



ISA KARLA DIAS

**DETECÇÃO DE *Potato virus Y* (PVY) EM TUBÉRCULOS DE
BATATA SEMENTE ATRAVÉS DA TÉCNICA SOROLÓGICA
DAS-ELISA**

**LAVRAS – MG
2022**

RESTRICTED

ISA KARLA DIAS

**DETECÇÃO DE *Potato virus Y* (PVY) EM TUBÉRCULOS DE BATATA SEMENTE
ATRAVÉS DA TÉCNICA SOROLÓGICA DAS-ELISA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Agronomia, para a obtenção do
título de Bacharel.

Prof. Dra. Antônia dos Reis Figueira
Orientadora

Doutoranda. Antonia Thalyta Lopes
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2022**

RESTRICTED

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Dias, Isa Karla.

Detecção de Potato Virus Y (PVY) em Tubérculos de Batata
Semente Através da Técnica Sorológica DAS-ELISA / Isa Karla
Dias. - 2022.

36 p.

Orientador(a): Antônia dos Reis Figueira.

TCC (graduação) - Universidade Federal de Lavras, 2022.
Bibliografia.

1. Solanum tuberosum. 2. DAS-ELISA. 3. Potato virus Y. I.
dos Reis Figueira, Antônia. II. Título.

ISA KARLA DIAS

**DETECÇÃO DE *Potato virus Y* (PVY) EM TUBÉRCULOS DE BATATA SEMENTE
ATRAVÉS DA TÉCNICA SOROLÓGICA DAS-ELISA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Agronomia, para a obtenção do
título de Bacharel

APROVADO em 19 de setembro de 2022.

Prof. Dra. Antônia dos Reis Figueira
Orientadora

Doutoranda. Antonia Thalyta Lopes
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

RESTRICTED

Dedico este trabalho à Deus, pelas bênçãos e vitórias alcançadas durante esses anos. Dedico também, aos meus familiares pelo apoio, força e carinho em todos os momentos desta trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade concedida em realizar essa graduação, pela força e amparo nos momentos difíceis e por ter me permitido chegar até aqui.

Aos meus familiares, em especial meus pais, Alessandra Cristina das Dores de Souza Dias e Carlos Jacinto Dias, pelo apoio, incentivo e suporte prestado ao longo desses anos, por terem segurado minhas mãos tão firmes ao ponto de eu me sentir segura o bastante para seguir em frente.

Ao meu tio, Anderson Antônio de Souza, ao meu irmão Maicon Souza Dias e ao Hugo Linhares Perdomo, por confiarem e acreditarem em mim desde o início e por nunca terem medido esforços para me ajudar.

A todos os amigos de graduação, pelos momentos de risadas, de estudo, de empatia e por terem feito a trajetória ser mais leve.

À Empresa Terra Júnior Consultoria Agropecuária, por terem transformado minha jornada enquanto estudante e por todo o conhecimento e evolução adquiridos em tão pouco tempo. Em especial, a todos os “terrâqueos” que serviram como fonte de motivação e inspiração.

À Equipe do Laboratório de Virologia Molecular, pelo apoio, ensinamento e suporte prestado. Em especial, Sérgio, Thalyta, Carzinho, Viviane e Marcos.

À Prof. Dra. Antônia dos Reis Figueira, por todo aprendizado, paciência e contribuição para a minha formação acadêmica.

A todos os professores que tive a honra de conhecer, vocês contribuíram imensamente para minha formação enquanto profissional e pessoa.

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, pela oportunidade da realização de um sonho.

A todos mencionados, meus mais sinceros agradecimentos, vocês ficarão eternizados em minha memória. Obrigada por terem feito esses anos especiais.

MUITO OBRIGADA

RESUMO

Historicamente a ocorrência de vírus em batata têm sido uma das principais causas de perdas na produção e da condenação de sementes certificadas. Entre as doenças que afetam a batata destacam-se, em ordem de importância e incidência, o *Potato virus Y* (PVY) e o *Potato leafroll virus* (PLRV). Dois outros vírus, como o *Potato virus X* (PVX) e o *Potato virus S* (PVS) também se encontram presentes em menor escala, por não possuírem vetores para a sua disseminação no campo. Ultimamente o PVY é o vírus prevalente no campo, devido ao seu mecanismo de transmissão do tipo não persistente ou estiletar e ao surgimento de isolados recombinantes, mais transmissíveis pelos afídeos vetores. Assim sendo, a sua diagnose precoce no material utilizado para propagação é uma das medidas mais importantes para impedir a sua introdução no campo, com posterior transmissão pelos afídeos vetores que abundam nos campos brasileiros de produção de batata. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi de avaliar a confiabilidade da técnica sorológica DAS-ELISA para indexação dos vírus nos tubérculos sementes de diferentes genótipos, em três fases do estágio de desenvolvimento: em tubérculos dormentes, nos brotos obtidos por indução de brotação, e nas plântulas oriundas do tubérculo que foram mantidas em ambiente protegido, em condições de casa-de-vegetação. Três amostras de tubérculos de batata provenientes de campos produtores de batata-semente localizados em Minas Gerais foram analisadas por meio do teste ELISA, empregando-se antissoros para os quatro vírus objeto da indexação oficial (PVY, PVS, PVX E PRLV), nas três fases mencionadas. Dentre as amostras avaliadas, obteve-se resultado negativo para todos os vírus analisados nos tubérculos dormentes. Contudo, ao serem analisados no período pós-brotação, 10% das amostras foram positivas para PVY, porcentagem que se confirmou nas plântulas oriundas desses tubérculos em condições de casa de vegetação. Esses resultados mostraram que a técnica DAS-ELISA, por sua sensibilidade, é mais eficiente quando aplicada em tubérculos brotados, propiciando uma maior segurança na indexação de vírus em tubérculos de batata.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, DAS-ELISA, Potato virus Y

