

ELEN BONILHA DE SOUZA

**PANORAMA ATUAL DOS VÍRUS QUE INFECTAM A CULTURA DA BATATA NO
ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área de conhecimento: Fitopatologia)

Orientadora: Danielle Ribeiro de Barros

Coorientador: Cesar Bauer Gomes

Pelotas, 2012

Banca examinadora:

Dra. Danielle Ribeiro de Barros (Orientadora)
Universidade Federal de Pelotas

Dra. Gloria Patricia Castillo Urquiza
Universidade Federal de Viçosa

Dra. Cândida Renata Jacobsen de Farias
Universidade Federal de Pelotas

Dr. Cesar Bauer Gomes
Embrapa Clima temperado

*Aos meus pais
Airton e Jussara (in memorian)*

Dedico e Ofereço

A minha orientadora, Dra. Danielle Ribeiro de Barros, pela orientação, pelos ensinamentos, apoio incondicional, por ter acreditado e confiado em mim durante toda pós graduação e pela amizade;

Ao meu coorientador, Dr. Cesar Bauer Gomes, pela orientação e por ter possibilitado a realização desse trabalho;

A minha coorientadora, Dra. Juliana Aparecida Fernando, pela disponibilidade em me orientar;

A professora, Dra. Andrea Bittencourt Moura Bacarin, por gentilmente ceder, por incontáveis vezes, à utilização do Laboratório de Biologia Molecular;

Ao professor, Dr. Murilo Zerbini, que colaborou para a realização desse trabalho, gentilmente disponibilizando o Laboratório de Virologia Vegetal Molecular;

Ao professor, Dr. Cesar Rombaldi, que gentilmente disponibilizou o Laboratório de Ciência e Tecnologia de Frutos e Hortaliças;

A Dra. Gloria Patricia Castillo Urquiza, por todo apoio durante a execução desse trabalho;

Ao pesquisador Luis Antônio Suita de Castro e os funcionários Nara e Valter, que gentilmente cederam e colaboraram com os trabalhos no Laboratório de Imunologia e Microscopia Eletrônica, da Embrapa Clima Temperado;

Aos professores do PPGFS pelos ensinamentos repassados;

A secretária do PPGFS, Neide Quevedo, por gentilmente auxiliar nas questões burocráticas e financeiras;

Ao funcionário Serginho, sempre disponível, colaborando para o bom funcionamento da estrutura e funcionamento dos laboratórios, sempre de maneira gentil e prestativa;

A estudante, Andressa Calderan, estagiária do Laboratório de Virologia Vegetal, pelo auxílio prestado;

Aos colegas Israel Lima e Victor Casa que acompanharam e apoiaram a etapa de coleta de amostras;

Aos demais colegas do PPGFS, que dividiram comigo todos os momentos (difíceis, de descontração, de apuro) vivenciados ao longo do curso;

A colega e amiga Priscila Rossatto, por estar ao meu lado em todos os momentos da minha pós graduação, pelo auxílio, apoio e carinho;

As minhas amigas e colegas de profissão, Caroline Leal, Jutiane Wollmann e Violeta Cavaleiro que sempre me acompanharam e me apoiaram durante esse percurso;

A minha família, minha maior incentivadora, que sempre acreditou em mim.

Meu carinhoso, sincero e eterno, MUITO OBRIGADA!

Resumo

SOUZA, Elen Bonilha de. **Panorama atual dos vírus que infectam a cultura da batata no estado do Rio Grande do Sul**. 2012. 44f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

O Rio Grande do Sul é o quarto maior produtor nacional de batata inglesa, contribuindo com 10% da produção nacional, sendo as regiões produtoras no estado agrupadas em três: Sul, Central e Norte/Nordeste/Serra/Hortênsias. A produtividade no estado, embora tenha aumentado nos últimos anos, ainda é considerada baixa, quando comparada ao principal estado produtor, Minas Gerais. Entre os fatores que concorrem para isso destaca-se a falta de melhor sanidade das lavouras, fruto do uso de semente degenerada cuja principal causa é a infecção por vírus. O controle destes patógenos requer a adoção de medidas preventivas como, certificação de batata semente, métodos especiais de cultivo, controle dos vetores e utilização, preferencialmente, de cultivares com algum grau de resistência. Sendo fundamental para esse manejo o conhecimento dos vírus e as estirpes prevaletentes na região. Contribuindo para isso, o objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento das principais viroses, presentes na cultura da batata no estado do Rio Grande do Sul, a fim de fornecer um panorama da distribuição e identificação desses patógenos. O foco principal foi a verificação da presença do gênero *Begomovirus*, que inclui espécies com um ou dois componentes genômicos (DNA-A e DNA-B) transmitidas pela “mosca-branca” *Bemisia tabaci* para espécies dicotiledôneas. Além disso, verificou-se a ocorrência de *Potato leaf roll vírus* (PLRV), *Potato vírus Y* (PVY), *Potato vírus X* (PVX) e *Potato vírus S* (PVS). Os resultados apresentados não detectaram a presença de begomovirus, mas constataram a presença dos demais vírus aqui estudados, logo reforçam a necessidade de um monitoramento constante, bem como da adoção de material propagativo de qualidade sanitária e controle de vetores.

Palavras chave: Begomoviroses, PLRV, PVY, PVX e PVS

Abstract

SOUZA, Elen Bonilha de. **Current landscape of the viruses that infect the potato crop in the state of Rio Grande do Sul.** 2012. 44f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

The Rio Grande do Sul is the fourth largest producer of potatoes, contributing 10% of national production, and producing regions in the state divided into three: South, Central and North / Northeast / Sierra / hydrangeas. Productivity in the state, although it has increased in recent years, is still considered low when compared to the main producing state, Minas Gerais. Among the factors that contributes to it highlights the lack of a better health of crops, due to the use of degenerate seed whose main cause is infection by viruses. The control of these pathogens requires the adoption of preventive measures such as certification of seed potatoes, special methods of cultivation, use and control of vectors, preferably cultivars with some degree of resistance. Being central to this management knowledge of viruses and strains prevalent in the region. Contributing to this, the aim of this study was to survey the main viruses present in the potato crop in the state of Rio Grande do Sul, in order to provide an overview of the distribution and identification of these pathogens. The main focus was to verify the presence of the genus Begomovirus, which includes species with one or two genomic components (DNA A and DNA-B) transmitted by the "whitefly" *Bemisia tabaci* to dicotyledonous species. In addition, we verified the occurrence of Potato leaf roll virus (PLRV), Potato virus Y (PVY), Potato virus X (PVX) and Potato virus S (PVS). The results presented have not detected the presence of begomovirus, but noted the presence of other viruses studied here, just reinforce the need for constant monitoring, as well as the adoption of grafts quality health and vector control.

Keywords: Begomoviroses, PLRV, PVY, PVX e PVS

Lista de Figuras

- Figura 1 – Representação gráfica do genoma de um *Begomovirus* típico.....16
- Figura 2 – Mapa do estado do Rio Grande do Sul. Os pontos em vermelho representam os municípios em que foram realizadas as coletas.....22
- Figura 3 – Percentagem de amostras positivas para PLRV, PVX, PVY e PVS das regiões Sul e Central do Estado do Rio Grande do Sul.....32

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Comparação das áreas plantadas dos principais municípios produtores de batata do Rio Grande do Sul nos anos de 1995, 2000 e 2010.....	11
Tabela 2 – Cidades e número de amostras coletadas nas principais regiões produtoras de batata no Estado do Rio Grande do Sul.....	21
Tabela 3 – Resultados das 29 amostras positivas, com caracterização da cultivar e conforme região de coleta.....	31

Sumário

Resumo.....	5
Abstract.....	6
1. Introdução.....	10
2. Capítulo I Levantamento de <i>Begomovirus</i> na cultura da batata nas principais regiões produtoras do Estado do Rio Grande do Sul.....	14
2.1 Introdução	14
2.2 Material e métodos.....	20
2.2.1 Coleta de amostras.....	20
2.2.2 Extração e Amplificação de DNA por PCR.....	22
2.2.3 Amplificação de DNA por RCA.....	22
2.3 Resultados e discussão.....	23
2.4 Conclusão	25
3. Capítulo II Levantamento de <i>Potato leaf roll vírus</i> (PLRV), <i>Potato virus Y</i> (PVY), <i>Potato vírus X</i> (PVX) e <i>Potato virus S</i> (PVS) em batata, nas regiões Central e Sul do estado do Rio Grande do Sul.....	26
3.1 Introdução	26
3.2 Material e métodos	29
3.2.1 Coleta de amostras	29
3.2.2 Teste Sorológico.....	29
3.3 Resultados e Discussão	29
3.4 Conclusão	33
4. Conclusões.....	35
Referências	36
Anexos.....	43

1 - Introdução

A cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) foi domesticada nas proximidades do lago Titicaca, perto das fronteiras de Peru e Bolívia. No século XV, os colonizadores espanhóis desta região levaram os primeiros tubérculos rumo à Europa. Desde então, esta prática de movimentação de tubérculos vem sendo feita em diversas partes do mundo.

A batata é uma planta dicotiledônea, pertencente à família *Solanaceae*, gênero *Solanum*, o qual contém mais de 2.000 espécies, das quais pouco mais de 150 são produtoras de tubérculos. Entre as cultivadas, a mais importante economicamente produzida no mundo é a espécie *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*, que é cultivada em pelo menos 140 países (FORTES; PEREIRA, 2003).

Há alguns anos a batata vem sendo considerada o quarto alimento mais consumido do mundo, atrás somente das culturas do arroz, trigo e milho (SINGH, 1999). A batata é um dos principais alimentos para a humanidade, sendo consumida por mais de um bilhão de pessoas. Ásia e Europa são os maiores produtores e responsáveis por 80% da produção mundial.

Em 2010, a produção mundial passou dos três bilhões de toneladas. No Brasil, neste mesmo ano, a produção foi de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2010). A batata é cultivada em praticamente todos os estados brasileiros e em diferentes épocas do ano.

