incidência de estirpes do vírus Y e degenerescência em seis cultivares de batata (*solanum tuberosum* L.) no Sul de Minas**. Lavras-MG: ESAL, 1989. 49 p. (Tese - Mestrado em Fitossanidade).
- ANDRADE, E.R.D.; FIGUEIRA, A. R. Incidência e sintomatologia de estirpes do vírus Y (PVY) nas regiões produtoras de batata do sul de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, Lavras, v.16, n. 3, p.371-376, jul./set. 1992.
- BARRADAS, M.M.; CHAGAS, C.M.; KITAJIMA, E.W. Detecção de inclusões do tipo catavento em plantas de *Solanum palinacanthum* naturalmente infectadas por vírus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.2, p.401, jun. 1984.
- BEEEMSTER, A.B.R. Translocation of the potato viruses Y^N and Y^o in some potato varieties. **Potato Research**, Wageningen, v.19. n.2, p.169-172, June 1976.

- BEEMSTER, A.B.R. Virus translocation and mature-plant resistance in potato plants. In: DE BOKX, J.A.; VAN DER WANT, J.P.H. (eds.). **Viruses of potatoes and seed-potato production**. Wageningen: Pudoc, 1987. p.116-124.
- BEEMSTER, A.B.R.; DE BOKX, J.A. Survey of properties and symptoms. In: DE BOKX, J.A.; VAN DER WANT, J.P.H.(eds.). **Viruses of potatoes and seed-potato production**. Wageningen: Pudoc, 1987. p.84- 113.
- BRABER, J.M.; BUS, C.B.; SCHEPERS, A. Changes in leaf components and peroxidase activity of potato plants (cv. Bintje) in relation to mature-plant resistance to PVY^N. **Potato Research**, Wageningen, v.25, p.141-153, June 1982.
- BRIOSO, P.S.T.; FERREIRA, M.A.; OLIVEIRA, D.E. "Potato virus Y" - Identificação de uma estirpe infectando naturalmente pimentão (*Capsicum annuum*) e fonte de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, n.2, p.226-235, jun. 1996.
- BRUNT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBS, A.J.; WATSON, L. **Viruses of plants: descriptions and lists from the VIDE database**. Wallingford: CABInternational, 1996. 1484p.
- CARDOSO, M.R.O.; GUGLIELMELLI F°, F.S. Os cultivares e suas características. **Correio Agrícola Bayer**, São Paulo, n.3, p.440-442, 1982. (Batata - Edição Especial)
- CHRZANOWSKA, M. New isolates of the necrotic strain of potato virus Y (PVY^N) found recently in Poland. **Potato Research**, Wageningen, v.34, n.2, p.179-182, 1991.
- CHRZANOWSKA, M. Differentiation of potato virus Y (PVY) isolates. **Phytopath. Polonica**, Poznan, v.8, n.20, p.15-20, 1994.
- COLARICCIO, A. Identificação do vírus Y da batata, estirpe comum (PVY⁰) em *Solanum palinacanthum* DUN. São Paulo-SP: USP, 1996. 110p. (Tese - Doutorado em Ciências).
- COLARICCIO, A., CHAGAS, C.M.; CHAVES, A.L.R.; CASTRO, L.C.; BARRADAS, M.M. Identificação do vírus Y da batata, estirpe comum (PVY⁰) em *Solanum palinacanthum* DUN. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.333, ago. 1997. (Suplemento).

