

**DESEMPENHO AGRONÔMICO E REAÇÃO DE
CLONES DE BATATA (*Solanum tuberosum* L.)
AO PVY**

JULIANA GADUM

2001

51724

MEU. 36516

JULIANA GADUM

**DESEMPENHO AGRONÔMICO E REAÇÃO DE
CLONES DE BATATA (*Solanum tuberosum* L.) AO PVY**



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

Orientador

Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

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

Gadum, Juliana

Desempenho agrônômico de reação de clones de batata (*Solanum tuberosum* L.) ao PVY / Juliana Gadum. -- Lavras : UFLA, 2000.
39 p. : il.

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

1. Batata. 2. Resistência a virose. 3. PVY. 4. Virus Y da batata. 5. Melhoramento genético. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.213
-635.2198

JULIANA GADUM

**DESEMPENHO AGRONÔMICO E REAÇÃO DE
CLONES DE BATATA (*Solanum tuberosum* L.) AO
PVY.**

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

APROVADA em 7 de Fevereiro de 2001

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf

UFLA

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

UFLA

Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

UFLA

(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Ao meu irmão, Angelo,

Pela pessoa maravilhosa, pelo carinho e compreensão, e porque mesmo em seu silêncio, me ensina e me ajuda muito.

OFEREÇO

Aos meus pais, Eduardo e Lourdes, por tudo o que eles representam, pela dedicação, amor e carinho para que eu pudesse vencer meus próprios limites em mais essa etapa da minha vida e não desistir,

Por estarem ao meu lado não só nas horas de sucesso e alegria, mas por se esforçaram para ajudar quando os problemas se fizeram presentes e os desafios se tomaram grandes demais para uma única pessoa,

Todo meu respeito, amor e admiração.

DEDICO

“Que os nossos esforços desafiem as impossibilidades... lembrai-vos de que as grandes proezas da história foram conquistas do que parecia impossível.”

CHARLES CHAPLIN

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado permissão de hoje estar aqui.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar este curso.

Ao Departamento de Biologia, pela receptividade e oferecimento do curso de Genética e Melhoramento de Plantas.

Ao Departamento de Fitopatologia e ao Laboratório de Indexação, pelo apoio no trabalho de pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao orientador e professor César Augusto Brasil Pereira Pinto, pela orientação, incentivo, colaboração, tolerância e, principalmente, por acreditar em mim.

Aos amigos que trabalham no programa de melhoramento de batata da UFLA, Eduardo, Alexandre, Ricardo, Giovani, Silvia, Maria Cristina e Raimundo, pela amizade e dedicação em todos os momentos.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular, pelo auxílio e ajuda nas análises moleculares.

Aos amigos do curso de mestrado e doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas, por toda a amizade.

Aos amigos de turma: Juliane, Fábria, Marilaine, Eduardo, Odair, Vanderlei, Eigo, Sidney e Paulo Sérgio, por todos os momentos agradáveis e difíceis que passamos juntos.

Aos amigos do Gen por todo apoio e pelas horas alegres que tivemos.

Às minhas amigas Fábria e Juliane, pela paciência que sempre tiveram comigo, por me agüentarem mesmo nos meus piores dias e por me ensinarem muito durante nossa convivência.

Ao meu amigo Ralph Bruno, por toda amizade e carinho dedicados durante um dos períodos mais difíceis da minha vida.

Aos amigos Adriana e Leonardo pelo amor de pessoas que são.

Aos professores Magno Antônio Patto Ramalho e João Bosco dos Santos, por todos os ensinamentos transmitidos durante a realização deste curso.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 A cultura da batata no Brasil.....	4
2.2 Viroses da batata.....	5
2.3 Controle genético da resistência às viroses.....	9
2.4 Resistência ao PVY.....	11
2.5 Emprego de marcadores moleculares no melhoramento de plantas...	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1 Material.....	15
3.2 Experimentos.....	15
3.3 Avaliação dos clones em condições de campo.....	17
3.3.1 Clones OAS.....	17
3.3.2 Clones JUG.....	18
3.4 Avaliação da reação dos clones ao PVY por meio da enxertia em tomateiro infectado.....	19
3.5 Cruzamento teste.....	20
3.6 Reação dos clones JUG ao PVY.....	20
3.7 Análises estatísticas.....	21
3.7.1 Ensaios de campo.....	21
3.7.2 Cruzamento teste.....	21
3.7.3 Reação dos clones JUG ao PVY.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	23
4.1 Avaliação da reação dos clones ao PVY por meio da enxertia em tomateiro infectado.....	23
4.2 Cruzamento teste.....	24
4.3 Reação dos clones JUG ao PVY.....	27
4.4 Caracteres agrônômicos em condições de campo.....	28
4.4.1 Clones OAS.....	28
4.4.2 Clones JUG.....	32
5 CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

RESUMO

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

Foram avaliados 65 clones de batata (denominados OAS), previamente selecionados para imunidade aos vírus X e Y, obtidos por Silva (1999). Também foram avaliados outros 169 clones (denominados JUG) para reação ao vírus Y. Os clones JUG foram obtidos por meio de cruzamentos biparentais entre materiais também imunes ao vírus X e Y, na condição simplex, originados no Centro Internacional de la Papa (CIP), Peru. Foram conduzidos dois ensaios com os clones OAS para avaliar o desempenho agrônômico em campo. Foram feitos também dois ensaios para avaliar a reação ao PVY por meio de enxertia destes clones em tomateiro infectado. Os clones OAS foram também cruzados com a cultivar suscetível Chiquita (ry ry ry ry) para a identificação das suas constituições genéticas em relação ao gene Ry. Os clones originados deste cruzamento teste foram avaliados para a reação ao vírus Y por meio do teste DAS-ELISA em plantas inoculadas mecanicamente com o PVY e também pelo método de marcadores SCAR, segundo Kasai et al. (2000). Os clones JUG foram avaliados para a reação ao PVY, por inoculação mecânica e diagnosticados pelo método DAS-ELISA. Estes clones também foram avaliados em condições de campo. Os ensaios de campo para avaliar os clones OAS e JUG foram conduzidos em propriedades particulares localizadas em Silvianópolis e São João da Mata, na região sul do estado de Minas Gerais. O delineamento empregado nos três experimentos foi o látice. A inoculação com PVY não foi eficaz e não permitiu a comprovação da imunidade dos clones supostamente imunes e nem de sua constituição genética para o loco Ry. O marcador SCAR denominado RYSC3 parece ser uma ferramenta mais eficaz para selecionar clones de batata imunes ao PVY, pois não requer a inoculação das plantas com os vírus. Foram identificados novos clones de batata (JUG) supostamente imunes ao PVY, com alta produção, razoável porcentagem de tubérculos graúdos e alta densidade de tubérculos. Os clones OAS 2.88, OAS 2.89, OAS 2.111 e OAS 3.55 destacaram-se agronomicamente em três experimentos já realizados, além de apresentarem também reação negativa ao PVY. Estes clones também possuem alta densidade dos tubérculos, que confere melhor qualidade para a fritura.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

ABSTRACT

GADUM, Juliana. Horticultural Performance and Reaction of Potato (*Solanum tuberosum* L.) clones to PVY. Lavras:UFLA, 2001. 39p. (Master's Dissertation in Plant Genetic and Breeding).

Sixty-five potato clones (denominated OAS), previously selected for immunity to PVX and PVY by Silva (1999), were horticulturally evaluated in this study. Their immunity to PVY was also evaluated by grafting the potato plants on infected tomato rootstocks. The OAS clones were testcrossed to the susceptible cultivar Chiquita (ryryryry) to assess the genetic constitution of the testcross families in the Ry locus, using mechanical inoculation of PVY and SCAR markers according to Kasai (2000). Another 169 potato clones (denominated JUG) were evaluated for resistance to PVY by mechanical inoculation followed by diagnosis with DAS-ELISA. They were also evaluated under field conditions. The JUG clones were obtained by crossing simplex clones (Ryryryry) originated at CIP. The field experiments were carried out in private farms located at Silvianópolis and São João da Mata, State of Minas Gerais, Brazil. All experiments were conducted using the lattice design. Mechanical inoculations with PVY were not effective and did not allow either confirmation of immunity of presumptive immune clones nor their genetic constitution to the Ry locus. The SCAR marker denominated RYSC3 seems to be a more effective tool to select for immunity to PVY because it does not require virus inoculation. New potato clones (JUG) were selected for immunity to PVY, high tuber yield, reasonable percentage of large tubers and high tuber specific gravity. Clones OAS 2.88, 2.89, 2.111 e 3.55, showed improved horticultural traits in three experiments, had negative reaction to PVY, and had high tuber specific gravity, which confers a better tuber quality for frying.

* Guidance: Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos raros países onde se planta batata o ano todo, evitando a necessidade de armazenamento de material para consumo. Isto, porém, predispõe a cultura à alta pressão de inóculo de enfermidades e a grandes populações de insetos pragas. Nas principais regiões produtoras, a falta de inverno rigoroso leva a uma diferença marcante na epidemiologia das viroses da batateira, comparada à de regiões de clima temperado. A presença, durante o ano inteiro, de insetos vetores, principalmente o pulgão verde (*Myzus persicae*) e de plantas hospedeiras, explica o fato de lotes de batatas-semente livres de vírus apresentarem alta incidência das viroses em duas ou três multiplicações em campo (Souza Dias e Iamauti, 1997).

