

## Capítulo 04

# **DOENÇAS CAUSADAS POR VÍRUS EM ALHO E CEBOLA**

---

Thor Vinícius Martins Fajardo  
Renato de Oliveira Resende  
Eunize Maciel-Zambolim

O cultivo de alho não se realiza com sementes verdadeiras ou botânicas, e sim com bulbilhos (ou dentes) derivados dos bulbos. O alho é, portanto, uma cultura de propagação vegetativa, em que a infecção por viroses assume papel determinante na qualidade do material propagativo, o que culmina na drástica redução do rendimento da cultura. Acredita-se que cultivares infectadas sejam predominantes nos campos de cultivo de alho de diversos países produtores, incluindo o Brasil. Embora programas de produção e certificação de material propagativo livre de vírus tenham sido desenvolvidos, estes ainda constituem iniciativas isoladas ou são conduzidos de forma descontínua.

Plantas de alho exibindo sintomas de mosaico podem estar infectadas por diferentes espécies virais, freqüentemente formando complexos de dois ou mais vírus (Carvalho, 1986; Davis, 1995; Dusi, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

Amostras de alho provenientes de regiões produtoras dos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Santa Catarina, Ceará, Goiás e Distrito Federal foram avaliadas por Dusi et al. (1994), e todas encontravam-se infectadas por pelo menos dois de quatro vírus testados. GYSV (*Garlic yellow stripe virus*), OYDV (*Onion yellow dwarf virus*), LYSV (*Leek yellow stripe virus*) e um Carlavirus, sorologicamente relacionado ao CLV (*Carnation latent virus*), foram detectados em 91%, 76%, 56% e 64% das amostras, respectivamente. Utilizando anti-soro contra OYDV-O (estirpe da cebola), Assis et al. (1995)

relataram a presença deste vírus em 11 das 88 cultivares de alho provenientes do banco de germoplasma da EMBRAPA-Hortaliças (Brasília, DF), além de outro *Potyvirus* não identificado.

Em 273 amostras de bulbos de alho utilizados como "sementes" e testados por Daniels (1999), a ocorrência mais freqüente foi de LYSV, presente em 86% das amostras, seguido de OYDV em 40% e de GCLV (*Garlic common latent virus*) em 4%. Dos 91 lotes de alho-semente analisados, apenas três apresentaram-se livres dos vírus testados.

Na Argentina, Conci et al. (1992) realizaram levantamento para determinação da incidência de viroses em alho nas principais regiões produtoras, detectando GYSV (*Garlic yellow streak virus*) em 94% das amostras, OYDV em 85% e um vírus, sorologicamente relacionado ao CLV, em 37% das amostras. Myers et al. (1997) avaliaram 173 clones de alho de um banco de germoplasma da cultura nos Estados Unidos, detectando 70% de infecção com OYDV, 85% de infecção com LYSV e somente três clones sadios para estes dois vírus.

A superioridade do alho sadio frente ao infectado e sua capacidade de reinfecção parecem depender da base genética de cada material (Siqueira et al., 1996). Ainda segundo esses autores, provavelmente, ao longo de sua evolução, o alho sofreu seleção no sentido de estabelecer mecanismos genéticos, fisiológicos e bioquímicos de equilíbrio entre as viroses e a espécie, de maneira a assegurar sua sobrevivência. Os indivíduos suscetíveis foram gradativamente eliminados, mantendo-se somente aqueles com algum nível de tolerância. Dessa forma, o alho perdeu parte de seu potencial produtivo pela convivência necessária com os patógenos sistêmicos, havendo diferentes respostas de acordo com a base genética dos clones existentes.

A necessidade de se obter alho-semente de melhor qualidade fitossanitária que o atualmente existente é constantemente indicada como a demanda principal do sistema produtivo de alho. Assim, ainda se fazem necessários estudos sobre produção de alho-semente livre de vírus, via cultura de ápice caulinar associada à termoterapia, comparação da produtividade do alho-semente livre de vírus e do infectado, avaliação da taxa de reinfecção do material sadio no campo, processo conhecido por degenerescência, e os reflexos em termos de queda da produção.

## MOSAICO DO ALHO

### *Potyvirus*

A falta de informação sobre a relação entre as diferentes espécies de vírus envolvidas, a identificação confusa das mesmas e a utilização da expressão "mosaico" para designar doenças com diferentes etiologias dificultam a descrição de cada uma das viroses isoladamente (Nunes & Kimati, 1997). Assim, a abordagem dada a este tópico terá caráter geral, destacando-se, entretanto, a importância dos *Potyvirus* como os principais patógenos causadores do mosaico do alho, e, em menor escala, outras viroses, como aquelas induzidas por *Carlavirus* e *Rymovirus*.

### Etiologia

O número de trabalhos envolvendo estudos de diversidade de vírus em alho, no Brasil e no mundo, ainda é pequeno. No Brasil, foram relatados os *Potyvirus* GYSV, OYDV e LYSV, os *Carlavirus* GCLV e outro ainda não identificado, mas sorologicamente relacionado ao CLV (Pavan et al, 1989; Dusi et al, 1994; Fajardo et al., 1997a, b).

Vírus pertencentes aos gêneros *Potyvirus* (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV; *Leek yellow stripe virus*, LYSV e *Garlic yellow stripe virus*, GYSV) e *Carlavirus* (*Garlic common latent virus*, GCLV; *Garlic latent virus*, GLV e *Shallot latent virus*, SLV) têm sido freqüentemente relatados em infecções múltiplas em alho. Outras viroses, aparentemente de menor importância, também são esporadicamente observadas em alho, como aquelas causadas pelos *Rymovirus* *garlic miteborne latent virus* (GMbLV) e *Onion miteborne latent virus* (OMbLV), dentre outras (Carvalho, 1986; Conci & Nome, 1991a; van Dijk, 1993a,b; Koch & Salomon, 1994; Davis, 1995; Helguera et al., 1997).

Os gêneros *Potyvirus* e *Rymovirus*, da família *Potyviridae*, têm partículas alongadas e flexuosas, medem 680-900 nm de comprimento por 11-13 nm de largura e 690-720 x 11-15 nm, respectivamente, e possuem genoma monopartido. Os *Potyvirus* possuem uma única molécula linear de RNA com fita simples (ssRNA) e senso positivo (infectivo), de cerca de 10 kb ( $Mr\ 3,0-3,5 \times 10^6$ ), representando 5% do peso da partícula. A partícula dos

*Potyvirus* é recoberta por até 2.000 cópias de um único polipeptídeo, a proteína da capa possui 30-47 kDa e contém 251-332 aminoácidos, sendo a variação de comprimento determinada pelo amino terminal da proteína. A organização genômica do gênero *Rymovirus* difere da do gênero *Potyvirus*, e a proteína da capa tem cerca de 27-30 kDa (Murphy et al., 1995; Helguera et al., 1997).