- COSTA, A.S. **Doenças de vírus do fumo, batata e tomateiro.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1948. 82 p. (Boletim, 38).
- COSTA, A.S. Moléstias de vírus da batata **Boletim de Campo**, [São Paulo], n.190, p.68-83, jun./jul. 1965.
- COSTA, C.L. Variações sazonais da migração de *Myzus persicae* em Campinas nos anos de 1967 a 1969. **Bragantia**, São Paulo, v.29, n.32, p.347-359, nov. 1970.
- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L.; MELO, S.S.; SILVA, M.R. Transmissão de estirpes de PVY vindas de batata, pimentão ou tomate por meio de *Myzus nicotiane*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.187, ago. 1992. (Resumo).
- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L.; SILVA, A.M.R. Transmissão de três estirpes do vírus Y da batata por *Myzus nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.1, p.102-106, mar. 1993.
- DE BOKX, J.A. Potato Virus Y. In: HOOKER, W.J. (ed.). **Compendium of potato diseases.** Saint Paul: American Phytopathological Society, 1981. p.70-71
- DE BOKX, J.A. Detection of potato viruses A and Y^N in tubers with secondary infection after various treatments. **Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, Ghent, v.41, n.2, p.765-769, 1976.
- DE BOKX, J.A.; HUTTINGA, H. **Potato virus Y.** Kew: Commonw. Mycol. Inst. / Asso. Appl. Biol., 1981. 6p. (Descriptions of Plant Viruses, 242)
- DE BOKX, J.A.; KRATCHANOVA, B.; MAAT, D.Z. Some properties of a deviating strains of potato virus Y. **Potato Research**, Wageningen, v.18, n.1. p.38-51, 1975.
- DE BOKX, J.A.; MAAT, D.Z. Detection of potato virus Y^N in tubers with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, Ghent, v.44, n.2, p.635-644, 1979.

- 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.; PIRON, P.G.M. Relative efficiency of a number of aphid species in the transmission of potato virus Y^N in the Netherlands. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.96, n.4, p.237-246, 1990.
- DE BOKX, J.A.; PIRON, P.G.M.; MAAT, D.Z. The detection of various strains of potato virus Y by ELISA. **Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, Ghent, v.47, n.3, p.1023-1028, 1982.
- DELGADO-SANCHEZ, S.; GROGAN, R.G. *Chenopodium quinoa*, a local lesion assay host for Potato Virus Y. **Phytopathology**, St. Paul, v.56, p.1394-1396, Dec. 1966.
- DELGADO-SANCHEZ, S.; GROGAN, R.G. **Potato virus Y** Kew: Commonw. Mycol. Inst. / Asso. Appl. Biol., 1970. 4p. (Descriptions of Plant Viruses, 37).
- DOMIER, L.L.; FRANKLIN, K.M.; SHAHABUDDIN, M. et al. The nucleotide sequence of tobacco vein mottling virus RNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.14, n.13, p.5417-5430, 1986.
- DOUGHERTY, W.G.; CARRINGTON, J.C. Expression and function of potyviral gene products. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.26, p.123-143, 1988.
- EDWARDSON, J.R.; CHRISTIE, R.G; KO, N.J. Potyvirus cylindrical inclusions - Subdivision-IV. **Phytopathology**, St. Paul, v.74, n.9, p.1111-1114, 1984.
- FIGUEIRA, A.R.; MORAES, F.H.R.; PINTO, A.C.S. New PVY necrotic strain is causing great losses in Brazil. **Phytopathology**, St. Paul, v.86, n.11, p.S85, Nov. 1996. (supplement. Abstracts, 761A)
- FIGUEIRA, A.R.; PINTO, A.C.S. Estirpe necrótica do vírus Y da batata em sementes importadas esta 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.432-433, ago. 1996. (Suplemento).
- FIGUEIRA, A.R.; SOUZA, P.G.; CARDOSO, M.R.O.; GASPAR, J.O.; PÁDUA, J.G. Ocorrência dos vírus que infectam a batatinha na região sul de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.2, p.307, jun.1985. (Resumo).
- FIGUEIRA, A.R.; SOUZA, P.G.; GASPAR, J.O. Estirpes do vírus Y da batata (PVY) detectadas em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.2, p.302, jun.1985. (Resumo).
- FILGUEIRA, F.A.R. **Manual de olericultura: cultura e comercialização de hortaliças**. 2.ed. São Paulo: Ceres, 1982. 357p.
- GALLOTI, G.J.M.; HIRANO, É.; BERTOCINI, O. Víroses da batata: principal causa da degenerescência. **Agropecuário Catarinense**, Florianópolis, v.5, n.4, p.47-49, dez. 1992.
- GERA, A.; LOEBENSTEING, G; RACCAH, B. Protein coat of two strains of cucumber mosaic virus affect transmission by *Aphis gossypii*. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.4, p.396-399, Apr. 1979.
- GIBSON, R.W. The development of mature plant resistance in four potato cultivars against aphid-inoculated potato virus Y^O and Y^N in four potato cultivars. **Potato Research**, Wageningen, v.34, n.3, p.205-210, 1991.
- GOODING Jr., G.V.; LAPP, N.A.; WILSON, L.G. Potato Leafroll Virus and Potato Virus Y in seed potatoes used to plant the North Carolina crop. **American Potato Journal**, Orono, v.59, p.125-129, 1982.
- GOODING Jr., G.V.; TOLIN, S.A. Strains of potato virus Y affecting flue-cured tobacco in the southeastern United States. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.57, n.3, p.200-204, Mar.1973.
- GUGERLI, P.; FRIES, P. Characterization of monoclonal antibodies to Potato Virus Y and their use for virus detection. **Journal General Virology**, London, v.64, n.11, p.2471-2477, 1983.