ABSTRACT

Since the beginnings of potato cultivation, the occurrence of viruses has been one of the main causes of the degeneration of potato tubers. Consequently, they have caused great losses due to the decrease in production and condemnation of certified seeds. Among the viruses that affect potatoes, *Potato virus Y* (PVY) and *Potato leafroll virus* (PLRV) are the most important due to its field incidence. Two other viruses, *Potato virus X* (PVX) and *Potato virus S* (PVS), are also present in a lower incidence, as they do not have vectors for their dissemination in the field. Since the late 90's PVY is the most prevalent virus in the field, due to its non-persistent aphid transmission mechanism and also to the emergence of more easily transmissible recombinant isolates. Therefore, its early diagnosis in the material used for propagation is one of the most important measures to prevent its introduction into the field. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of the DAS-ELISA serological technique for virus indexing in seed tubers of different genotypes, in three stages of development: in dormant tubers, in sprouts obtained by induction of tuber sprouting, and in seedlings from tubers planted under protected conditions, in a greenhouse. Three samples of potato tubers from seed potato producing fields located in Minas Gerais were analyzed by DAS-ELISA test, using antisera for the following viruses: PVY, PVS, PVX and PRL. Among the samples evaluated, no virus was detected in the eye buds of dormant tubers. However, when analyzing the sprouts emerged after induction, 10% of the samples were PVY positive, which was confirmed in the seedlings from these tubers in the greenhouse. These results showed that the DAS-ELISA technique, due to its sensitivity, is more efficient when applied to sprouted tubers, providing greater confidence in its application for potato virus indexing.

Keywords: *Solanum tuberosum*, DAS-ELISA, Potato virus Y

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tubérculos mergulhados na solução com ácido giberélico.....	23
Figura 2 – Tubérculos secando na bancada após serem mergulhadas na solução com ácido giberélico	23
Figura 3 – Tubérculos em câmara de crescimento com temperatura a 28°C para brotação	24
Figura 4 – Tubérculos brotados com as respectivas identificações.....	24
Figura 5 – Brotos submetidos à análise por DAS-ELISA	25
Figura 6 – Aplicação dos extratos dos brotos nas microplacas	25
Figura 7 – Folhas das plântulas submetidas à análise por DAS-ELISA	26
Figura 8 – A-C: Plantas infectadas com PVY sem sintomas visíveis	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Importância social e econômica da batata	15
3.2 Doenças da batata	16
3.3 Métodos de diagnose	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Condução do Experimento.....	22
4.2 Detecção dos vírus nos tubérculos e plântulas.....	22
4.2.1 Vírus indexados e estágios de desenvolvimento dos tubérculos.....	22
4.2.2 Indução de brotação e plantio dos tubérculos	22
4.2.3 Análise por meio do Teste DAS-ELISA	26
4.2.4 Plantio dos tubérculos e observação dos sintomas.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Incidência de vírus	28
5.2 Avaliação dos sintomas do PVY nas folhas	29
6 CONCLUSÕES.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Mais de um bilhão de pessoas utilizam a batata como alimento, de modo que a produção global total excede 374 milhões de toneladas métricas por ano. A batata tem sido altamente recomendada pela Food and Agriculture Organization (FAO) como uma cultura de segurança alimentar, pois o mundo enfrenta não apenas incertezas no fornecimento de alimentos, mas também o crescente número de pessoas afetadas pela fome, além de uma população crescente que demanda cada vez mais por alimentos (FAO, 2009).

No Brasil, a cultura da batata foi estabelecida no final do século XIX no sul do país, onde o clima era mais favorável para o seu cultivo. O Brasil é atualmente o 20º produtor de batatas no mundo (FAO, 2021). Nas principais regiões produtoras do país a batata-semente degenera rapidamente, devido à incidência de severos fitopatógenos, exigindo constantes inspeções visuais e frequentes renovações dos tubérculos para o plantio. Dentre os patógenos associados a essa degenerescência destacam-se os de etiologia viral, sendo o *Potatovirus X* (PVX), o *Potato virus S* (PVS) o *Potato leafroll virus* (PLRV) e o *Potato virus Y* (PVY) (QUENOUILLE et al., 2013).

O PLRV e o PVY têm sido os mais frequentes no campo, devido a sua transmissão por afídeos vetores diversos, dentre os quais o *Myzus persicae* ocupa lugar de destaque (COSTA et al., 1960; DE BOKX; HUTTINGA, 1981). Além disso, o PVY possui uma alta diversidade genética, o que lhe confere a capacidade de sobreviver e se disseminar em várias condições e hospedeiros (BLANCHARD et al., 2008). A constante recombinação apresentada pelo PVY cria vários desafios para os fitopatologistas, tanto na identificação precisa dessas estirpes no campo, quanto na previsão dos seus impactos sobre a produção. Isso impede a correta identificação e classificação de estirpes de PVY, impactando assim a interpretação de dados biológicos para auxiliar no desenvolvimento de estratégias de manejo integrado de pragas (MIP). Apesar da diversidade desse vírus ter sido investigada em muitos países em todo o mundo, esses dados ainda são escassos no Brasil (KARASEV et al., 2011).

Nesse contexto, torna-se fundamental o uso de técnicas de diagnose específicas, que apresentem aplicabilidade para detecções rápidas e em grande escala, a fim de constatar a sua incidência no campo (VALKONEN, 2007). Existem várias técnicas disponíveis para detectar vírus (SINGH, 1999). Muitas autoridades de certificação preferem a detecção visual de patógenos nas plantas de batata ou tubérculos de sementes. Entretanto, a detecção visual dos sintomas, além de permitir escape, pois a planta de batata pode apresentar uma infecção latente e não mostrar sintomas detectáveis, na maioria das vezes é inconclusiva (BANTTARI et al.,

1993).