O gênero *Carlavirus* possui partículas alongadas e ligeiramente flexuosas, com 610-700 nm de comprimento e 12-15 nm de diâmetro. Possui uma única molécula linear de RNA, fita simples e senso positivo com 7,4 a 7,7 kb, podendo chegar a 8,5 kb. A partícula viral é recoberta por várias cópias de um único polipeptídeo de 31 a 36 kDa, a proteína da capa. As partículas de *Carlavirus* no citoplasma das células encontram-se isoladas ou em agregados, podendo formar inclusões, que não são características do gênero, ao contrário daquelas conhecidas por cataventos e induzidas por *Potyvirus*. *Rymovirus* também são capazes de induzir inclusões granulares em células infectadas (Davis, 1995; Murphy et al., 1995).

A estirpe OYDV-G (patogênica ao alho) infecta cebola com extrema dificuldade, ou, mais freqüentemente, a infecção não ocorre. A recíproca é válida quando são consideradas a estirpe OYDV-O (patogênica à cebola) e a hospedeira alho (Conci et al., 1999).

A elucidação da identidade dos vírus do complexo do alho não é somente de interesse taxonômico, mas consiste em etapa essencial para o desenvolvimento de programas de produção de material livre de vírus, o aperfeiçoamento de técnicas de detecção, bem como melhor entendimento da epidemiologia, podendo ainda servir de suporte para o controle com possível seleção de cultivares tolerantes ou resistentes a viroses de alho.

## Hospedeiras

A gama de hospedeiras dos diferentes vírus que infectam o alho (*A. sativum*) é relativamente pequena e restrita a espécies cultivadas do gênero *Allium* (família Alliaceae), como alho porró (*A. ampeloprasum* var. *porrum*), alho-nirá (*A. tuberosum*), cebola (*A. cepa*), chalota (*A. cepa* var. *ascalonicum*) e cebolinha (*A. fistulosum*), e outras espécies selvagens de *Allium*. Entretanto,

verifica-se com frequência a ocorrência de estirpes específicas do vírus, o que equivale dizer ser muito difícil ou mesmo impossível a transmissão de estirpes diferentes do mesmo vírus para diferentes hospedeiras.

## Sintomas

Muitas vezes os sintomas de infecção por vírus, em plantas que se multiplicam vegetativamente como o alho, podem ser pouco perceptíveis quando não se dispõe de plantas saudáveis para comparação. Como efeito da infecção por vírus em alho, a planta geralmente apresenta-se subdesenvolvida, com baixo vigor vegetativo, e há redução no tamanho (Figura 1B) e peso dos bulbos e bulbilhos (Figura 1A) (Resende et al., 1995; Lot et al., 1998).

As diferentes viroses do alho induzem sintomas foliares semelhantes, variando de leve clorose a mosaico estriado ou mosqueado, sendo mais evidentes em folhas mais jovens. Desta forma, os sintomas pouco auxiliam na identificação do vírus (Dusi, 1995). O diagnóstico de viroses em alho também é realizado de forma precária quando se utiliza de plantas indicadoras, pois os vírus de alho são, via de regra, restritos à família *Alliaceae*. Isto tem dificultado o isolamento biológico dos vírus que ocorrem em complexo no alho e, por conseguinte, também tem dificultado a identificação e caracterização das espécies virais presentes em alho (van Dijk, 1993a,b).

As viroses do alho podem também ser latentes. Quando em infecção simples, *Carlavirus* detectados em plantas de alho não causam sintomas evidentes. Entretanto, há expressiva manifestação de sintomas e queda de produção quando estes e *Potyvirus* encontram-se causando infecção múltipla em plantas de alho (Takaichi et al., 1998).

Patógenos sistêmicos como os vírus interferem diretamente na síntese de proteínas e na fotossíntese, fenômenos celulares vitais para o desenvolvimento normal da planta. Foram observadas reduções significativas na concentração de clorofila em folhas de alho infectadas por vírus, reduzindo o vigor vegetativo e prejudicando a formação de bulbos em função da menor produção de carboidratos. Redução acumulativa no

vigor e na produtividade (degenerescência), alterando o desenvolvimento da planta, são sintomas de vírus observados com frequência, além de diminuições no porte da planta (nanismo) e na massa foliar, estreitamento e amarelecimento das folhas e reduções na produção e na qualidade dos bulbos (Carvalho, 1986).

## Epidemiologia

Todas as viroses de alho são transmitidas por propagação vegetativa pela utilização de bulbilhos contaminados, e muitos dos vírus envolvidos são mecanicamente transmissíveis entre plantas de alho.

As viroses causadas por *Potyvirus* e *Carlavirus* são transmitidas por afídeos (pulgões) em condições de campo, na forma não persistente. Já os *Rymovirus* podem ser transmitidos de uma planta de alho a outra pela ação do ácaro *Aceria tulipae*.

Deste modo, diversas espécies de afídeos que colonizam ou não a cultura podem atuar como vetoras, com grandes implicações epidemiológicas (Sosa et al., 1994). O movimento das populações de afídeos durante o ciclo da cultura pode fornecer informações sobre a associação entre populações do inseto, a incidência de vírus e as taxas de degenerescência da cultura. Devido à forma de transmissão, a pulverização com inseticidas tem pouco efeito no controle de viroses causadas por *Potyvirus* e *Carlavirus*. A pulverização visando ao controle de afídeos só se justifica em determinadas situações, como dentro de um programa de produção de alho-semente sadio.

Sosa et al. (1994) avaliaram a taxa de reinfecção por *Potyvirus* em parcelas de alho sadio, plantadas ao lado ou distanciadas até 2.500 metros das parcelas infectadas. No primeiro ano de avaliação, as taxas de reinfecção foram de 100% e 11%, para parcelas situadas ao lado e distanciadas 1.000 m da parcela infectada, respectivamente. No ano seguinte, os valores de reinfecção foram de 34% e 2%, para parcelas situadas ao lado e distanciadas 2.500 m da fonte de infecção, respectivamente. As espécies de afídeos *Myzus persicae*, *Aphis* spp., *Macrosiphum euphorbiae*, *Schizaphis trifolii* e *Brevicoryne brassicae* foram identificadas a partir da captura em armadilhas localizadas dentro dos experimentos.