A batata-semente é um insumo caro, que representa de 30% a 50% do custo de produção, sendo freqüentemente importada de países como Canadá e Holanda. As cultivares importadas não são completamente adaptadas às condições ambientais de um país predominantemente de clima tropical, como o Brasil, o que faz com que seu potencial produtivo seja inferior ao alcançado nos países de origem (Resende, Mascarenhas e Paiva, 1999). A obtenção de cultivares nacionais adaptadas às condições de cultivo nas diversas regiões produtoras brasileiras e resistentes às principais doenças é a alternativa mais viável para tornar a cultura mais produtiva e rentável para o produtor.

Vários vírus ocorrem na cultura da batata, e os principais são: o enrolamento da folha da batata (Potato Leafroll Virus- PLRV - que causa perdas de até 80%), o vírus Y da batata (Potato Virus Y- PVY) e o vírus X da batata (Potato Virus X – PVX - que se associado ao vírus Y chega a perdas de 50%). (Oliveira e Miranda, 1981).

As medidas de controle para doenças viróticas são basicamente de caráter preventivo. No caso de viroses da batata, a qual se propaga vegetativamente e pode perpetuar o vírus de uma geração para outra, via tubérculos contaminados, essas prevenções são ainda mais importantes. O modo mais eficaz para o controle dessas viroses é a resistência genética, uma vez que o controle químico dos insetos vetores tem sido pouco efetivo. A resistência genética varia em função do tipo de virose. Por exemplo, a resistência ao PLRV tem controle poligênico, o que dificulta muito sua incorporação nas cultivares. Além disso, clones resistentes ao vírus do enrolamento podem tornar-se suscetíveis, se forem previamente infectados com PVY ou PVX. Por essa razão, o melhoramento visando resistência às viroses deve concentrar-se inicialmente no PVY e PVX, que são controlados monogenicamente (Brandolini, Caligari e Mendonza, 1992).

A resistência ao PVY é controlada pelo gene *Ry*, originário da subespécie andígena (Muñoz, Plainsted e Thurston, 1975) e que confere imunidade já na forma simplex (*Ry ry ry ry*). Esse gene controla um tipo de resistência extrema (também denominada imunidade) e que proporciona uma resistência completa (Swiezynski, 1994). A resistência ao PVY é altamente herdável e considerada durável.

O aumento da frequência de alelos de resistência permite a obtenção de genitores duplex (*Ry Ry ry ry*) e triplex (*Ry Ry Ry ry*) e esses, por sua vez, podem gerar mais de 80% de clones imunes ao PVY, aumentando o número de clones que poderiam ser avaliados para a resistência ao PLRV. Finalmente, vale salientar que a obtenção de clones adaptados às condições de cultivo e resistentes às viroses deve diminuir o impacto dessas enfermidades na cultura da batata (Mihovilovich, 1996).

Em trabalho recentemente realizado na UFLA, Silva (1999) avaliou 570 clones de batata oriundos do cruzamento entre genitores imunes ao PVX e PVY

e identificou clones imunes a essas viroses, por meio de inoculação mecânica, sendo a reação das plantas detectada pelo método sorológico DAS-ELISA. Contudo, conforme salienta Ross (1986), a resistência associada à resistência extrema ou imunidade é diferenciada somente pela enxertia de batata em plantas de tomate previamente infectada pelo vírus. Também, segundo Kasai (2000), a utilização de marcadores SCAR para a identificação do gene Ry_{adg} é uma alternativa eficaz, chegando a 100% de eficiência.

Esse trabalho teve por objetivo comprovar a imunidade de clones de batata supostamente resistentes, identificar suas constituições genéticas em relação ao loco Ry e avaliá-los agronomicamente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da batata no Brasil

A batata é considerada a principal hortaliça no país, tanto em área cultivada (180 mil ha/ano), como em preferência alimentar. A produção é superior a 2,7 milhões toneladas por ano e a produtividade média acima de 14 toneladas por hectare, o que corresponde aproximadamente ao consumo nacional. As regiões sul e sudeste que compreendem os estados de RS, SC, PR, SP e MG, são as principais produtoras brasileiras de batata e respondem por percentuais superiores a 96% da produção do país (Tôres, 1999).

O Brasil é um dos raros países onde se planta batata o ano todo, evitando a necessidade de armazenamento de material para consumo. Porém, em climas tropicais e subtropicais, os pulgões, espécies vetoras de fitovirose, reproduzem-se durante todo o ano e ocorrem várias espécies de ervas daninhas servindo de hospedeiras, o que tende a favorecer a disseminação e estabelecimento das principais viroses nos campos de produção. A rápida degenerescência das cultivares que se verifica em nosso país logo após as primeiras multiplicações de batata-semente, está em grande parte associada ao acúmulo de moléstias de vírus transmitidas por estes afídeos vetores (Gallotti, Hirano e Bertocini, 1992).

O país é dependente da batata-semente importada. Em 1997, essas importações chegaram a 7 mil toneladas, correspondentes a um valor de importação de 3,9 milhões de dólares. O Canadá é o principal fornecedor de batata para semeadura no Brasil (37%), seguido da Holanda (26%) e Israel (14%) (Resende, Mascarenhas e Paiva, 1999). As cultivares importadas, quando utilizadas em nossas condições, mostram-se extremamente sensíveis a várias doenças e insetos, além de serem também exigentes em fertilidade, necessitando

de intenso controle fitossanitário, o que aumenta o custo final da produção. A cultivar Bintje, de origem holandesa, por exemplo, tem uma inegável preferência entre os consumidores, mas é altamente suscetível à requeima (*Phytophthora infestans*), à pinta-preta (*Alternaria solani*) e às viroses, exigindo mais de trinta pulverizações com fungicidas, além de apresentar produtividade inferior a outras cultivares. As cultivares Achat (de origem alemã) e Monalisa (de origem holandesa) também amplamente utilizadas são mais resistentes às doenças fúngicas que a cultivar Bintje, mas também apresentam problemas fitossanitários e são suscetíveis às principais viroses (Filgueira, 1982).

A falta de cultivares nacionais mais adequadas às nossas condições climáticas e a baixa disponibilidade de batata-semente de boa qualidade, a preços acessíveis, têm sido os problemas fundamentais da bataticultura brasileira (Hirano, 1987).

2.2 Viroses da batata

A batata-semente é o insumo mais importante para a bataticultura, não apenas pelo fato de representar mais de 25% do custo de produção da cultura, mas por garantir o bom desempenho da lavoura.

A sanidade da lavoura de batata para consumo está intimamente ligada à batata-semente, pois, sendo uma cultura de propagação vegetativa, os patógenos têm no tubérculo-semente (ou tubérculo-mãe) o meio mais eficiente para a sua manutenção, disseminação e para o início do processo contagioso. Assim, é fácil perceber que o manejo de doenças da batata deve ser iniciado antes do plantio, estendendo-se até o momento em que o produto é entregue ao consumidor (Lopes e Reifschneider, 1999).

A qualidade da batata-semente é um fator de grande relevância para a obtenção de boa produtividade (Hirano, 1987) e esta qualidade é determinada principalmente pelo índice de infecções por vírus e bactérias sistêmicas. Não existe um controle químico eficiente para esses patógenos que, normalmente, resultam em degenerescência progressiva da semente ou, mesmo, inviabilização do seu uso. A obtenção de sementes isentas ou com baixas concentrações desses microorganismos baseia-se na pureza do material utilizado para o plantio e na adoção de práticas culturais que possam evitar ou reduzir a recontaminação durante o desenvolvimento da cultura (Assis, 1999). Embora as doenças causadas pelos vírus sejam raramente letais, elas reduzem o vigor da planta e o potencial de produção de tubérculos, principalmente os destinados para semente. Nas condições de campo, sua identificação torna-se complicada devido à variabilidade dos sintomas (que são causados por diferentes estirpes de vírus), à resposta da planta com relação a maturidade e à duração da infecção, à cultivar da batata utilizada e à influência dos fatores do ambiente (Hooker, 1981).

Muitas doenças de origem biótica e abiótica são potencialmente importantes para a cultura da batata e podem provocar perdas consideráveis. São conhecidas setenta doenças bióticas e, dentre essas, pelo menos 25 são causadas por vírus e uma por viróide (Figueira, 1999).

Apesar do grande número de vírus que pode infectar a batateira, poucos são os causadores de doenças importantes, tanto no Brasil como em outras partes do mundo. Dentre eles se destacam o PLRV (Potato Leafroll Virus - que causa perdas de até 80%), o PVY (Potato Virus Y), e o PVX (Potato Virus X - que também pode-se tornar importante, principalmente se associado ao vírus Y da batata, causando perdas acima de 50%) (Oliveira e Miranda, 1981).

As medidas de controle para as doenças viróticas são basicamente de caráter preventivo. No caso de viroses de batata, que se propagam vegetativamente e podem perpetuar os vírus de uma geração para outra, via

tubérculos contaminados, estas medidas preventivas se tornam obrigatórias. O mais desejável seria utilizar variedades de batata que fossem tolerantes ou resistentes às viroses. Entretanto, nem sempre isso é possível e, muito freqüentemente, as resistências adquiridas são quebradas no campo, pelo surgimento de novas estirpes mais agressivas (Figueira, 1999).