- GUGERLI, P.; GEHRIGER, W. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of potato leafroll virus and potato virus Y in potato tubers after artificial break of dormancy. **Potato Research**, Wageningen, v.23, n.1, p.353-359, Jan. 1980.
- HILL, S.A.; JACKSON, E.A. An investigation of the reliability of ELISA as a practical test for detecting potato leafroll virus and potato virus Y in tubers. **Plant Pathology**, Oxford, v.33, n.1, p.21-26, Mar. 1984.
- HOLLINGS, M.; BRUNT, A.A. **Potyvirus group** London: Commonw. Mycol. Inst. / Asso. Appl. Biol., 1981a. 7p. (Descriptions of Plant Viruses, 245).
- HOLLINGS, M. BRUNT, A.A. Potyviruses In: KURSTAK, E (ed.). **Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis**. Elsevier: North-Holland Biomedical, 1981b. p.732-807.
- HOOKER, W.J. (ed.). **Compendium of potato diseases** Saint Paul: American Phytopathological Society, 1981. 125p.
- KATIS, N; CARPENTER, J.M. E GIBSON, R.W. Interference between potyviruses during aphid transmission. **Plant Pathology**, Oxford, v.35, n.2, p.152-157, June 1986.
- KITAJIMA, E.W.; CAMARGO, I.J.B. Inclusões intranucleares e citoplasmáticas associadas à infecção de plantas com estirpes do vírus Y da batata. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.19, n.2, p.366, 1967. (Resumo).
- KITAJIMA, E.W.; CAMARGO, I.J.B.; COSTA, A.S. Intranuclear crystals and cytoplasmic membranous inclusions, associated with infection by two Brazilian strains of Potato Virus Y. **Journal of Electron Microscopy**, Oxford, v.17, n.2, p.144-153, 1968.
- KUDAMATSU, M.; ALBA, A.P.C.; CHAGAS, C.M. Determinação serológica do vírus Y da batata em plantas de *Solanum viarum* Dun. e de *S. ciliatum* Lam., naturalmente infectadas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.48, n.1/4, p.45-47, jan./dez. 1981.
- LE ROMANCER, M.; KERLAN, C.; NEDELLEC, M. Biological characterisation of various geographical isolates of potato virus Y inducing superficial necrosis on potato tubers. **Plant Pathology**, Oxford, v.43, n.1, p.138-144, 1994.