A lista de vetores não persistentes para vírus em alho está longe de ser concluída, pois, sob condições de campo, muitos dos afídeos envolvidos são alados em trânsito e ficam por curto período de tempo nas folhas, apenas para realizar a picada de prova. Já a disseminação da doença no campo pode ocorrer pela migração dos afídeos de fora para dentro da lavoura, já que, ao visitar uma planta doente, eles podem adquirir o vírus e transmiti-lo a outras plantas em pouco tempo (Lopes et. al., 1997). Isto provavelmente é o que ocorre na cultura do alho, em que os afídeos fazem a picada de prova e depois migram para outras plantas. As taxas de reinfecção certamente estão ligadas à pressão de inóculo presente no campo, compreendida pela quantidade de fontes de inóculo e a população virulífera de insetos vetores.

Segundo Takaichi et al. (1998), as taxas de reinfecção diferem muito, considerando-se diferentes localidades e vírus. Campos de alho plantados com bulbilhos livres de vírus, após 3 a 5 anos de cultivos sucessivos, apresentaram taxas de reinfecção viral de 8,3% e 40% (para plantios situados próximos a campos comerciais de alho) e 0% (para plantio isolado de plantios comerciais). Na avaliação do vírus prevalecente, durante o processo de reinfecção viral, constatou-se que *Potyvirus* prevaleciam perante outros vírus que infectam o alho, como os *Rymovirus*.

Tanabe et al. (1999) demonstraram que a degenerescência do alho apresenta correlação com a percentagem de plantas infectadas no campo, determinada pelo teste ELISA. A percentagem de infecção aumentou de 17% (na 1ª geração de plantio no campo) para 43% (3ª geração) em experimento conduzido em Goiás, e de 13% (1ª geração) para 43% (3ª geração) no Distrito Federal, sendo ainda significativamente inferior à média de infecção de 80% observada no alho plantado pelo produtor. A grande causa de reinfecção viral em gerações sucessivas de cultivo reside na presença de populações virulíferas de insetos vetores aliada à presença de fontes de inóculo dentro e fora da cultura.

## Controle

Não há medidas efetivas de controle de doenças viróticas em alho, podendo ser adotadas apenas medidas preventivas e gerais de manejo da cultura. Recomenda-se o uso de semente certificada e de origem idônea, que é o melhor material disponível no Brasil, já que ainda não temos um sistema de produção de alho-semente livre de vírus, e não estão ainda estabelecidos valores de tolerância para níveis de incidência de vírus no alho-semente comercializado.

Segundo Dusi (1995), há necessidade de se associarem práticas culturais que favoreçam o pleno desenvolvimento das plantas, visem à redução da disseminação de viroses no campo e, conseqüentemente, menor infecção do cultivo, tais como: evitar plantios sucessivos, evitar situar culturas novas próximas às mais velhas, controlar eficientemente as plantas daninhas hospedeiras de afídeos próximas a cultura e eliminar restos de culturas contaminados.

O uso de bulbilhos pequenos no plantio, por resultar na colheita de bulbos também pequenos, constitui seleção negativa, não só porque possuem menos reservas que nutrem a planta na fase de brotação e desenvolvimento inicial, mas especialmente porque seu tamanho pequeno pode ser sinal de infecção viral, reduzindo-se, assim, o potencial produtivo da cultivar (EMATER, 1995).

Os vírus do complexo do alho não infectam a grande maioria das plantas hospedeiras indicadoras, ou a infecção ocorre com grande dificuldade. Desta forma, eles são muito difíceis de serem isolados do complexo que formam e, em decorrência desta dificuldade, a produção de anti-soros específicos é também limitada (Gama & Ávila, 1988; Kobayashi et al., 1996; Helguera et al., 1997). A classificação com base em critérios como gama de hospedeiras, sintomatologia, morfologia, citopatologia e sorologia tem freqüentemente originado confusão taxonômica (van Dijk, 1993a,b; Tsuneyoshi & Sumi, 1996), dificultando a correta identificação dos vírus que infectam o alho.

A caracterização do complexo viral do alho por meio da aplicação de técnicas de biologia molecular (amplificação por PCR, estudo de homologia de nucleotídeos e aminoácidos e hibridização com sondas moleculares) é

alternativa muito promissora, pois pode contornar sob certos aspectos, as limitações apresentadas, permitindo melhor compreensão da identidade dos membros do complexo viral e desenvolvimento de métodos para o diagnóstico específico dessas viroses. Características moleculares, como seqüência de nucleotídeos do genoma viral e organização genômica, têm sido úteis para distinguir espécies virais de estirpes e para determinar o relacionamento entre gêneros de diferentes vírus de alho (Tsuneyoshi & Sumi, 1996; Helguera et al., 1997; Tsuneyoshi et al., 1998). As sondas moleculares são instrumentos importantes no estudo das viroses do alho, pois, uma vez sintetizadas para determinado vírus, podem hibridizar e identificar com precisão e especificidade vírus homólogos ou similares em extratos foliares de alho, mesmo em infecção múltipla.

As técnicas sorológicas, em especial o teste ELISA, embora empregadas no diagnóstico de viroses em alho, muitas vezes apresentam restrições no seu uso em razão de alguns fatores básicos, como ausência de anti-soros específicos de alta qualidade, freqüente indisponibilidade de plantas livres de vírus (utilizadas como controles negativos) e caracterização parcial das viroses de alho (Koch & Salomon, 1994; Dusi, 1995). A técnica de ISEM (microscopia eletrônica imuno-específica) tem sido utilizada com freqüência para diagnose de vírus em alho. Apesar da alta sensibilidade, esta técnica é trabalhosa para diagnose em larga escala (Conci et al., 1992).

A forma ideal de controle do mosaico do alho é a obtenção de plantas livres de vírus para posterior propagação. À semelhança de outras espécies de propagação vegetativa, a técnica de cultura de ápice caulinar tem sido empregada na obtenção de plantas de alho livres de vírus (Verbeek et al., 1995). A expressão "planta livre de vírus" deve ser entendida em sentido limitado, ou seja, livre de vírus para o qual a planta foi testada e indexada. Isto porque a cultura de ápice caulinar não garante a exclusão total de vírus, já que alguns deles podem estar presentes no meristema apical (Torres et al., 1998). Na verdade, o material vegetal deveria ser chamado "planta testada para vírus" em vez de "planta livre de vírus", considerando-se que as plantas livres de vírus não são imunes e podem, portanto, ser reinfectadas a qualquer nova exposição ao vírus.

Verbeek et al. (1995) demonstraram que alguns vírus são mais facilmente eliminados do que outros na mesma hospedeira. Estes autores excisaram ápices caulinares, de 0,15 a 1,0 mm, de alho infectado com um complexo viral, e estes foram regenerados e testados para a determinação da eficiência de eliminação do vírus. A eficiência de regeneração em plantas foi de 71% e a eliminação viral foi de 100% para LYSV, 92% para OYDV, 62% para GCLV e menos de 54% para OMbLV-G (estirpe do alho). A média de eliminação dos quatro vírus, em conjunto, foi de 38%.

