



A importância do uso de materiais de
propagação vegetativa
de alta qualidade fitossanitária
(livres de vírus): estudos de caso
sobre alho, batata e batata-doce

***Fernanda Rausch Fernandes
Mirtes Freitas Lima***

A importância do uso de materiais de propagação vegetativa de alta qualidade fitossanitária (livres de vírus): estudos de caso sobre alho, batata e batata-doce

Resumo

A cultura de tecidos vegetais é uma ferramenta com elevado potencial de aplicação no melhoramento vegetal, podendo ser utilizada tanto para a multiplicação de material genético para intercâmbio e avaliação de germoplasma, quanto para a produção de mudas livres de vírus. O processo de limpeza clonal é utilizado em várias espécies vegetais de propagação vegetativa, como citros, maçã, morango, abacate e cana-de-açúcar, visando à eliminação de patógenos de material propagado vegetativamente. O objetivo é produzir mudas saudáveis, livres de doenças, especialmente aquelas causadas por vírus, mais produtivas e com alta longevidade no campo, para serem distribuídas como matrizes a viveiristas e, dessa forma, reduzir ou eliminar o risco de disseminação de patógenos para áreas onde ainda não ocorrem. A Embrapa Hortaliças e instituições parceiras desenvolveram metodologias eficientes de limpeza clonal de culturas de propagação vegetativa, tais como alho (*Allium sativum* L.), batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] e batata (*Solanum tuberosum* L.), que são acometidas por diversas doenças de etiologia viral.

Termos para indexação: limpeza clonal, cultivo in vitro, vírus, *Allium sativum*, *Ipomoea batatas*, *Solanum tuberosum*.

The importance of using plant propagation material of high phytosanitary quality (virus-free): case studies on garlic, Irish-potato and sweet-potato

Abstract

Plant tissue culture is a tool with high potential for application in plant breeding; it can be used for multiplication of genetic material for exchange and germplasm evaluation as well as for production of virus-free seedlings. Clonal cleaning is a process used for various vegetative propagation species, such as citrus, apple, strawberry, avocado and sugarcane, to eliminate pathogens from material which resulted from vegetative propagation. The main goal is to produce healthy, disease-free (especially free of diseases caused by viruses) and more productive seedlings with greater longevity in the field, to be distributed as genetic backbone to nurserymen, thus reducing or eliminating risks of spreading pathogens on new areas. Embrapa Hortaliças and its partner institutions have developed efficient methods for clonal cleaning vegetative propagation crops, such as garlic, sweet-potatoes and Irish-potatoes, which are affected by many viral diseases.

Index terms: Clonal cleaning; in vitro cultivation, virus, *Allium sativum*, *Ipomoea batatas*, *Solanum tuberosum*.

Introdução



A produção de hortaliças, no Brasil e no mundo, é uma atividade altamente diversificada. Pelo fato de a olericultura ser praticada normalmente em pequenas áreas e fazendo uso intensivo de mão de obra, sua cadeia produtiva atende aos propósitos de inclusão social e econômica. Na produção de alimentos, as hortaliças constituem um mercado peculiar, pois fatores como diversidade, sazonalidade e qualidade influenciam diretamente o mercado. A pressão de preços é significativa, especialmente pelo fato de o mercado ser altamente competitivo e pela alta perecibilidade dos produtos depois da colheita. Tema deste capítulo, as hortaliças do grupo raízes, bulbos e tubérculos são produzidas em muitos estados brasileiros. Seus produtos apresentam, como características marcantes, maior durabilidade pós-colheita até a comercialização e resistência ao transporte, quando comparados às demais hortaliças.

Esse grupo de hortaliças, diferentemente de outros em que se utilizam sementes para o plantio – como tomate, pimentão, cebola e cenoura –, é propagado vegetativamente (via assexuado). Nesse tipo de multiplicação, em que não há participação dos órgãos sexuais (flores), a planta gerada é geneticamente idêntica à planta-mãe, e a multiplicação é realizada por partes vegetativas da planta, também conhecidas como material propagativo ou mudas. Durante a propagação sexuada, no processo de formação das

sementes, muitos patógenos, em especial os vírus, são “filtrados”, de forma a proteger as sementes desses patógenos, evitando, assim, sua disseminação em lavouras comerciais.

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, incapazes de se multiplicarem fora de uma célula hospedeira. No processo infeccioso, esses agentes invadem as células das plantas, fazendo com que se tornem sítios de multiplicação de suas partículas. Até que os sintomas provocados pela infecção causada por esses agentes sejam exteriorizados, a planta permanece assintomática, porém com infecção latente, período em que são equivocadamente consideradas sadias. Essa é a forma mais comum de disseminação de vírus por meio de material propagativo supostamente livre de vírus.

A utilização de material de plantio livre de pragas e doenças deve ser o primeiro passo no estabelecimento de novas lavouras, sendo esse, aliás, um dos requisitos para o sucesso de qualquer sistema de cultivo agrícola. Muitos dos problemas que ocorrem durante a fase de desenvolvimento das plantas – colaborando para sua predisposição a doenças e resultando na redução da absorção de nutrientes e, conseqüentemente, em menor produtividade – podem ser atribuídos à utilização de materiais propagativos contaminados por vírus. Entre as medidas de caráter preventivo a serem adotadas para a solução desse problema está o plantio de material propagativo sadio, medida essencial em se tratando de culturas de propagação assexuada, como é o caso das plantas tratadas neste capítulo.

A propagação vegetativa favorece o acúmulo e a disseminação de vírus ao longo dos ciclos de cultivo, além de aumentar a probabilidade de ocorrência de infecção latente, quando as plantas – apesar de infectadas – não manifestam sintomas aparentes. A planta infectada atua, então, como fonte de vírus, de onde são disseminados por seus vetores. Como consequência, a planta perde gradativamente o seu potencial produtivo, em um processo chamado degenerescência.

Diversos grupos de organismos atuam como vetores de vírus que infectam plantas, sendo que a maioria é transmitida por insetos, que são os vetores mais comuns. Apesar de a transmissão por insetos ser a mais conhecida, alguns vírus de relevância econômica são também transmitidos por outros agentes, tais como ácaros, fungos e nematoides. A disseminação desses patógenos pode acarretar perdas significativas, com redução da produtividade, que pode atingir níveis superiores a 50%. A importância das infecções virais pode ser subestimada pelo fato de os sintomas nas plantas não serem tão evidentes em alguns casos e por provocarem apenas redução do vigor e declínio da planta, com reduzidos reflexos na produção, e não causando a morte das plantas. Entretanto, em virtude da degenerescência gradual do material propagativo, a planta debilitada pode ser mais facilmente acometida por infecções causadas por outros grupos de fitopatógenos e/ou por desordens metabólicas ou nutricionais.

Os vírus comprometem o metabolismo da planta infectada, já que se utilizam da “maquinaria” biossintética da hospedeira em seu próprio benefício, na síntese de proteínas e ácidos nucleicos virais, assim como

na síntese de novas partículas. Dessa forma, a sobrevivência e a replicação desses agentes dependem do aparato celular da planta hospedeira, que afeta a sua síntese de proteínas e os processos de fotossíntese, transporte de compostos resultantes da fotossíntese (fotoassimilados) e de ação hormonal, com consequências diretas sobre a planta que, geralmente, se torna debilitada e menos produtiva. Pode-se afirmar que não há estratégias de controle que sejam eficientes e que possam ser adotadas no controle dos vírus depois da implantação de lavouras com materiais propagativos infectados por esses patógenos.