- MACGILLIVRAY, M.E. Aphids In: HOOKER, W.J. (ed.). **Compendium of potato diseases** Saint Paul: American Phytopathological Society, 1981. p.68-70.
- MALLOZZI, P.R. Disseminação e controle das viroses. **Correio Agrícola Bayer**, São Paulo, n.3, p.464-466, 1982. (Batata - Edição Especial).
- MATTHEWS, R.E.F. **Fundamentals of plant virology** 3.ed. San Diego: Academic, 1992. 403p.
- MCDONALD, J.G.; COLEMAN, W.K. A reevaluation of bromoethane in comparison to rindite for the post-harvest detection of potato virus Y in tubers by ELISA. **American Potato Journal**, Orono, v.65, p.547-550, 1988.
- MCDONALD, J.G.; KRISTJANSSON, G.T. Properties of strains of potato virus Y^N in North America. **Plant Disease**, St. Paul, v.77, n.1, p.87-89, Jan. 1993.
- MCDONALD, J.G.; KRISTJANSSON, G.T.; SINGH, R.P.; ELLIS, P.J.; MCNAB, W.B. Consecutive ELISA screening to detect potato virus Y^N. **American Potato Journal**, Orono, v.71, n.3, p.175-183, Mar. 1994.
- MIZUBUTI, A. Principais viroses da batateira sob condições de Brasil Central. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.46-50, abr. 1981.
- NICOLAS, O.; LALIBERTÉ J. -F. The complete nucleotide sequence of turnip mosaic potyvirus RNA. **Journal of General Virology**, London, v.73, n.11, p.2785-2793, 1992.
- NOBREGA, N.R.; SILBERSCHMIDT, K. Sobre uma provável variante do vírus "Y" da batatinha (*Solanum virus 2*, Orton) que tem a peculiaridade de provocar necroses em plantas de fumo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.15, p.307-330, 1944.
- PETERS, D. **Potato leafroll virus** Kew: Commonw. Mycol. Inst. / Asso. Appl. Biol., 1970. 3p. (Descriptions of Plant Viruses, 242).
- PETERS, D.; JONES, R.A.C. Potato Leafroll Virus In: HOOKER, W.J. (ed.). **Compendium of potato diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1981. p.68-70.

- PIO-RIBEIRO, G.; PAZ, C.D.; ASSIS F^o, F.M.; PIRES, C.R.C. Detecção sorológica de um vírus em uma coleção de batata (*solanum tuberosum*) no estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n.3, p.473-475, set. 1994.
- PIRONE, T.P.; THORNBURY, D.W. Quantity of virus required for applied transmission of plant virus by Aphids. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.15, p.55-73, 1977.
- PUTTEMANS, A. Informações sobre "Doenças de Degenerescência" da batateira no Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.9, n.3/4, p.103-111, 1934.
- REUST, W.; GUGERLI, P. Oxygen and carbon dioxide treatment to break potato tuber dormancy for reliable detection of potato virus Y (PVY) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Potato Research**, Wageningen, v. 27, n.4, p. 435-439, Dec. 1984.
- ROBAGLIA, C.; DURAND-TARDIF, M.; TRONCHET, M.; BOUDAZIN, G.; ASTIER-MANIFACIER, S.; CASSE-DELBART, F. Nucleotide sequence of potato virus Y (N strain) genomic RNA. **Journal of General Virology**, London, v.70, n.4, p.935-947, 1989.
- ROSE, D.G.; HUBBARD, A.L. Production of monoclonal antibodies for the detection of potato virus Y. **Annals of Applied Biology**, Warwickshire, v.109, p.317-321, 1986.
- ROSE, D.G.; MCCARRA, S.; MITCHELL, D.H. Diagnosis of potato virus Y^N: a comparison between polyclonal and monoclonal antibodies and a biological assay. **Plant Pathology**, Oxford, v.36, n.1, p.95-99, Mar. 1987.
- ROWE, C. Potato health management: a holistic approach In: ROWE, C.(ed.). **Potato health management**. Minnesota: APS, 1993. p.3-10.
- SANGAR, R.B.S.; AGRAWAL, H.O.; NAGAICH, B.B. Effect of age on potato yield in plants inoculated with potato viruses X and Y. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.41, n.3, p.327-331, 1988.
- SANGAR, R.B.S.; AGRAWAL, H.O.; NAGAICH, B.B. Studies on the translocation of potato viruses X and Y in potatoes. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.46, n.2, p.110-117, 1993.