A eficiência de eliminação do vírus aumenta com o decréscimo do tamanho do meristema excisado (Verbeek et al., 1995), porém tamanhos menores do que certo limite resultam em elevada falha de regeneração. A eficiência de eliminação de vírus também aumenta com a utilização da termoterapia antes da cultura de ápice caulinar (Peters et al., 1989; Torres et al., 1998). Conci & Nome (1991b) obtiveram 78% de regeneração de explantes e 14% de recuperação de plantas de alho livres de vírus, quando não empregaram termoterapia a 36°C por 40 dias. Porém, quando a termoterapia foi empregada, a regeneração de explantes caiu para 67% e a percentagem de recuperação de plantas livres de vírus subiu para 50%.

O mecanismo de eliminação de vírus pela cultura de meristema ainda não está satisfatoriamente esclarecido, não existindo explicação única que esclareça o fato de a cultura de meristema eliminar algumas viroses e outras não. O efeito da termoterapia estaria em diminuir a velocidade de replicação do vírus e assim viabilizar o desenvolvimento das células meristemáticas, sem que ocorra a infecção destas. A disseminação de partículas de vírus se faz principalmente pelos vasos condutores. No caso dos meristemas, os vasos condutores não estão ainda formados, existindo, portanto, grande chance de se conseguir a regeneração de plantas das regiões em que ainda não houve a contaminação viral (Conci & Nome, 1991b; Torres et al., 1998).

Existem, ainda, poucos trabalhos relatando que materiais sadios de alho são, potencialmente, mais produtivos e de melhor qualidade que os clones originais infectados com o complexo viral. Com a obtenção de plantas livres de vírus, provenientes de termoterapia e cultura de ápices caulinares e indexadas por sorologia, torna-se possível a determinação de ganho de

produtividade e de melhoria da qualidade, bem como da taxa de reinfecção do alho no campo.

Tanabe et al. (1999) demonstraram as vantagens obtidas ao se utilizar material sadio no plantio. A cv. Amaranthe testada, livre de vírus, originária do tratamento de termoterapia e cultura de ápice caulinar, mostrou melhor desempenho por três anos consecutivos e em dois locais diferentes, em relação à mesma cultivar originária de propagação convencional (por bulbilhos) e de lote comercialmente utilizado para plantio. O efeito da degenerescência foi evidente nos três anos testados. A produção total de bulbos caiu de 16,55 (1ª geração) para 12,0 t/ha (3ª geração) em Goiás e de 21,67 para 14,8 t/ha em experimento conduzido no Distrito Federal. Nos dois locais, a 3ª geração de campo foi ainda 55% superior ao alho do produtor. Diferenças percentuais semelhantes foram também observadas para peso médio de bulbos e produção de bulbos nas classes comerciais superiores.

Canavelli et al. (1998) relataram o efeito da infecção viral na produção de alho cv. Rosado Paraguayo, comparando plantas negativas (S) e positivas para três anti-soros (O+G+C), positivas para o anti-soro Gas, que não detecta OYDV e LYSV (G), positivas para OYDV (O), positivas para Gas e OYDV (G+O). Foram detectadas perdas pela comparação entre plantas sadias e infectadas. As perdas, em relação ao peso de bulbo, variaram de 43-53% para bulbos positivos com O+G+C, 24-39% para O, 28-44% para G e 25-43% para O+G. As reduções no perímetro dos bulbos foram: 20-22% para O+G+C, 11-15% para O, 12-18% para G e 10-17% para O+G. Os resultados referem-se às avaliações no primeiro e segundo ano, respectivamente, e o anti-soro C ao CLV.

Aumentos acentuados de produção têm sido verificados na maioria das comparações. A redução no peso do bulbo devido ao OYDV variou de 39% na cv. Germidour a cerca de 60% para duas outras cultivares. Para LYSV, a redução no peso de bulbos foi menor na cv. Messidrome (17%) e Germidour (26%) do que em Printanor (54%) (Lot et al., 1998).

Resende et al. (1995) avaliaram o comportamento, em condições de campo, de plantas de alho obtidas por cultura de ápice caulinar, sem termoterapia e sem indexação para viroses. No entanto, observaram

aumento de produtividade e melhoria de outras características agronômicas da cultura, como tamanho de bulbos e bulbilhos. Conforme a seleção clonal utilizada, foram obtidos maiores pesos médios de bulbos (até 62,19%) e produção comercial de bulbos (até 111,40%) em relação à testemunha, cultivar proveniente de multiplicação convencional.

Em estudo conduzido em campo por dois anos consecutivos, Carvalho et al. (1981) verificaram que o peso médio dos bulbos de alho cv. California Early decresceu em 12,9%, no primeiro ano, e em 13,1% no segundo (dados não cumulativos), como decorrência de reinfecção artificial pelo GYSV de um clone obtido por cultura de ápice caulinar. Nesses experimentos, as reduções na altura das plantas reinfestadas atingiram em média 10,6% ao final do primeiro ciclo de plantio e 8,2% ao final do segundo. Os autores concluíram que, se prevalecesse a tendência de queda dos rendimentos, o vigor vegetativo do clone ficaria seriamente comprometido decorridos alguns anos de plantios sucessivos.

Pavan et al. (1994) relataram que plantas individuais de determinadas cultivares ou plantadas em localidades com características particulares podem ser encontradas livres de vírus. Este tipo de material foi multiplicado em outras regiões, diferentes daquela de origem, e após duas gerações sucessivas no campo, o material selecionado apresentou aumento expressivo de produção e lenta reinfecção viral.

Os trabalhos desenvolvidos acenam com ganhos de produtividade que justificam plenamente o desenvolvimento de um sistema de produção de alho-semente livre de vírus. Também parece ser necessário que transcorram apenas alguns ciclos de produção até que a reinfecção (incidência) e/ou concentração viral na planta reinfestada aumente a um nível tal que implique em real prejuízo ao metabolismo da planta e acabe por refletir em queda de produção. Desta forma, fica evidente a necessidade de se avaliar o material ao longo de vários anos e em várias localidades, variáveis estas que influenciam a taxa de reinfecção e a degenerescência, pois implicam a presença de diferentes populações e concentrações de afídeos vetores de vírus. Os resultados de pesquisa também têm demonstrado que o ganho comparativo (receita) por hectare dos materiais provenientes de alho-

semente livre de vírus é altamente significativo, dando competitividade a essa atividade produtiva.

Taxas diferentes de degenerescência podem ocorrer em diferentes locais, podendo permitir a identificação de locais onde é possível ser feita produção de alho-semente com menores níveis de reinfecção por vírus, e, portanto, de melhor qualidade fitossanitária. Conseqüentemente, trabalhos futuros poderão indicar um zoneamento preferencial para produção de material de propagação de alho originalmente livre de vírus. Além da infecção viral estar ligada à transmissão por gerações sucessivas de planta a planta, é também possível que ocorra entre plantas em um mesmo ciclo, gerando possíveis contaminações virais em materiais sadios expostos no campo.