Em um campo estabelecido com a cultivar Achat, proveniente de semente importada que estava sendo remultiplicada pela terceira vez no campo (C₃), um produtor de batata-consumo do município de Três Corações, MG, observou, em 1994, uma incidência acima de 90% de um sintoma desconhecido, caracterizado pelo enrugamento e diminuição da área foliar da batateira e um desenvolvimento das hastes, que tombavam e ficavam acamadas, conforme seu crescimento. Testes de diagnose por meio da sorologia e inoculação em plantas indicadoras mostraram que se tratava de um isolado necrótico do vírus Y da batata que foi denominado PVY^N - Br, com características bem peculiares, diferentes daquelas observadas em anos anteriores (Figueira et al., 1985; Andrade e Figueira, 1992). A ocorrência dessa nova virose mudou não só a epidemiologia dos vírus que infectam as batateiras no Brasil, mas também a escolha das cultivares de batatas a serem plantadas.

Os vírus invadem os organismos vegetais modificando seu crescimento e desenvolvimento. Como conseqüência dessa infecção, as plantas geralmente apresentam sintomas que são definidos como profundas modificações fisiológicas e bioquímicas sofridas pelas células após a penetração dessas partículas. Entre as principais modificações estão as alterações na fotossíntese, na respiração e no metabolismo, dentre eles, os das proteínas, dos aminoácidos, das substâncias reguladoras de crescimento e dos compostos fenólicos (Vicente, 1979). Além disso, uma única planta pode ser simultaneamente infectada por mais de um vírus, resultando em interações sinérgicas entre si, o que acelera o processo de degenerescência (Mayee e Sarkar, 1982).

Uma planta sadia pode-se tornar doente pela inoculação mecânica com seiva de planta contendo vírus, pela enxertia de brotos (parte aérea) e tubérculos ou por afídeos (Ross, 1986). Após a inoculação, as partículas virais são transportadas via sistema condutivo e plasmodesmatas nas células de todos os órgãos. Os vírus replicam-se nas células e a infecção toma-se sistêmica. As sementes botânicas maduras e os meristemas apicais permanecem livres dos vírus. Por cultivos axênicos das extremidades (cultura de meristemas), cultivares totalmente infectadas podem ser liberadas dos vírus.

Como já comentado, o PVY é uma das principais viroses da batata e adquire importância ainda maior por ser transmitido de forma não circulativa, disseminando-se rapidamente na lavoura (De Bokx e Huttinga, 1981).

O PVY pertence ao gênero *Potyvirus*, possui uma partícula alongada, flexível, com 730 nm de comprimento por 11 nm de diâmetro e tem como ácido nucléico o RNA de fita simples do tipo infeccioso (De Bokx e Huttinga, 1981). Existem três grupos de estirpes do PVY que podem ocorrer na natureza: a estirpe comum ou PVY^O, que ocorre em todo mundo; a estirpe necrótica ou PVY^N e a estirpe PVY^C, que têm uma distribuição geográfica um pouco mais restrita, mas que também está presente nos principais países produtores de batata do mundo (De Bokx e Huttinga, 1981; Andrade e Figueira, 1992 e Brunt et al., 1996).

Os sintomas provocados por essas estirpes nas diferentes cultivares de batata caracterizam-se, principalmente, pelo aparecimento de mosaico, com diferentes intensidades, nas folhas das plantas infectadas. Estes podem variar desde o aparecimento de mosaico severo, com deformação e diminuição da área foliar, enrugamento e enrolamento da ponta do folíolo para baixo (em função do crescimento diferenciado dos tecidos da nervura central e do limbo foliar), até um leve mosqueado nas folhas. De modo geral, existe uma tendência de a estirpe PVY^O causar sintomas mais severos em plantas de batata do que a PVY^N.

Entretanto, essa não é uma regra geral, pois, dependendo da temperatura, o mesmo isolado pode causar sintomas diferentes.

2.3 Controle genético da resistência às viroses

Várias formas de resistência às viroses têm sido descritas para a batata como a resistência à infecção, resistências associadas à hipersensibilidade, resistência extrema e intolerância.

A resistência à infecção ou resistência de campo é controlada por genes menores (poligenes) e exige que ambos os pais possuam pelo menos um nível intermediário de resistência. Um genitor com resistência pronunciadamente baixa reduz consideravelmente o nível de resistência da progênie (Ross, 1986). Com este tipo de resistência, as plantas não se tornam facilmente infectadas em condições de cultivo (Salazar, 1982).

As resistências associadas à hipersensibilidade e resistência extrema (imunidade) podem ser diferenciadas pela enxertia em uma planta infectada por vírus. O primeiro tipo mostra necrose na parte aérea do enxerto e é controlado pelos genes Na, Ns, Ny e Nl (correspondentes aos vírus A, S e Y da batata e ao PLRV, respectivamente). Ocorre a morte rápida da célula hospedeira infectada, restringindo a disseminação da partícula viral na planta, conferindo-lhe proteção absoluta (Hooker, 1981). No caso de resistência extrema, ou não aparecem sintomas nas plantas, devido ao alelos Rx e Ry (Vírus X e Y), ou ocorre necrose de pontos nas folhas superiores. Em enxertos mais velhos, observa-se necrose nas margens das folhas inferiores em plantas com o alelo Ry (Ross, 1986). Quando a planta é imune, o vírus não consegue se replicar na célula da planta nem mesmo após a enxertia de uma planta imune em uma infectada. Não há alteração da proteção imune por ação de fatores climáticos, como se observa nos outros tipos de resistência (Salazar, 1982).

Outra forma de resistência é a hipersensibilidade sistêmica ou intolerância, que é caracterizada por apresentar necrose em grande parte das plantas quando infectadas no campo. Este tipo em associação com resistência a infecção é importante no caso de PLRV e do gene NI (Ross, 1986).

A espécie *Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* é considerada um autotetraplóide, com herança tetrassômica e padrões de segregação bem discrepantes da herança dissômica, apresentado pelas espécies diplóides. Na herança tetrassômica, cada gene está representado em cada uma das quatro cópias de um dado cromossoma, o que possibilita um maior número de genótipos: AAAA-quadriplex, AAAa-triplex, AAaa-duplex, Aaaa-simplex e aaaa-nuliplex. Essas combinações genéticas têm implicações diretas nos métodos de melhoramento da batata (Pinto, 1999), pois, genitores com diferentes constituições genéticas podem gerar diversas proporções de descendentes com resistência ou suscetibilidade às viroses.

As reações de hipersensibilidade e imunidade são controladas por genes maiores que atuam mesmo na condição simplex. Isto ocorre com os genes que conferem resistência ao PVX e ao PVY. Porém, em cruzamentos de cultivares simplex com cultivares suscetíveis (nuliplex) produzem-se apenas 50% de descendentes imunes ao vírus Y. A maior parte dos genes maiores atua de forma não específica para as raças e, até o momento, não se observou quebra de resistência pelos diferentes vírus (Ross, 1986).

A resistência ao PLRV tem controle poligênico, o que dificulta muito sua incorporação nas cultivares. Além disso, clones resistentes ao vírus do enrolamento podem tornar-se suscetíveis se forem previamente infectados com PVY ou PVX. Daí, a importância de se concentrar inicialmente o melhoramento visando à resistência a viroses em batata na obtenção de resistência ao PVX e PVY (Brandolini, Caligari e Mendonza, 1992).

O aumento da frequência de alelos de resistência permite, primeiramente, identificar genitores simplex imunes e, posteriormente, genitores duplex. O inter cruzamento de clones duplex permitirá a obtenção de genótipos imunes triplex e quadriplex. Utilizando-se clones resistentes como genitores em programas de melhoramento, permite-se a produção de clones com imunidade, simplificando o processo seletivo para materiais resistentes ao PLRV.

Finalmente, vale salientar que a obtenção de clones adaptados às condições de cultivo e resistentes às viroses deve diminuir o impacto dessas enfermidades na cultura da batata (Mihovilovich, 1996).

2.4 Resistência ao PVY

A resistência ao PVY é controlada pelos genes da série Ry (controle monogênico), originários das espécies *Solanum tuberosum* subespécies *andigena* (Ry_{adg}), *S. hougacii* (Ry_{hou}), *S. stoloniferum* (Ry_{sto}), *S. chacoense* (Ry_{chr}) e *S. phureja* (Ry_{pha}) (Muñoz, Plainsted e Thurston, 1975). Esse gene controla um tipo de resistência extrema (também denominada imunidade), que proporciona uma resistência completa e que confere imunidade já na forma simplex (Ry ry ry ry) (Swiezynski, 1994). A resistência ao PVY é altamente herdável e considerada durável.

Um problema grave para identificar plantas infectadas por PVY tem sido a latência, isto é, a dificuldade em reconhecer a infecção em algumas cultivares, quando as estirpes fracas PVY⁰ e PVY^c tornam-se predominantes. Por outro lado, o vírus provoca sintomas fortes no fumo (Mendoza, 1994).