- SANTOS, M.M.F.B.; ANDRIGUETO, J.R.; CAMARGO, C.P. **Descrição de cultivares de batata** Brasília: Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Produção Agropecuária. Coordenadoria de Sementes e Mudanças, 1986. 40p.
- SANZ, A.; CAMBRA, M.; PEREZ DE SAN ROMAN, C.; MIGUET, J.G.; CORTES, E.; GORRIS, M.T.; VELA, C. Preparation of additional monoclonal antibodies for detection and discrimination of potato virus Y isolates infecting potato. **Potato Research**, Wageningen, v.33, p.365-375, 1990.
- SÃO PAULO Governo do Estado de São Paulo. Secretaria da Agricultura. **Cultura da batata: enrolamento das folhas da batata**. São Paulo: CATI, 1973. 4p. (Instrução Prática, 151)
- SIGVALD, R. Mature-plant resistance of potato plants against potato virus Y° (PVY°). **Potato Research**, Wageningen, v.28, p.135-143, 1985.
- SILBERSCHMIDT, K. A degenerescência da batatinha. **O Biológico**, São Paulo, v.3, n.9, p.247-254, set. 1937.
- SILBERSCHMIDT, K. Types of potato virus Y necrotic to tobacco: history and recent observation. **American Potato Journal**, New Brunswick, v.37, n.5, p.151-159, 1960.
- SILBERSCHMIDT, K.; KRAMER, M. O vírus Y, uma das principais causas da degenerescência das batatinhas no estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo, v.8, n.2, p.39-47, fev. 1942.
- SILBERSCHMIDT, K.; MALLOZZI, P. Ensaio sobre o comportamento aos vírus X e Y de algumas variedades de batata, importadas no Brasil. **O Biológico**, São Paulo, v.33, p.144-150. 1967.
- SINGH, M.; SINGH, R.P. A fast-reacting bioassay for the tobacco vein necrosis strain of potato virus Y (PVY^N). **Plant Disease**, St. Paul, v.78, n.8, p.775-778, Aug. 1994.
- SINGH, R.P.; BOUCHER, A.; SOMERVILLE, T.H.; DHAR, A.K. Selection of a monoclonal antibody to detect PVY^N and its use in ELISA and DIBA assays. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v.15, n.4, p.293-300, 1993.

- SIQUEIRA, O. Principais viroses da batata no Brasil. In: **TECNOLOGIA e produção de batata-semente**. Brasília: AGIPLAN. Ministério da Agricultura, 1976. p.97-118.
- SMITH, K.M. **A textbook of plant virus diseases** Londres: Longman Group, 1972. 684p.
- SOUZA DIAS, J.C.A.; AMÂNCIO, A.V.; COSTA, A.S. O vírus do enrolamento da folha da batata continua a ser a principal causa da degenerescência da batata semente no estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.136, jun. 1990. (Resumo).
- SOUZA DIAS, J.C.A.; COSTA A.S.; RAMOS, V.J. Enrolamento da folha é também praticamente o único fator de degenerescência da batata-semente no período de 1980-84 na estação experimental de Itararé-SP. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.2, p.405, jun. 1984. (Resumo).
- SOUZA DIAS, J.A.C.; SCAGLIUSI, S.M.; AMÂNCIO, A.V.; MIRANDA F^o.H.S.; COSTA, A.S. Batata-semente certificada da Argentina encontra-se dentro dos padrões brasileiros de sanidade a vírus, mas a presença dos vírus Y^N e do mosaico da alfafa suscita preocupações. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.18, p.35, fev. 1992. (Resumo).
- SOUZA DIAS, J.C.A., TRISTÃO, J.F., MIRANDA F^o, 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).
- STACE-SMITH, R.; TREMAINE, J.H. Purification and Composition of potato virus Y **Phytopathology**, St. Paul, v.60, p.1785-1789, Dec. 1970.
- THOLE, V.; DALMAY, T.; BURGYÁN, J.; BALÁZS, E. Cloning and sequencing of potato virus Y (Hungarian isolate) genomic RNA. **Gene**, Amsterdam, v.123, n.2, p.149-156, 1993.
- THORNBURY, D.W.; PATTERSON, C.A.; DESSENS, J.T.; PIRONE, T.P. Comparative sequence of the helper component (HC) region of potato virus Y and a HC-defective strain, potato virus C. **Virology**, New York, v.178, n.2. p.573-578, 1990.
- TOKESHI, H.; BERGAMIN F^o, A. Doenças da Batata. In: GALLI, F. (coord.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1980. v.2 p.102-120.