Também existe a necessidade de se determinar qual ou quais os vírus que reinfectam o alho. Deste modo, pode-se ter uma idéia do efeito de cada espécie de vírus na cultura ou mesmo da combinação deles na degenerescência, pois alguns vírus (*Potyvirus*) podem afetar mais a produtividade do alho do que outros (*Carlavirus*) (Lot el al., 1998). É necessário, ainda, a inclusão de novas cultivares de alho em ensaios adicionais, verificando-se o efeito da degenerescência nessas cultivares, pois esta pode variar de acordo com a interação vírus-genótipo de alho.

Informações sobre ganhos de produtividade, associados a dados de degenerescência, permitirão que sejam estabelecidos alguns parâmetros para no futuro, poder-se calcular a viabilidade econômica de um programa de produção de bulbilhos de alho-semente livres de vírus, a exemplo do que hoje existe para outras culturas de propagação vegetativa, como a batata.

Um programa envolvendo cultura de tecidos e multiplicação controlada deverá ser contínuo para que não se interrompa o suprimento de material propagativo sadio ao agricultor. A substituição do alho-semente utilizado por novos lotes deverá ser feita assim que o clone em exploração, durante alguns anos, sofrer significativa redução de produtividade em decorrência da reinfecção que certamente ocorrerá (Carvalho, 1986). Somente a pesquisa pode determinar se no Brasil, e em seus mais diversos agroecossistemas onde o alho é plantado, a queda da produtividade pode ser tolerada por dois, três ou mais anos, depois do surgimento dos primeiros sintomas no clone recontaminado, como parece indicar resultados experimentais. Ao

agricultor esclarecido caberá adotar medidas fitossanitárias, visando prolongar a duração do estado avirótico e, portanto, de maior produtividade dos clones livres de vírus que, como se espera, não tardam em se tornar comercialmente disponíveis aos agricultores no Brasil.

## **NANISMO AMARELO, MOSAICO EM FAIXAS OU CRESPEIRA DA CEBOLA**

**Vírus do nanismo amarelo da cebola (OYDV - *Onion yellow dwarf virus*)**

O vírus do nanismo amarelo da cebola (OYDV - *Onion yellow dwarf virus*) foi relatado pela primeira vez em 1919, em West Virginia (EUA), mas foi primeiramente nomeado e descrito como doença viral em 1929, em Iowa (EUA). No Brasil, o primeiro relato ocorreu em 1966, tendo sido constatado em plantações de cebola em Indaiatuba, Piedade e São José do Rio Pardo, no Estado de São Paulo, predominando nas plantações de soqueira. Posteriormente, o vírus foi detectado em plantio de cebola na região de Igarapé, Minas Gerais. A identidade do vírus foi confirmada por inclusões citoplasmáticas do tipo catavento, típicas do gênero *Potyvirus*, por reação sorológica contra o anti-soro do OYDV, por inoculações mecânicas e por afídeos, além dos sintomas externos característicos da virose.

Esta doença tem sido relatada na maioria dos países produtores de cebola, podendo reduzir a produção e a qualidade de semente e bulbos de plantas afetadas. O vírus também foi identificado em algumas cultivares de alho, mas seus efeitos nesta cultura não são muito claros, uma vez que as plantas normalmente são infectadas por um complexo viral (Assis & Maciel-Zambolim, 1995; Davis, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

No Brasil, apenas OYDV e IYSV (*Iris yellow spot virus*) foram relatados infectando cebola. Entretanto, em outros países, outros vírus, aparentemente com menor expressão econômica ou de ocorrência esporádica, foram relatados em cebola, a exemplo do *Potyvirus* SYSV (*Shallot yellow stripe virus*) e do *Carlavirus* SLV (*Shallot latent virus*) (van Dijk, 1993a,b).

## Etiologia

OYDV é uma espécie do gênero *Potyvirus*, da família *Potyviridae*. Possui RNA de fita simples, senso positivo (infectivo), monopartido, tendo a proteína da capa cerca de 30 kDa de peso molecular. O vírus causador do nanismo amarelo em cebola possui partículas alongadas e flexuosas de, aproximadamente, 722 a 820 nm de comprimento por 16 nm de diâmetro (Bos, 1976). Ao microscópio ótico podem ser observadas inclusões circulares a ligeiramente alongadas associadas aos tecidos infectados, enquanto ao microscópio eletrônico é possível observar inclusões tipo cataventos e partículas isoladas do vírus associadas a vesículas. O ponto de inativação térmica do vírus em extrato foliar é de 60 a 65°C, a longevidade in vitro é de 2 a 3 dias e o ponto final de diluição varia entre  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  (Assis & Maciel-Zambolim, 1995; Davis, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

Conci et al. (1999) relataram estreito relacionamento sorológico entre as duas estirpes de OYDV provenientes de cebola (OYDV-O) e alho (OYDV-G). Não foi verificada diferença na mobilidade eletroforética da proteína capsidial dessas duas estirpes, e, pela comparação da sequência de aminoácidos da capa protéica, verificou-se 88% de homologia entre as estirpes de OYDV do alho e da cebola (Kobayashi et al., 1996). Entretanto, diferença significativa foi verificada em relação às propriedades biológicas dessas duas estirpes. OYDV-O não infecta o alho, ou, quando muito, a infecção ocorre com extrema dificuldade; a recíproca é válida para OYDV-G e cebola (Conci et al., 1999).

## Hospedeiras

A gama de hospedeiras deste vírus é pequena, incluindo basicamente espécies da família Liliaceae (sin. Alliaceae), como cebola (*Allium cepa*), alho (*A. sativum*), algumas espécies ornamentais do gênero *Allium* e chalota (*A. cepa* var. *ascalonicum*), nesta última causando mosaico e nanismo severos. No Brasil é também relatado em cebolinha (*A. fistulosum*) (Assis & Maciel-Zambolim, 1995; Davis, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

## Sintomas

As plantas de cebola infectadas com OYDV são, geralmente, de porte menor que o normal e apresentam clorose generalizada quando comparadas com as sadias. As folhas apresentam mosaico, estrias cloróticas longitudinais e deformações, como dobras e flacidez. As folhas podem se apresentar completamente amareladas. Hastes florais afetadas também mostram intenso amarelecimento, enrolamento e enrugamento; formam inflorescências menores e com menor número de flores, culminando com a produção de sementes de baixa qualidade. Os bulbos produzidos pelas plantas doentes são menores que os normais, acarretando diminuição da produção (Assis & Maciel-Zambolim, 1995; Davis, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

## Epidemiologia

OYDV é transmitido, de maneira não persistente, por mais de 50 espécies de afídeos (pulgões), dentre eles *Aphis gossypii* Glov., *Macrosiphum ambrosiae* Thos. e *Myzus persicae* Sulz. A disseminação da doença no campo, quando o inóculo está presente, pode ser explicada pela migração dos afídeos de fora para dentro da plantação, uma vez que afídeos, normalmente, não colonizam a cebola. Os afídeos, ao visitarem uma planta doente, adquirem o vírus e transmitem-no a plantas sadias, sem que venham a formar colônias na planta.