Outro problema que ocorre é a confiabilidade do teste utilizado para verificação da reação das plantas aos vírus, o método sorológico DAS-ELISA. O grande inconveniente é que, muitas vezes, ocorre escape do vírus devido a uma inoculação mal feita ou até mesmo devido a fatores climáticos, não sendo

possível detectar a sua presença, podendo-se, portanto, chegar a conclusões incorretas sobre a verdadeira reação das plantas.

2.5 Emprego de marcadores moleculares no melhoramento de plantas

Os marcadores moleculares podem ser utilizados para marcar alelos cuja expressão seja de difícil identificação, a fim de que se possa selecionar esse alelo indiretamente. Os marcadores também podem ser utilizados para amostrar o genoma de uma espécie qualquer, visando determinar a diversidade genética de um grupo de indivíduos, bem como o grau de parentesco relativo entre eles.

O ideal é que o marcador esteja intimamente ligado ao alelo que se deseja selecionar para que não ocorra recombinação e que seja herdável (Ramalho, Santos e Pinto, 2001). Os marcadores moleculares mais utilizados são os marcadores de proteínas, isoenzimas que são produtos diretos dos alelos ou os marcadores de DNA, que são os próprios genes ou seus vizinhos, isto é, as seqüências de DNA situadas próximas ao gene que se quer marcar.

Os marcadores moleculares começaram a ser utilizados na década de 1980 e já se utiliza mais de uma dezena de procedimentos alternativos (Ramalho, Santos e Pinto, 2001). Os marcadores de DNA têm sido amplamente explorados por apresentarem várias características desejáveis como herança mendeliana simples, ausência de efeitos epistáticos e poderem ser utilizados em qualquer fase de desenvolvimento da planta. Isso abre a possibilidade de acelerar o processo de recombinação e seleção dos indivíduos desejados, o que, conseqüentemente, reduziria o tempo necessário para completar uma geração de melhoramento, aumentando a eficiência do programa. Além disso, podem ser obtidos em grande número e, por utilizarem o próprio DNA (genótipo) e não seus produtos (fenótipo), apresentam resultados experimentais mais consistentes

(Ferreira e Grattapaglia, 1996). Os marcadores de DNA têm se mostrado altamente eficientes para identificar variabilidade do DNA em plantas.

Uma técnica utilizada é o PCR que surgiu na década de 1980 e emprega o DNA como marcador (Mullis e Faloona, 1987; Saiki et al., 1988). O fato da técnica do PCR fornecer facilidade, rapidez, versatilidade e sensibilidade, a torna particularmente poderosa para estudos envolvendo indivíduos de qualquer organismo vivo.

No PCR ocorre a síntese diferencial de certos segmentos do DNA genômico *in vitro*. Isso é possível porque a DNA polimerase, enzima que sintetiza o DNA, só funciona quando um pequeno segmento da molécula a ser sintetizada já existe. Este segmento é chamado de primer (iniciador). Assim, quando se conhece a seqüência de bases de um certo alelo, pode-se utilizar as seqüências complementares das duas extremidades 3' deste alelo, geralmente com 20 a 25 nucleotídeos, como iniciadores e promover a sua síntese, artificialmente por vários ciclos (n) sucessivos, gerando um grande número (2ⁿ) de moléculas idênticas (Ferreira e Grattapaglia, 1996).

No caso de PCR, temos de considerar que nem todo DNA de um organismo é replicado e, sim, apenas as seqüência cujas extremidades foram identificadas pelo par de iniciadores. Portanto, nas moléculas de DNA de um indivíduo, que são geralmente muito longas, apenas um ou poucos segmentos da seqüência total serão replicados.

Utilizando a eletroforese, todos os fragmentos de DNA de diferentes tamanhos serão separados, tanto aquele que foi amplificado quanto os que não foram. Como a concentração de DNA utilizada inicialmente em cada reação de PCR é muito baixa, somente o alelo que foi amplificado na reação é que pode ser visualizado como uma banda no gel, após corado com brometo de etídio (corante de DNA) e iluminado por luz ultravioleta.

A técnica PCR apresenta, porém, uma desvantagem que é o fato de requerer o seqüenciamento de um dado gene para se obter os primers, aumentando, assim, seu custo.

Kasai et al. (2000), por meio do procedimento SCAR (regiões amplificadas de seqüências caracterizadas), desenvolveram um par de primers que amplifica um fragmento de DNA (321 pb) que está intimamente ligado ao alelo Ry_{adg} o qual confere resistência extrema ao PVY. Estes marcadores foram testados utilizando 103 linhas melhoradas de batata e cultivares com grande diversidade genética. O conjunto de primers designado de RYSC3, descritos pelo autor, mostrou 100% de eficiência na detecção do alelo Ry_{adg} , ou seja, em clones previamente testados e classificados como resistentes, quando utilizado esse marcador, foram identificadas as bandas, já que clones que possuem o alelo de resistência apresentam a banda, quando faz-se a análise molecular. Clones classificados anteriormente como suscetíveis não apresentaram a banda. Assim, a seleção assistida por marcadores para esse gene em programas de melhoramento de batata é um poderoso instrumento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foram avaliados 65 clones de batata (denominados OAS), previamente selecionados para imunidade aos vírus X e Y, obtidos por Silva (1999). Também foram avaliados outros 180 clones (denominados JUG) para reação ao vírus Y. Os clones JUG foram obtidos por meio de cruzamentos biparentais entre materiais também imunes ao vírus X e Y, na condição simplex, originados no Centro Internacional de la Papa (CIP), Peru. A genealogia dos clones XY, empregados como genitores para a obtenção das oito famílias OAS, encontra-se na Tabela 1 e, para as famílias JUG, na Tabela 2. Esses genitores, além de genes para imunidade aos vírus X e Y, apresentam também uma série de outras características de interesse, tais como precocidade, tolerância ao calor, nematóides e resistência à pinta preta (*Alternaria solani*) (CIP, 1989)

3.2 Experimentos

Foram conduzidos dois ensaios com os clones OAS para avaliar o desempenho agronômico em campo. Foram feitos também dois ensaios para avaliar a reação ao PVY pela enxertia destes clones em tomateiro infectado. Os clones OAS foram também cruzados com a cultivar suscetível Chiquita (ry ry ry ry) para a identificação das suas constituições genéticas em relação ao gene Ry. Os clones originados deste cruzamento teste foram avaliados para a reação ao vírus Y por meio do teste DAS-ELISA em plantas inoculadas mecanicamente com o PVY e também pelo método de marcadores SCAR, segundo Kasai et al. (2000).

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

Família	Número de clones avaliados		Clones genitores	Genealogia dos clones genitores
	Exp. Silvianópolis 1999	Exp. São João da Mata, 2000		
OAS 1	12	13	XY9 – XY13	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x 575049)
OAS 2	14	13	XY2 – XY4	(Bzura x LT-7) x (LT-8 x C83.119)
OAS 3	11	8	XY9 – XY10	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x I-1039)
OAS 4	8	7	XY3 – XY9	(LT-8 x 575049) x (Atlantic x Y84.007)
OAS 5	1	1	XY2 – XY13	(Bzura x LT-7) x (LT-8 x 575049)
OAS 6	12	4	XY11 – XY10	(Y84.007 x Atlantic) x (LT-8 x I-1039)
OAS 7	2	1	XY2 – XY3	(Bzura x LT-7) x (LT-8 x 575049)
OAS 8	1	0	XY11 – XY3	(Y84.007 x Atlantic) x (LT-8 x 575049)

16

TABELA 2. Genealogia dos clones JUG testados para imunidade ao vírus Y em São João da Mata, 2001.

Família	Núm. de clones avaliados	Clones genitores	Genealogia dos clones genitores
JUG 1	30	XY7 – XY9	(LT-8 x C83.119) x (Atlantic x Y84.007)
JUG 2	26	XY9 – XY13	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x 575.049)
JUG 3	27	XY17 – XY9	(LT8xAVRDC128719) x (Atlantic x Y84.007)
JUG 4	29	XY5 – XY9	(LT-8 x 575.049) x (Atlantic x Y84.007)
JUG 5	29	XY9 – XY19	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x C83.551)
JUG 6	28	XY9 – XY4	(Atlantic x Y84.007) x (LT-8 x C83.119)

Os clones JUG foram avaliados para a reação ao PVY, também por inoculação mecânica e diagnosticados pelo método DAS-ELISA. Estes clones também foram avaliados em condições de campo.

Os ensaios para avaliar a reação ao vírus Y e a constituição genética foram realizados na casa de vegetação no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Os testes sorológicos para reação das plantas ao vírus Y foram realizados no Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais, Departamento de Fitopatologia e os testes moleculares, no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Biologia, ambos localizados na Universidade Federal de Lavras.

3.3 Avaliação dos clones em condições de campo

3.3.1 Clones OAS

Os ensaios de campo para avaliar os clones OAS foram conduzidos em propriedades particulares localizadas em Silvianópolis e São João da Mata, na região sul do estado de Minas Gerais. O delineamento empregado em Silvianópolis (safra de inverno - março a junho de 1999), foi o látice quadrado 8 x 8. No experimento de São João da Mata (safra das águas – novembro de 1999 a fevereiro de 2000), foi empregado o látice triplo 7 x 7.