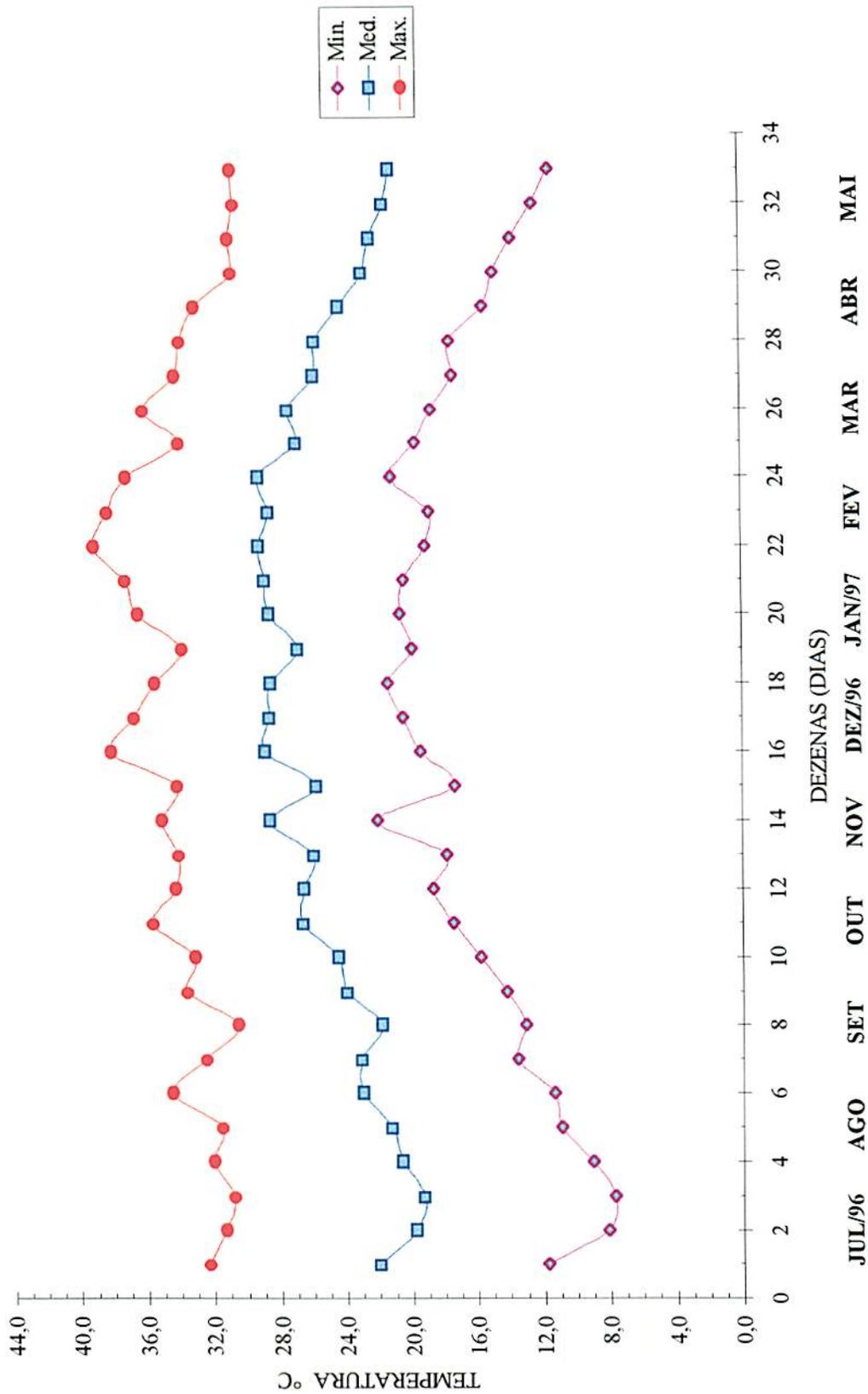
VANCE, V.B.; MOORE, D.; TURPEN, T.H.; BRACKER, A.; HOLLOWELL, V.C. The complete nucleotide sequence of pepper mottle virus genomic RNA: Comparison of the encoded polyprotein with those of other sequenced potyviruses. *Virology*, New York, v.191, n.1, p.19-30, 1992.

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, Mar. 1988.