Diversas análises biológicas e laboratoriais, como as técnicas sorológicas e moleculares, têm sido utilizadas para identificar, diagnosticar e classificar os fitovírus nessas últimas décadas (FIGUEIRA, 2000). Dentre elas, a técnica sorológica DAS-ELISA (double antibody sandwich - Enzyme-linked immunosorbent assay), desenvolvida por Clark e Adams (1977) tem se mostrado altamente eficiente, principalmente por permitir a análise de um grande número de amostras em curto espaço de tempo. Entretanto, como a sua sensibilidade é mais baixa que os testes moleculares (FIGUEIRA et al., 1997) a sua eficiência para detectar concentrações de vírus muito baixas, como as que podem ocorrer em tubérculos dormentes tem sido questionada. Neste trabalho a aplicação da DAS-ELISA para detecção de vírus em tubérculos dormentes, em brotos obtidos após indução de brotação e em plântulas emergentes destes tubérculos plantados em casa-de-vegetação foi feita em lotes de tubérculos semente provenientes de produtores de Minas Gerais. Os resultados obtidos foram aqui apresentados e discutidos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a confiabilidade da técnica sorológica DAS-ELISA para detecção do PVY, PVS, PRLV e PVX nos tubérculos sementes em diferentes fases do ciclo de vida da batata.

2.2 Objetivos específicos

Selecionar tubérculos de batata semente recebidos pelo Centro de Indexação de vírus de Minas Gerais (CIV-MG), para análise de vírus, em fase de dormência.

Aplicar o método de diagnose DAS-ELISA para a detecção dos quatro vírus mais comuns na batata: PLRV, PVS, PVX e PVY no tubérculo dormente (sem brotar) nos brotos dos tubérculos submetidos à indução de brotação e nas plantas obtidas por meio do plantio desses tubérculos em casa-de-vegetação.

Estabelecer uma metodologia segura para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos pelo CIV-MG.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Importância social e econômica da batata

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a hortaliça de raiz mais importante no mundo em produção em massa, possui uma alta representatividade mundial, em termos de consumo humano e é comparável às grandes commodities. Atualmente, se destaca como o terceiro alimento mais consumido do mundo, atrás do arroz e do trigo (AGRIANUAL, 2020). A batata é creditada com a distinção de ser o fator agrícola mais crucial no curso dos eventos humanos nos últimos oito séculos, incluindo seu efeito na segurança alimentar, sua proeza na nutrição das pessoas em grande escala, auxiliando o crescimento populacional explosivo em Europa e urbanização (NUN; QIAN, 2011; DE JONG, 2016).

Com o aumento significativo da população europeia durante o período da segunda metade do século XVIII a meados do século XIX a batata teve um efeito notável (VANDENBROEKE, 1971). Este crescimento populacional respondeu ao aumento muito significativo da produção de alimentos provocado pela expansão da cultura da batata nos países europeus. Estima-se que a introdução da batata resultou, ao longo dos anos, na duplicação da oferta de alimentos na Europa. Essa hortaliça trouxe uma solução para a histórica escassez periódica de alimentos na Europa, onde a escassez de alimentos era um problema recorrente (VANDENBROEKE, 1971). Argumenta-se que a batata, ao fornecer alimento abundante para populações crescentes, foi um dos fatores que permitiram aos países europeus dominar o mundo durante os séculos coloniais (MCNEIL, 1999), facilitando até certo ponto a Revolução Industrial e contribuindo para a recuperação após as grandes guerras europeias no século XX.

Nas últimas décadas, a batata tornou-se uma cultura dominante em países emergentes como China e Índia, que são hoje os maiores produtores e consumidores mundiais do tubérculo. A política oficial da China é transformar a batata em sua principal fonte de segurança alimentar em um futuro próximo, o mesmo está sendo realizado na Índia (SINGH; RANA, 2013). Além disso, a área de batata arável aumentou mais do que qualquer outra cultura alimentar na África Subsariana nas últimas três décadas. Em todo o mundo, a produção de batata aumentou a uma taxa anual de 4,5% nos últimos 10 anos, superando o crescimento da produção de qualquer outro produto alimentar importante nos países em desenvolvimento, onde há uma necessidade premente de satisfazer a crescente demanda por alimentos e nutrição (AZIMUDDIN et al., 2009; DEVAUX et al., 2014).

A batata tem sido tradicionalmente considerada uma cultura de segurança alimentar,

geralmente implicando o grande volume de um alimento confiável, o que era crítico nas eras pré-colombianas na América do Sul. Ainda hoje, a batata é considerada uma cultura que fornece alimento para os pobres, principalmente nas regiões em desenvolvimento (LUTALADIO; CASTALDI, 2009). No entanto, a verdade é que a batata não é apenas uma cultura fundamental para fornecer segurança alimentar às regiões em desenvolvimento, mas também é um alimento altamente nutritivo que fornece mais calorias, vitaminas e nutrientes por área de terra cultivada do que qualquer outra cultura básica (ORTIZ; MARES, 2017).

Ao contrário das crenças errôneas, a batata é uma rica fonte de vitamina C, potássio e fibra dietética. Também é uma excelente fonte de vitamina B6 e um fornecedor de quantidades relativamente altas de outras vitaminas do complexo B, como tiamina, riboflavina, folato e niacina, bem como minerais como magnésio, fósforo, ferro e zinco, todos tornando a batata ideal para uma dieta saudável (NUNN; QIAN, 2011). Assim, a batata acrescenta uma nova dimensão à segurança alimentar, ampliando-a para a segurança nutricional em um mundo em que a desnutrição ainda é prevalente, não apenas pela falta de acesso aos alimentos, mas também pela baixa qualidade dos alimentos acessíveis das plantações locais (ORTIZ; MARES, 2017).

Com o aumento da produtividade e produção da batata, fomentado por novas tecnologias de melhoramento e produção, o impacto vai além da segurança alimentar e nutricional, afetando positivamente os meios de subsistência das famílias agricultoras, aumentando a renda ou criando empregos (THIELE et al., 2010). É importante perceber que a batata é uma cultura com ampla adaptabilidade ecológica, capaz de crescer em diferentes condições latitudinais e altitudinais onde duração do dia, temperaturas e chuvas são altamente diversas (HIJMANS, 2001). Nesse sentido, o ritmo cada vez mais acelerado do desenvolvimento de novas tecnologias está promovendo trabalhos de melhoramento mais focados e orientados para a produção de novas variedades mais eficientes no uso da água e dos nutrientes do solo, bem como mais tolerantes aos estresses bióticos e abióticos, tornando a batata uma excelente cultura climaticamente inteligente (ORTIZ; MARES, 2017).