As medidas a serem adotadas para evitar o processo de degenerescência por vírus são de caráter preventivo e essencialmente profiláticas, devendo ocorrer antes do estabelecimento do plantio no local definitivo. Algumas medidas de manejo que integram a utilização de diferentes práticas culturais podem ser implementadas visando à redução das fontes de inóculo do vírus, que são os locais sobre ou dentro dos quais esses patógenos sobrevivem e perpetuam-se, e também do vetor em campo. Essas medidas consistem na destruição de plantas infestantes e plantas voluntárias, que podem atuar como reservatório do patógeno e/ou do vetor nas proximidades da lavoura, além de destruição dos restos culturais logo após a colheita.

A aplicação de agrotóxicos recomendados para o controle químico do vetor visando reduzir a disseminação do vírus em campo pode não ser efetiva, dependendo do tipo de relação entre vírus e vetor. Outra estratégia é a utilização de fontes de resistência genética, que é a medida mais desejável e eficiente no

controle de doenças; entretanto, nem sempre elas estão disponíveis. Essas e outras medidas, quando adotadas conjuntamente, podem evitar e/ou reduzir, de forma significativa, as perdas na produção. Portanto, é importante divulgar informações dessa natureza a técnicos e produtores, reafirmando a relevância da adoção de técnicas básicas de manejo, para evitar ou reduzir a disseminação de vírus no campo.

As fases de desenvolvimento do material propagativo livre de vírus são realizadas em laboratórios especializados, pois requerem mão de obra preparada. Compreendem a seleção de plantas vigorosas, assintomáticas e sabidamente sadias como matrizes, a limpeza clonal por meio da utilização de técnicas de cultura de tecidos e, finalmente, a submissão dessas plantas à indexação, que são testes biológicos, sorológicos e moleculares visando à certificação da sua sanidade. Uma vez cumpridas essas etapas, as plantas comprovadamente sadias (básicas) formarão o estoque de plantas-matrizes que estarão aptas a fornecer material propagativo a viveiristas especializados, para a produção de mudas sadias, em local protegido.

A limpeza clonal é uma técnica muito utilizada para se obterem plantas livres de patógenos, particularmente os de origem viral. A obtenção de plantas oriundas de limpeza clonal é antiga e vem sendo utilizada desde 1952 (MOREL; MARTIN, 1952), tendo ganhado importância por causa da inexistência de produtos químicos capazes de erradicar vírus em plantas infectadas. Os benefícios resultantes da utilização dessa técnica são promissores.

A limpeza clonal propicia, às culturas propagadas vegetativamente, a recuperação da sua capacidade produtiva, perdida pelo acúmulo de vírus estabelecidos na cultura ao longo dos ciclos consecutivos.

Algumas etapas devem ser rigorosamente seguidas para se obter sucesso no emprego da técnica, sendo a primeira a seleção de plantas doadoras que apresentem excelente estado fisiológico e sanitário e, dessa forma, que sejam vigorosas e assintomáticas para o fornecimento de explantes a serem utilizados no processo de limpeza clonal. Os explantes são células, tecidos ou órgãos vegetais usados para iniciar culturas *in vitro*. As plantas obtidas por meio desse processo devem ser submetidas à indexação, que consiste no emprego de testes de detecção viral, sensíveis e acurados na análise das plantas produzidas, para a certificação de sua sanidade, considerando-se que praticamente plantas desenvolvidas *in vitro* não exibem sintomas de infecção viral quando infectadas.

As plantas básicas assim obtidas servirão como doadoras no fornecimento de material propagativo (borbulhas, estacas, gemas, ramos, tubérculos) para a produção de mudas, o que deve ser feito em ambiente protegido, reduzindo-se a exposição desses materiais e, conseqüentemente, os riscos de se tornarem infectados.

O desenvolvimento e a adoção dessa técnica representaram um caminho promissor para um novo patamar tecnológico de qualidade na produção de plantas propagadas vegetativamente. Entretanto, é importante ressaltar que, entre os materiais disponíveis para comercialização tidos como “livres de vírus”,

alguns podem ter sido oriundos de plantas sem sintomas aparentes de virose; portanto, não foram submetidos a testes rigorosos de indexação, como necessário. Assim, essas matrizes podem estar acometidas por infecções virais latentes; nesse caso, embora infectadas, não houve expressão de sintomas nas mudas produzidas em viveiros. A inspeção visual à procura de sintomas é necessária, mas, isoladamente, é um método considerado insuficiente na seleção de plantas denominadas “livres de vírus”. Uma planta só deve ser considerada livre de vírus depois de terem sido empregados métodos diagnósticos conhecidos para as respectivas espécies virais.

Vale ressaltar que nem todas as plantas obtidas por meio do processo de limpeza clonal têm assegurada a erradicação viral, em virtude das características biológicas desses patógenos, da distribuição desuniforme das partículas virais nos tecidos vegetais da planta infectada e do caráter aleatório do processo de limpeza clonal. Dessa forma, é preciso avaliar o êxito do uso da técnica mediante o emprego de testes diagnósticos que possibilitem a detecção viral; entretanto, a realização de análises muito precocemente em plantas muito pequenas e jovens apresenta o risco de obtenção de falso-negativos.

Neste capítulo, serão enfatizadas três hortaliças para as quais a Embrapa Hortaliças desenvolveu materiais livres de vírus com o emprego da limpeza clonal e da indexação.

Perdas ocasionadas por vírus são muito comuns em plantios de alho, batata-doce e batata no Brasil, assim como também em áreas produtoras de todo o

mundo. No caso de plantas propagadas vegetativamente, o uso de material sadio tornou-se a principal estratégia a ser utilizada para reduzir as perdas ocasionadas por infecções virais.

Alho



alho (*Allium sativum* L.) é uma cultura muito apreciada pelos brasileiros graças a sua multiplicidade de uso, ou seja, por causa de suas propriedades condimentares, nutracêuticas e terapêuticas. Em 2012, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) (CONAB, 2013), a produção brasileira de alho foi de 108.393 t. Os resultados da pesquisa contribuíram sobremaneira para o incremento da produção, como a seleção de genótipos em cultivares mais adaptadas às diferentes variações edafoclimáticas, encontradas nas diversas regiões produtoras. A técnica de vernalização, que consiste na frigidificação a baixas temperaturas, por um determinado período, em ambiente com umidade controlada, permitiu a expansão do cultivo das cultivares de alho nobre, especialmente do plantio de clones de alho obtidos no processo de limpeza viral.

Embora o Brasil apresente excelentes condições edafoclimáticas ao desenvolvimento da cultura do alho, ainda não consegue suprir a demanda de abastecimento do mercado interno, razão por que importa, especialmente da China, grande parte do alho consumido. No País, há forte demanda pelo

aumento quantitativo e qualitativo da produção de alho, com redução dos custos de produção, haja vista que, com a entrada da China na Organização Mundial do Comércio (OMC), em 2003, o produtor nacional foi demasiadamente afetado por conta do preço competitivo do alho chinês, bem mais baixo, por causa do uso de mão de obra muito barata e subsidiada na produção.

O alho é propagado por meio de bulbilhos ou “dentes”, ou seja, cada “dente” é uma unidade propagativa, e o conjunto de bulbilhos usado para o plantio é chamado alho-semente. O uso de alho comercial como semente é perigoso, pois, como nesse tipo de material não há controle de qualidade, ele pode estar infectado com patógenos, em especial vírus, que podem ser detectados apenas em laboratórios especializados, com o emprego de determinadas técnicas.