Embora o ataque às hastes florais danifique as inflorescências e flores, produzindo sementes de baixa qualidade, o vírus não é transmitido por sementes ou pólen. Experimentalmente, o OYDV é transmitido mecanicamente entre plantas de cebola por meio de extrato foliar tamponado.

O vírus mantém-se em bulbos, canteiros de mudas e plantas voluntárias e é transmitido, basicamente, por meio da propagação vegetativa da cultura, ou seja, por bulbos infectados. O agricultor geralmente utiliza para plantio pequenos bulbos rejeitados da safra anterior (conhecidos por soqueira), o que pode aumentar a probabilidade de serem provenientes de plantas infectadas e constituírem fonte de inóculo.

Diversas cultivares de cebola são suscetíveis ao vírus, dentre elas Baia Ouro, Baia Dura, Baia Periforme, Conquista, EMPASC 351, Jubileu, Norte 14, Pêra IPA 1, Pêra IPA 2, Pêra IPA 4, Pêra IPA 6 e Red Creole.

As perdas variam de acordo com o momento da infecção. Mudas infectadas podem formar bulbos muito pequenos ou mesmo não chegar a formar bulbos, enquanto plantas infectadas, durante o ciclo da cultura, podem produzir bulbos bem formados, que são pouco menores do que aqueles provenientes de plantas sadias (Assis & Maciel-Zambolim, 1995; Davis, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

## Controle

As medidas de controle para esta virose baseiam-se no cultivo em áreas livres do vírus, longe de culturas ou plantas voluntárias (plantas sobreviventes de safra anterior) infectadas. Deve-se evitar o plantio de cebolinha (*Allium fistulosum* L.) nas proximidades dos cultivos de cebola, pois a cebolinha pode ser fonte provável de OYDV.

O controle dos vetores com inseticida não é eficiente, uma vez que o vírus é rapidamente transmitido de forma não persistente. Pode-se optar pela eliminação de plantas hospedeiras de afídeos próximas aos plantios de cebola.

Em virtude do tipo de relação vírus-vetor não persistente e do fato de a virose ser limitada a plantas do gênero *Allium*, a rotação de culturas é medida de controle eficiente. A semeadura direta é mais indicada para o controle da virose que a propagação vegetativa, já que o vírus não é transmitido pela semente. Porém, optando-se pela propagação vegetativa, deve-se ter certeza de que os bulbos utilizados no plantio são oriundos de plantas sadias.

Outras medidas incluem a erradicação de todas as plantas com sintomas da virose e a indexação do material de propagação vegetativa (mudas), além da obtenção de clones livres do vírus, por meio da cultura de tecidos, à semelhança do que é feito em relação ao alho.

Algumas cultivares de cebola são mais tolerantes ao OYDV do que outras, e podem ser usadas para reduzir as perdas no cultivo. Assim, sempre que for possível, deve-se optar pelo plantio de cultivares tolerantes, tais como

Granex Precoce, Híbrida Granex Ouro, Pêra IPA 3, Roxa do Barreiro, São Paulo, Tupungato, Mutuali IPA 8 e Texas Grano 502 PRR. Deve-se também evitar a introdução de bulbos e/ou soqueira de regiões onde a doença ocorre (Assis et al., 1993; Assis & Maciel-Zambolim, 1995; Davis, 1995; Nunes & Kimati, 1997).

## **SAPECA**

### **Vírus do vira-cabeça do tomateiro (IYSV - *Iris yellow spot virus*)**

Em 1981, um vírus do gênero *Tospovirus* foi encontrado infectando cebola no Rio Grande do Sul (Ávila et al., 1981). Não foram relatadas novas infecções de *Tospovirus* até 1994, quando infecções severas em campos de cebola foram relatadas no Sub-Médio São Francisco nos Estados da Bahia e Pernambuco (Pozzer et al., 1994). A ocorrência de um isolado distinto de *Tospovirus* infectando cebola foi também relatada nos Estados Unidos (Hall et al., 1993).

## **Etiologia**

*IYSV* é um vírus do gênero *Tospovirus*, família *Bunyaviridae*. É representante de um importante grupo de vírus que infecta uma gama de hospedeiras extremamente ampla. O gênero é composto atualmente de doze espécies distintas de vírus, causando prejuízos em várias culturas de importância econômica. Os vírus apresentam partículas quase isométricas (70 a 120 nm) envoltas por uma membrana de lipídeos, sendo seu genoma tripartido formado por três segmentos de RNA fita simples, apresentando organização genômica negativa e ambisenso (Ávila, 1993). A caracterização do isolado de *Tospovirus* capaz de infectar cebola, baseada em sorologia com anti-soro específico e seqüenciamento da proteína do nucleocapsídeo (proteína N), mostrou que esse isolado tem relacionamento estreito com a espécie IYSV descrita em íris na Holanda. Considerando que a identidade de aminoácidos na proteína N entre o isolado de cebola e o IYSV é ligeiramente superior a 90%, ele foi considerado um isolado dessa espécie de *Tospovirus* (Pozzer et

al., 1999). No entanto, a diferença de quase 10% nessa homologia parece indicar que o isolado de cebola adaptou-se a sua nova hospedeira em diferentes condições ambientais. Essas diferenças são também confirmadas devido às variações na gama de hospedeiras e na sintomatologia causadas pelos isolados de íris e cebola.

## Hospedeiras

Além da cebola (*Allium cepa*), recentemente foi mostrado que o IYSV é também capaz de infectar plantas da ornamental íris (*Iris hollandica* Tub.) e alho-porró (*A. ampeloprasum* var. *porrum*), como relatado na Holanda e em Israel (Pozzer et al., 1999).

## Sintomas

Os sintomas de IYSV isolado de cebola iniciam na forma de manchas necróticas anelares nas folhas e nas hastes florais, o que provoca morte de todas as flores da planta infectada. Com o desenvolvimento da infecção, a planta torna-se amarelada com aspecto seco, o que deu origem ao nome "Sapeca", como é conhecida a doença pelos produtores. A infecção da cultura no início do ciclo frequentemente causa perda total da produção, não havendo produção de bulbos comerciais. A produção de sementes também é muito prejudicada, uma vez que as plantas infectadas apresentam abortamento ou morte das flores.