O Rio Grande do Sul é o quarto maior produtor nacional de batata inglesa, contribuindo com 10% da produção nacional (IBGE, 2011), sendo Minas Gerais, Paraná e São Paulo, respectivamente, os três primeiros. O cultivo da batata no estado vem experimentando grandes transformações, especialmente a partir de

meados da década de 90, quando os efeitos da globalização econômica, a crise do modelo agrícola tradicional de desenvolvimento e a mecanização do trabalho, atingiram, diretamente, a agricultura familiar.

Os pequenos produtores de batata do sul do Brasil e, de forma contundente do Rio Grande do Sul, vêm sendo excluídos aceleradamente do processo produtivo. Produtores e técnicos apontam, ainda, a comercialização e os crescentes custos de produção da lavoura, como as principais dificuldades da batata gaúcha competir em escala com a produção do centro sul (FIOREZE, 2003).

As regiões produtoras no estado podem ser agrupadas em três: Sul, Central e Norte/Nordeste/Serra/Hortênsias (FIOREZE, 2003). Entre os 13 municípios gaúchos que possuem maior produção, é notável a drástica redução da área colhida, nos últimos 15 anos, de 11 municípios, apresentando aumento da área apenas Lagoa Vermelha e São Francisco de Paula (tab. 1).

Tabela 1. Comparação das áreas plantadas dos principais municípios produtores de batata do Rio Grande do Sul nos anos de 1995, 2000 e 2010.

Município	Área. ha ⁻¹	Área. ha ⁻¹	Área. ha ⁻¹	Diferença (%) (1995-2010)
	1995	2000	2010	
São Lourenço do Sul	7.500	4.000	600	-92
Ibiraiaras	3.000	2.200	1.000	-67
Pelotas	3.000	2.473	450	-85
Santa Maria do Herval	2.200	950	850	-61
Silveira Martins	2.050	1.350	400	-80
Muliterno	1.685	760	230	-86
Canguçu	1.600	1.600	1.000	-37
Carlos Barbosa	1.590	620	230	-85
Garibaldi	1.120	470	40	-96
Caseiros	1.100	110	235	-79
Lagoa Vermelha	400	1.250	410	+2,5
São Francisco de Paula	100	620	3.150	+3.050
São Martinho da Serra	300	600	150	-50
TOTAL	25.645	17.003	8.745	-66

FONTE: IBGE 2011

Embora tenha aumentado nos últimos anos, a produtividade da batata no estado do Rio Grande do Sul que é de 17,8 t/ha, ainda é considerada baixa, enquanto o principal Estado produtor, Minas Gerais, apresenta 30,4 t/ha (IBGE, 2011). Um dos principais fatores que concorre para isso é a falta de melhor sanidade das lavouras, fruto do uso de semente degenerada cuja principal causa é a infecção por vírus (DANIELS, 1995; FIGUEIRA, 1995; SOUZA DIAS, 1995). Esta

situação é mais grave no segmento da agricultura familiar, que não faz a renovação das “sementes” com a frequência necessária e planta tubérculos com altos índices de infecção por viroses, obtendo conseqüentemente baixa produtividade (DANIELS, 2003). As doenças causadas por estes patógenos são transmitidas de geração para geração, tornando-se cumulativas e adquirindo um papel fundamental no processo de degenerescência da batata semente. Assim, a falta de um controle curativo significa que tubérculos contaminados darão origem a plantas infectadas e pouco produtivas, deixando o custo da produção inviável (TRUTA; FILGUEIRA, 2000).

Para o controle das viroses da batata, algumas medidas preventivas devem ser usadas, tais como certificação de batata semente, métodos especiais de cultivo, controle dos vetores e utilização, preferencialmente, de cultivares com algum grau de resistência. Tanto para o manejo adequado dos vírus, quanto para o desenvolvimento de novas cultivares, é fundamental conhecer os vírus e as estirpes prevalentes na região.

Mais de 35 vírus diferentes são conhecidos por afetar a cultura da batata no mundo, entre eles, *Potato leaf roll vírus* (PLRV), *Potato vírus Y* (PVY), *Potato vírus A* (PVA), *Potato vírus X* (PVX), *Potato vírus M* (PVM) e *Potato vírus S* (PVS) são as mais importantes quanto sua distribuição e efeitos sobre o rendimento (SALAZAR, 1996). No Brasil, 17 espécies foram relatadas (DANIELS; SCHONS, 2003). A lista dos vírus atualmente encontrados naturalmente infectando batata é mostrada nos anexos dessa dissertação.

Nos últimos anos, uma série de vírus emergentes e re-emergentes vem ameaçando a cultura. Esses vírus têm o potencial de limitar seriamente a produção de batata no futuro, caso seu controle não seja imediatamente considerado (SALAZAR, 2009).

O primeiro relato de uma infecção por *Begomovírus* em batata no Brasil foi feito na década de 1980 (DANIELS; CASTRO, 1985). Em 1983, plantas com sintomas de mosaico e distorção foliar foram encontradas no município de Silveira Martins, região Central do RS. Este isolado foi propagado vegetativamente e mantido em casa de vegetação. Em 2000, foi obtida uma sequência parcial de seu genoma, correspondendo ao gene da capa proteica, a região comum e parte do gene *rep*, que mostrou uma alta identidade (97%) com o *Tomato yellow vein streak vírus* (ToYVSV) (RIBEIRO et al., 2000). Este vírus foi previamente descrito em tomateiro no Brasil (FARIA et al., 1997), e parece ser um dos *Begomovírus* predominantes no

campo (FERNANDES et al., 2008). Entretanto, sua caracterização foi concluída há pouco tempo (COLARICCIO et al., 2007), e portanto a espécie viral ainda não foi reconhecida oficialmente pelo ICTV (FAUQUET et al., 2008). Em 2006, Ribeiro e colaboradores realizaram um trabalho que indicou que a doença do mosaico deformante da batata é causada pelo ToYVSV.

Quando o mosaico deformante da batata foi descrito pela primeira vez, há quase 30 anos, a doença tinha pouca relevância econômica e muito pouco se conhecia sobre a dinâmica do patossistema vírus – hospedeiro - inseto vetor - hospedeiro alternativo. Após a introdução do biótipo B de *Bemisia tabaci*, tem se observado um aumento da incidência do ToYVSV e conseqüentemente o reaparecimento da doença (ALBUQUERQUE et al., 2010). Há que se considerar que da mesma forma que tem sido evidenciado para o tomateiro, novas espécies virais podem surgir através de eventos de recombinação e pseudorecombinação também na cultura da batata. Além disso, se medidas de controle não forem adotadas, existe a possibilidade dos *Begomovirus* que originalmente foram descritos infectando o tomateiro possam se transferir para a cultura da batata.

Considerando a importância da cultura da batata para o Rio Grande do Sul, a degenerescência provocada pela infecção de diferentes espécies de vírus e os recentes relatos de reaparecimento de *Begomovirus*, o presente trabalho está dividido em dois capítulos:

No primeiro capítulo objetivou-se um levantamento de possíveis espécies de *Begomovirus* presentes nas principais regiões produtoras de batata do estado do Rio Grande do Sul; no segundo capítulo foi verificada a presença de demais vírus, constantemente diagnosticados na cultura, em duas, das três principais regiões produtoras de batata.

2 - CAPÍTULO I – Levantamento de *Begomovirus* em batata, nas principais regiões produtoras do Estado do Rio Grande do Sul

2.1 Introdução

A família *Geminiviridae* engloba vírus com genoma constituído de DNA circular de fita simples, encapsidado por uma única proteína estrutural disposta na forma de 22 capsômeros, conferindo à partícula viral a aparência de dois icosaedros incompletos geminados com cerca de 18x30 nm (ZHANG et al., 2001). A família é considerada a mais numerosa entre os vírus de plantas, possuindo atualmente 218 espécies (ICTV 2009), sendo constituída por quatro gêneros: *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocovirus* e *Begomovirus* (STANLEY et al., 2005). Esta classificação é baseada no tipo de inseto vetor, gama de hospedeiros e número de componentes do genoma viral.

O gênero *Begomovirus* possui o maior número de espécies dentre os geminivírus, com 181 espécies reconhecidas (FAUQUET et al., 2008). Este gênero inclui espécies com um ou dois componentes genômicos, transmitidas pela “mosca-branca” *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) para espécies dicotiledôneas. A espécie-tipo é o *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV). Muitos begomovírus que possuem somente um componente, estão associados a moléculas de ssDNA circular conhecidas como DNA β (betassatélites) e DNA-1 (alfassatélites) (BRIDDON; STANLEY, 1990).

A maioria dos vírus classificados no gênero *Begomovirus* possui dois componentes genômicos, denominados DNA-A e DNA-B, cada um com aproximadamente 2.600 nucleotídeos. Ambos os componentes são necessários para a infecção sistêmica de plantas. Exceto por uma sequência de aproximadamente 200 nucleotídeos, denominada região comum (RC), os dois

componentes não apresentam similaridade em suas sequências de nucleotídeos. A RC contém a origem de replicação dos geminivírus (FONTES et al., 1994a; FONTES et al., 1994b), que inclui diversos elementos de sequência altamente conservados entre as diferentes espécies do gênero. Entretanto, a RC como um todo é a região do genoma que apresenta maior variação entre diferentes espécies de *Begomovirus*. Já entre os dois componentes genômicos de uma mesma espécie, a RC é idêntica ou muito similar (>95% de identidade de sequência).

O DNA-A da maioria dos *Begomovirus* contém cinco genes (fig. 1). Na fita de sentido viral encontra-se o gene que codifica a proteína capsidial (*cp*) e uma segunda ORF (AV2, ou *precoat*) presente apenas nos *Begomovirus* do hemisfério oriental. Na fita de sentido complementar encontram-se os genes *rep*, *trap* e *ren* e *ac4*. No DNA-B estão localizados os genes *nsp* e *mp*, nas fitas viral e complementar, respectivamente (ROJAS et al., 2005).

O gene *cp* codifica a proteína do capsídeo viral. Além da montagem da partícula, a CP é essencial para a transmissão do vírus e determina a especificidade do inseto vetor (BRIDDON et al., 1990; HOFER et al., 1997). Entretanto, para a maioria dos *Begomovirus*, a CP não é necessária para a infecção sistêmica de plantas (QIN, 1998). A ORF AV2, presente apenas nos *Begomovirus* do hemisfério oriental, codifica a proteína “precoat”, que está associada à movimentação sistêmica do vírus (PADIDAM et al., 1996).