Em ambos os ensaios, a parcela experimental foi constituída de três plantas espaçadas de 0,35 m e entre linhas de 0,75 m. Como testemunhas foram empregadas as cultivares Achat e Baraka (em Silvianópolis) e Monalisa e Baraka (em São João da Mata). No plantio, foi feita uma adubação com a formulação 4-14-8 (N, P₂O₅ e K₂O) na dosagem de 3,0 t/ha e inseticida de solo (aldicarb) na dosagem de 10 kg/ha. Por volta dos 40 dias após o plantio,

realizou-se a adubação nitrogenada em cobertura com 300 kg/ha de sulfato de amônio e 160 kg/ha de cloreto de potássio, seguida da operação de amontoa. Os tratos fitossanitários foram realizados durante a condução dos experimentos, visando mantê-los sem a competição de plantas invasoras e danos de pragas e doenças.

Foram avaliados os seguintes caracteres:

- a) produção por planta (em g);
- b) porcentagem de tubérculos graúdos – diâmetro transversal acima de 45 mm;
- c) peso médio de tubérculos graúdos;
- d) peso específico dos tubérculos, obtido pela fórmula: $D = \text{peso ar} / (\text{peso ar} - \text{peso água})$. Os pesos no ar e na água foram determinados em balança hidrostática.

Para a classificação dos clones foi utilizado o índice com base na soma de postos ou ranks (Mulamba e Mock, 1978), considerando-se os caracteres produção por planta, porcentagem de tubérculos graúdos e peso específico dos tubérculos. Este índice consiste em classificar os clones em relação a cada um dos caracteres, em ordem favorável ao melhoramento. Uma vez classificados, são somadas as ordens de cada material genético referente a cada caráter, resultando em uma medida adicional tomada como índice de seleção (Cruz e Regazzi, 1994).

3.3.2 Clones JUG

O ensaio de campo para avaliar os clones JUG foi conduzido também no município de São João da Mata (safra das águas – outubro de 2000 a janeiro de 2001), empregando-se o delineamento látice simples 13 x 13. O tamanho das parcelas, bem como todos os tratos culturais utilizados e os caracteres avaliados foram os mesmos empregados nos ensaios dos clones OAS.

3.4 Avaliação da reação dos clones ao PVY por meio da enxertia em tomateiro infectado

As sementes de tomate foram plantadas em bandejas e na mesma época foram plantados os clones de batatas em vasos plásticos. Após 18 dias as mudas de tomateiro foram transplantadas para vasos plásticos e feito o tutoramento.

O inóculo foi preparado após a maceração de folhas novas infectadas com o vírus Y (estirpe PVY^N-Br) proveniente da coleção do Departamento de Fitopatologia da UFLA e estabelecida na planta indicadora *Nicotina tabacum*, cultivar TNN. Esse macerado de folhas infectadas foi misturado com solução tampão de fosfato de sódio monobásico 0,01 M e sódio fosfato dibásico 0,01 M, a pH 7,0, previamente preparada.

A inoculação foi realizada cinco dias após o transplântio. Antes da inoculação, foi pulverizado carborundum 400 mesh sobre as folhas de tomateiro a fim de promover pequenos danos mecânicos e permitir a entrada das partículas virais. As inoculações foram feitas manualmente planta a planta, utilizando algodão umedecido com o inóculo. A enxertia das plantas de batata sobre o tomateiro foi realizada 21 dias após a inoculação.

O enxerto foi efetuado na forma de garfagem, utilizando ramos de tomates com o mesmo diâmetro de ramos de batata, amarrando-se com fitilho plástico. De cada clone foram feitas duas enxertias. Após o pegamento (em torno de 15 a 20 dias), avaliou-se a reação dos clones e dos tomateiros ao PVY por meio do teste sorológico DAS-ELISA.

3.5 Cruzamento teste

Foram obtidas sementes botânicas do cruzamento de 15 clones OAS com a cultivar Chiquita (nulioplex). A descendência de cada clone foi semeada em bandejas de isopor, contendo substrato organomineral. Aproximadamente 21 dias após o plantio, no estágio de quatro folhas verdadeiras, as plântulas foram transplantadas para sacos de polietileno preto (10 cm x 15 cm) contendo o mesmo substrato. Após 21 dias, 20 seedlings de cada cruzamento foram inoculados com o PVY.

As reações das plantas ao vírus Y foram avaliadas pelo método DAS-ELISA. A descendência do cruzamento teste foi avaliada também pelo marcador RYSC3, de acordo com Kasai et al. (2000).

O conjunto de primers utilizado, que é designado de RYSC3, apresenta a seguinte seqüência: 5' A T A C A C T C A T C T A A A T T T G A T G G 3' (3.3.3 s) e 5' A G G A T A T A C G G C A T C A T T T T T C C G A 3' (ADG23R).

3.6 Reação dos clones JUG ao PVY

Os 180 clones foram plantados em vasos plásticos contendo substrato organomineral. A inoculação com o vírus Y foi efetuada 21 dias após o plantio. O inóculo foi preparado da mesma forma descrita anteriormente.

A reação das plantas ao vírus Y foi avaliada também pelo método sorológico DAS-ELISA.

3.7 Análises estatísticas

3.7.1 Ensaios de campo

Para os ensaios dos clones em condição de campo foi adotado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + r_j + t_i + b_{k(j)} + e_{ijk} \text{ em que:}$$

Y_{ijk} : valor observado na parcela que recebeu o tratamento i no bloco k dentro da repetição j ;

μ : média geral;

r_j : efeito da repetição j , $j = 1, 2$ (em Silvianópolis e São João da Mata, 2001); e $j = 1, 2, 3$ (em São João da Mata, 2000);

t_i : efeito do tratamento i , $i = 1, 2, \dots, 64$ (em Silvianópolis); $i = 1, 2, \dots, 49$ (São João da Mata, 2000); e $i = 1, 2, \dots, 169$ (São João da Mata, 2001);

$b_{k(j)}$: efeito do bloco k dentro da repetição j , $k = 1, 2, \dots, 8$ (em Silvianópolis); $k = 1, 2, \dots, 7$ (em São João da Mata, 2000); e $k = 1, 2, \dots, 13$ (São João da Mata, 2001);

e_{ijk} : erro experimental, $e_{ij} \cap \text{NID}(0, \sigma^2)$.

Foi realizado o teste de comparação das médias dos tratamentos com as testemunhas, denominado de Dunnett, pelo programa SAS (1990), para todas as características avaliadas. Os clones que superaram as duas testemunhas foram selecionados. A ordem de classificação foi feita pelo índice de soma de postos de Mulamba e Mock (1978).



3.7.2 Cruzamento teste

Para testar a constituição genética dos genitores, aplicou-se o teste χ^2 , empregando-se as seguintes hipóteses:

H_0 : segregação de 5 resistentes: 1 suscetível (constituição duplex);

H_0 : segregação de 1 resistente: 1 suscetível (constituição simplex).

3.7.3 Reação dos clones JUG ao PVY

A segregação esperada em cruzamentos entre clones simplex é de três plantas imunes para uma planta suscetível. Então foi aplicado o teste χ^2 , empregando-se as seguintes hipóteses:

H_0 : segregação de 3 imunes : 1 suscetível;

H_1 : segregação diferente de 3 imunes : 1 suscetível.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Avaliação da reação dos clones ao PVY por meio da enxertia em tomateiro infectado

Foram inoculadas 78 plantas de tomateiro com o PVY em duas ocasiões. No entanto, apenas oito plantas (10,3%) apresentaram reação positiva ao vírus pelo teste DAS-ELISA. A baixa taxa de infecção demonstrada pelo tomateiro pode ser explicada pela temperatura ou pelo estágio de crescimento em que a planta foi infectada (Bradshaw e Mackay, 1994). A multiplicação da estirpe necrótica de PVY é favorecida por temperaturas entre 22°C e 26°C, nos primeiros estágios de crescimento e entre 14°C e 26°C, nos estágios posteriores (De Bokx e Piron, 1977). Os tomateiros foram plantados em fevereiro, quando a temperatura, geralmente para a região de Lavras, é superior a 25°C e foram plantados em estufas (nas quais a tendência é haver temperaturas ainda maiores). Isto poderia explicar porque não se teve uma alta infecção das plantas inoculadas.

As enxertias realizadas nos tomateiros infectados demonstraram que os clones de batata OAS 3.55, OAS 1.15 e OAS 1.21 devem possuir o alelo Ry, pois as plantas de batata não apresentaram sintomas da virose e tiveram reação negativa no teste DAS-ELISA. Por outro lado, os demais clones selecionados como resistentes ao PVY por Silva (1999) não puderam ter sua imunidade comprovada, em função da ausência do PVY no tomateiro. Estes clones deverão, necessariamente, passar por novas avaliações.

Embora o teste de imunidade ao PVY realizado pela enxertia da batata em tomateiro não tenha possibilitado a obtenção de resultados conclusivos, os clones OAS 2.89, OAS 2.88, OAS 3.55 e OAS 4.40, por exemplo, vêm apresentando reações negativas pelo DAS-ELISA em três inoculações

consecutivas, sendo duas realizadas por Silva (1999) e outra realizada no presente trabalho. Estes resultados aumentam a probabilidade de que estes clones sejam realmente imunes ao PVY. Outros clones identificados anteriormente (Silva, 1999) como resistentes demonstraram a presença de vírus e devem ser descartados. Entre eles citam-se OAS 1.28, OAS 1.91, OAS 1.41, e OAS 3.34.