3.2 Doenças da batata

A batata é uma promessa de alimento para milhões de pessoas, especialmente em países em desenvolvimento. Todo o potencial da cultura só pode ser realizado se doenças e pragas são mantidas sob controle. A literatura afirma que a cultura da batata pode ser afetada por aproximadamente 160 doenças e distúrbios, dos quais 50 são causados por fungos, 10 por bactérias, 40 por vírus e outros por não parasitas, ou devido a causas desconhecidas. As doenças

podem afetar a batata em qualquer estágio de crescimento da cultura ou mesmo durante o armazenamento (KHURANA, 1998).

As doenças causadas por fungos, bactérias e vírus podem afetar folhagens, tubérculos ou ambos. Patógenos favoráveis ao ambiente podem arruinar a colheita. As consequências da fome histórica da batata na Europa, particularmente na Irlanda, causadas pela praga tardia, foram bem documentadas (WOODHAM-SMITH, 1962). Doenças de tubérculos como sarna comum, sarna preta, podridão seca, podridão mole podem não destruir a colheita, mas podem reduzir muito a qualidade e a comercialização da colheita. Com a introdução de variedades resistentes e melhores práticas culturais, o cenário da doença pode mudar de tempos em tempos, exigindo vigilância periódica (KHURANA et al., 1998). As doenças também podem ser afetadas por qualquer mudança no ambiente, como o aquecimento global (KANKORANTA, 1996).

Muitos vírus de plantas (ABBAS et al., 2012; 2013), nematóides (PARVEEN et al., 2013), bactérias (ASHRAF et al., 2012) e fungos (GUL et al., 2013) foram documentados como pragas graves de batata. As doenças mais destrutivas da cultura da batata incluem a requeima (*Phytophthora infestans*), a podridão anelar (*Clavibacter michiganensis ssp. Sepedonicus*) e o enrolamento das folhas (*Potato leafroll virus*), que podem causar a perda total de uma colheita, a menos que sejam praticados métodos eficazes de controle. As doenças fúngicas desempenham um papel fundamental nas perdas de rendimento e são classificadas em doenças foliares, do solo e dos tubérculos (LARGE, 1940).

Esses vírus são disseminados e ameaçam infecções em culturas emergentes (WEBSTER et al., 2004). As infecções virais da batata manifestam sintomas em alguns casos, enquanto outros vírus apresentam características totais assintomáticas. O diagnóstico visual raramente diferencia uma infecção viral da outra. Entre os sintomas virais da batata, nanismo, necrose, mosaico e enrolamento da folha são as mais importantes e causadas por vírus como *Potato Virus S* (PVS), *Potato Virus X* (PVX), *Potato Virus Y* (PVY), *Potato Leaf Roll Virus* (PLRV) (AWASTHI; VERMA, 2017).

Dentre os vírus mais comuns a literatura destaca o *Potato virus Y* (PVY). Esse está classificado em quinto lugar entre os dez principais vírus de plantas mais importantes do mundo e considerado o vírus economicamente mais prejudicial para as batatas cultivadas (SCHOLTHOF et al., 2011; VALKONEN, 2007). Além da transmissão por tubérculos, o PVY também possui inúmeras espécies de pulgões vetores capazes de transmitir o vírus de maneira não persistente (LACOMME et al., 2017). Existe múltiplas estirpes recombinantes do PVY identificadas nas últimas duas décadas. O surgimento dessas cepas globalmente pode ser

atribuído a vários fatores, incluindo estratégias de manejo de doenças e abordagens de melhoramento de plantas (JONES, 2014).

O PVY existe na natureza como um complexo de cepas e variantes que foram caracterizadas e nomeadas com base em sua origem geográfica e propriedades biológicas, sorológicas e moleculares (SINGH et al., 2008). Essa impressionante diversidade genética confere ao PVY a capacidade de sobreviver e prosperar em várias condições e hospedeiros e também desafia a detecção precisa do vírus (KARASEV et al., 2011). Isso impede a correta identificação e classificação de isolados de PVY; impactando assim a interpretação de dados biológicos para auxiliar no desenvolvimento de estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (HU et al., 2009).

O PVY tem sido um importante problema de doença para a batata e a principal causa de doença de 'esgotamento'. O acúmulo de níveis de vírus na cultura propagada vegetativamente ao longo de várias gerações enfraquece gradualmente as fontes de sementes e reduz o vigor das plantas e a produção de tubérculos (LAWSON; STACE-SMITH, 2001). Os programas de certificação de batata-semente vigente pelo Ministério da Agricultura e Pecuária confere não apenas monitoramento dos níveis de vírus em cada ano de safra e descartaram lotes de sementes com quantidades excessivas de vírus, mas também limitaram o número de gerações de batatas que poderiam ser usadas para a produção de sementes (Franc, 2001). O PVY, mesmo as linhagens que causam doenças graves em batata, não é uma doença limitante de produção há muitos anos, mas continua sendo a principal razão para a rejeição de lotes de sementes no processo de certificação devido a níveis que excedem os limites de tolerância (DAVIDSON et al., 2013).

Outra espécie de vírus o PLRV é um membro típico do gênero Polerovirus, da família Luteoviridae, possui um genoma monopartido de ssRNA (+) de 5,3 a 5,7 kb de tamanho com um VPg ligado na extremidade 5'. O PLRV tem uma partícula esférica isométrica, não envelopada, com uma extensão de domínio de leitura (RTD) localizada na superfície da partícula (D'ARCY; DOMIER 2005). Este vírus é transmitido de maneira persistente e circulante, uma vez que um pulgão adquire PLRV, ele pode transmitir o vírus por toda a sua vida (WHITFIELD et al., 2015). Além disso, o PLRV pode ser espalhado verticalmente através de tubérculos.

Plantas infectadas com PLRV desenvolvem sintomas visíveis que incluem caráter ereto e enrolamento das folhas, clorose internerval, folhas coriáceas, necrose do floema, nanismo da planta e necrose líquida nos tubérculos (PETER et al. 2009). Não há resistência extrema efetiva ao PLRV em batata. O PLRV é o único vírus comum da batata transmitido por pulgões de

maneira persistente e circulante por muitas espécies de pulgões colonizadores da batata, principalmente o pulgão verde (*Aphis spiraecola*), enquanto outros vírus da batata são geralmente transmitidos por pulgões de maneira não persistente (ou seja, estiletes). No modo não persistente, como o PVY, por exemplo, as partículas de PVY são adquiridas rapidamente e não há período de latência necessário para a inoculação do vírus em uma nova planta (MAYO; ZIEGLER-GRAFF, 1996; GRAY; GILDOW, 2003).