O gene *rep* (“replication-associated protein”) codifica a única proteína essencial para o processo de replicação viral. O gene *ren* (“replication enhancer protein”) codifica uma proteína acessória, amplificadora da replicação viral. Embora esta proteína não seja essencial para o processo de replicação, o acúmulo de DNA viral é muito maior quando ela se encontra presente. O produto do gene *trap* (“trans-activating protein”) é uma proteína ativadora da transcrição dos genes de sentido viral, *cp* e *ns* (revisado por (ROJAS et al., 2005).

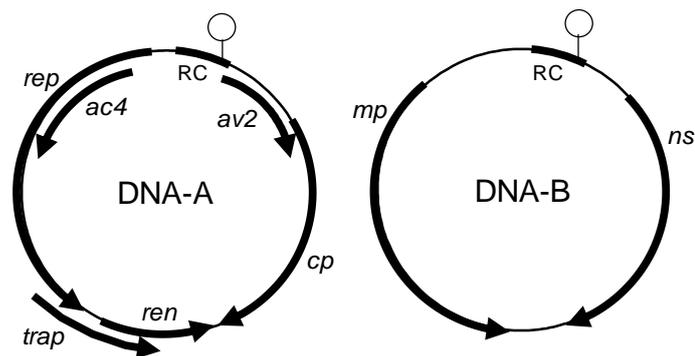


Figura 1. Representação esquemática do genoma de um *Begomovirus* típico. Os círculos representam o genoma viral, dividido em dois componentes (DNA-A e DNA-B) com aproximadamente 2.600 nucleotídeos cada um. As setas indicam os genes virais e a direção em que ocorre a transcrição: *rep*, “replication-associated protein”; *trap*, “trans-activating protein”; *ren*, “replication-enhancer protein”; *cp*, gene da proteína capsial (“coat protein”); *mp*, “movement protein”; *ns*, “nuclear shuttle protein”. A região comum (RC) também está indicada.

A variabilidade gênica em *Begomovirus* ocorre por meio de mutação, pouco freqüente devido à capacidade de correção de erros de leitura durante a replicação da DNA polimerase (ROSSINCK, 1997); pseudo-recombinação, que é um mecanismo de troca de elementos genômicos entre vírus distintos (STANLEY et al., 1985), nesse caso o mecanismo alternativo é possibilitado pela existência de dois componentes genômicos; e recombinação, considerada como o principal mecanismo de variabilidade genética na família *Geminiviridae* (PADIDAM et AL., 1995), na qual pode ocorrer não somente entre isolados de um mesmo vírus, como também entre espécies de gêneros distintos, resultando no rápido surgimento de novas formas virais (SEAL et al., 2006).

No Brasil, o primeiro relato de *Begomovirus* foi feito em 1950 por Costa e Bennett, os quais demonstraram que um *Begomovirus* identificado em plantas de *Euphorbia prunifolia* era transmitido por mosca branca (*B. tabaci*). Uma década mais tarde foi feito o primeiro relato do gênero em tomateiro (FLORES et al., 1960), posteriormente foi relatada a primeira incidência de *Begomovirus* na cultura do feijão (COSTA, 1965).

Desde a década de 70, tem se relatado que os *Begomovirus* não são transmitidos por semente ou contato, e sim naturalmente por mosca-branca (COSTA, 1976). Nesse aspecto, considerando o patossistema *Begomovirus* – batata, demais trabalhos se fazem necessários, uma vez que estudos desenvolvidos

por Albuquerque et al (2010) verificaram que um isolado de *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) foi mantido em plantas de batata por propagação vegetativa, em ambiente livre de insetos e protegido.

A mosca branca é considerada um importante vetor, veiculando mais de 40 vírus distintos de plantas (BROWN; BIRD, 1992). Embora a grande maioria das espécies transmitidas encontrem-se no gênero *Begomovirus*, o inseto pode transmitir ainda espécies de vírus dos gêneros *Crinivirus*, *Carlavirus*, *Ipomovirus* e *Torradovirus* (Navas-Castillo et al., 2011). A transmissão de *Begomovirus* por mosca branca é do tipo persistente circulativa (RUBINSTEIN; CZOSNEK, 1997).

B. tabaci é um grupo de espécies semelhantes em decorrência de sua extrema divergência genética e plasticidade comportamental, juntamente com a ausência de variação morfológica perceptível entre todos os haplótipos (BEDFORD et al 1994; BROWN et al 1995; ROSELL et al 1997; FROHLICH et al 1999). A especificidade de transmissão de *Begomovirus* pelo vetor *B. tabaci* é uma característica conservada do grupo de espécies crípticas.

A adaptabilidade da mosca-branca resultou no aumento de sua distribuição geográfica em regiões tropicais e subtropicais e facilitou sua dispersão e estabelecimento em regiões de clima temperado. O inseto tem se favorecido com a produção vegetal ao longo do ano, fato que provavelmente levou a sua sobrevivência durante as estações do ano e a adaptações a novos hospedeiros (BROWN, 1994). Atualmente está distribuída globalmente, sendo encontrada em todos os continentes, exceto na Antártida (DE BARRO; HART, 2000).

Os primeiros relatos da ocorrência da mosca-branca, no Brasil, são de 1923, sendo o primeiro registro oficial somente em 1968, na cultura do algodão, no norte do Estado do Paraná. Em 1972/1973 foi constatada sua presença no norte do Paraná e na região de Ourinhos no Estado de São Paulo, nas culturas da soja, algodão e feijão (ALBERGARIA; CIVIDANES, 2002).

A incidência e os danos causados por esse inseto aumentaram exponencialmente no Brasil a partir da década de 70, em associação ao grande aumento da área plantada com soja. A soja é um excelente hospedeiro de *B. tabaci*, e sofre poucos danos com a presença da praga. A não adoção de medidas de controle permite que as populações de insetos atinjam níveis altíssimos, com a posterior migração para outras plantas após a colheita da soja. Esse contexto levou à disseminação do *Begomovirus*, *Bean golden mosaic virus* (BGMV), agente causal do

mosaico dourado do feijoeiro, nos plantios de feijoeiro cultivados próximos às regiões produtoras de soja (COSTA, 1976; COSTA et al., 1995). O mosaico dourado continua causando grandes prejuízos à cultura do feijoeiro em pelo menos 12 países da América Latina (FARIA et al., 2000; MORALES; ANDERSON, 2001).

Na cultura do tomateiro, curiosamente o aumento populacional de mosca branca observado no Brasil durante as décadas de 1970 e 1980 não levou à disseminação de *Begomovirus*, provavelmente porque o biótipo predominante naquela época (biótipo A) é pouco adaptado. Na América Central e no Caribe predominava então o biótipo B (BROWN; BIRD, 1992). Ao contrário do biótipo A, o biótipo B possui maior gama de hospedeiros e é altamente adaptado para alimentação e oviposição em solanáceas, como o tomateiro e a batata, aumentando a probabilidade de transmissão de *Begomovirus* para essas culturas (SCHUSTER et al., 1990; BEDFORD et al., 1994). De fato, a partir do final da década de 1980 perdas consideráveis foram relatadas na cultura do tomateiro na Flórida, no México e em países da América Central e do Caribe devido à infecção por begomovírus (BROWN; BIRD, 1992).

O biótipo B foi introduzido no Brasil em meados da década de 1990, provavelmente através da planta ornamental Poinsetia (*Euphorbia pulcherrima*), (MELO, 1992), e logo em seguida surgiram relatos de incidência de *Begomovirus* em tomateiro (RIBEIRO et al., 1994; ZERBINI et al., 1996). A explicação mais provável para o rápido surgimento e disseminação de novos *Begomovirus* no Brasil a partir dessa época é a colonização de plantas silvestres e daninhas pelo biótipo B de *B. tabaci*, possibilitando que vírus nativos presentes nestas plantas tenham sido transferidos para plantas cultivadas. A presença de diferentes *Begomovirus* em um mesmo hospedeiro em infecções mistas aumenta a probabilidade de eventos de recombinação e/ou pseudo-recombinação entre componentes do genoma viral, o que pode levar ao surgimento de novas espécies mais adaptadas ao novo hospedeiro.

No Brasil, atualmente as seguintes espécies de *Begomovirus* são reconhecidas: *Bean golden mosaic virus* (BGMV), *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), *Tomato severe rugose mosaic virus* (ToSRV), *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Tomato yellow spot virus* (ToYSV), *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV), *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida yellow mosaic virus* (SiYMV) (HAMILTON et al., 1984; RIBEIRO et al., 2003; FERNANDES et al., 2006; CALEGARIO et al., 2007;

RIBEIRO et al., 2007). Além destas, mais dez espécies aguardam para serem reconhecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) (CASTILLO-URQUIZA et al., 2008; FERNANDES et al., 2008).

Na cultura da batata o gênero foi descrito pela primeira vez, no Rio Grande do Sul, há quase 30 anos. A partir de plantas com sintomas de mosaico e distorção foliar, obtiveram-se isolados cujos estudos indicaram correspondência do mesmo com o ToYVSV. Na época, a doença tinha pouca relevância econômica e muito pouco se conhecia sobre a dinâmica do patossistema vírus-hospedeiro-inseto-vetor-hospedeiro alternativo.

Sob esse aspecto reside a relevância desse trabalho, que tem como base os estudos iniciados por Daniels e Castro (1985) e que posteriormente permitiram a indicação da espécie viral causadora do mosaico deformante da batata, cujo levantamento propõe uma atualização da situação do ToYVS no estado, bem como outros possíveis *Geminivirus*, dos quais, na cultura da batata, os relatos *in vivo* ainda são escassos embora o estudo do patossistema tenha avançado. Após a introdução do biótipo B de *Bemisia tabaci*, tem se observado um aumento da incidência do ToYVSV e conseqüentemente o reaparecimento da doença (ALBUQUERQUE et al., 2010). Há que se considerar que da mesma forma que tem sido evidenciado para o tomateiro, novas espécies virais podem surgir através de eventos de recombinação e pseudo-recombinação também na cultura da batata. Além disso, se medidas de controle não forem adotadas, existe a possibilidade dos *Begomovirus* que originalmente foram descritos infectando o tomateiro possam se transferir para a cultura da batata.