4.2 Cruzamento teste

Na Tabela 3 estão as reações das plantas oriundas dos cruzamentos teste ao PVY realizados com 15 clones OAS.

Os resultados indicam que os clones OAS 1.12, OAS 6.75 e OAS 3.48 devem apresentar constituição duplex para o alelo Ry_{adg} , enquanto que os clones OAS 1.91 e OAS 3.45 devem ser simplex para o referido alelo. Entretanto, estes resultados devem ser vistos com ressalvas, pois a inoculação com o PVY pode ter sido ineficaz, resultando em maior proporção de plantas com reação negativa e levando à interpretação equivocada da constituição duplex. Por outro lado, descarta-se a constituição duplex para os clones OAS 1.91 e OAS 3.45, em função do grande número de plantas com reação positiva ao PVY.

TABELA 3. Reação de plantas do cruzamento teste (Clones x cv. Chiquita) ao PVY, diagnosticadas pela técnica DAS-ELISA, UFLA, 2000.

OAS	Plantas inoculadas	Reação negativa ao PVY	Reação positiva ao PVY	χ^2 5:1 ^a	P(χ^2 5:1) DUPLEX	χ^2 1:1 ^b	P(χ^2 1:1) SIMPLEX
1.56	20	20	0	4,00	0,05-0,01	20,0	< 0,001
6.34	20	20	0	4,00	0,05-0,01	20,0	< 0,001
1.102	20	20	0	4,00	0,05-0,01	20,0	< 0,001
1.66	20	20	0	4,00	0,05-0,01	20,0	< 0,001
3.27	20	19	1	1,96	0,20-0,10	16,2	< 0,001
2.74	20	18	2	0,64	0,50-0,30	12,8	< 0,001
1.12	20	17	3	0,04	0,90-0,80	9,80	0,01-0,001
6.75	20	17	3	0,04	0,90-0,80	9,80	0,01-0,001
3.48	20	17	3	0,04	0,90-0,80	9,80	0,01-0,001
1.28	20	16	4	0,16	0,70-0,50	7,20	0,01-0,001
1.41	20	16	4	0,16	0,70-0,50	7,20	0,01-0,001
3.34	20	16	4	0,16	0,70-0,50	7,20	0,01-0,001
2.22	20	14	6	2,57	0,20-0,10	3,20	0,10-0,05
1.91	20	12	8	7,86	0,01-0,001	0,80	0,50-0,30
3.45	20	11	9	11,58	< 0,001	0,20	0,70-0,50

a) Constituição duplex (RyRyryry)

b) Constituição simplex (Ryryryry)

A avaliação das plantas do cruzamento teste com o marcador RYSC3 (Kasai et al., 2000) permite a identificação do alelo Ry_{adg}, podendo-se fazer inferências sobre a constituição genética do clone parental. Na Figura 1, são apresentadas três cultivares com reação ao PVY conhecida e o DNA marcador do tamanho da banda (310 pb), denominado de Ø_x-174-RF DNA Hae III Digest (*). As cultivares Pentland Dell (1) e Desirée (2) são suscetíveis ao PVY e não apresentaram a banda em nenhuma das três repetições e o clone 7 XY-1 (3) é resistente ao PVY e apresenta a referida banda nas três repetições, como verificado por Kasai et al. (2000).

Dos 15 clones OAS avaliados, apenas os descendentes do cruzamento teste com o clone OAS 3.48 desenvolveram a banda específica para o par de primer utilizado. Neste caso, observou-se que, das vinte plantas testadas, oito

apresentaram a referida banda (presença do alelo Ry) e 12 não a apresentaram (ausência do alelo Ry) (Figura 2). Dessa forma, pode-se concluir que o clone OAS 3.48 é simplex, produzindo na descendência do cruzamento teste a proporção de 1 imune: 1 suscetível ($\chi^2 = 0,80 - 0,30 < P < 0,50$). Este resultado mostra, mais uma vez, que a inoculação com o PVY não deve ter sido eficaz, pois o clone OAS 3.48 havia sido identificado como sendo duplex, quando avaliado pelo método DAS-ELISA. Para os demais clones não houve formação da banda específica, o que pode ter ocorrido devido à presença de sais estranhos juntamente com o primer, segundo informações do próprio fabricante.

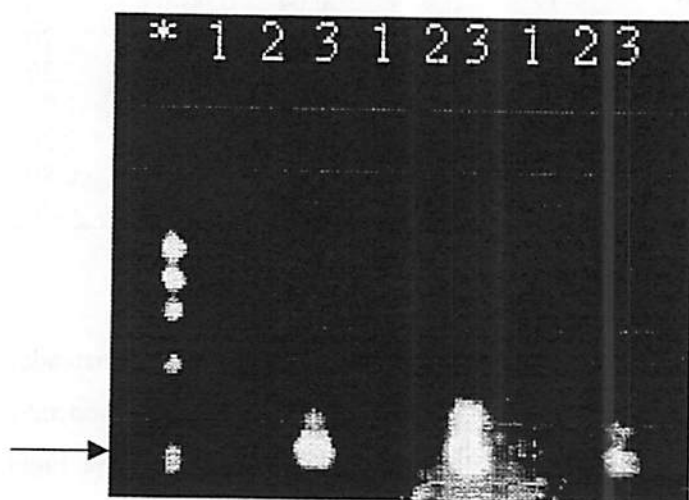


FIGURA 1. Presença ou ausência de bandas identificadas pelo par de primer designado RYSC3 por meio de PCR das cultivares Pentland Dell (1) suscetível (sem banda), Desirée (2) suscetível (sem banda) e 7 XY-1 (3) resistente (com banda) e do marcador de tamanho de banda (*) 310 pb, UFLA, 2000.



FIGURA 2. Presença ou ausência de bandas pelo par de primer designado RYSC3 por meio de PCR, da descendência do cruzamento teste da família OAS 3.48, UFLA, 2000.

4.3 Reação dos clones JUG ao PVY

Na Tabela 4 encontra-se o número de clones das famílias JUG com reação negativa e positiva ao PVY pela técnica DAS-ELISA. Em média, 80,5 % dos clones apresentaram reação negativa.

TABELA 4. Reação de clones de batata diagnosticados pela técnica DAS-ELISA, UFLA, 2000.

Famílias	Nº de clones com reação negativa	Nº de clones com reação positiva	Proporção esperada	χ^2	P
JUG 1	27	3	3:1	3,60	0,10-0,05
JUG 2	24	6	3:1	0,40	0,70-0,50
JUG 3	21	9	3:1	0,40	0,70-0,50
JUG 4	24	6	3:1	0,40	0,70-0,50
JUG 5	24	6	3:1	0,40	0,70-0,50
JUG 6	25	5	3:1	1,10	0,30-0,20
Total	145	35	3:1	2,96	

O teste χ^2 para a proporção 3 imunes : 1 suscetível, esperada em cruzamentos entre clones simplex, foi não significativa para nenhuma das famílias.

A maior discrepância entre as frequências observadas e esperadas ocorreu para a família JUG 1. Considerando-se todos os 180 clones avaliados, observou-se um $\chi^2 = 2,96$, também não significativo a 5% de probabilidade.

4.4 Caracteres agronômicos em condições de campo

4.4.1 Clones OAS

A Tabela 5 mostra o resumo das análises de variância para os caracteres avaliados dos clones OAS em Silvianópolis, MG.

TABELA 5. Resumo das análises de variância para produção de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos e densidade de tubérculos para 64 clones avaliados em Silvianópolis, MG, 1999.

FV	GL	QM		
		Produção	%Tub. Graúdo	Densidade (x 10 ⁻⁴)
Repetições	1	50681,320	173,306	-
Trat. ajustados	63	309800,620**	794,013**	2,2222**
Bl/repetições	14	280166,419	125,566	0,7143
Erro efetivo	49	149444,210	154,594	0,8163
CV (%)		49,16	24,42	0,85

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Observam-se diferenças significativas entre os 64 clones para todos os caracteres, evidenciando grande variabilidade genética. Os coeficientes de variação variaram de 0,85% para a densidade a 49,16% para a produção de tubérculos por planta. O valor de 49,16% é considerado alto, inclusive quando comparado com os padrões normalmente constatados para a cultura da batata (Vermmer, 1990).

A Tabela 6 mostra as médias para os quinze melhores clones com resistência ao vírus Y (PVY) avaliados nos três testes já citados e classificados de acordo com o índice de soma de postos de Mulamba e Mock (1978) e também pelo teste de Dunnett, considerando a produção de tubérculos por planta, a porcentagem de tubérculos graúdos e a densidade de tubérculos.

TABELA 6. Médias de produção de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos e densidade de tubérculos para os 10 melhores clones e das testemunhas com resistência ao PVY, avaliados em Sivianópolis, MG, 1999.