## Epidemiologia

Durante a última década, a área irrigada da Bacia do São Francisco (BA e PE) tornou-se região importante para cultivo de produtos como cebola, tomate, pimentão e alface. Esta região é caracterizada pelo clima semi-árido com altas temperaturas, fato que favorece a manutenção de altas populações de tripses durante todo o ano. Como *Tospovirus* são transmitidos com alta eficiência por esses insetos de maneira circulativa propagativa, tal ambiente é extremamente favorável à disseminação de vírus. Experimentos

de transmissão indicam que o IYSV isolado de cebola é transmitido por *Thrips tabaci*, espécie predominante no campo colonizando plantas de cebola na região (Pozzer et al., 1999). *T. tabaci* também é o principal vetor do isolado de IYSV, encontrado na Holanda em plantas ornamentais.

## Controle

O impacto econômico desse vírus no Brasil pode se tornar severo, uma vez que frequentemente a incidência da doença causa 100% de perdas na cultura. As medidas de controle baseiam-se no cultivo em áreas livres do vírus, longe de culturas ou plantas voluntárias infectadas. No entanto, existe dificuldade na implantação desse tipo de manejo por desconhecimento de hospedeiras alternativas do vírus.

Devido à relação circulativa propagativa entre o vírus e seu vetor, o controle dos vetores com inseticida pode ser eficiente. Entretanto, não existem no mercado produtos com alta eficiência para o combate a tripes. Além disso, estes insetos apresentam resistência aos principais inseticidas utilizados atualmente no seu controle. Portanto, a eliminação de plantas hospedeiras de tripes próximas aos plantios de cebola deve ser prática constante.

Em virtude do tipo de relação vírus-vetor e do fato de a virose ser limitada a um grupo restrito de plantas hospedeiras, a rotação de culturas pode ser uma medida eficiente de controle.

Não se têm notícias sobre a eficiência da técnica de cultura de tecidos na geração de clones livres de IYSV; todavia, sempre deve-se partir de material comprovadamente sadio para a implantação da cultura. Um sistema de indexação pode facilmente ser implantado para este vírus, pois a sorologia com anti-soros específicos para *Tospovirus* é bastante eficiente (Ávila, 1993).

Como o problema causado por IYSV em cebola é relativamente recente, cultivares resistentes não estão ainda disponíveis no mercado. No entanto, esta é a principal medida de controle para esse vírus, principalmente considerando-se que o vetor encontra condições favoráveis a seu desenvolvimento durante todo o ano, nas principais regiões produtoras de cebola do país.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, M.I.T.; CARVALHO, M.G. & MACIEL-ZAMBOLIM, E. Cultivares de *Allium cepa* sensíveis ou tolerantes ao vírus do nanismo amarelo da cebola, OYDV. **Fitopatol. Bras.** 18(supl.):287. 1993.
- ASSIS, M.I.T.; CARVALHO, M.G. & MACIEL-ZAMBOLIM, E. Detecção do vírus do nanismo amarelo da cebola (OYDV), em clones de alho (*Allium sativum*) mediante dois testes sorológicos. **Fitopatol. Bras.** 20:469-472. 1995.
- ASSIS, M.I.T. & MACIEL-ZAMBOLIM, E. Doenças causadas por vírus em cebola. **Inf. Agropec.** 17:50-51. 1995.
- ÁVILA, A.C.; KITAJIMA, E.W.; GAMA, M.I.C.S. & REIFSCHNEIDER, F.J.R. Vírus do grupo vira-cabeça do tomateiro isolado de cebola (*Allium cepa* L.). **Fitopatol. Bras.** 6:535. 1981.
- ÁVILA, A.C. Vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): organização do genoma, taxonomia, diagnose e controle. **Hort. Bras.** 11:179-183. 1993.
- BOS, L. Onion yellow dwarf virus. In: C.M.I./A.A.B. **Descriptions of Plant Viruses** 158. England, 1976. 4p.
- CANAVELLI, A.; NOME, S.F. & CONCI, V.C. Efecto de distintos virus en la producción de ajo (*Allium sativum*) Rosado Paraguay. **Fitopatol. Bras.** 23:354-358. 1998.
- CARVALHO, M.G.; SHEPHERD, R.J. & HALL, D.H. Decréscimo da produtividade do alho como resultado de reinfecção pelo garlic yellow stripe virus. **Fitopatol. Bras.** 6:525-526. 1981.
- CARVALHO, M.G. Viroses do alho. **Inf. Agropec.** 12:41-46. 1986.
- CONCI, V.C. & NOME, S.F. Aislamiento del garlic yellow streak virus en Argentina. **Fitopatologia** 26:19-22. 1991a.
- CONCI, V.C. & NOME, S.F. Virus free garlic (*Allium sativum* L.) plants obtained by thermotherapy and meristem tip culture. **Journal of Phytopathology** 132:186-192. 1991b.
- CONCI, V.C.; NOME, S.F. & MILNE, R.G. Filamentous viruses of garlic in Argentina. **Plant Dis.** 76:594-596. 1992.

- CONCI, V.C.; HELGUERA, M. & NOME, S.F. Serological and biological comparison of onion yellow dwarf virus from onion and garlic in Argentina. **Fitopatol. Bras.** 24:73-75. 1999.
- DANIELS, J. Ocorrência de vírus em alho no Rio Grande do Sul. **Fitopatol. Bras.** 24:91. 1999.
- DAVIS, R.M. *Diseases caused by viruses and mycoplasma-like organisms*. In: SCHWARTZ, H.F. & MOHAN, S.K. (ed.). **Compendium of onion and garlic diseases**. St. Paul, APS Press. 1995. p.40-42.
- DUSI, A.N.; FAJARDO, T.V.M. & CUPERTINO, F.P. Serological identification of garlic (*Allium sativum* L.) viruses in Brazil. **Fitopatol. Bras.** 19(supl.):298. 1994.
- DUSI, A.N. Doenças causadas por vírus em alho. **Inf. Agropec.** 17:19-21. 1995.
- EMATER. **Instruções técnicas para o cultivo do alho em Minas Gerais**. Belo Horizonte, EMATER-MG. 1995. 28p.
- FAJARDO, T.V.M.; ÁVILA, A.C.; BUSO, J.A. & RESENDE, R. O. Identification of two potyviruses in mixed infection of garlic plants by molecular techniques. **Fitopatol. Bras.** 22(supl.):334. 1997a.
- FAJARDO, T.V.M.; ÁVILA, A.C.; BUSO, J.A. & RESENDE, R. O. Molecular characterization of garlic common latent virus (GCLV), a *Carlavirus*, in garlic viral complex. **Fitopatol. Bras.** 22(supl.):334. 1997b.
- GAMA, M.I.C.S. & ÁVILA, A.C. Detecção de vírus em alho por látex sensibilizado e microscopia eletrônica imuno-específica. **Fitopatol. Bras.** 13:66-69. 1988.
- HALL, J.M.; MOHAN, S.; KNOTT, E.A. & MOYER, J.W. Tospoviruses associated with scape blight of onion (*Allium cepa*) seed crops in Idaho. **Plant Dis.** 77:952. 1993.
- HELGUERA, M.; BRAVO-ALMONACID, F.; KOBAYASHI, K.; RABINOWICZ, P.D.; CONCI, V. & MENTABERRY, A. Immunological detection of a GarV-type virus in Argentine garlic cultivars. **Plant Dis.** 81:1005-1010. 1997.
- KOBAYASHI, K.; RABINOWICZ, P.; BRAVO-ALMONACID, F.; HELGUERA, M.; CONCI, V.; LOT, H. & MENTABERRY, A. Coat