Atualmente, são utilizados diversos métodos de detecção de *Begomovirus*, tais como Reação de Polimerização em Cadeia (PCR), hibridização com o uso de sondas radioativas ou não radioativas e Amplificação por Círculo Rolante (RCA) com posterior digestão com enzima de restrição. Destacamos que nesse trabalho foram desenvolvidas as técnicas de PCR e RCA com posterior digestão com a enzima de restrição *MspI*. Ressalta-se que a adoção de RCA-*MspI* justifica-se, pois a mesma tem se mostrado a mais eficiente. Segundo Naito (2010), amostras que apresentavam resultado negativo para PCR apresentaram-se positivas no método de RCA, sendo que o inverso não ocorreu. Outra vantagem apresentada pelo método de RCA é que o polimorfismo produzido, e observado em eletroforese,

permite uma avaliação preliminar da diversidade de *Begomovirus* existente nas amostras.

Diante do exposto, teve-se por objetivo, nesse estudo, realizar um levantamento de *Begomovirus* na cultura da batata, nas principais regiões do Rio Grande do Sul (Sul, Central e Serra), a fim de monitorar o surgimento de novas espécies do gênero em questão, bem como, identificar espécies que já infectam outras culturas.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Coleta de amostras

Nos anos de 2010 e 2011, plantas de batata apresentando sintomas típicos de infecção viral, foram coletadas nas principais regiões produtoras de batata do Rio Grande do Sul. As amostras foram coletadas percorrendo-se a área de cada lavoura em zigue-zague e mantidas herborizadas até o momento da extração de DNA.

Na região Sul, as coletas foram realizadas durante o inverno, nos municípios de Cristal e São Lourenço do Sul; na região Central, durante a primavera, no município de Silveira Martins; e na Serra, na estação de verão, obtiveram-se amostras dos municípios de Bom Jesus, Ibiraiaras, São Francisco de Paula e São José dos Ausentes. Foram coletadas um total de 273 amostras coletadas (tab. 2). Os municípios amostrados estão representados na fig. 2.

Esse procedimento foi realizado com o auxílio da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA Clima Temperado e Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio Grande do Sul (EMATER- RS).

Tabela 2. Cidades e número de amostras coletadas nas principais regiões produtoras de batata no Estado do Rio Grande do Sul.

Região	Cidade	Nº de amostras	Total de amostras da região
Serra	Bom Jesus	10	35
	Ibirairas	03	
	São Francisco de Paula	18	
	São José dos Ausentes	04	
Central	Silveira Martins	72	72
Sul	Cristal	94	166
	São Lourenço do Sul	72	
TOTAL		273	273

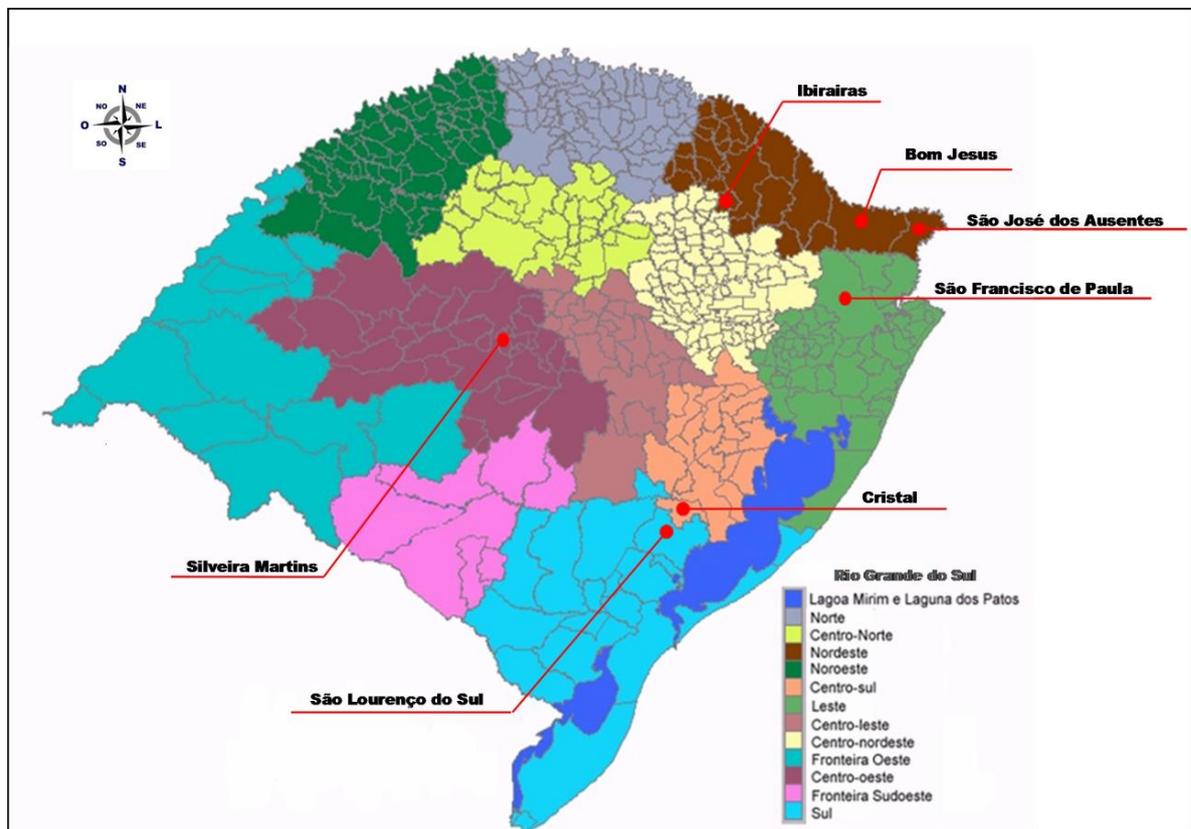


Figura 2: Mapa do estado do Rio Grande do Sul. Os pontos em vermelho representam os municípios em que foram realizadas as coletas.

2.2.2 Extração e amplificação de DNA por PCR (Polymerase Chain Reaction)

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Virologia Vegetal, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Discos foliares foram retirados das folhas sintomáticas e submetidos à extração de DNA, de acordo com o método desenvolvido por Doyle e Doyle (1983).

A PCR foi executada em um volume de 25 μ l, contendo 2,5 μ l de tampão (Tris-HCl 100mM, pH 8,3 e KCl 500 mM), MgCl₂ 2,5 mM, mistura de dNTPs a 0,2 mM, 0,4 μ M de cada oligonucleotídeo universal para o DNA-A de begomovírus (PAL1c1978 e PAR1v496) (ROJAS et al., 1993) e uma unidade de *Taq* DNA polimerase, completando-se o volume com água. A reação consistiu em 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 54°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e 30 segundos, seguido de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. O produto amplificado foi analisado por meio de eletroforese em gel de agarose (0,8% p/v). Como controle positivo, utilizamos uma amostra infectada com o *Tomato yellow spot vírus* (ToYSV) e controle negativo, água destilada.

2.2.3 Amplificação de DNA por RCA (Rolling Circle Amplification)

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Virologia Vegetal Molecular, do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), da Universidade Federal de Viçosa.

Foram selecionadas 35 amostras de cada região coletada para serem submetidas à técnica de amplificação por RCA. Utilizou-se a enzima DNA polimerase do bacteriófago phi 29 (Uniscience), de acordo com o método descrito por (INOUE-NAGATA et al., 2004), que consiste no preparo de um mix, composto pelo DNA molde (extraído da amostra), primers universais para o gênero *Begomovirus*, a enzima phi 29 e solução tamponante adequada para a atividade enzimática e estabilidade do DNA, o qual é submetido à reação isotérmica à 36°C por 18 horas. Alíquotas das amplificações foram submetidas a reações de clivagem com a enzima de corte freqüente MspI. Em seguida, os materiais amplificados que mostraram um perfil de restrição diferente foram submetidos a análise de restrição com as enzimas

Bam HI, Kpn I, Pst I e Xho HI. Os produtos das reações foram analisados em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo.

As alíquotas das reações de clivagem contendo fragmentos de 2600 nucleotídeos (nt), correspondentes a uma cópia de cada componente genômico, foram ligadas no vetor pBluescript KS+ (Stratagene) previamente linearizado com a mesma enzima e defosforilado.

O produto da reação de ligação foi utilizado para transformação de *Escherichia coli* estirpe DH5 α pelo método de choque térmico (SAMBROOK; RUSSEL, 2001). Colônias contendo os possíveis plasmídeos recombinantes foram repicadas para meio LB líquido e incubadas a 37°C durante 12 horas. Após a incubação, as culturas foram submetidas à minipreparação de DNA plasmidial pelo método de lise alcalina (SAMBROOK; RUSSEL, 2001) e o DNA resultante analisado em gel de agarose 0,7% corado em brometo de etídeo. As amostras de DNA plasmidial cujo comprimento se aproximaram de 5500 nt, correspondente ao vetor plasmidial ligado ao genoma viral, foram submetidas à clivagem com a mesma enzima utilizada para a clonagem, e o padrão eletroforético foi analisado em gel de agarose 0,7%.

As amostras, nas quais se verificou o fragmento de 2600 nt, foram encaminhadas para serem seqüenciadas.

2.3 Resultados e Discussão

Neste trabalho, inicialmente todas as 273 amostras foram analisadas via PCR. Observou-se que nenhuma amostra resultou em um produto de amplificação quando comparado com o controle positivo. Em 2010 um trabalho desenvolvido por NAITO et al. (2010), analisou as três metodologias mais utilizadas para a diagnose de *Begomovirus* (PCR, RCA-Mspl e Hibridização) e, conforme relatado anteriormente, uma das conclusões foi que a detecção por RCA-Mspl foi mais eficiente que o PCR, uma vez que algumas amostras que apresentaram o resultado negativo para o PCR, geravam um produto de amplificação correspondente ao genoma do vírus.

Entre as 105 amostras, que representavam todas as regiões, utilizadas na técnica de RCA, quatro amostras apresentaram fragmento de aproximadamente 2600 nt (resultados não mostrados), foram clonadas e encaminhadas para

seqüenciamento. No entanto, o resultado do seqüenciamento demonstrou que as amostras não possuíam identidade de seqüência com *Begomovirus*.