Nesse contexto, chama-se a atenção para a introdução de materiais de procedência duvidosa, pois sua qualidade pode estar comprometida. Esse cuidado é particularmente necessário quando esses materiais são oriundos de países nos quais os padrões tecnológicos são mais baixos, quando comparados aos padrões nacionais, e os sistemas de controle de sanidade são pouco rigorosos.

Uma medida recente que muito beneficiou a cadeia produtiva do alho chegou por meio da Instrução Normativa nº 2 (BRASIL, 2013), de autoria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), que aprova os requisitos fitossanitários básicos para a importação de bulbos de alho produzidos na China. Segundo determina o documento, o

produto importado deverá estar livre de resíduos vegetais e de solo, e acompanhado de certificado fitossanitário (CF), emitido pela Organização Nacional de Proteção Fitossanitária (ONPF) da República Popular da China, acompanhado de algumas declarações. Até então, todo alho importado da China ingressava no Brasil sem nenhum tipo de controle fitossanitário. Essa medida é de crucial importância, pois é do conhecimento geral a magnitude do risco de introdução de novas pragas em um país.

No Brasil, embora existam muitos obstáculos para o produtor de alho, verificou-se, nos últimos anos, um grande incremento tecnológico no sistema de produção dessa cultura, que culminou com o aumento significativo da produtividade e da qualidade. Uma das tecnologias que mais contribuíram para esse processo foi a do alho livre de vírus. Os produtores, cientes de que o rendimento da produção é diretamente proporcional ao tamanho e à qualidade do material propagativo, passaram a recorrer a esse insumo.

A produção do alho em todo o mundo tem sido afetada por diversos patógenos, destacando-se as infecções virais, que são causadas por um complexo formado por várias espécies, pertencentes a grupos taxonômicos diferentes (gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus*). Muitas das espécies desse complexo acometem a cultura. No Brasil, já foram relatadas as seguintes espécies: *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), *Leek yellow stripe virus* (LYSV), *Garlic common latent virus* (GCLV), *Shallot latent virus* (SLV), *Garlic virus C*

(GarV-C), *Garlic virus D* (GarV-D) e *Garlic mite-borne filamentous virus* (GarMbFV).

Os sintomas mais comuns apresentados pelas plantas de alho infectadas com vírus são: estrias cloróticas foliares, com tonalidades que variam entre o amarelo-claro e o verde-claro, enfezamento (raquitismo, atrofiamento), nanismo da planta e, conseqüentemente, redução do tamanho dos bulbos (FERNANDES et al., 2013). Os vírus acumulam-se nos bulbos de geração em geração, o que facilita a perpetuação desses patógenos. Como a infecção pelo complexo viral não induz a morte das plantas, a doença pode passar despercebida pelos agricultores, e isso representa um grande problema, pois a infecção, por uma ou mais espécies de vírus, promove queda severa na produção dos bulbos e propicia a presença contínua de fontes de inóculo no campo.

As infecções causadas por vírus são difíceis de ser evitadas em virtude da transmissão por vetores e da eficiente transmissão por meio do alho-semente contaminado. A forma de controle mais viável é o plantio de alho-semente livre de vírus e em condições que minimizem as reinfecções. Desde 1992, a Embrapa Hortaliças vem desenvolvendo pesquisas que subsidiam um sistema de produção de alho-semente sadio. Para tanto, conta com a colaboração de parceiros externos, como a Universidade de Brasília (UnB), e o apoio da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater), instituições essas que estão representadas em diversos estados e administrações municipais.

Nesse período, foram desenvolvidas várias pesquisas, a saber: a) foram produzidas plantas livres de vírus da cultivar Amaranthe, pelo cultivo de ápices caulinares, associado à termoterapia (TORRES et al., 2000); b) foram descritas espécies de *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus* associadas ao alho (FAJARDO et al., 2001; MELO FILHO et al., 2004); c) foi feita a estimativa da degenerescência do alho livre de vírus da cultivar Amaranthe (MELO FILHO et al., 2006); d) foi produzido antissoro policlonal para a detecção de *Garlic virus C* (GarV-C), mediado por expressão in vitro da capa proteica (ALVES JÚNIOR et al., 2008); e e) foram produzidos antissoros contra *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) no Brasil e contra *Leek yellow stripe virus* (LYSV), produzido pelo Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal (Iffive), ligado ao Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Inta), da Argentina (Centro Brasileiro-Argentino de Biotecnología/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CBAB/CNPq). Ademais, encontra-se em processo de validação, por pequenos produtores dos estados da Bahia e de Minas Gerais, a tecnologia de produção de alho-semente com cultivares de alho-comum, obtidas pela técnica de limpeza clonal (DUSI et al., 2011; MELO et al., 2011), com o apoio da Emater-BA e da administração local (prefeituras de Boninal, Cristópolis e Cotegipe, na Bahia).

No Sul e em áreas mais frias do Sudeste do Brasil, são cultivadas variedades de alho classificadas como “nobres”, pois produzem bulbos (cabeças) de maior tamanho e com reduzido número de bulbilhos (de 8 a 12, em média). Para que essas variedades sejam produzidas em regiões mais quentes, é preciso,

antes do plantio, promover a quebra de dormência, por meio da técnica conhecida como "vernalização do alho-semente". Dessa forma, para a limpeza clonal de variedades de alho nobre, a vernalização deve preceder a seleção dos bulbilhos.

O processo de limpeza clonal utilizado na Embrapa Hortaliças abrange várias etapas: a seleção dos bulbilhos, a vernalização, a termoterapia, a excisão e o cultivo de ápices caulinares, a regeneração da planta e dos bulbilhos, a aclimação dos bulbilhos e a indexação viral (TORRES et al., 2001). O aspecto saudável dos bulbilhos é, de certa forma, um indicador de altas taxas de regeneração de plantas e da eliminação viral.

A termoterapia dos bulbilhos *in vivo* consiste em mantê-los sob temperaturas elevadas e constantes, por um determinado tempo. A elevação da temperatura acima de certos níveis reduz a replicação viral, e o movimento dos vírus em plantas e a termosensibilidade variam de vírus para vírus. Dessa forma, o que a termoterapia promove é a indução de escapes, já que alguns tecidos “escapam” à invasão de partículas virais.

Depois desse procedimento, os bulbilhos são submetidos à excisão dos explantes, que são, posteriormente, cultivados *in vitro*, elevando a eficácia do processo de limpeza clonal. Os meios de cultura utilizados para o cultivo de explantes com concentrações de reguladores de crescimento indutores da parte aérea propiciam, inicialmente, o crescimento vegetativo e a formação de bulbilhos não diferenciados, *in vitro*, e, posteriormente, o seu crescimento, mas ainda sem se diferenciarem.

Depois de executada a vernalização para alcançar a quebra de dormência, induzida por baixa temperatura, promove-se o plantio dos bulbilhos em casa de vegetação, de forma que essa aclimação ocorra em condições de temperatura e umidade controladas. Essas plantas são, então, submetidas à indexação viral, para que só aquelas que estejam livres de vírus permaneçam no processo.

Os bulbilhos são colhidos das plantas selecionadas e, no ano seguinte, depois da quebra de dormência, serão plantados. Depois das plantas formadas, procede-se à indexação para os principais vírus que infectam a cultura. Esse processo deve ser repetido até o momento em que se tenha certeza de que o material está livre de infecção viral. No caso do alho, três indexações devem ser realizadas. Essas três análises consecutivas são necessárias porque o processo de limpeza clonal pode ter promovido apenas a redução da concentração viral nas plantas, que pode ser inferior ao limiar de detecção pelos métodos diagnósticos.