- protein gene sequences of garlic and onion isolates of the onion yellow dwarf potyvirus (OYDV). **Archives of Virology** 141:2277-2287. 1996.
- KOCH, M. & SALOMON, R. Serological detection of onion yellow dwarf virus in garlic. **Plant Dis.** 78:785-788. 1994.
- LOPES, C.A.; CHARCHAR, J.M. & FAJARDO, T.V.M. Doenças do alho. In: MENEZES SOBRINHO, J.A. (ed.). **Cultivo do alho (*Allium sativum*)**. 3.ed. Brasília, EMBRAPA. 1997. p.14-18. (Instruções Técnicas da EMBRAPA Hortalças, 2).
- LOT, H.; CHOVELON, V.; SOUCHE, S. & DELECOLLE, B. Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. **Plant Dis.** 82:1381-1385. 1998.
- MURPHY, F.A.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; GHABRIAL, S.A.; JARVIS, A.W.; MARTELLI, G.P.; MAYO, M.A. & SUMMERS, M.D. (eds.). Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Sixty Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology** (suppl. 10). Springer-Verlag/Wien. 1995. 586p.
- MYERS, J.M.; SIMON, P.W.; FONSECA, M.E.N. & BOITEUX, L.S. Evaluation of garlic germplasm for OYDV and LYSV infection using dot blot ELISA. **HortScience** 32:469. 1997.
- NUNES, M.E.T. & KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola (*Allium sativum* L. e *Allium cepa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. (eds.). **Manual de fitopatologia**. v.2. Doenças das Plantas Cultivadas. 3.ed. São Paulo. Ceres. 1997. p.49-64.
- PAVAN, M.A.; GUIMARÃES, A.M.; KAMITSUJI, M.K. & MATSUMOTO, S.N. Amostragem da incidência de viroses em cultivares de alho nobre (*Allium sativum* L.) provenientes em regiões produtoras do Estado de Santa Catarina. **Fitopatol. Bras.** 14:136. 1989.
- PAVAN, M.A.; KIMOTO, T.; VEGA, J. & GUIMARÃES, A.M. Ocorrência natural de plantas livre de vírus em alho-nobre cultivar Quitéria. **Summa Phytopathologica** 20:49. 1994.

- PETERS, J.A.; CASTRO, L.A.S.; GARCIA, A. & PATELLA, A.E.C. Cultura de meristemas e indexação de plantas de alho. **Horti Sul** 1:36-41. 1989.
- POZZER, L.; NAGATA, T.; LIMA, M.I.; KITAJIMA, E.W.; RESENDE, R.O. & ÁVILA, A.C. "Sapeca": an onion disease in the Sub-Médio São Francisco region, Brazil, is caused by a tospovirus with a serologically distinct nucleocapsid protein. **Fitopatol. Bras.** 19:321. 1994.
- POZZER, L.; BEZERRA, I.C.; KORMELINK, R.; PRINS, M.; PETERS, D.; RESENDE, R.O. & ÁVILA, A.C. Characterization of a tospovirus isolate of iris yellow spot virus associated with a disease in onion fields in Brazil. **Plant Dis.** 83:345-350. 1999.
- RESENDE, F.V.; SOUZA, R.J. & PASQUAL, M. Comportamento em condições de campo de clones de alho obtidos por cultura de meristema. **Hort. Bras.** 13:44-46. 1995.
- SIQUEIRA, W.J.; TAVARES, M. & TRANI, P.E. **Variedades de alho para o Estado de São Paulo**. Campinas, Instituto Agrônômico. 1996. 26p. (Boletim Técnico, 165).
- SOSA, C.; MUNÓZ, J.; NAVELINO, P. & GONZÁLEZ, H. Evaluation of re-infection by virus in virus-free garlic Rosado Paraguayo grown in Cordoba. Survey of vectors. In: **First International Symposium on Edible Alliaceae. Abstracts...** Mendoza, Argentina. 1994. p.122.
- TAKAICHI, M.; YAMAMOTO, M.; NAGAKUBO, T. & OEDA, K. Four garlic viruses identified by reverse transcription-polymerase chain reaction and their regional distribution in northern Japan. **Plant Dis.** 82:694-698. 1998.
- TANABE, C.M.N.; FAJARDO, T.V.M.; BUSO, J.A.; ÁVILA, A.C.; TORRES, A.C. & RESENDE, R.O. A degenerescência em campo causada por vírus na cultura do alho (*Allium sativum* L.). **XXXII Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. Curitiba, PR. 1999. (Res. 692).
- TORRES, A.C.; TEIXEIRA, S.L. & POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. & BUSO, J.A. (eds.). **Cultura de tecidos e**

**transformação genética de plantas.** v.1. Brasília, EMBRAPA-SPI/CNPH. 1998. p.133-145.

TSUNEYOSHI, T. & SUMI, S. Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue blotting immunoassays. **Phytopathology** 86:253-259. 1996.

TSUNEYOSHI, T.; MATSUMI, T.; NATSUAKI, K.T. & SUMI, S. Nucleotide sequence analysis of virus isolates indicates the presence of three *Potyvirus* species in *Allium* plants. **Archives of Virology** 143:97-113. 1998.

VAN DIJK, P. *Carlavirus* isolates from cultivated *Allium* species represent three viruses. **Netherlands Journal of Plant Pathology** 99:233-257. 1993a.

VAN DIJK, P. Survey and characterization of Potyviruses and their strains of *Allium* species. **Netherlands Journal of Plant Pathology** 99(suppl. 2):1-48. 1993b.

VERBEEK, M.; van DIJK, P. & van WELL, P.M.A. Efficiency of eradication of four viruses from garlic (*Allium sativum*) by meristem-tip culture. **European Journal of Plant Pathology** 101:231-239. 1995.