O PVX ataca a batata em todo o mundo, causando perdas de rendimento consideráveis que podem chegar a 20% da produtividade (ADAMS et al, 2004). Dependendo da infecção da cepa do vírus, ocorrem perdas graves na infecção conjunta com outros vírus. O PVX pertence ao gênero Potexvirus, que é membro da família *Flexiviridae* (ADAMS et al, 2004). O PVX é capaz de permanecer incubado na planta infectada, classificando-o como um “vírus latente”. Portanto, às vezes, é difícil identificar uma planta infectada pelo PVX com base nos sintomas (NADEEM et al. 2011).

A organização do genoma do PVX contém cinco quadros de leitura aberta (ORF) que codificam as proteínas RdRp, TGBp1, TGBp2, TGBp3 e CP (MARTELLI et al., 2007). Plantas de batata infectadas com PVX geralmente desenvolvem sintomas leves na folhagem, mas o vírus pode causar sintomas de clorose, mosaico, diminuição do tamanho das folhas, ocasionalmente necrose de topo e lesões necróticas nos tubérculos. Além disso, o PVX pode interagir com o PVY e outros vírus de maneira sinérgica para causar sintomas mais graves e perda de rendimento do que qualquer vírus sozinho (GONZALEZ-JARA et al., 2004). O PVX é transmitido mecanicamente ou verticalmente através de tubérculos infectados. Dois genes resistentes, Rx1 e Rx2, identificados de espécies selvagens *S. tuberosum ssp. andigena* e *S. acaule*, respectivamente, proporcionam extrema resistência ao PVX (BENDAHDANE et al., 1999; 2000).

O *Potato virus S* (PVS) é um vírus bem caracterizado no gênero *Carlavirus*, família *Betaflexiviridae*. Possui um genoma de RNA de sentido positivo de fita simples e sequências genômicas completas e/ou parciais estão disponíveis para vários isolados (ADAMS et al., 2011). Este vírus não é conhecido por ser transmitido por pólen ou sementes verdadeiras (HORVATH, 1973; GOTH; WEBB, 1974), e sim, transmitido por propagação vegetativa (via tubérculos) e pode ser transmitido mecanicamente, por exemplo, por ferramentas e feridas contaminadas (CABI, 2019).

O PVS ocorre em todo o mundo onde quer que a batata seja cultivada (JEFFRIES, 1998). Análises filogenéticas recentes mostram uma clara separação entre a distribuição geográfica dos isolados de PVS no nível da cepa (DUAN et al., 2018; SANTILLAN et al.,

2018). Os isolados PVS-O são relatados em todos os continentes (SALARI et al., 2011; DUAN et al., 2018; SANTILLAN et al., 2018), enquanto os isolados PVS-A são relatados apenas na Ásia, Oceania e América do Sul (COX; JONES, 2010; DUAN et al., 2018; KHASSANOV; VOLOGIN, 2018).

A literatura indica que apenas isolados de PVS-A são transmitidos por pulgões (FLETCHER, 1996; SLACK, 1983). No entanto, nesses relatórios mais antigos, faltam dados genômicos para atribuir inequivocamente isolados a PVS-A ou PVS-O. Recentemente, Santillan et al. (2018) confirmaram essas indicações iniciais, mostrando que *Myzus persicae* (Sulzer) transmitiu todos os nove isolados de PVS-A testados, mas não conseguiu transmitir os três isolados de PVS-O testados. Além disso, existem algumas evidências de que isolados de PVS-A podem ocorrer em concentrações mais altas em batatas infectadas, o que pode favorecer uma maior eficiência de transmissão de pulgões (SANTILLAN et al., 2018). Não se sabe se essas diferenças na transmissibilidade de pulgões são características gerais aplicáveis a todos os isolados de PVS-A e PVS-O.

3.3 Métodos de diagnose

A diagnose de vírus pode ser feita por meio de métodos biológicos, sorológicos e moleculares. A escolha do método depende da acessibilidade, disponibilidade de laboratórios acreditados e o custo. Outro fator determinante é o objetivo da diagnose, de acordo com o material a ser analisado, considerando-se que este pode ser proveniente de plantas infectadas no campo ou constituído por plântulas provenientes de cultura de tecidos, com a finalidade de eliminar o vírus dos tecidos da planta (PRUSS et al., 1997).

As análises biológicas consistem no plantio dos tubérculos e observação dos sintomas induzidas pelo vírus, como: mosaico, variando de brando a mais severo, lesões locais necróticas, aparecimento de anéis necróticos em tubérculos (PTNRD), clorose, amarelecimento sistêmico, deformação foliar e encarquilhamento (SHUKLA; WARD; BRUNT, 1994). Geralmente os sintomas podem ser intensificados quando ocorrem infecções mistas. Essa análise visual não é muito precisa, pois pode ocorrer ausência de sintomas em plantas infectadas ou os sintomas podem ser confundidos com deficiências nutricionais (PRUSS et al., 1997).

Os testes sorológicos, como o *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay* (DAS-ELISA) são mais eficientes, mais acessíveis e capazes de detectar a presença de até 1 ng de vírus (CLARK; ADANS, 1977). Para detectar concentrações menores, o mais indicado são os testes moleculares, como o RT-PCR, capaz de detectar 0,1 pg do vírus. Outros testes moleculares

como o IC-RT-PCR (Imunocapture –RT-PCR) e o RT-PCR multiplex são variações consideradas também bastante sensíveis (FIGUEIRA et al., 1997). Logo, para uma diagnose mais eficaz deve-se aliar às inspeções no campo, por meio de análises visuais, os testes laboratoriais como os sorológicos e moleculares. Essas medidas quando adotadas conjuntamente, garantem um aumento na qualidade fitossanitária e, conseqüentemente, no desempenho da planta no campo (LORENZEN et al. 2006; NIE; SINGH, 2003).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Condução do Experimento

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de sorologia do Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais (CIV-MG) e em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.2 Detecção dos vírus nos tubérculos e plântulas

4.2.1 Vírus indexados e estágios de desenvolvimento dos tubérculos

Foram analisados os quatro vírus objeto da indexação oficial: PVY, PVS, PVX E PRLV, por meio do teste ELISA, empregando-se antissoros específicos da Agdia e o protocolo sugerido por essa empresa. O material analisado foi constituído por três amostras de batata com 100 tubérculos cada, pertencentes às cultivares Asterix e FL2312, provenientes de campos produtores de batata semente localizados em Minas Gerais. Os tubérculos foram identificados e separados por lote/cultivar.