Durante esses três cultivos sucessivos, a concentração do(s) vírus – porventura não eliminado(s) – pode atingir níveis detectáveis. Isso obriga o agricultor a monitorar periodicamente as plantas-matrizes oriundas de bulbos indexados por multiplicação em larga escala.

Finalmente, os materiais são multiplicados em ambiente protegido com tela, que previne a entrada de insetos vetores (tela antiafídeos), visando à produção de alho-semente de elevada qualidade fitossanitária. O material produzido é distribuído aos agricultores que produzem as próprias sementes, os quais vão,

assim, manter a qualidade fitossanitária inicial, em conformidade com o esquema preconizado pela Embrapa Hortaliças (MELO et al., 2011; RESENDE et al., 2011).

Os resultados têm sido bastante promissores, registrando-se, por exemplo, substancial incremento da produtividade em lavouras de pequenos agricultores onde estão implantadas unidades de produção de alho-semente obtido por essa tecnologia. A crescente demanda por tecnologias para o sistema de produção indica que o modelo apresentado conseguiu se adequar claramente aos princípios da sustentabilidade econômica e social em pequenas e grandes propriedades.

Batata



A batata (*Solanum tuberosum* L.) está entre as quatro fontes alimentares mais importantes em todo o mundo, juntamente com o trigo, o arroz e o milho. A produção mundial de batata ficou em torno de 385 milhões de toneladas, destacando-se a China como o maior produtor mundial (25% do total produzido) (FAOSTAT, 2016). No Brasil, a cultura possui expressiva importância econômica, ocupando posição de destaque nos mercados interno e externo, na geração de renda, sendo também relevante do ponto de vista social, por conta da geração de empregos, tanto de forma direta quanto indireta, ao longo da cadeia produtiva. Em 2015, a produção brasileira de batata foi de 3.659.499 t (IBGE, 2016), considerada muito baixa

(tendo correspondido a 1,1% do total mundial) quando comparada com o maior produtor mundial. Mesmo assim, esses dados ressaltam a importância da cultura no contexto da agricultura nacional. No ano de 2014, foram produzidas no País 3.741.591 t (IBGE, 2015).

A planta de batata produz frutos similares aos frutos de tomate, embora muito pequenos e de coloração verde, onde se formam as sementes verdadeiras. No entanto, a cultura é multiplicada comercialmente de forma vegetativa, por meio de tubérculo-semente ou batata-semente. A utilização de tubérculo-semente garante a produção de plantas geneticamente idênticas, ou seja, com características da cultivar que está sendo plantada, assegurando, assim, uniformidade ao plantio. Essa forma de multiplicação, entretanto, favorece a transmissão de patógenos, via batata-semente, particularmente dos vírus. Portanto, as viroses – doenças de ocorrência frequente que afetam batateiras no Brasil e em diversas regiões produtoras em todo o mundo – constituem um dos principais desafios à produção, pela sua complexidade, pela inexistência de medidas eficazes de controle curativo e pela infecção, que pode resultar em degenerescência da cultura. No controle de viroses, as medidas a serem adotadas devem ser preventivas, visando reduzir ou evitar perdas na produção.

Atualmente, a situação da batata com relação à infecção por agentes virais é um pouco mais complexa do que era 10 anos atrás. Isso porque, no País, novas espécies virais vêm sendo frequentemente detectadas na cultura, causando prejuízos no campo, além daquelas espécies de vírus já conhecidas, e que, comprovadamente, se tornaram fator limitante à

produção quando detectadas na lavoura em alta incidência. Esses novos vírus, que são transmitidos por mosca-branca, pertencem, na classificação viral, a dois gêneros distintos de vírus: *Begomovirus* e *Crinivirus* (FREITAS et al., 2012; LIMA et al., 2011; SOUZA-DIAS et al., 2008). Uma das consequências mais danosas da infecção de plantas de batata por vírus é que, por ser sistêmica, a infecção chega até os tubérculos, perpetuando, assim, a transmissão dos vírus via material propagativo que, ao ser plantado, origina plantas e também tubérculos infectados.

A baixa qualidade sanitária da batata-semente verificada em alguns casos pode estar associada à acumulação de vírus no material propagativo infectado. Quando ciclos consecutivos da cultura são realizados, os vírus são transmitidos para as gerações seguintes, sendo perpetuados nos tubérculos, o que contribui, de forma significativa, para a degenerescência progressiva da cultura, que perde, gradualmente, vigor e capacidade produtiva. Essa situação propicia ainda a manutenção de fontes de inóculo dos diversos vírus no campo, em decorrência da presença de plantas oriundas de tubérculos doentes, favorecendo, assim, a disseminação secundária dos vírus. Essa ocorre por meio de insetos vetores – assim denominados por sua habilidade em adquirir e transmitir vírus –, propiciando a disseminação desses patógenos entre plantas no campo.

No Brasil, certos fatores – a exemplo de elevadas populações de insetos vetores de vírus, como pulgões e mosca-branca, presentes no campo, além da suscetibilidade das principais cultivares de batata plantadas no País, em particular ao *Potato virus Y*

(PVY) e ao *Potato leafroll virus* (PRLV) – agravam, conjuntamente, os danos causados à cultura. A transmissão do PVY e também do PRLV via tubérculos (HANE; HAMM, 1999; RAGSDALE et al., 2001; RUSSO et al., 1999) já contribui de forma significativa para a degenerescência da cultura; entretanto, a situação é agravada porque os begomovírus (CORDERO et al., 2003; LIMA et al., 2012; SOUZA-DIAS et al., 2008), assim como os crinivírus (FRANCO-LARA et al., 2013), também são transmitidos para as gerações seguintes por meio de tubérculos infectados. Ainda que se tenha conhecimento da transmissão de espécies dos dois últimos grupos de vírus em material propagativo de batata, as características epidemiológicas das doenças induzidas por esses vírus ainda não foram completamente desvendadas no Brasil. As perdas precisam, então, ser quantificadas e mais bem estudadas.

Lima et al. (2012) observaram que tubérculos colhidos de plantas naturalmente infectadas com begomovírus, em campo, apresentaram taxas de transmissão de 80% a 100%. Para PVY e PRLV, as perdas em produtividade variam muito, de 10% a 100% (TSEDALAY, 2015) e de 20% a 90% (RAHMAN; AKANDA, 2010), respectivamente. Em razão de sua grande diversidade, aliada à presença de muitas variantes biológicas (CROSSLIN, 2013; DAVIDSON et al., 2013), os maiores problemas verificados estão associados à ocorrência do PVY, tido como o principal vírus que infecta batata.

A extensão e a severidade dos danos causados por viroses em batata dependem de uma série de fatores, como: o nível de resistência da cultivar, a idade da planta na época em que ocorreu a infecção, a

proximidade das fontes do vírus e/ou do vetor, a ocorrência de infecção múltipla no caso de infecção da planta por mais de uma espécie de vírus, além da variante do vírus.