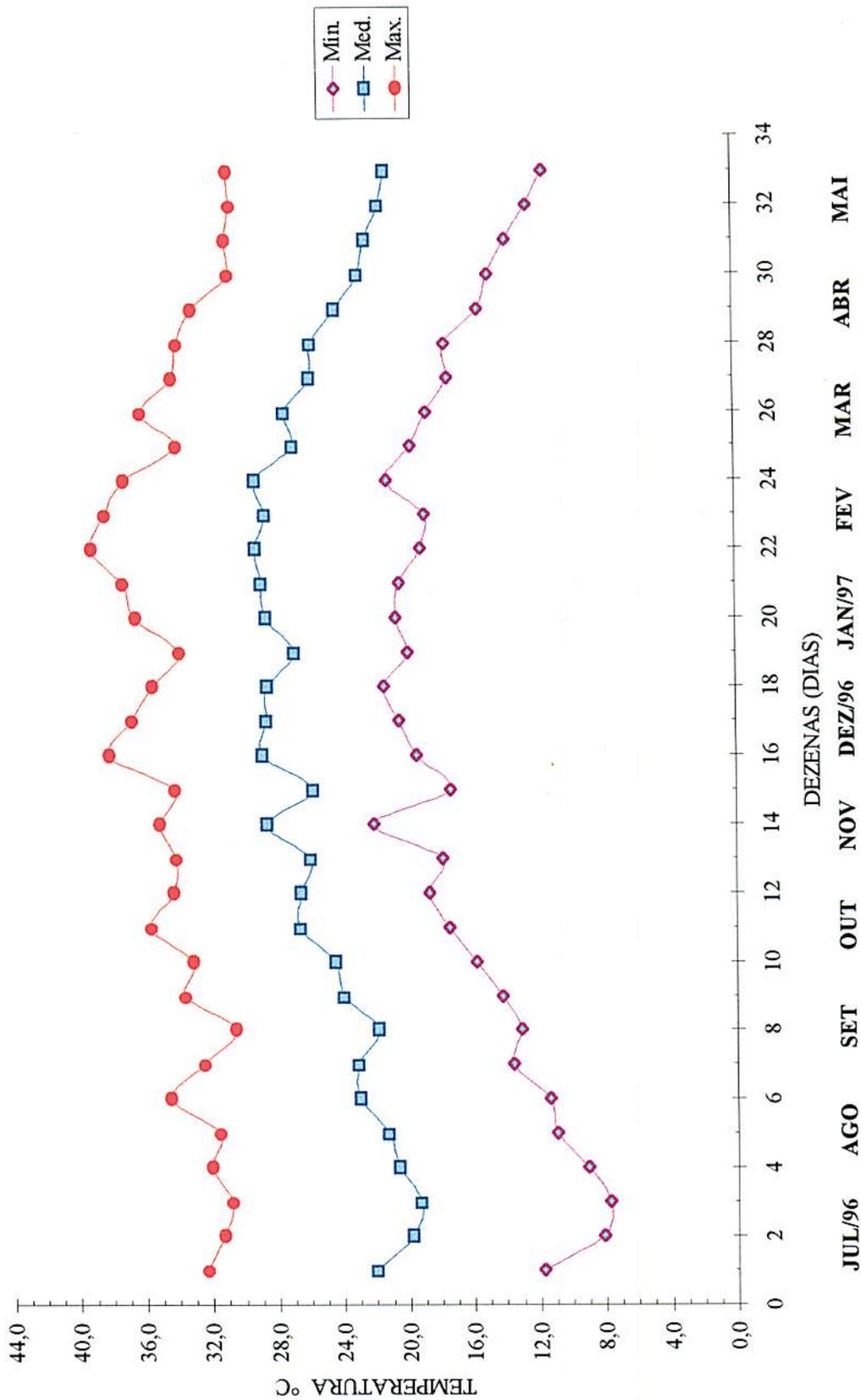
YUKI, V. A. Afideos vetores de vírus da batata. *Correio Agrícola Bayer*, São Paulo, n. 3, p.460-463, 1982. (Batata - Edição Especial).

ZIMMERMAN-GRIES, S.; HARPAZ, I. Incidence of virus diseases in trials to grow foundation-stock seed potatoes in Israel. *Potato Research*, Wageningen, v.13, n.2, p.91-100, June 1970.