Os testes foram aplicados em três estágios de desenvolvimento: no estágio em que as gemas se encontravam dormentes, nas gemas após quebra de dormência e nas plântulas provenientes desses tubérculos que foram posteriormente plantados em casa de vegetação.

4.2.2 Indução de brotação e plantio dos tubérculos

A indução de brotação foi feita por imersão dos tubérculos em solução de ácido giberélico na concentração de 100 ppm durante 15 min (Figura 1), após o que esses foram retirados e colocados sobre jornal para remoção do excesso da solução (TAIZ; ZEIGER, 2004; WEISS; ORI, 2007) (Figura 2). Os tubérculos foram então transferidos para uma câmara de crescimento a 28°C, até a emergência dos brotos (Figura 3 e Figura 4).

Figura 1 – Tubérculos mergulhados na solução com ácido giberélico



Fonte: Do autor 2022

Figura 2 – Tubérculos secando na bancada após serem mergulhadas na solução com ácido giberélico



Fonte: Do autor 2022

Figura 3 – Tubérculos em câmara de crescimento com temperatura a 28°C para brotação



Fonte: Do autor 2022

Figura 4 – Tubérculos brotados com as respectivas identificações



Fonte: Do autor 2022

Após a análise de uma parte dos brotos por DAS-ELISA (Figuras 5 e 6) os tubérculos, foram plantados em vasos com capacidade de 2 kg contendo terra esterilizada, areia e esterco na proporção de 2:1:1, adubadas com NPK 4-14-18 nas primeiras semanas e superfosfato

simples no decorrer do crescimento. Após a emergência das plântulas, as folhas foram coletadas e novamente analisadas por DAS-ELISA (Figura 7).

Figura 5 – Brotos submetidos à análise por DAS-ELISA



Fonte: Do autor 2022

Figura 6 – Aplicação dos extratos dos brotos nas microplacas



Fonte: Do autor 2022

Figura 7 – Folhas das plântulas submetidas à análise por DAS-ELISA



Fonte: Do autor 2022

4.2.3 Análise por meio do Teste DAS-ELISA

O método sorológico DAS-ELISA foi desenvolvido por Clark e Adams (1977). Foram utilizados os antissoros específicos para as espécies PVY, PVX, PVS e PRLV seguindo o protocolo do fabricante (Agdia®). Os controles positivos e negativos de cada espécie foram obtidos a partir do banco de controles *in vivo* pertencentes ao CIV-MG, as folhas de fumo (*Nicotiana tabacum*) infectadas com PVY, plantas de batata cv. Duvira infectadas com PVS e plantas de *Datura stramonium* infectadas com PLRV e PVX, respectivamente. Como controles negativos foram utilizadas plantas saudáveis das cultivares citadas.

Na detecção por DAS-ELISA, foram utilizados 4 antissoros policlonais e quatro antissoros conjugados anti PVY, PVX, PVS e PLRV, respectivamente, adquiridos da Agdia. Os antissoros foram diluídos conforme recomendação do fabricante e os tampões empregados foram preparados no laboratório: tampão de cobertura (carbonato-bicarbonato 0,025M, pH 9,6, contendo 0,02g/l de azida sódica); tampão de extração (Tris-HCl pH 7,4, contendo 0,13 g/L de Na₂SO₃; 2% de PVP, 0,02% de azida sódica, 0,2% de BSA e 2% de Tween 20); tampão do conjugado (Tris-HCl, pH 7,4, contendo 2% de PVP, 0,2% de BSA e 0,02% de azida sódica); tampão do substrato (dietanolamina pH 9,8, contendo MgCl₂ 0,5M, e 0,02% de azida sódica) e tampão de lavagem (solução salina tamponada (PBS) contendo 0,05% de Tween – 20). Foram utilizadas microplacas de poliestireno, marca COSTAR, com 96 poços.

4.2.4 Plantio dos tubérculos e observação dos sintomas

Após a aplicação dos testes sorológicos nos brotos, os tubérculos foram plantados em casa de vegetação seguindo a mesma ordem realizada no teste ELISA. Foram colocados 3 tubérculos por vasos e, cerca de 10 dias após a emergência das plântulas, as folhas foram coletadas e transportadas para laboratório para novos testes sorológicos, conforme já descrito para a análise dos brotos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Incidência de vírus

No primeiro teste de diagnose empregando o DAS-ELISA, para diagnose dos quatro vírus em gemas dormentes, todos os tubérculos testaram negativos para todos os vírus. O mesmo se repetiu no teste realizado na gema, após a indução de brotação e no teste realizado com as folhas das plântulas da cultivar FL2312, pertencente à categoria básica G0. Nas duas outras cultivares, não se detectou a presença de PLRV, PVS e PVX em nenhum desses testes.

Por outro lado, foi identificada uma incidência de 10% de PVY nos dois lotes da cultivar Asterix (básica G3) quando foram analisados os brotos. Isso indica que provavelmente a concentração de vírus nas gemas dormentes estava abaixo da sensibilidade do teste DAS-ELISA. Figueira et al. (1997) comparando a sensibilidade da técnica ELISA com as técnicas de hibridização com cDNA e RT-PCR, observaram que a sensibilidade das duas primeiras ficava em torno de 1ng, ao passo que o RT-PCR era capaz de detectar até 1 fg de vírus.