Clones OAS	Produção/planta	% graúdo	Densidade
6.45	1392,06	78,3	1,075
2.42	1947,45	64,8	1,075
6.67	953,26	73,4	1,080
3.55	1500,50	76,3	1,070
1.15	1352,62	18,3	1,084
1.66	1176,75	76,7	1,070
2.89	1537,09	46,9	1,070
3.46	962,95	70,7	1,065
2.111	1254,14	67,9	1,065
2.88	776,69	56,5	1,085
4.40	1001,48	69,1	1,060
1.121	603,07	58,3	1,070
3.48	913,89	53,5	1,065
1.69	597,31	12,9	1,075
3.27	733,71	61,4	1,060
Achat	609,66	11,4	1,050
Baraka	917,42	46,1	1,060
Média geral	786,41	49,8	1,069

Os clones OAS 6.45, OAS 6.67, OAS 3.55, OAS 2.42 e OAS 1.66 destacaram-se como materiais mais produtivos e com razoável densidade de tubérculo, indicando a viabilidade de se selecionar clones promissores. Esses clones superaram as testemunhas (Achat e Baraka) praticamente em todos os caracteres, principalmente para a densidade de tubérculos. Já o clone OAS 1.15, embora tenha sido produtivo e com alta densidade de tubérculos, apresentou uma baixa porcentagem de tubérculos graúdos, embora não pior que a da cultivar Achat. O clone OAS 2.111 mostrou-se produtivo e com razoável porcentagem de tubérculos graúdos, porém, com densidade de tubérculos abaixo da média, embora não inferior às testemunhas. O clone OAS 1.69, embora

apresente média de produção inferior a testemunha Baraka, se sobressaiu devido a alta densidade apresentada. A densidade de tubérculos é altamente correlacionada com o seu teor de amido e matéria seca, e influencia a absorção de óleo, ou seja, quanto maior a densidade, maior a porcentagem de matéria seca e menor é a absorção de óleo. Influencia também a eficiência do processamento e a produção de batata consumo na forma de “chips”. Para a indústria de processamento de batata, recomenda-se uma densidade de tubérculos acima de 1,080 (Gould, 1988). No Brasil, para processamento na forma de “chips”, Melo (1999) recomenda a utilização de tubérculos com teor de matéria seca mínimo de 20,5%, o que equivale a uma densidade relativa de tubérculos de 1,075. Quanto a porcentagem de tubérculos graúdos, alguns clones apresentaram valores acima de 70%. Este caráter é de grande importância, uma vez que, para a comercialização, são valorizados os tubérculos com diâmetro transversal acima de 45 mm.

A Tabela 7 mostra o resumo das análises de variância para os caracteres avaliados dos clones OAS em São João da Mata, MG.

TABELA 7. Resumo das análises de variância para produção de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos e densidade de tubérculos para 49 clones avaliados em São João da Mata, MG, 2000.

FV	GL	QM		
		Produção	%Tub. graúdo	Densidade (x 10 ⁴)
Repetições	2	4102,286	580,933	-
Trat. Ajustados	48	5257989,024 ^{NS}	21052,318 ^{NS}	4,131 ^{NS}
BI/Repetições	18	2093143,690	5296,993	4,319
Erro Efetivo	78	9165492,566	26975,332	4,500
CV (%)		37,37	31,87	1,96

Não foi detectada diferença significativa entre os clones para todos os caracteres, embora o coeficiente de variação para produção tenha sido menor que o do experimento de Silvianópolis.

Na Tabela 8 estão as médias para os quinze melhores clones com resistência ao vírus Y (PVY), avaliados nos três testes realizados e classificados também de acordo com o índice de soma de postos de Mulamba e Mock (1978).

TABELA 8. Médias de produção de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos e densidade de tubérculos para os 15 melhores clones com resistência ao PVY e das testemunhas, avaliados em São João da Mata, 2000.

Nome	Produção/Planta	% graúdo	Densidade
OAS 2.88	1200,00	76,1	1,089
OAS 2.89	1416,67	75,6	1,080
OAS 1.21	1022,22	66,9	1,082
OAS 6.19	833,33	62,2	1,090
OAS 1.15	941,67	65,3	1,084
OAS 2.111	1126,39	63,7	1,078
OAS 2.116	833,33	61,8	1,085
OAS 4.24	1013,89	72,7	1,076
OAS 4.25	886,11	58,2	1,082
OAS 3.55	886,11	66,7	1,077
OAS 1.121	983,33	66,7	1,074
OAS 1.66	1075,00	69,7	1,069
OAS 5.12	1205,56	67,5	1,061
OAS 2.74	877,78	57,1	1,079
OAS 3.27	972,22	65,4	1,071
Amplitude de variação	1454,17 569,44	77,60 23,82	1,090 1,045
Monalisa	777,78	50,8	1,078
Baraka	816,67	55,1	1,072
Média geral	916,35	57,5	1,077

Embora a análise de variância não tenha detectado diferença significativa para nenhum caráter, observou-se, por exemplo, uma diferença de até 600 g/planta entre alguns clones.

A Tabela 9 mostra a média dos vinte melhores clones que vêm apresentando, ao longo de três avaliações, reações negativas ao vírus Y e ótimo desempenho agrônômico. Os resultados mostram que os clones OAS 2.88, OAS 2.89, OAS 2.111 e OAS 3.55 destacaram-se nos três experimentos realizados (dois no presente trabalho e um por Silva, 1999) e apresentam também reação negativa ao PVY. Estes clones apresentam alta porcentagem de tubérculos graúdos, produção de tubérculos acima de 950 g por planta e alta densidade (o equivalente a teor de matéria seca superior a 19%), indicando que são realmente promissores para a seleção.

TABELA 9. Média dos melhores clones avaliados em três experimentos e com reação negativa ao PVY.

Clones OAS	Produção média	% média de graúdos	Densidade
4.40	806,97	82,3	1,067
2.89	1156,34	68,8	1,075
2.88	973,01	66,8	1,087
3.55	1031,88	73,1	1,070
2.111	995,82	74,4	1,072
3.48	1008,46	73,2	1,068
6.67	914,51	69,2	1,078
5.12	797,12	73,1	1,076
6.19	711,40	70,5	1,080
1.66	929,28	77,1	1,065
1.15	1007,35	61,6	1,072
3.27	811,23	72,8	1,066
1.21	730,22	64,1	1,074
3.46	780,24	69,4	1,066
2.74	654,58	35,8	1,085
2.34	681,35	58,0	1,073
1.64	567,75	52,5	1,075
1.69	604,42	35,2	1,078
4.30	530,85	51,3	1,074
4.45	755,10	50,4	1,053
Baraka	867,04	50,6	1,066

4.4.2 Clones JUG

A Tabela 10 mostra o resumo das análises de variância para os caracteres avaliados dos clones JUG em São João da Mata, MG, 2001.

TABELA10. Resumo das análises de variância para a produção de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos e densidade de tubérculos para 169 clones JUG avaliados em São João da Mata, MG, 2001.

FV	GL	QM			
		Produção	%Tubérculos graúdo	Peso médio de graúdos	Densidade (x 10 ⁻⁴)
Repetições	1	649887,695	1390,794	0,027	14,086
Tratamentos	168	120241,579**	774,914**	2037,054**	2,312**
Bl/repetições	24	82818,894	151,001	712,95	0,643
Erro efetivo	144	47786,317	200,168	921,123	0,708
CV (%)		33,90	38,14	30,95	0,78

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Observam-se diferenças significativas entre os 169 clones para todos os caracteres, evidenciando grande variabilidade genética. Os coeficientes de variação variaram de 0,78 para a densidade a 38,14 para a porcentagem de tubérculos por planta.

A Tabela 11 mostra as médias para os 35 melhores clones com resistência ao vírus Y (PVY) e classificados de acordo com o índice de soma de postos de Mulamba e Mock (1978), considerando a produção de tubérculos por planta, a porcentagem de tubérculos graúdos, o peso médio de tubérculos graúdos e a densidade de tubérculos.

Alguns clones destacaram-se como materiais muito produtivos, com peso médio dos tubérculos acima da média geral do experimento e da testemunha (Tabela 11), como, por exemplo, os clones JUG 6.01 e JUG 6.02 e com excelente densidade, o que corresponde à elevada porcentagem de matéria seca. Estes resultados indicam a possibilidade de se selecionar bons clones. Esses clones superaram a testemunha (Monalisa) em todos os caracteres, principalmente para a produção e densidade de tubérculos. Quanto a

porcentagem de tubérculos graúdos, alguns clones apresentaram valores acima de 70%, porém, a maioria apresentou uma porcentagem baixa em relação a testemunha.

TABELA 11. Médias de produção de tubérculos, porcentagem de tubérculos graúdos e densidade de tubérculos para os melhores 35 clones com resistência ao PVY, avaliados em São João da Mata, MG, 2001.