Esses resultados devem-se, provavelmente à ausência do inseto vetor (*B. tabaci*) nas áreas coletadas. Conforme Albuquerque et al (2010), a ocorrência de *Begomovirus* em batatas não é freqüentemente descrita e surtos esporádicos de doenças estão possivelmente relacionados com a infestação de mosca branca e a proximidade de campos de tomate, sendo este um fator que também não foi verificado nas áreas coletadas.

Em 2004, Morales e Jones, desenvolveram um modelo de probabilidade de ocorrência de *Begomovirus* baseado no clima, com base em dados de 304 localidades geo-referenciadas onde *B. tabaci* e *Begomovirus* causam danos significativos. A classificação climática *Cfa* de Köppen, equivalente a 51° LS e 52°30` LO de Greenwich, mostrou que 55% das localidades afetadas por *Begomovirus* estão na região tropical úmida/seca. O Estado do Rio Grande do Sul, onde foram coletadas as amostras analisadas, é caracterizado pelo clima subtropical, o qual, conforme descrito no estudo citado, representa 22% das áreas afetadas pelo gênero (MORALES; JONES, 2004).

No entanto, nas épocas em que foram realizadas as coletas, inverno na região Sul, primavera na região Central e verão na Serra, as quais representam o principal período de cultivo de batata em cada região, as temperaturas encontradas podem ser consideradas amenas para o desenvolvimento da mosca branca. Sendo outro aspecto a ser considerado, o de que ainda não foi determinado qual biótipo da mosca é encontrado predominantemente no estado.

Ainda em relação a não constatação do vetor, pode-se observar que o mesmo não foi encontrado em outras espécies hospedeiras tais como plantas daninhas. Resultados obtidos por VILLAS BÔAS, et al, 2003, comprovaram em testes de livre escolha que as melhores espécies hospedeiras de mosca branca biótipo B são: amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.), erva de Santa-Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.), fedegoso (*Senna obtusifolia* L.), guanxuma rasteira (*Sida urens* L.), maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill), mentruz (*Lepidium virginicum* L.), perpétua-brava (*Gomphrena celosioides* Mart.), poia-do-cerrado (*Richardia scabra* L.), bucho-de-rã (*Physalis angulata* L.), carrapicho-de-carneiro (*Acanthospermum hispidum* DC.), carrapicho rasteiro (*Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze), cordão-de-frade (*Leonotis nepetaefolia* L.), fazendeiro-peludo (*Galinsoga ciliata* (Raf.)), gervão-azul

(*Stachytarphetta cayenensis* (L.C. Rich) Vahl), quinquilho (*Datura stramonium* L.) e xique-xique (*Crotalaria incana* L.). Nas áreas amostradas verificou-se a presença de pelo menos quatro espécies (erva de Santa Maria, Maria-pretinha, mentruz e xique-xique) de hospedeiras aqui relacionadas, logo, pode-se inferir que a ausência de plantas hospedeiras não seria causa da ausência de mosca branca.

Finalmente um fator que também pode ter contribuído para esses resultados é a redução da área de produção da cultura da batata no estado, conforme pode ser observado na tabela um, apresentada na introdução dessa dissertação, baseada em dados divulgados pelo IBGE e que aponta redução de 66 % nos últimos 15 anos, na área com a cultura. Destaque para a redução de 80% apresentada na área do Município de Silveira Martins, no qual já foi relatada a presença de ToYVSV infectando batata (ALBUQUERQUE et al, 2010).

2.4 Conclusão

Embora os resultados apresentados nesse trabalho não comprovem a presença de *Begomovirus* na cultura da batata nas principais regiões produtoras do Rio Grande do Sul, o monitoramento de viroses na cultura torna-se imprescindível. Muitos são relatos de espécies que originalmente infectam tomate, e também são capazes de infectar batata e a complexidade dos sistemas de cultivo brasileiros complica o controle de begomovirose via seu inseto-vetor (ALBUQUERQUE et al, 2010).

A ausência de amostras positivas pode estar relacionada com a diminuição da área cultivada na maioria dos municípios visitados e, principalmente, com fatores relacionados ao clima que desfavoreceu o desenvolvimento do inseto-vetor e dentro desse aspecto, futuras coletas deveriam ser realizadas em diferentes épocas de cultivo, nas mesmas regiões, mesmo que não nos principais períodos de produção.

3 - CAPÍTULO II – Levantamento de *Potato leaf roll virus* (PLRV), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus S* (PVS) em batata, nas regiões Central e Sul do estado do Rio Grande do Sul

3.1 Introdução

Embora raramente os vírus sejam letais às plantas, as viroses constituem-se um dos mais importantes grupos de doenças em batata. Podem causar vários tipos de sintomas, que reduzem o vigor das plantas, afetando negativamente a produtividade. As viroses estão entre os principais fatores enfrentados pelos produtores de batata em todo mundo. No Brasil, o aumento das viroses é favorecido pela suscetibilidade das cultivares de batata, a abundância dos insetos-vetores e o fato da batata ser propagada comercialmente através de seus tubérculos, chamados de tubérculos sementes que se conservam infectados (BRUNE; MELO, 2002).

Vale ressaltar que, desde o século passado nos principais países produtores de batata, a degeneração e declínio da produtividade da batata têm estado associados às infecções por vírus (CHATZIVASSILIOU, 2008).

Mais de 35 vírus diferentes são conhecidos por afetar a cultura da batata no mundo. Por ordem de importância e incidência, destacam-se *Potato leaf roll virus* (PLRV), *Potato virus Y* (PVY), e apresentando infecções em menor escala, *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus S* (PVS) (ABBA, 2009).

A maioria destes vírus causa redução no vigor da planta e tubérculos e conseqüentemente perdas sérias na produção. Além disso, uma característica destes patógenos na cultura da batata é que muitas vezes temos a presença de mais de uma espécie viral na mesma planta (HOOKER, 1982). Os principais tipos de sintomas causados por estes vírus são: mudança na coloração foliar (mosaico,

mosqueado e amarelecimento), infecções latentes, nanismo, necrose e deformação do tecido foliar (enrolamento e encarquilhamento) e deformação nos tubérculos.

Na prática, doenças causadas por vírus em plantas de batata não possuem um método de controle direto embora existam alguns métodos indiretos. Para se manejar as doenças causadas por estes patógenos, é necessário que se conheça primeiramente a identidade dos vírus para a utilização de medidas de controle eficientes (HOOKER, 1982).

O PLRV (família *Luteovirus*, gênero *Poleovirus*), possui partícula isométrica de cerca de 24 nm de diâmetro (BORGES, 2005). Causa o enrolamento das folhas e é restrito ao floema onde causa interrupção no transporte de carboidratos das folhas para as raízes e tubérculos. Em consequência, fotossintatos são acumulados nas próprias folhas, as quais se tornam enrijecidas, coriáceas e terminam por se enrolar para cima. Nos casos mais severos, folhas basais apresentam cor púrpura com ou sem necrose nas margens, enquanto as folhas apicais apresentam coloração pálida. Com isso, os tubérculos deixam de crescer podendo até mesmo desenvolver necrose. Entre os afídeos, o pulgão (*Myzus persicae*) é o transmissor mais importante dessa virose (CUPERTINO; COSTA, 1970), onde sua transmissão se dá de modo persistente circulativo (DANIELS; SCHONS, 2003)

O PVY (família *Potyviriidae*, gênero *Potyvirus*), apresenta partícula alongada, flexuosa de 730 x 11 nm, além de ser a espécie tipo do gênero (POMPE-NOVAK et al., 2006). As estirpes dessa espécie podem ser divididas em três grupos principais, PVY⁰, PVY^C, PVY^N e mais recentemente uma variante da estirpe necrótica PVY^{NTN} (SOUZA-DIAS et al., 1995). A transmissão ocorre principalmente por afídeos, de forma não persistente, sendo considerado também o vetor mais eficiente o *Myzus persicae* (BORGES, 2005). A infecção leva ao surgimento de um leve mosqueado até necrose foliar severa, passando por diferentes intensidades de mosaico, com ou sem deformação e diminuição da área foliar, enrugamento e enrolamento da ponta do folíolo para baixo. Em caso de infecção secundária, as plantas apresentam tamanho reduzido e são quebradiças.

O PVX (família *Flexiviridae*, gênero *Potexvirus*) apresenta partícula alongada de cerca de 515 x 13 nm (BORGES, 2005), em geral latente nas condições brasileiras (DANIELS; SCHONS, 2003), nunca esteve associado a grandes perdas, principalmente porque as sementes importadas ou eram livres de PVX ou apresentavam um índice muito baixo desse vírus (DANIELS, 1995; FIGUEIRA,

1995). Com a recente abertura do mercado brasileiro aos países integrantes do Mercosul, e conseqüente comercialização de sementes com alta incidência desse vírus, o PVX passou a ser tratado como praga não quarentenária regulamentada, podendo estar presente nas sementes básicas em índices inferiores a 2% (MAPA, 2004). O PVX encontra-se disseminado no mundo inteiro, e pode causar a diminuição do número e do tamanho dos tubérculos.

O PVX, quando associado ao PVY, pode induzir sintomas ainda mais severos (HOOKER, 1982). Esta virose tem uma gama de hospedeiras restrita dentro da família *Solanaceae* e algumas espécies de *Amaranthaceae* e *Chenopodiaceae*. O vírus não é transmitido por vetor, porém é facilmente transmitido por meios mecânicos e por enxertia, podendo ser rapidamente disseminado numa cultura, após a sua introdução através das sementes. Muitas estirpes de PVX são conhecidas e apresentam grande variabilidade patogênica.

O PVS (família *Flexiviridae*, gênero *Carlavirus*) possui uma partícula alongada, flexuosa, com 610 x 700 nm. (FIGUEIRA, 1995) É um vírus latente e não é detectado visualmente na cultura, por isso existe uma falsa crença de que a sua infecção não é associada a perdas. Sabe-se, porém, que ele pode causar perdas na produção em torno de 10% a 20%, dependendo da estirpe do vírus e da suscetibilidade da cultivar (WETTER, 1971). E ainda, podem ocorrer perdas mais significativas na produção em infecções mistas do PVS com outros vírus frequentes na cultura da batata.