Uma das tecnologias utilizadas para garantir a produtividade da batata é a revitalização do material propagativo utilizado no plantio, que deve ser feita com frequência, com o objetivo de reduzir ou evitar a degenerescência da cultura. A limpeza clonal com o emprego de técnicas de cultura de tecidos é uma das medidas que têm sido amplamente empregadas na obtenção de plantas livres de vírus. A estratégia mais utilizada é o desenvolvimento de plantas-matrizes que tenham sido submetidas à indexação ainda em condições *in vitro*, e que as plantas sadias sejam propagadas por meio de microestacas e cultivo em ambiente protegido para a produção de batata-semente. Souza e Souza (1985) assim descreveram as etapas desse processo na obtenção de plantas de batata: a) seleção das plantas-matrizes que devem ser testadas quanto à presença de vírus e também de outro grupo de patógenos denominados viroides (por exemplo, o viroide do broto afilado), utilizando-se testes de detecção adequados e disponíveis; b) extração de meristemas; c) cultivo em meio de cultura suplementado com macro e micronutrientes e vitaminas; d) secção do ápice da planta formada, contendo três ou quatro gemas, e transferência para meio de cultura, onde deve permanecer por 15 a 20 dias; e) posterior indexação das plantas resultantes para os mesmos vírus para os quais as plantas-matrizes haviam sido testadas. As plantas sadias são propagadas *in vitro* por multiplicação rápida: são enraizadas,

transferidas para vasos e mantidas em casa de vegetação, onde são inspecionadas e submetidas à indexação por amostragem. Segundo Peters (1999), por meio desse processo, 24 mil tubérculos pré-básicos podem ser obtidos a partir de 6 mil plantas-matrizes.

A cultura de meristemas baseia-se na extração da extremidade do ápice da planta, que é constituído por um conjunto de células não diferenciadas, em constante divisão, e que, mantidas em condições nutricionais adequadas, são capazes de regenerar as plantas completas.

Atualmente, os testes mais utilizados na indexação do material obtido através da cultura de tecidos são os sorológicos, em particular o teste *Enzyme-linked immunosorbent assay* (Elisa) (CLARK; ADAMS, 1977), por serem sensíveis e pouco onerosos, além de permitirem uma rápida obtenção dos resultados e a possibilidade da avaliação de amostras em larga escala. Outra vantagem oferecida pela técnica, de acordo com Avila e Beek (1987), é a possibilidade de detecção de vírus que estão presentes na planta em baixa concentração, como o PLRV. Entretanto, outros testes também podem ser utilizados, em complementação aos resultados do Elisa, como a *Reverse Transcription* e a *Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), e a inoculação em plantas hospedeiras indicadoras, principalmente nos casos de dúvida.

Com a comprovação da sanidade, avaliada segundo os métodos diagnósticos disponíveis, as matrizes são multiplicadas por métodos de micropropagação *in vitro*. Esses métodos são utilizados para a

multiplicação de plantas em meios de cultura artificiais, sob condições controladas, visando à estabilidade genética do material. Obtêm-se, assim, plantas geneticamente idênticas ao material propagado (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). A micropropagação, que consiste na multiplicação do material propagativo *in vitro*, é uma etapa fundamental, por propiciar a geração de um grande número de mudas livres de vírus, partindo-se de um pequeno número de plantas-matrizes. As sementes resultantes desse processo são denominadas de pré-básicas e, multiplicadas em ambiente protegido, dão origem aos tubérculos básicos da geração inicial (G0).

A batata-semente, segundo a legislação brasileira, compreende quatro classes: genética, básica, registrada e certificada. A semente genética resulta do melhoramento genético e, uma vez multiplicada, origina a semente básica. A semente básica compreende diversas subclasses, como a micropropagação *in vitro* e o cultivo em ambiente protegido (em casa de vegetação). A semente registrada é a produzida em casa de vegetação, com base em batata-semente importada. A semente certificada é aquela obtida pela multiplicação no campo, com base nas classes básica ou registrada (BRASIL, 2012).

As chances de sucesso na obtenção de plantas livres de vírus pela utilização da cultura de ápices caulinares dependem diretamente do tipo de vírus, da relação vírus-hospedeira e do tamanho do explante utilizado (KARTHA; GAMBORG, 1984). Devem ser consideradas, porém, entre outros fatores, as técnicas de assepsia empregadas e a acurácia dos testes para a

indexação das plantas obtidas. A cultura de ápices caulinares ou de meristemas pode ser associada ao tratamento por meio de calor (termoterapia), pela exposição de apenas parte ou de toda a planta a determinadas temperaturas e períodos de tempo, com resultados satisfatórios (PAET; ZAMORA, 1990).

O sucesso do processo de limpeza clonal depende de sistemas eficientes de multiplicação do material livre de fitopatógenos, que resultem em batata-semente de elevada qualidade genética, fisiológica e sanitária, e em quantidade suficiente para atender à demanda do mercado. Segundo Medeiros (2003), a existência de sistemas eficientes de multiplicação do material desinfectado também é importante, para que a demanda do mercado por batata-semente de qualidade superior do ponto de vista genético, fisiológico e sanitário seja plenamente suprida. O emprego dessas técnicas tem ajudado a obter material propagativo de alta qualidade no País, o que é muito vantajoso para a bataticultura nacional.

O Brasil ainda é dependente da importação de batata-semente. A importação é feita principalmente da Holanda, da Suécia, da Alemanha e do Canadá, onde as condições climáticas são bem diferentes das do Brasil. Os materiais selecionados não apresentam, porém, boa adaptação às condições climáticas do Brasil, principalmente nos quesitos produtividade e nível de resistência a doenças que afetam a cultura. É por isso que as técnicas de limpeza clonal, micropropagação e multiplicação de batata-semente livre de vírus são essenciais para o desenvolvimento e a divulgação de cultivares nacionais de batata.

A publicação da Instrução Normativa nº 32 (BRASIL, 2012), pelo Mapa, representou um importante avanço no processo de produção e comercialização da batata-semente no Brasil. A IN 32, que passou a vigorar ainda em 2012, estabelece as normas para produção, certificação e comercialização de batata-semente no País, visando à garantia de sua identidade e qualidade. Dessa forma, os produtores obtiveram, por meio da aprovação da IN 32, a garantia da qualidade do material propagativo produzido e comercializado.

As vantagens da aquisição de batata-semente livre de vírus residem no fato de que as plantas obtidas a partir desse material são de qualidade superior do ponto de vista fitossanitário, apresentam-se mais vigorosas e com maior potencial produtivo, o que vai propiciar maiores produções e tubérculos com qualidade superior.

O emprego de técnicas de cultura de tecidos em batata foi iniciado na Embrapa Hortaliças com a utilização da técnica de cultura de gemas caulinares apicais, no Laboratório de Cultura de Tecidos, visando à recuperação de plantas livres de vírus (TORRES, 1987). Para os testes de indexação de materiais de batata, foi introduzido o teste Elisa como rotina, com a utilização de antissoros policlonais contra PVY e PLRV, além de *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus S* (PVS) produzidos no Laboratório de Virologia da Embrapa Hortaliças. Como produtos dessas atividades há, entre outros: além dos antissoros produzidos, a produção de plantas livres de vírus, a realização de testes de indexação, estudos de levantamentos e caracterização de vírus.

Atualmente, a iniciativa privada, em especial os grandes produtores de batata, já domina essas técnicas de produção de mudas livres de vírus e de indexação sorológica, atuando a Embrapa como apoio técnico.

Batata-doce



batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.], planta da família Convolvulaceae, adapta-se a diversas condições edafoclimáticas, apresenta alta tolerância à seca, tem baixo custo de produção e é de fácil cultivo, além de ser apreciada em todo o País. É uma planta cujas raízes e hastes apresentam variados usos. Além de seu emprego na alimentação humana e na animal, pode constituir importante alternativa para a produção de álcool, amido, macarrão, doces, sobremesas industrializadas e farinha (GONÇALVES NETO, 2010; MOMENTÉ et al., 2004a, 2004b).