Quando as plântulas provenientes dos tubérculos dos dois outros lotes da cv. Asterix, foram analisadas, a incidência de PVY foi mais alta. O primeiro lote apresentou uma incidência de 14,3% e o segundo lote uma incidência de 12,9%, mostrando que houve escape de 4,3% e 2,9% respectivamente, em relação aos testes aplicados nos brotos.

Os resultados aqui obtidos permitiram concluir que a aplicação do teste sorológico em gemas dormentes possibilitou um escape de até 10% em relação à aplicação nos brotos, aumentando mais 4,3% quando aplicado às plântulas. Portanto, nota-se que a aplicação dos testes em gemas dormentes é altamente arriscada e não deve ser recomendada.

Existe uma discussão sobre se seria adequado fazer a indexação em tubérculos dormentes, pois geralmente o produtor tem pressa dos resultados para tomar decisões a respeito da destinação que será dado a elas. Entretanto, a concentração de vírus nos tubérculos dormentes, como detectado neste trabalho quase sempre baixa, principalmente se o material for da categoria básica, que deveria ser supostamente livre de vírus e, na maioria das vezes, multiplicado em condições de telado. Mesmo se a G3 for multiplicada no campo, provavelmente vai ser infectada durante a estação de plantio, acarretando o acúmulo de baixa concentração de vírus nos tubérculos. Quando a brotação dos tubérculos ocorre, o vírus se multiplica com os tecidos do broto, aumentando a concentração para um nível detectável, o que não ocorre nas gemas dormentes (BRAVO-ALMONACID et al., 2012; GRAY et al., 2010; HANE; HAMM, 1999).

A prevalência do PVY observada atualmente no Brasil, mostra uma reversão completa

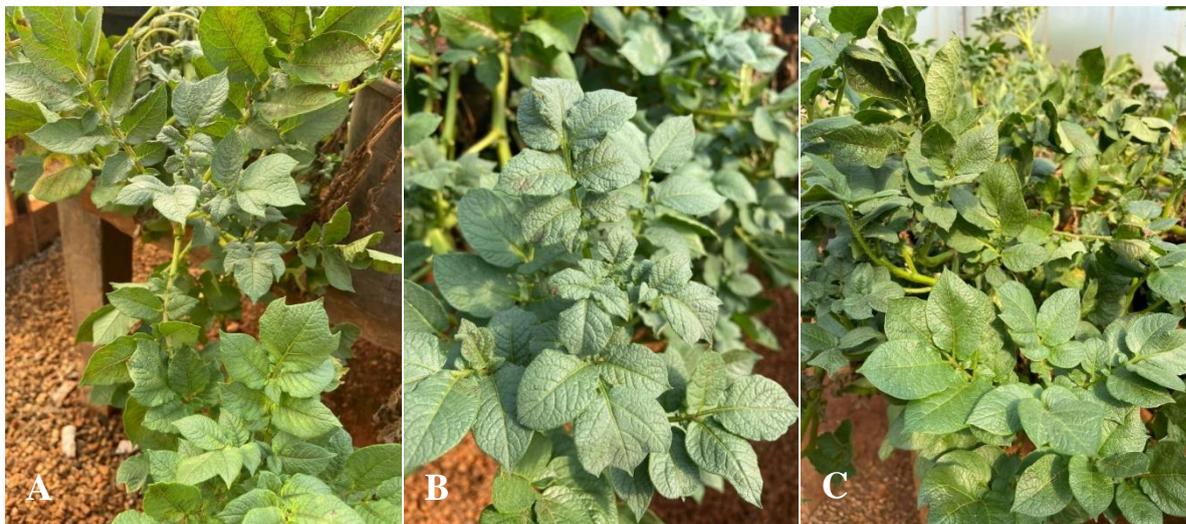
dos dados que foram observados há décadas atrás, onde o PLRV era o principal vírus e mais predominante na degenerescência da batata no país (PUTTEMANS, 1934; COSTA, 1948, 1965; SOUZA DIAS; COSTA, RAMOS, 1984; SOUZA DIAS, AMÂNCIO, COSTA; 1990).

Plantas de batata com frequentes infecções com PVY vem ocorrendo desde 1984 no leste da Alemanha (PFEFFER et al., 1989 apud CHRZANOWSKA 2011), ao mesmo tempo que a importância do PVY vem crescendo em campos de batata-consumo e batata-semente na Alemanha, Holanda (WEIDEMANN, 1998) e Polônia (CHRZANOWSKA. 2011). Até o momento não há explicações aceitáveis para as crescentes infecções com PVY, contudo, é possível que as mudanças climáticas possa ser a principal causa. De qualquer maneira, a predominância do PVY se deve a vinda de estirpes mais agressivas em batata-semente importante da Europa, como foi observada na cultivar alemã Achat, que reforça essa suspeita (WEIDEMANN, 1998).

5.2 Avaliação dos sintomas do PVY nas folhas

Durante todo o experimento conduzido na casa de vegetação, as plantas não apresentaram nenhum sintoma aparente nas folhas (Figura 7), ressaltando a importância dos testes de diagnose laboratorial, uma vez que apenas inspeções visuais no campo nem sempre possibilitam a detecção de plantas infectadas por vírus (GUEDES, 2000). Provavelmente a ausência de sintomas visuais foram devido às baixas concentrações de vírus nas plantas, que somente mostrarão sintomas no final do ciclo ou na geração seguinte (PETER et al., 2009). Isso é algo que pode confundir os produtores de batata-semente, que tentam associar os resultados do laboratório com os sintomas visuais observados no campo.

Figura 8 – A-C: Plantas infectadas com PVY sem sintomas visíveis



Fonte: Do autor 2022

6 CONCLUSÕES

- Os vírus PVX, PVS e PLRV não foram encontrados em nenhuma das amostras analisadas.
- A análise de vírus em tubérculos de batata dormentes levou a um escape de 10% de incidência de vírus quando comparado com a análise de vírus nos brotos, após indução de brotação, e de até 14,3% quando comparada com a detecção de vírus nas folhas das plântulas oriundas dos mesmos tubérculos.
- Todos os dados obtidos levam à conclusão de que é altamente arriscado avaliar a sanidade de tubérculos com base na análise sorológica aplicada a tubérculos dormentes, pois a concentração de vírus pode ficar abaixo da sensibilidade da técnica.