Dessa espécie, maioria dos isolados que têm sido detectados pertencem à estirpe comum (PVS⁰), que não possui vetor na natureza, de modo que o seu controle é facilitado pelo uso de sementes sadias. Apesar de pertencer a um dos gêneros com maior número de espécies, tem sido pouco estudado, devido aos sintomas, em sua maioria, latentes e, quando visíveis, observados apenas nos estágios iniciais da infecção, dependendo do hospedeiro. Logo, esse gênero de vírus tem sido esquecido e, na maioria dos casos, as espécies só mereceram atenção devido às alterações nos sintomas, quando foram associados a infecções complexas com outros vírus (FOSTER, 1992).

Considerando a ampla distribuição dos vírus citados, sua influência na produtividade, seja em infecções simples ou mistas e seus diferentes modos de transmissão, o presente trabalho visa um monitoramento da ocorrência dessas

espécies em duas áreas destaques na produção de batata no estado do Rio Grande do Sul.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Coleta de amostras

Folhas de plantas de batata apresentando sintomas típicos de infecção viral foram coletadas nos municípios de Cristal e São Lourenço do Sul, representando a região Sul do Rio Grande do Sul, e Silveira Martins, representando a região Central do Estado. As amostras foram coletadas percorrendo-se em zigue-zague o terreno de cada lavoura e, posteriormente armazenadas a -80°C .

Na região Sul, durante o inverno, foram obtidas 58 amostras, enquanto na região Central, durante a primavera, foram coletadas 51 amostras, totalizando 109 amostras.

As coletas foram realizadas com auxílio da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA Clima Temperado e Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio Grande do Sul (EMATER- RS).

3.2.2 Teste sorológico

No Laboratório de Imunologia e Microscopia Eletrônica, da Embrapa Clima Temperado, as amostras foram maceradas em tampão de extração e submetidas ao teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) Direto.

Primeiro realizou-se a sensibilização da placa com a colocação do IgG (Imunoglobulina G) em Tampão Coating, na quantidade de 100 μl por orifício, nas seguintes diluições: PVY: 1:7000, PVS: 1:1000, PVX: 1:6000 e PLRV: 1:200. Após período de quatro horas de incubação a 37°C , a placa foi lavada com solução de PBS-T, por quatro vezes com intervalos de três minutos.

Logo, procedeu-se a adsorção do antígeno, na quantidade de 100 μl de amostra por orifício, sendo a mesma caracterizada por uma solução de 1.140 μl de tampão de extração e conjugado LOEWE + 60 μl de extrato da folha (diluição 1:20).

Após incubação sob refrigeração (4°C) overnight, lavou-se novamente a placa conforme lavada na etapa anterior.

Em seguida foi colocado IgG conjugado específico, na quantidade de 100 µl de por orifício, e incubação a 37°C por quatro horas., A placa foi lavada e acrescentou-se 100 µl substrato (H₂O bidestilada, dietanolamina, HCl 12 N, MgCl₂ a 10% e pastilhas de PNP) por orifício.

Após duas horas, foi realizada a leitura em Leitora de Placa Elisa ELX 800 - 405 nm.

3.3 Resultados e discussão

Das 109 amostras analisadas, 29 amostras deram resultado positivo para pelo menos uma das quatro espécies de vírus testados (tab. 3).

Destacam-se na região central, 29% das amostras apontando a presença de PVY (fig. 3). Apenas uma amostra apresentou infecção mista por PLRV e PVY.

Na região sul, a espécie viral em destaque foi o PLRV observado em 25,8% das amostras, seguido por PVY observado em 22,5% das amostras. Assim como na região central, em apenas uma amostra verificou-se infecção mista, igualmente de PLRV e PVY.

Tabela 3. Resultados das 29 amostras positivas, com caracterização da cultivar e conforme região de coleta.

Região	Amostra	Cultivar	Resultado
CENTRAL	SM 1	Baronesa	PVY, PLRV
	SM 3	Baronesa	PVY
	SM 5	Baronesa	PVY
	SM 6	Baronesa	PLRV
	SM 8	Baronesa	PVY
	SM 11	Baronesa	PVY
	SM 25	Baronesa	PVS
	SM 27	Baronesa	PVY
	SM 29	Baronesa	PLRV
	SM 31	Baronesa	PVY
	SM 32	Baronesa	PVY
	SM 35	Baronesa	PVY
	SM 47	não identificada	PVS
	SUL	C 2	Asterix
C 3		Asterix	PLRV
C 6		Baronesa	PVY
C 14		não identificada	PVY
C 18		não identificada	PVY
C 25		Asterix	PLRV
C 30		Asterix	PVY
C 31		Asterix	PVY, PLRV
SLS 1		Asterix	PLRV
SLS 2		Asterix	PLRV
SLS 4		Asterix	PVY
SLS 13		Asterix	PLRV
SLS 15		Asterix	PVY
SLS 16		Asterix	PLRV
SLS 18		Asterix	PVX
SLS 19	Asterix	PVX, PLRV	

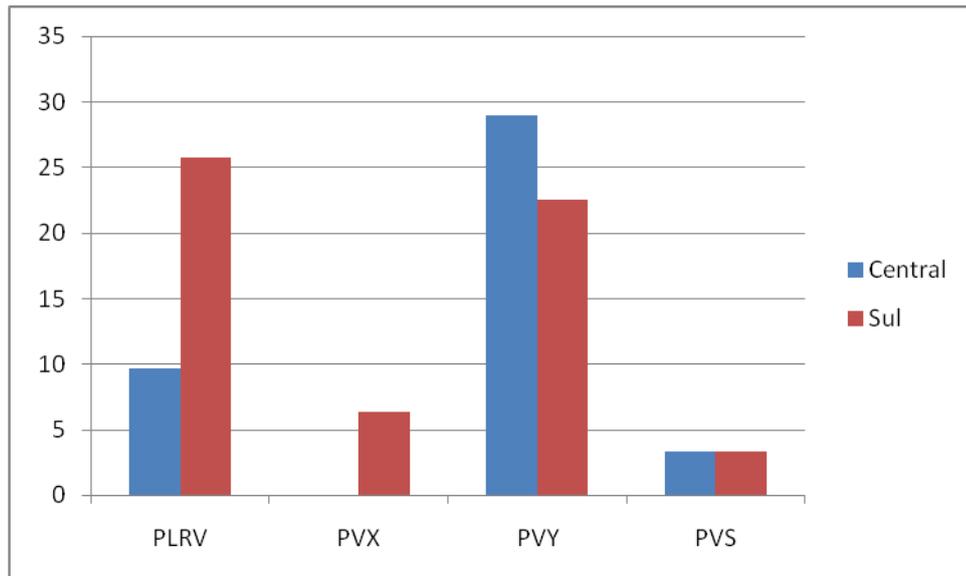


Figura 3 – Percentagem de amostras positivas para PLRV, PVX, PVY e PVS das regiões Sul e Central do Estado do Rio Grande do Sul.

A cultivar predominante das amostras coletadas foi Baronesa, a qual segundo Daniels (2004), apresenta-se suscetível e moderadamente resistente respectivamente a PLRV e PVY. Quanto ao PLRV, já foi constatado a diminuição da produção de tubérculos em 60,8% em peso, 75,5% na produção de tubérculos graúdos e aumento em 13,9% no peso dos tubérculos classificados como miúdos e pequenos (CUPERTINO; COSTA, 1970). Já a infecção por PVY pode levar a perdas superiores a 80% na produtividade e, quando o vírus acontece em associação a outros, pode até mesmo levar à morte da planta (BRUNE; MELO, 2002). Uma outra observação relevante foi de que a infecção mista por PLRV e PVY, diagnosticada em duas amostras coletadas chegou a causar uma redução média de 49,7% em peso na produção de tubérculos comerciais e 69,1% de redução em peso na produção de tubérculos graúdos (CÂMARA et al., 1986).

Em relação à cultivar Asterix, observa-se que foram detectadas amostras infectadas com as quatro espécies destacadas, merecendo destaque a infecção por PLRV e PVY. Ressalta-se que a mesma é considerada moderadamente resistente ao PLRV e de boa resistência ao PVY (ABBA, 2009), logo a constatação dessas viroses vai de encontro ao grau de resistência relatado para essa cultivar.

Em 2002, Daniels et al (2002), relataram sobre a importância da presença do PVY para o cultivo de batata no Sul do Brasil. Naquela época, já se observava que esse vírus iria superar a presença do PLRV, tornando-se -se na principal causa da

degenerescência da batata semente. Considerando que para cada 1% de incidência de PLRV há um decréscimo na produtividade de 0,75% (CUPERTINO; COSTA, 1970) e que para maximização do custo/benefício da batata semente, tolera-se índices de infecção pelo vírus de até 30% (SOUZA DIAS et al., 1984). A batata semente básica poderia ser multiplicada pelos produtores por muitas gerações, se não fossem as altas taxas de infecção pelo PVY.

O baixo índice de PVX e PVS pode estar relacionado com a característica principal destes vírus que produzem sintomas latentes. À incidência de PVX pode-se atrelar a determinação do MAPA para utilização de sementes com índices não superiores a 2% de presença.

As lavouras visitadas pertencem ao segmento da agricultura familiar, que não possuem recursos para a renovação das sementes com a frequência necessária, e planta em geral, tubérculos semente com altos índices de infecção virótica (DANIELS et al, 2002).

De modo geral, nas áreas amostradas, visualmente foram observadas plantas de tamanho reduzido, com sinais claros de degenerescência, fato que se confirmou por relatos dos produtores. A utilização de material propagativo por mais de duas gerações é prática comum. Outro fator indicativo que à transmissão dos vírus foi via batata-semente nestas regiões foi a não observação da presença do inseto-vetor.

3.4 Conclusão

Os resultados encontrados reforçam a necessidade de adquirir ou manter o material propagativo de boa qualidade sanitária e assim garantir a produtividade. Uma recomendação seria o uso de 'sementeiro', que seria uma pequena lavoura de multiplicação de batata semente feita pelo próprio produtor, medida essa que pode minimizar o problema de degenerescência (DANIELS, 1983), observando que seu sucesso depende, entre outros fatores, do manejo adequado (DANIELS et al, 2002).