A bata-doce está entre as principais hortaliças produzidas no Brasil e tem importância econômica e social, especialmente em longos períodos de estiagem na região Nordeste, por ser uma fonte de alimento energético, já que contém teores satisfatórios de vitaminas, sais minerais e proteínas. Entretanto, no Brasil, é explorada abaixo do seu potencial de produção e uso, sendo cultivada principalmente por agricultores que utilizam baixo nível de tecnologia.

A baixa produtividade é ocasionada principalmente pela utilização de variedades locais ultrapassadas e com elevado grau de degenerescência. Em sua

maioria, são plantas suscetíveis a pragas e doenças, o que é favorecido pelo fato de a cultura ser propagada comercialmente por meio de ramas (reprodução assexuada), o que perpetua a degenerescência das plantas a cada geração.

Mais de 30 vírus que infectam a cultura, distribuídos em nove famílias taxonômicas, foram isolados, descritos e/ou caracterizados nos últimos anos, como: *Bromoviridae* (1), *Bunyaviridae* (1), *Caulimoviridae* (3), *Closteroviridae* (1), *Comoviridae* (1), *Flexiviridae* (1), *Geminiviridae* (15), *Luteoviridae* (1) e *Potyviridae* (9) (CLARK et al., 2012). Danos consideráveis são verificados em virtude do acúmulo de vírus e de outros fitopatógenos, tais como redução e deformação foliar, com reflexos negativos sobre o rendimento das raízes e da produção comercial. A acumulação de vírus pode constituir um fator limitante à produção de batata-doce, sendo que já foram descritas perdas de até 90%.

Assim como ocorre na cadeia produtiva do alho, o material propagativo de batata-doce utilizado pela maioria dos produtores no Brasil está infectado por alguma espécie viral, em razão, principalmente, da falta de um programa de controle da sanidade. As viroses são dificilmente evitadas por causa da eficiente transmissão por vetores e do uso de ramas contaminadas.

Uma das estratégias para fazer frente a essa limitação é a limpeza clonal e a propagação *in vitro*, pois a cultura de ápices caulinares permite obter plantas livres de vírus e de outros fitopatógenos, viabilizando, assim, a produção de um grande número de plantas-matrizes com potencial genético.

Pesquisas conduzidas na Embrapa Hortaliças geraram informações importantes, como: a) metodologia de limpeza clonal em batata-doce e aclimação (SILVA et al., 1995; SILVA; LOPES, 1995; TORRES et al., 1996); b) estratégias de multiplicação de material vegetativo (BRUNE et al., 2005); c) levantamento de vírus em condições de campo; d) produção de antissoros para a diagnose viral (POZZER et al., 1995); e) acompanhamento do desempenho agrônomico de material propagativo oriundo da técnica de limpeza clonal; e f) estimativa do grau de reinfecção depois da liberação do material (POZZER et al., 1992, 1993a, 1993b, 1994). Ademais, existem cerca de 800 acessos no banco ativo de germoplasma de batata-doce mantido na Embrapa Hortaliças, sendo a maioria coletada nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste. Representam a diversidade genética das variedades locais, com razoável aceitação por agricultores, mercados e consumidores. Existem ainda mais 60 acessos coletados no Rio Grande do Sul, que são mantidos na Embrapa Clima Temperado. A elevada diversidade viral associada à batata-doce no Brasil revela a baixa qualidade fitossanitária do material propagativo utilizado pelo produtor rural (FERNANDES; DUSI, 2013). Torres et al. (1996) desenvolveram um protocolo eficiente para a obtenção direta e rápida, em alta frequência, de plantas de batata-doce livres de vírus destinadas a manutenção *in vitro* de germoplasma, propagação rápida, produção comercial, intercâmbio e pesquisa. No Laboratório de Biologia Celular da Embrapa Hortaliças, são executadas as atividades de limpeza clonal e micropropagação, e também a indexação biológica e a sorológica. Tais atividades são conduzidas em casa de vegetação e no Laboratório de

Virologia, respectivamente. Esse processo de limpeza clonal consiste na seleção de plantas-matrizes, na excisão e no cultivo de ápices caulinares, na regeneração de plantas, no subcultivo para aclimação e, finalmente, na indexação viral (FERNANDES, 2013).

Diferentemente do alho, em que uma planta in vitro origina apenas um ou poucos bulbilhos, a planta de batata-doce in vitro pode ser multiplicada indefinidamente, por meio do subcultivo. Em virtude da grande variabilidade de sintomas, decorrente do genótipo, da idade da planta, das condições ambientais e da presença de complexos virais, os sintomas na batata-doce, inclusive a ausência de sintomas, são de pouco valor para o diagnóstico viral. Dessa forma, a indexação viral é realizada por meio de enxertia em *Ipomoea setosa* e posterior detecção viral por meio de técnicas sorológicas e moleculares.

Recentemente, foram obtidos muitos avanços no desenvolvimento de técnicas sensíveis para vários vírus de batata-doce. Essas abrangem, especialmente, PCR, RT-PCR e Elisa, a última com o uso de antissoros produzidos no Laboratório de Virologia Vegetal e adquiridos do Centro Internacional de La Papa (Lima, Peru), para as espécies *Sweet potato mild speckling virus* (SPMSV), *Sweet potato latent virus* (SPLV), *Sweet potato virus G*, *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV), *Sweet potato chlorotic fleck virus* (SPCFV), *Sweet potato virus C-6*, *Sweet potato collusive virus* (SPCV) e *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV); além dos antissoros para *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) e *Cucumber mosaic virus* (CMV).

Banco ativo de germoplasma é uma área ou unidade de conservação de germoplasma, de uso atual ou potencial. Nos bancos ativos de germoplasma (BAGs) são desenvolvidas atividades pertinentes aos recursos genéticos, a saber: introdução, intercâmbio, avaliação, caracterização, seleção, multiplicação, regeneração e preservação.

A dificuldade de detecção dos vírus em batata-doce é devida, em alguns casos, à baixa concentração viral, mais do que em função da presença de inibidores ou de outros problemas (CLARK; HOY, 2006). No entanto, a diagnose dos vírus é dificultada por causa da ocorrência de infecções mistas ou de diversas estirpes virais, ou, então, da distribuição desigual do vírus no interior da planta. Castro e Becker (2011) publicaram um documento intitulado *Normas e padrões para produção de mudas de batata-doce com alta sanidade*, que trata de um conjunto de procedimentos para a realização do processo de produção de mudas de batata-doce com elevados padrões técnicos, no que se refere à fidelidade genética e fitossanitária.

Atualmente, está em andamento um projeto que prevê a limpeza clonal de cultivares de batata-doce lançadas na década de 1980, que apresentavam elevado grau de degenerescência, e a avaliação do desempenho agrônômico dessas cultivares, em diversos estados brasileiros, em comparação com as variedades locais adotadas. A iniciativa tem, como um dos objetivos, divulgar a tecnologia de limpeza clonal nas regiões produtoras brasileiras. Comprovam o grande esforço despendido na aplicação da tecnologia em

diversos perfis tecnológicos de produção de batata-doce, verificados nas áreas de produção envolvidas no projeto.