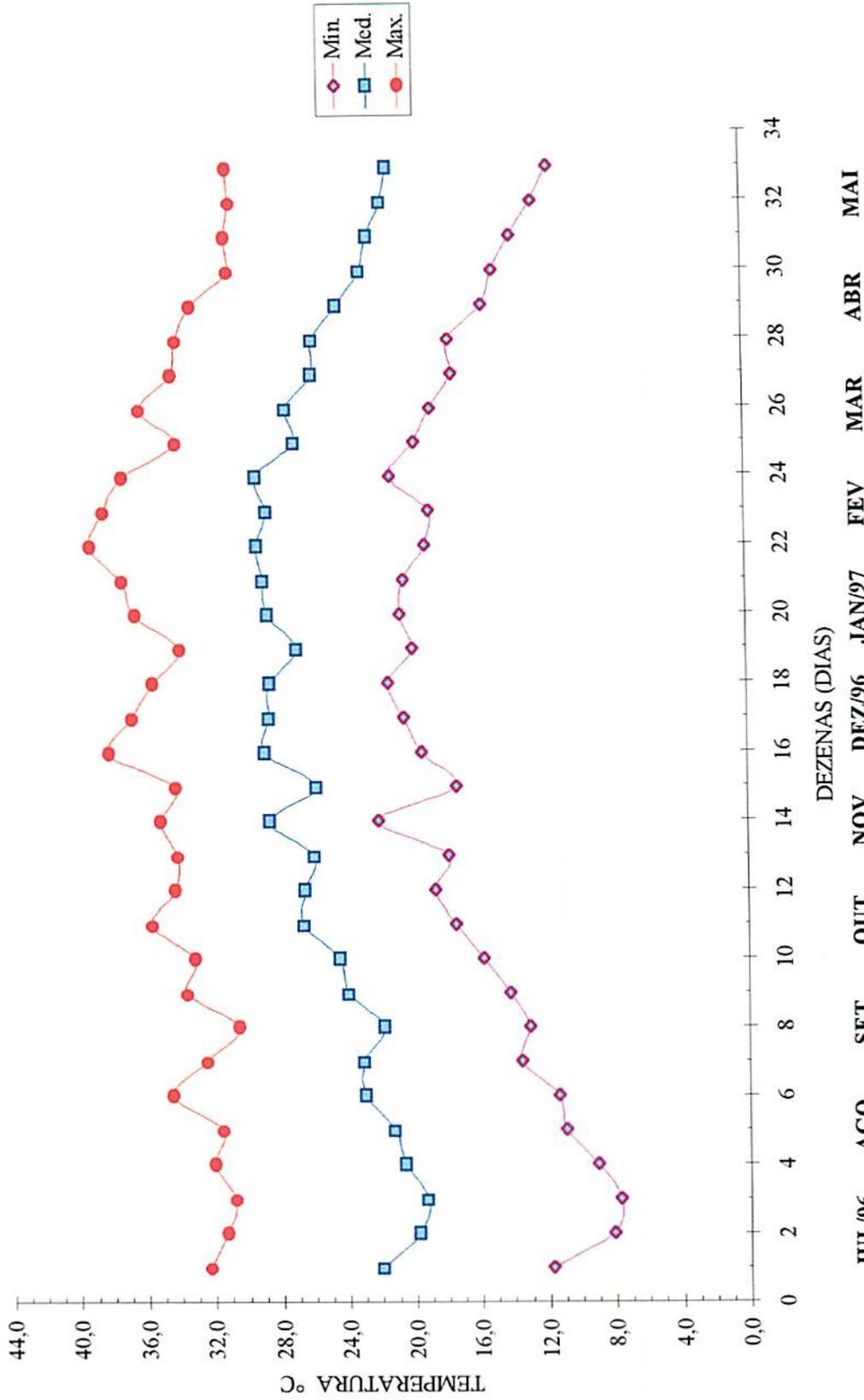
APÊNDICE



APÊNDICE 1 : Temperaturas semanais obtidas à nível de casa-de-vegetação, durante o período de julho/96 a maio/97



APÊNDICE 1 : Temperaturas semanais obtidas à nível de casa-de-vegetação, durante o período de julho/96 a maio/97



APÊNDICE 1 : Temperaturas semanais obtidas à nível de casa-de-vegetação, durante o período de julho/96 a maio/97