A bibliografia atual tem constantemente alertado para um aparente ressurgimento do PLRV, bem como aumento da incidência do PVY. Nesse sentido, o presente trabalho vem confirmar esses fatos e contribuir para, além da conscientização do produtor (em utilizar adequado material de propagação), informar

os programas de melhoramento sobre a necessidade do desenvolvimento de novos materiais resistentes.

4 - Conclusões

De acordo com as condições em que foram coletadas e analisadas as amostras estudadas, quanto ao levantamento de *Begomovirus*, supõe-se que a não detecção dessas espécies está relacionada com a redução da área de produção da cultura da batata no estado e, predominantemente, à ausência do inseto vetor, uma vez que o mesmo não foi observado nas áreas coletadas. Relacionado a isso está o fator clima, determinante para o desenvolvimento da mosca branca e cuja variação deve ser considerada para próximos levantamentos.

Os vírus PLRV, PVX, PVY e PVS estão presentes em áreas produtoras de batata em duas regiões amostradas (Central e Sul), com destaque para as espécies PVY, em crescente incidência no país, e PLRV, que tem ressurgido na cultura, nas últimas safras. Essa constatação deve-se provavelmente a não renovação do material propagativo, o que pôde ser visualmente observado pela presença de plantas de baixo vigor (possivelmente infectadas) nas lavouras visitadas.

De forma geral, esse trabalho fornece um panorama atual das viroses que infectam a cultura da batata no estado do Rio Grande Sul, ressaltando a necessidade de monitoramento de begomoviroses, veiculadas às condições do clima, e alertando o produtor e os institutos de pesquisa para a utilização de batata-semente de boa qualidade fitossanitária, bem como a adoção e desenvolvimento de cultivares resistentes a esses vírus.

Referências

- ABBA, 2009. Disponível em <<http://www.abbabatatabrasileira.com.br/>>. Acesso em 14 fev. 2012.
- ALBERGARIA, N.M.M.S.; CIVIDANES, F.J. Exigências térmicas de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, v.3, p.359-363, 2002.
- ALBUQUERQUE, L.C.; MARTIN, D.P.; AVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K. Characterization of Tomato yellow vein streak virus, a begomovirus from Brazil. **Virus Genes**, v.40, p.140-147, 2010.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p.403-410, 1990.
- BEDFORD, I.D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; ROSELL, R.C.; MARKHAM, P.G. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographical regions. **Annals of Applied Biology**, v.125, p. 311-325, 1994.
- BORGES, M.L.V. Vírus, Viróides e doenças de plantas. **Estação Agronômica Nacional**, Oeiras/Portugal, p.553, 2005.
- BRIDDON, R.W.; PINNER, M.S.; STANLEY, J.; MARKHAM, P.G. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. **Virology**, v.177, p. 85-94, 1990.
- BROWN, J. K. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. **FAO Plant Prot**, v.42, p.3-32, 1994.
- BROWN, J.K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean basin. **Plant Disease**, v.76, p.220-225, 1992.
- BROWN, J.K.; FROHLICH, D.R.; ROSELL, R.C. The sweetpotato or silverleaf whiteflies. Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. **Annual Review of Entomology**, v.40, p.511-534, 1995.

BRUNE, S.; MELO, P. E. Produção comprometida. **Revista Cultivar**, v. 13, p.54-56, 2002.

CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C.; ZERBINI, F.M. Characterization of Tomato yellow spot virus, (ToYSV), a novel tomato-infecting begomovirus from Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1335-1343, 2007.

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

CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA, J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; ZERBINI, F.M. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Archives of Virology**, v. 153, p.1985-1989, 2008.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; BERGMANN, J.C.; ZERBINI, F.M.; HARAKAVA, R.; CHAGAS, C.M. Tomato yellow vein streak virus, a new begomovirus on tomato from Brazil: Complete DNA-A sequence and some molecular and biological features. **Journal of Plant Pathology**, v.89, p.385-390, 2007.

CHATZIVASSILIOU, E.K.; MOSCHOS, E.; GAZI, S.; KOUTRETSIS, P.; TSOUKAKI, M. Infection of potato crops and seeds with *Potato virus Y* and *Potato leafroll virus* in Greece. **Journal of Plant Pathology**, v.25, p.253 - 261, 2008.

COSTA, A.F.; BRAZ, A.S.K.; CARVALHO, M.G. Transmissão do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro por afídeos (Hemiptera-Aphididae). **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.376, 1995.

COSTA, A.S. Increase in the populational density of *Bemisia tabaci*, a threat to widespread virus infection of legume crops in Brazil. In: BIRD, J.; MARAMOROSCH, K. (Eds.) *Tropical Diseases of Legumes*. **Academic Press**, New York, p.171, 1995.

COSTA, A.S. Three whitefly-transmitted virus diseases of beans in São Paulo, Brazil. **FAO Plant Prot Bull**, v.13, p.121-130, 1965.

COSTA, A.S. Whitefly-transmitted plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, v.14, p.429-440, 1976.

CUPERTINO, F.P.; COSTA, A.S. Avaliação das perdas causadas por vírus na produção de batata. I. Vírus do enrolamento da folha. **Bragantia**, Campinas, v.29, n.31, p.337-345, 1970. (Apud Brune e Melo 2002)

DANIELS, J. Batata-semente para uso próprio. In: PEREIRA, A. DA S.; DANIELS, J. (Eds.) *O cultivo da batata na Região Sul do Brasil*. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília. p.495-508, 2003.

DANIELS, J. Viroses da batata e suas implicações na produção de batata-semente no Rio Grande do Sul. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.21, n.3-4, p.269-270, 1995.

DANIELS, J. 'Sementeiro': opção para melhorar a sanidade da batata-semente no Rio Grande do Sul. Pelotas: **EMBRAPA-UEPAE** [da] Cascata, 1983, 5p.

DANIELS, J.; CASTRO, L.A.S. Ocorrência do vírus do mosaico deformante da batata no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p.306, 1985.

DANIELS, J.; SCHONS, J. Parte 4: Doenças – Viroses In: O cultivo da batata na região Sul do Brasil. **Embrapa**, Brasília, 2003, p.300-320.

DE BARRO, P.J.; HART, P.J. Mating interactions between two biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. **Bull Entomol Res**, v.90, p.103-112, 2000.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.1, p.13-15, 1991.

FAOSTAT, 2010. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 21 jan. 2012.

FARIA, J.C.; BEZERRA, I.C.; ZERBINI, F.M.; RIBEIRO, S.G.; LIMA, M.F. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.125-137, 2000.

FARIA, J.C.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; SLACK, S.; MAXWELL, D.P. A new geminivirus associated with tomato in the State of São Paulo, Brazil. **Plant Disease**, v. 81, p.423, 1997.

FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, F.M.; ZHOU, X. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. **Archives of Virology**, v. 153, p.783-821, 2008.

FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; ÁVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus Genes**, v. 36, p.251-258, 2008.

FERNANDES, J.J.; CARVALHO, M.G.; ANDRADE, E.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FONTES, E.P.B.; ZERBINI, F.M. Biological and molecular properties of Tomato rugose mosaic virus (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. **Plant Pathology**, v.55, p.513-522, 2006.

FIGUEIRA, A.R. Viroses da batata e suas implicações na produção de batata-semente no estado de Minas Gerais: histórico do problema e soluções. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.21, n.3-4, p.268-269, 1995.

FIOREZE, C. Parte 2: Aspectos Sócio-econômicos - A batata no Estado do Rio Grande do Sul . In: O cultivo da batata na região Sul do Brasil. **Embrapa**, Brasília, 2003, p.44-52.

FLORES, E.; SILBERSCHMIDT, K.; KRAMER, M. Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. **Biologico**, v.26, p.65-69, 1960.

FONTES, E.P.B.; EAGLE, P.A.; SIPE, P.S.; LUCKOW, V.A.; HANLEY-BOWDOIN, L. Interaction between a geminivirus replication protein and origin DNA is essential for viral replication. **Journal of Biological Chemistry**, v.269, p.8459-8465, 1994a.

FONTES, E.P.B.; GLADFELTER, H.J.; SCHAFFER, R.L.; PETTY, I.T.D.; HANLEY-BOWDOIN, L. Geminivirus replication origins have a modular organization. **Plant Cell**, v.6, p.405-416, 1994b.

FORTES, G.R.L.; PEREIRA, J.E.S. Parte 2: A Planta - Classificação e descrição botânica. In: O cultivo da batata na região Sul do Brasil. **Embrapa**, Brasília, 2003, p.69-79.

HAMILTON, W.D.; STEIN, V.E.; COUTTS, R.H.A.; BUCK, K.W. Complete nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of tomato golden mosaic virus: Potential coding regions and regulatory sequences. **EMBO Journal**, v.3, p.2197-2205, 1984.

HOFER, P.; BEDFORD, I.D.; MARKHAM, P.G.; JESKE, H.; FRISCHMUTH, T. Coat protein gene replacement results in whitefly transmission of an insect nontransmissible geminivirus isolate. **Virology**, v.236, p.288-295, 1997.

HOOKER, W. Virus diseases of potato. **Technical Information Bulletin**. V.19, p.20, 1982

IBGE, 2011. Disponível em: < <http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 24 jan. 2012.

ICTV [2009] Master Species List. Disponível em: <http://talk.ictvonline.org/files/ictv_documents/m/msl/1231.aspx> Acesso em: 15 mai. 2011.

INOUE-NAGATA, A.K.; ALBUQUERQUE, L.C.; ROCHA, W.B.; NAGATA, T. A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage phi 29 DNA polymerase. **Journal of Virological Methods**, v.116, p.209-211, 2004.

INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; MONTE, D.C.; DUSI, A.N.; ÁVILA, A.C.; VLUGT, R.A.A. Pepper yellow mosaic virus, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. **Archives of Virology**, v.147, p.849-855, 2002.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. Mega 3: Integrated software for molecular evolutionary genetic analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, v.5, p.150-163, 2004.

MELO, P.C.T. Mosca branca ameaça produção de hortaliças. Asgrow do Brasil Sementes Ltda. **Technical Bulletin**, 1992.

MORALES, F.J.; ANDERSON, P.K. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. . **Archives of Virology**, v.146, p.415-441, 2001.