Considerações finais



plantio de material propagativo oriundo da limpeza clonal por meio de cultura de tecidos minimiza o efeito das reinfecções por vírus, principal causa da degenerescência do alho, da batata-doce e da batata, e, ao mesmo tempo, é condição essencial para que os ganhos em produtividade se mantenham, com a realização dos ciclos sucessivos no campo. É preciso estabelecer ações conjuntas com os diferentes atores da cadeia produtiva para reduzir os prejuízos provocados pelos complexos virais nessas culturas, nas regiões produtoras. Finalmente, cabe registrar que a limpeza clonal é uma tecnologia que contribui positiva e significativamente para a olericultura, pois faculta a oferta de mudas certificadas e de elevado padrão, tanto fitossanitário quanto genético, e em quantidade suficiente para atender à demanda em curto tempo. Dessa forma, tornou-se possível produzir, em larga escala, plantas uniformes, vigorosas e com alto potencial produtivo, ao longo de todo o ano, em condições controladas e sem a influência de desordens de origem biótica e abiótica, incluindo as variações ambientais. A obtenção de plantas livres de vírus é uma tecnologia sustentável, pois a utilização de material propagativo com elevado padrão fitossanitário e genético

reduz a necessidade de uso de agrotóxicos ao longo do ciclo das plantas em condições de campo. Além disso, permite que o agricultor adquira, a baixo custo, material saudável, garantindo a manutenção de produtividade e evitando perdas de produção. Colabora, conseqüentemente, para a manutenção de sua renda agrícola.

Tais fatores se refletem positivamente na sustentabilidade agrícola, tanto pelo aspecto social quanto pelo econômico. Conclui-se, portanto, que a pesquisa básica e a pesquisa agrônômica aplicada a vírus são fatores preponderantes para a elevação do patamar da sustentabilidade agrícola brasileira. Ressalta-se, finalmente, a importância de incumbir instituições públicas da tarefa de produzir material propagativo livre de patógenos, para oferecê-los aos agricultores.

Referências



ALVES JÚNIOR, M.; MARRACCINI, F. M.; MELO FILHO, P. A.; DUSI, A. N.; PIO-RIBEIRO, G.; RIBEIRO, B. M. Recombinant expression of *Garlic virus C* (GarV-C) capsid protein in insect cells and its potential for the production of specific antibodies. **Microbiological Research**, v. 163, n. 3, p. 354-361, 2008.

AVILA, A. C.; BEEK, M. A. Principais viroses. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.). **Produção de batata**. Brasília, DF: Linha Gráfica e Editora. 1987. p. 103-117.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 32 de 20 de novembro de 2012. **Diário**

Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 21 nov. 2012. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=4&data=21/11/2012>>. Acesso em: 15 já. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 2 de 26 de fevereiro de 2013. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 fev. 2013. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=21&data=28/02/2013>>. Acesso em: 15 jan. 2015.

BRUNE, S.; SILVA, J. B.C.; FREITAS, R. A. **Novas técnicas de multiplicação de ramos de batata-doce**. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2005. 8 p. (Embrapa Hortaliças. Circular técnica, 39).

CASTRO, L. A. S. de; BECKER, A. **Normas e padrões para produção de mudas de batata-doce com alta sanidade**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011. 34 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 330).

CLARK, C. A.; DAVIS, J. A.; ABAD, J. A.; CUELLAR, W. J.; FUENTES, S.; KREUZE, J. F.; GIBSON, R. W.; MUKASA, S. B.; TUGUME, A. K.; TAIRO, F. D.; VALKONEN, J. p. T. Sweetpotato viruses: 15 years of progress on understanding and managing complex diseases. **Plant Disease**, v. 96, n. 2, p. 168-185, 2012.

CLARK, C. A.; HOY, M. W. Effects of common viruses on yield and quality of Beauregard sweetpotato in Louisiana. **Plant Disease**, v. 90, p. 83-88, 2006.

CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal of General Virology**, v. 34, p. 475-483, 1977.

CONAB (Brasil). **Alho**. Brasília, DF, 2013. 7 p. (CONAB. Conjuntura Mensal, 69).

CORDERO, M.; RAMOS, P. L.; HERNANDEZ, L.; FERNANDEZ, A. I.; ECHEMENDIA, A. L.; PERAL, R.; GONZALEZ, G.; GARCIA, D.; VALDÉS, S.; ESTEVÉZ, A.; HERNANDEZ, K. Identification of Tomato mottle taino begomovirus in Cuban potato fields. **Phytoparasitica**, v. 31, n. 5, p. 478-489, 2003.

CROSSLIN, J. M. PVY: An old enemy and a continuing challenge. **American Journal Potato Research**, v. 90, p. 2-6, 2013.

DAVIDSON, R. D.; HOUSER, A. J.; SATHER, K.; HASLAR, R. Controlling PVY in seed: what works and what does not. **American Journal of Potato Research**, v. 90, p. 28-32, 2013.

DUSI, A. N.; RESENDE, F. V.; GUIDUCCI FILHO, E. G.; MELO, W. F. Alho livre de vírus: tecnologia para aumento de produtividade. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. S5688-5696, 2011.

FAJARDO, T. V. M.; NISHIJIMA, M.; BUSO, J. A.; TORRES, A. C.; ÁVILA, A. C.; RESENDE, R. O. Garlic viral complex: identification of potyviruses and carlavirus in Central Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 619-626, Sept. 2001.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United States**. 2016. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 16 agosto 2016.

FERNANDES, F. R. **Limpeza clonal de batata-doce: produção de matrizes com elevada qualidade fitossanitária**. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2013. 8 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 117).

FERNANDES, F. R.; DUSI, A. N. **Viroses da batata-doce no Brasil: importância e principais medidas de controle**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013. 13 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 126).

FERNANDES, F. R.; DUSI, A. N.; RESENDE, F. V. **Viroses do alho no Brasil: importância e principais medidas de**

controle. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2013.
9 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 122).

FRANCO-LARA, L.; RODRÍGUEZ, D.; GUZMÁN-BARNEY, M. Prevalence of potato yellow vein virus (PYVV) in *Solanum tuberosum* Group Phureja Fields in Three States of Colombia. **American Journal of Potato Research**, v. 90, n. 4, p. 324, 2013. DOI:10.1007/s12230-013-9308-1.

FREITAS, D. M. S.; NARDIN, I.; SHIMOYAMA, N.; SOUZA DIAS, J. A. C.; REZENDE, J. A. M. First report of *Tomato chlorosis virus* in potato in Brazil. **Plant Disease**, v. 96, p. 593, 2012.

GONÇALVES NETO, A.C. **Aptidões para consumo humano, produção de etanol e alimentação animal em clones de batata-doce**. 2010. Tese de Doutorado (Agronomia / Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI/EMBPRAPA-CNPH. 1998. p. 183-260.

HANE, D. C.; HAMM, P. B. Effects of seed borne potato virus Y infection in two potato cultivars expressing mild disease symptoms. **Plant Disease**, v. 83, p. 43-45, 1999.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola 2016**. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201603.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.

IBGE **Levantamento sistemático da produção agrícola 2015**. Disponível em:< ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo/2014/lspa_201412.pdf>. Acesso em: 15 agosto de 2016.

KARTHA, K. K.; GAMBORG, O. L. Elimination of viruses. In: VASOÇ, I. K. (Ed.). **Cell culture and somatic cell**

genetics of plants. Ganesville: Academic Press, 1984.
p. 577-585.