JUG	Produção/planta	% graúdos	PM graúdo	Densidade
6.01	1331,30	76,90	151,00	1,075
6.02	1290,56	64,10	134,00	1,085
2.20	1014,05	62,20	122,50	1,080
4.09	1008,96	75,50	116,50	1,075
3.03	828,73	51,80	115,50	1,085
4.22	1154,76	67,50	119,00	1,070
1.19	685,48	78,30	160,50	1,075
3.27	1008,13	57,10	116,00	1,075
6.06	676,52	55,30	128,50	1,080
1.18	634,26	65,70	123,50	1,080
6.04	923,27	42,90	108,00	1,085
1.14	786,71	67,30	109,00	1,075
5.16	961,85	60,40	129,00	1,065
1.21	832,30	56,30	109,10	1,075
5.08	776,70	61,10	109,00	1,075
5.17	1148,57	81,90	110,50	1,065
6.21	805,53	70,80	123,00	1,065
4.29	787,39	41,60	108,00	1,080
2.15	740,22	47,60	102,50	1,085
3.17	1195,18	45,10	120,50	1,065
1.10	640,84	23,30	175,85	1,090
4.20	986,01	77,50	113,50	1,060
3.11	1123,35	33,00	109,80	1,075
3.25	778,38	60,30	87,55	1,090
4.02	992,00	45,00	120,00	1,065
1.09	872,28	51,80	100,80	1,070
1.15	724,18	53,00	101,00	1,075
1.20	521,17	49,00	109,00	1,080
6.25	712,29	48,00	103,50	1,075
6.12	623,01	48,70	101,10	1,080
2.13	596,40	34,10	129,60	1,075
1.22	872,44	40,10	93,80	1,080
4.17	1010,70	58,50	105,00	1,060
6.28	515,28	27,90	152,50	1,080
4.12	774,96	44,80	114,00	1,065
Amplitude de variação	1331,30 147,17	81,85 0	175,85 37,50	1,095 1,035
Monalisa	676,39	72,47	133,18	1,063
Média geral	644,82	36,44	69,45	1,071

CONCLUSÕES

- A inoculação de clones de batata e em tomateiros com PVY não foi eficaz e não permitiu a comprovação da imunidade dos clones supostamente imunes e nem de sua constituição genética no loco Ry.
- O marcador SCAR denominado RYSC3 parece ser uma ferramenta mais eficaz do que a inoculação mecânica para selecionar clones de batata imunes ao PVY, pois não requer a inoculação das plantas com os vírus.
- Foram identificados novos clones de batata (JUG) supostamente imunes ao PVY, com alta produção, razoável porcentagem de tubérculos graúdos e alta densidade de tubérculos.
- Os clones OAS 2.88, OAS 2.89, OAS 2.111 e OAS 3.55 destacaram-se agronomicamente em três experimentos já realizados, além de apresentarem também reação negativa ao PVY. Estes clones também apresentam alta densidade dos tubérculos, que confere melhor qualidade para a fritura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, E.R. de; FIGUEIRA, A.R. Incidência e sintomatologia de estirpes do vírus Y (PVY) nas regiões produtoras de batata no sul de Minas Gerais. *Ciência e Prática*, Lavras, v.16, n.3, p.371-376, jul./set. 1992.
- ASSIS, M. de. Novas tecnologias de propagação da batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.30-33, 1999.
- BRADSHAW, J.E.; MACKAY, G.R. Inheritance of Resistance to viruses. In: BRADSHAW, J.E.; MACKAY, G.R. *Potato genetics*. Rozalin: CAB International, 1994. Cap. 15, p. 339-357.
- BRANDOLINI, A.; CALIGARI, P.D.S.; MENDONZA, H.A. Combining resistance to potato leafroll virus (PLRV) with immunity to potato viruses X and Y (PVX and PVY). *Euphytica*, Wageningen, v.61, n.18, p.37-42, Apr. 1992.
- BRUNT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBS, A.J.; WATSON, L. *Viruses of plants descriptions and lists from de VIDE database*. Wallingford: CAB International, 1996. 1484p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. *Informe anual do CIP - 1989*. Lima, 1989. Control de enfermedades viróticas y similares, p.57.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 1997. 390p.
- DE BOKX, J.A.; HUTTINGA, H. *Potato virus Y*. Kew: Commonwealth Mycological Institute/ Association of Applied Biologists, 1981. 6p. (Discriptions of Plants Viruses, 242)
- 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 Y⁰. *Potato Research*, Wageningen, v.20, n.3, p.207-213, 1977.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 2.ed. Brasília: EMPRAPA-CENARGEN, 1996. 220p.

- FIGUEIRA, A. dos R. Viroses da Batata: Situação Atual e Perspectivas Futuras. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.86-96, 1999.**
- FIGUEIRA, A.R.; SOUZA, P.E.; GASPAR, J.O. Estirpes do vírus Y da batata (PVY) detectados em Minas Gerais Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.10, p. 302, 1985.**
- FILGUEIRA, F.A.R. Manual de Olericultura. São Paulo: Agronômica Ceres, 1982. v.2, p.169-222.**
- GALLOTTI, G.J.M.; HIRANO, E.; BERTOCINI, O. Virose da batata: principais causas de degenerescência. Agropecuário Catarinense, Canoinhas, v.5, n.4, p.47-48, dez. 1992.**
- GOULD, W.A. Quality of potatos for chip manufacture. In: THE POTATO ASSOCIATION OF AMERICAN. Symposium potato quality industry needs for growth. Grand Forks, 1988. p.10-20.**
- HIRANO, E. Produção de semente. In: REIFSCHNEIDER, F.J.B. Produção de batata. Brasília: Linha Gráfica, 1987. p.171-183.**
- HOOKER, W.J. Compendium of potato disease. St Paul: Americam Phytopathological Society, 1981. 125p.**
- KASAI, K.; MORIKAWA, Y.; SORRI, V.A.; VALKONEN, J.P.T.; GEBHARDT, C.; WATANABE, K.N. Development of SCARS markers to the PVY resistance gene *Ry_{adg}* based on a cammon feature of plant disease resistance genes *Genome*, Ottawa, v.43, p.1-8, 2000.**
- LOPES, C.A.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Manejo Integrado das Doenças da Batata. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.56-71, 1999.**
- MAYEE, C.D.; SARKAR, S. An enhanced multiplication of potato virus X is not related to a synergistic reaction between the potato viruses X and Y. *Potato Research*, Wageningen, v.25, p.343-346, Apr. 1982.**
- MELO, P.E. Cultivares de batata potencialmente úteis para processamento na forma de fritura no Brasil e manejo para a obtenção de tubérculos adequados. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.112-119, mar./abr. 1999.**
- MENDONZA, H.A. Development of potatoes with multiple resistance to abiotic stress. In: ZEHNDER, G.W.; POWELSON, M.L.; JANSSON, R.K.; et al.**

- (eds). **Advances in potato pest: biology and management**. Lima: CIP, 1994. p.627-642.
- MIHOVILOVICH, E. **Combatiendo las enfermedades de la Papa: Desarrollo de clones parentales inmunes a los virus X e Y de la Papa**. In: HOOKER, W.J. (ed). **Compendio de enfermidade de la papa (versão espanhola de: Compendium of Potato Dises)**, Lima: CIP, v.22, n.2, set. 1996.
- MULAMBA, N.N.; MOCK, J.J. **Improvement of yeld potencial of the method Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plants traits**. **Egyptian Journal of Genetics and Citology**, Alexandria, v.7, p.40-51, 1978.
- MULLIS, K.; FALLONA, S. **Especific syntheses of DNA in vitro via a polymerase catalyse chain reaction**. **Methods in enzymology**, New York, v.55, p.335-350, 1987.
- MUÑOZ, F.J.; PLAINSTED, R.L.; THURSTON, H.D. **Resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena***. **American Potato Journal**, Orono, v.52, p.107-115, 1975.
- OLIVEIRA, A.C.S. de; MIRANDA, S.F. **Aspectos econômicos da cultura da batata**. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.3-9, abr. 1981.
- PINTO, C.A.B.P. **Melhoramento Genético da Batata**. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.120-128, 1999.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2001. (no prelo).
- RESENDE, L.M. de A.; MASCARENHAS, M.H.T.; PAIVA, B.M. de. **Aspectos Econômicos da Produção e Comercialização da Batata**. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.9-19, 1999.
- ROSS, H. **Potato breeding: problems and perspectives**. Berlin: Verlag Paul Parey, 1986. 132p.
- SAIKI, R K.; GELFAND, D.H.; STOEFFEL, S.; SHARF, S.J.; HIGUCHI, G.T.; MULLIS, K.B; ERLICH, H.A. **Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase**. **Science**, Washigton, v.239, n. 4839, p.487-491, Jan. 1988.
- SALAZAR, L.F. **Enfermedades virosas de la papa**. Lima: CIP, 1982. 111p.

- SAS INSTITUTE. SAS user's guide: Statistical Version 6. 4th ed. Cary, N.C, 1990. 168p.
- SILVA, O.A. Identificação de clones de batata imunes ao PVX e PVY, adaptados à região Sul de Minas Gerais. Lavras: UFLA, 1999. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SOUZA DIAS, J.A.C. de; IMAUTI, M.T. Doenças da batateira. IN: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de fitopatologia. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.137-164.
- SWIEZYNSKI, K.M. Inheritance to resistance to viruses. In: BRADSHAW, J.E.; MACKEY, G.R. Potato genetics. Wallingford: CAB International, 1994. p.339-363.
- TÔRRES, G. Produtividade e Qualidade: Fatores Indispensáveis para a Bataticultura. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.7, 1999.
- VERMEER, H. Optimising potato breeding. I. The genotypic, environmental and genotype-environmental coefficients of variation for tuber yield and other traits in potato (*Solanum tuberosum* L.) under different experimental conditions. Euphytica, Wageningen, v.49, n.3, p.229-236, Mar. 1990.
- VICENTE, H. Fisiologia de plantas infectadas por vírus. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.4, n.2, p.181-187, jun. 1979.