MORALES, F.J.; ANDERSON, P.K. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. **Archives of Virology**, v.146, p.415-441, 2001.

NAITO, F. Y. B.; PEREIRA, T. G.; INOUE-NAGATA, A. K. Análise comparativa de metodologias de detecção de begomovírus. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.35, p.S296, ago, 2010.

PADIDAM, M.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C.M. The role of AV2 ("precoat") and coat protein in viral replication and movement in tomato leaf curl geminivirus. **Virology**, v.224, p.390-404, 1996.

PADIDAM, M.; BEACHY, R.N.; FOUQUET, C.M. Classification and identification of geminivirus using sequence comparisons. **Journal General Virology**, v.76, p.249-263, 1995.

QIN, S.; WARD, B.M.; LAZAROWITZ, S.G. The bipartite geminivirus coat protein aids BR1 function in viral movement by affecting the accumulation of viral single-stranded DNA. **Journal of Virology**, v.72, p.9247-9256, 1998.

RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVICIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H.; ZERBINI, F.M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of Virology**, v.148, p.281-295, 2003.

RIBEIRO, S.G.; INOUE-NA, A.K.; DANIELS, J.; AVILA, A.C. Potato deforming mosaic disease is caused by an isolate of Tomato yellow vein streak virus. **Plant Pathology**, v.55, p.569, 2006.

RIBEIRO, S.G.; INOUE-NAGATA, A.K.; AVILA, A.C.; DANIELS, J. Molecular characterization of the geminivirus causing potato deforming mosaic disease. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.447, 2000.

RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I.C; ORLANDINI, D.R.S.; INOUE-NAGATA, A.K. Molecular and biological characterization of Tomato chlorotic mottle virus suggests that recombination underlies the evolution and diversity of Brazilian tomato begomoviruses. **Phytopathology**, v.97, p.702-711, 2007.

RIBEIRO, S.G.; MELLO, L.V.; BOITEUX, L.S.; KITAJIMA, E.W.; FARIA, J.C. Tomato infection by a geminivirus in the Federal District, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.330, 1994.

ROJAS, A.; KVARNHEDEN, A.; MARCENARO, D.; VALKONEN, J.P.T. Sequence characterization of Tomato leaf curl Sinaloa virus and Tomato severe leaf curl virus: Phylogeny of New World begomoviruses and detection of recombination. **Archives of Virology**, v.150, p.1281-1299, 2005a.

ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSELL, D.R.; MAXWELL, D.P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**, v.77, p.340-347, 1993.

ROJAS, M.R.; HAGEN, C.; LUCAS, W.J.; GILBERTSON, R.L. Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergence of geminiviruses. **Annual Review of Phytopathology**, v.43, p.361-394, 2005.

ROOSSINCK, M. Mechanisms of plant virus evolution. **Annual Review of Phytopatology**, v.35, p.191-209, 1997.

RUBINSTEIN, G.; CZOSNEK, H. Long-term association of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) with its whitefly vector *Bemisia tabaci*: effect on the insect transmission capacity, longevity and fecundity. **J. Gen. Vir**, v.78, p.2683-2689, 1997.

SALAZAR, L.F. Potato viruses and their control. Peru: CPI, 1996. No artigo: ÁVILA, A.C.; MELO, P.E.; LEITE, L.R.; INOUE-NAGATA, A.K. Ocorrência de vírus em batata em sete estados do Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.4, p.491-497, 2009.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. Molecular Cloning - A Laboratory Manual (3a ed.). Cold Spring Harbor, NY. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 2001.

SCHUSTER, D.J.; MUELLER, T.F.; KRING, J.B.; PRICE, J.F. Relationship of the sweetpotato whitefly to a new tomato fruit disorder. **HortScience**, v.25, p.1618-1620, 1990.

SEAL, S.; VANDENBOSCH, F.; JEGER, M.J. Factors Influencing Begomovirus Evolution and Their Increasing Global Significance: Implications for Sustainable Control. **Critical Reviews in Plant Science**, v.25, p.23,-46, 2006.

SINGH, R.P. Development of the molecular methods for potato virus and viroid detection and prevention. **Genome**, v.42, p.592-604, 1999.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Viroses da batata e suas implicações na produção de batata-semente no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.21, n.3-4, p.264-266, 1995.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; MIRANDA FILHO, H.S.; RAMOS, V.J.; COSTA, A.S.; IGUE, T. Produção de batata-semente Aracy com diferentes níveis de enrolamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.2, p.203-211, 1984.

STANLEY, J.; BISARO, D.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; HARRISON, B.D.; RYBICKI, E.P.; STENGER, D.C. Family Geminiviridae. In: FAUQUET, C.M. ; MAYO, M.A. ; MANILOFF, J. ; DESSELBERGER, U. ; BALL, L.A. (Eds.) Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Elsevier/Academic Press**, San Diego, p. 301-326, 2005.

STANLEY, J.; TOWNSEND, R.; CURSON, S.J. Pseudorecombinantes between cloned DNAs of two isolate of cassava latent virus. **Journal General Virology**, v.66, p.1055-1061, 1985.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v.22, p.4673-4680, 1994.

TRUTA, A.A.C.; FILGUEIRA, A.R. Detecção simultânea dos vírus do enrolamento (PLRV), VÍRUS Y (PVY) e o VÍRUS X (PVX) da batata (*Solanum tuberosum* L.) por DAS-ELISA1. **Ciência agrotécnica**, v.24, p.597-605, 2000.

WETTER, C. Carnation latent virus. *Descriptions of Plant Viruses*, nº. 61. **Commonwealth Mycological Institute** (Kew, England)/Association of Applied Biologists, 1971.

ZERBINI, F.M.; ZAMBOLIM, E.M.; CARRIJO, I.V.; GILBERTSON, R.L. A new bipartite geminivirus infecting tomatoes in Minas Gerais, Brazil. **Phytopathology**, v.86, p.S1, 1996.

ZHANG, W.; OLSON, N.H.; BAKER, T.S.; FAULKNER, L.; AGBANDJE-MCKENNA, M.; BOULTON, M.I.; DAVIES, J.W.; MCKENNA, R. Structure of the Maize streak virus geminate particle. **Virology**, v.279, p.471-477, 2001.

Anexos

Anexo 1. Espécies de vírus descritas que infectam batata em todo o mundo

Espécie ¹ / gênero	Acrônimo	Transmissão natural
<i>Andean potato latent virus/ Tymovirus</i>	APLV	besouro, sementes
<i>Andean potato mottle virus/ Comovirus</i>	APMoV*	Besouro
<i>Potato aucuba mosaic virus/ Potexvirus</i>	PAMV	Afídeos
<i>Potato black ringspot virus/ Nepovirus</i>	PBRV	Nematóides
Potato deforming mosaic virus/ Begomovirus	PDMV*	mosca branca
Potato latent virus / Carlavirus	PotLV	Afídeos
<i>Potato leafroll virus/ Polerovirus</i>	PLRV*	Afídeos
<i>Potato mop top virus/ Pomovirus</i>	PMTV	Fungos
Potato rough dwarf virus/ Carlavirus	PRDV	Afídeos
<i>Potato virus A/ Potyvirus</i>	PVA*	Afídeos
<i>Potato virus M/ Carlavirus</i>	PVM	afídeos e contato
Potato virus P/ Carlavirus	PVP*	Afídeos
<i>Potato virus S/ Carlavirus</i>	PVS*	afídeos e contato
<i>Potato virus T/ Trichovirus</i>	PVT	Sementes
<i>Potato virus U/ Nepovirus</i>	PVU	nematóides
<i>Potato virus V/ Potyvirus</i>	PVV	Afídeos
<i>Potato virus X/ Potexvirus</i>	PVX*	Contato
<i>Potato virus Y/ Potyvirus</i>	PVY*	afídeos e contato
<i>Potato yellow dwarf virus/ Nucleorhabdovirus</i>	PYDV	Cigarrinhas
<i>Potato yellow vein virus/ Crinivirus?</i>	PYVV	mosca branca
<i>Potato yellow ring virus/ Alfamovirus?</i>	PYV	afídeos e sementes
<i>Solanum apical leaf curling virus/ Begomovirus</i>	SALCV	desconhecida
<i>Wild potato mosaic virus/ Potyvirus</i>	WVPMV	Afídeos

* Ocorrência no Brasil

¹ Nome em itálico são de espécies aceitas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus/ o sinal de interrogação após o gênero indica dúvida na classificação

Fonte: Adaptado DANIELS; SCHONS (2003)

Anexo 2. Espécies de vírus que foram descritas infectando outros hospedeiros e que também infectam a batata

Espécie¹/ gênero	Acrônimo	Transmissão natural
<i>Alfafa mosaic vírus/ Alfamovirus</i>	AMV*	Afídeos
<i>Arracacha vírus B – oca strain/ Nepovirus?</i>	AVB-O	Sementes
<i>Beet curly top vírus/ Cucumovirus</i>	BCTV*	Cigarrinha
<i>Cucumber mosaic vírus/ Cucumovirus</i>	CMV	Afídeos
<i>Eggplant mottled dwarf vírus/ Nucleorhabdovirus</i>	EMDV	Afídeos
<i>Sowbane mosaic vírus/ Sobemovirus</i>	SoMV	Contato
<i>Tobacco mosaic vírus/ Tobamovirus</i>	TMV	Contato
<i>Tobacco necrosis vírus/ Necrovirus</i>	TNV	Fungos
<i>Tobacco rattle vírus/ Tobravirus</i>	TRV*	Nematóides
<i>Tobacco ring spot vírus/ Nepovirus</i>	TRSV*	Nematóides
<i>Tobacco streak vírus/ Ilavirus</i>	TSV*	Trips
<i>Tomato Black ring vírus/ Nepovirus</i>	TBRV*	Nematóides
<i>Tomato mosaic vírus/ Tobamovirus</i>	ToMV*	Contato
<i>Tomato spotted wilt vírus/ Tospovirus</i>	TSWV*	Trips

* Ocorrência no Brasil

¹ Nome em itálico são de espécies aceitas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Víruses/ o sinal de interrogação após o gênero indica dúvida na classificação

Fonte: Adaptado DANIELS; SCHONS (2003)