LIMA, M. F.; BARRIOLLI, C. C.; LOPES, C. A. Geminivirus-transmission on potato tubers. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SEED, TRANSPLANT AND STAND ESTABLISHMENT OF HORTICULTURAL CROPS, 6th. 2012, Brasília, DF. [**Annals...**]. Brasília, DF: ISHS, 2012.

LIMA, M. F.; INOUE-NAGATA, A. K.; RIBEIRO, S. G.; MELO, P. E.; LOPES, C. A. Begomovirus infection in potato fields in Central Brazil. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 22., 2011, Atibaia. [**Anais...**]. Atibaia: SBV, 2011, p. 23-26. 1 CD ROM.

MEDEIROS C. A. B; ZIEMER, A. H.; DANIELS, J.; PEREIRA, A. S. Produção de sementes pré-básicas de batata em sistemas hidropônicos. **Horticultura Brasileira**, v. 20, p. 110-114, 2003.

MELO FILHO, P. A.; NAGATA, T.; DUSI, A. N.; BUSO, J. A.; TORRES, A. C.; EIRAS, M.; RESENDE, R. O. Detection of three Allexivirus species infecting garlic in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, 735-740, 2004.

MELO FILHO, P. A.; RESENDE, R. O.; CORDEIRO, C. M. T.; BUSO, J. A.; TORRES, A. C.; DUSI, A. N. Viral reinfection affecting bulb production in garlic after seven years of cultivation under field conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 116, p. 95-101, 2006.

MELO, W. F.; RESENDE, F. V.; FILHO, E. G.; DUSI, A. N. Da bancada ao agricultor: a transferência de tecnologia de alho livre de vírus aos agricultores familiares da Bahia. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 28, n. 1, p. 81-114, jan./abr. 2011.

MOMENTÉ, V. V.; RODRIGUES, S. C. S.; TAVARES, I. B.; SILVEIRA, M. A.; SANTANA, W. R. Desenvolvimento de cultivares de batata-doce no Estado do Tocantins, visando à produção de álcool, como fonte alternativa de energia para as condições tropicais. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2. jul. 2004a. Suplemento. 1 CD-ROM.

MOMENTÉ, V. V.; TAVARES, I. B.; RODRIGUES, S. C. S.; SILVEIRA, M. A.; SANTANA, W. R. Seleção de cultivares de batata doce adaptados à produção de biomassa, via programa de melhoramento, visando à produção de álcool no Estado do Tocantins. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2. jul. 2004b. Suplemento. 1 CD-ROM.

MOREL, G.; MARTIN, C. Guérison de dahlias atteints d'unemaladie à virus. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie des Sciences**, v. 235, p. 1324-1325, 1952.

PAET, C. N.; ZAMORA, A. B. Efficacy of thermotherapy and group culture of isolated potato meristems for the elimination of single and mixed infections of *Potato virus Y*, *Potato virus S* and *Potato leafroll virus*. **Philippine Journal of Crop Science**, v. 15, n. 2, p. 113-118, 1990.

PETERS, J. A. Potencial, demandas e modalidades para a produção de plantas de alta qualidade genética e sanitária. In: PAGLIANO, D. (Ed.). **Calidad genética y sanitaria: un instrumento para la competitividad de la cadena agroindustrial**. Montevideo: IICA-Procisur, 1999. p. 13-18.

POZZER, L.; DUSI, A. N.; KITAJIMA, E. W. Transmissão do sweet potato feathery mottle Virus por afídeos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 274, 1993a. Suplemento.

POZZER, L.; DUSI, A. N.; LIMA, M. I.; KITAJIMA, E. W. Caracterização de um isolado de Sweet Potato Feathery Mottle Virus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 65-71, 1995.

POZZER, L.; DUSI, A. N.; SILVA, J. B. C.; KITAJIMA, E. W. Detecção de viroses na coleção de germoplasma de batata-doce do CNPH. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 289, 1993b. Suplemento.

POZZER, L.; SILVA, J. B. C.; DUSI, A. N.; KITAJIMA, E. W. Avaliação da taxa de reinfecção de plantas de batata-doce livre de vírus pelo Sweet Potato Feathery Mottle Virus em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 231-234, 1994.

POZZER, L.; SILVA, J. C.; DUSI, A. N. Avaliação de perdas por viroses na cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas*). **Horticultura Brasileira**, v. 10, p. 65, 1992. Suplemento. (Resumo, 104).

RESENDE, F. V.; MELO, W. F. de; FILHO, E. G.; DUSI, A. N. **Produção de alho-semente livre de vírus em pequenas propriedades**. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2011. 12 p. (Embrapa Hortaliças. Circular técnica, 99).

RAGSDALE, D. W.; RADCLIFFE, E. B.; DIFONZO, C. D. Epidemiology and field control of PVY and PLRV. In: LOEBENSTEIN, G.; BERGER, P. H.; BRUNT, A. A.; LAWSON, R. H. (Ed.). **Virus and virus-like disease of potatoes and production of seed-potatoes**. Dordrecht: Kluwer Academic publishers, 2001. p. 237-270.

RAHMAN, M. S.; AKANDA, A. M. Effect of PLRV infected seed tuber on disease incidence, plant growth and yield parameters of Potato. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v. 35, p. 359-366, 2010.

RUSSO, P.; MILLER, L.; SINGH, R. P.; SLACK, S. A. Comparison of PLRV and PVY detection in potato seed samples tested by Florida Winter field inspection and RT-PCR. **American Journal of Potato Research**, v. 76, p. 313-316, 1999.

SILVA, A. T. da; PASQUAL, M.; ISHIDA, J. S.; ANTUNES, L. E. C. Aclimação de plantas provenientes da cultura in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 49-53, jan. 1995.

SILVA, J. B. da; LOPES, C. A. Uso de pequenos segmentos de ramas para multiplicação rápida da batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 176-179, nov. 1995.

SOUZA, E. L. dos S.; SOUZA, J. de A. Produção de plantas de batata livres de vírus. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1., 1985, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 1985, p. 21-23.

SOUZA-DIAS, J. A. C. de; SAWASAKI, H.;
PERNAMBUCO, P. C. A.; ELIAS, L.M. Tomato severe
rugose virus: Another Begomovirus causing leaf deformation
and mosaic symptoms on potato in Brazil. **Plant Disease**,
v. 92, p. 487-487, 2008.

TORRES, A. C. Cultura de tecido para a obtenção de plantas
sadias. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.). **Produção de
batata**. Brasília, DF: Linha Gráfica e Editora, 1987.
p. 231-239.

TORRES, A. C.; DUSI, A. N.; RESENDE, R. O.; BUSO, J. A.
**Produção de alho-semente com alta qualidade fitossanitária
mediante cultura de ápices caulinares**. Brasília, DF:
Embrapa Hortaliças, 2001. (Circular técnica, 27).

TORRES, A. C.; FAJARDO, T. V.; DUSI, A. N.; RESENDE,
R. O.; BUSO, J. A. Shoot tip culture and thermotherapy for
recovering virus-free plants of garlic. **Horticultura Brasileira**,
v. 18, p. 192-194, 2000.

TORRES, A. C.; TEIXEIRA, D. M. C.; MOITA, A. W.;
CAMPOS, M. de A. C. Recuperação de plantas de batata-doce
livres de vírus a partir da regeneração direta de ápices
caulinares. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 8, n. 3,
p. 209-213, 1996.

TSEDALEY, B. A review paper on Potato Virus Y (PVY)
biology, economic importance and its managements. **Journal
of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 5,
p. 110-126, 2015.