REFERÊNCIAS

ABBAS M.; HAMEED S. Identification of disease-free potato germplasm against potato viruses and PCR amplification of potato virus X. **Int. J. Biol. Biotechnol.**, 2012, 9: 335-339.

ABBAS M. et al. Major potato viruses in potato crop of Pakistan: A brief review. **Int. J. Biol. Biotechnol.**, 2013, 10: 425-430.

ADAMS, W. et al. Biodiversity conservation and the eradication of poverty. **Science**, 2004, 306:1146–1149.

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria, 2020.

ANDERSON, P. et al. Emerging infectious diseases of plants: Pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, 2004, 10s:535-44

ASHRAF, A. et al. Isolation and identification of *Verticillium dahliae* causes wilt on potato in Pakistan. **Pak. J. Phytopathol.**, 2012, 24: 112-116.

AWASTHI, L.; VERMA, H. Current status of viral diseases of potato and their ecofriendly management - A critical review. **Virology Research and Reviews**, 2017, 1(4):1-16

AZIMUDDIN, M. et al. Potato for food security in Bangladesh. **Inter J Sustain Crop Prod**, 2009, 4(1):94–99.

BANTTARI, E. et al. Management of diseases caused by viruses and virus-like pathogens. In: **Potato Health Management**. Ed. R.C. Rowe American Phytopathological Soc. 1993, pp. 127-133.

BENDAHMANE, A. et al. The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. **The Plant Cell**, 1999, 11, 781–792.

BENDAHMANE, A. et al. Agrobacterium transient expression system as a tool for the isolation of disease resistance genes: Application to the Rx2 locus in potato. **The Plant Journal**, 2000,

21, 73–81.

BLANCHARD, A. et al. Potato virus Y: A century of evolution. **Curr. Top. Virol.** 2008, 7, 21–32.

BRAVO-ALMONACID, F. et al. Field testing, gene flow assessment and pre-commercial studies on transgenic *Solanum tuberosum* spp. *Tuberosum* (cv. Spunta) selected for PVY resistance in Argentina. **Transgenic Research**, London, 2012, v. 21, p. 967–982.

CLARK, M.; ADAMS, A. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. **J. gen. Virology.** (1977), 34, 475–483 Printed in Great Britain.

D'ARCY, C.; DOMIER, L. Family Luteoviridae. In: Fauquet C M, Mayo M A, Maniloff J, Desselberger, Ball U L, eds., *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* **Academic Press**, Waltham, MA. 2005, pp. 1045–1048.

DAVIDSON, R. et al. Controlling PVY in seed: what works and what does not. **Am J Potato Res**, 2013, 90:28-32.

DE JONG, H. Impact of the potato on society. **Am J Potato Res**, 2016, 93:415–429.

DEVAUX, A.; KROMANN, P.; ORTIZ, O. Potatoes for sustainable global food security. **Potato Res**, 2014, 57:185–199.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Database collection:** agricultural data 2021. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>> . Acesso em: 05 de agosto de 2022.

FIGUEIRA, A. et al. **Manejo de doenças viróticas.** Lavras, UFLA/FAEPE, 2000. 99p.

FIGUEIRA, A. R. et al Comparison of the techniques for detection of Barley Yellow Dwarf VirusPAV-IL. *Plant Disease*, ST. PAULO - MINNESOTA - USA, v. 81, n.11, p. 1236-1240, 1997.

FLETCHER, J. Potato virus SA - characteristics of an isolate from New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 24, 1996, 335–339.

FRANC, D. Seed certification as a virus management tool. In: *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*. Springer, Dordrecht, 2001. p. 407-420.

GONZALEZ-JARA P. et al. Host-dependent differences during synergistic infection by Potyviruses with potato virus X. *Molecular Plant Pathology*, 2004, 5, 29–35

GRAY S.; GILDOW, E. Luteovirus-aphid interactions. *Annual Review of Phytopathology*, 2003, 41, 539–566.

GRAY, S. et al. Potato virus Y: an evolving concern for potato crops in the United States and Canada. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 94, n. 12, p. 1384- 1397, 2010.

GUL, Z. et al. Incidence of potato viruses in different districts of Khyber Pakhtunkhawa, Pakistan. *Sci J. Plant Pathol.*, 2013, 2: 32-36.

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

HIJMANS, R. Global distribution of the potato crop. *Am J Potato Res*, 2001, 78:403–412.

HU, X. et al. Sequence characteristics of potato virus Y recombinants. *J. Gen. Virol.* 2009, 90, 3033–3041.

JONES, R. Virus disease problems facing potato industries worldwide: Viruses found, climate change implications, rationalizing virus strain nomenclature, and addressing the Potato virus Y issue. In *The Potato: Botany, Production and Uses*; CABI: Wallingford, UK, 2014; pp. 202–224.

KANKORANTA, T. Impact of global warming on potato late blight: risk, yield loss and control. *Agricultural and Food Science in Finland*, 1996, 5: 311-327.

KARASEV, A. et al. Genetic diversity of the ordinary strain of Potato virus y (pvY) and origin of recombinant PVY strains. **Phytopathology** 2011, 101, 778–785.

KHURANA, S. 1998: Potato Diseases and Crop: Changing Scenario. **Journal of Indian Potato Assosiation**, 1998, 23: 1-7

KHURANA, S. et al. Surveillance for potato diseases in India over last five years. **Journal Indian Potato Assosiation**, 1998, 25: 16-20.

LACOMME, C. et al. Transmission and epidemiology of Potato virus Y. In *Potato Virus Y: Biodiversity, Pathogenicity, Epidemiology and Management*; **Springer International Publishing**: Basel, Switzerland, 2017; pp. 141–176.

LARGE, E. *The advances of fungi*. The Hollen Street Press Ltd., London W.I., 1940, pp. 477.

LAWSON, R.; STACE-SMITH, R. Historical perspectives of potato virus research. In: *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*. **Springer**, Dordrecht, 2001. p. 53-63.

LORENZEN, J. et al. A multiplex PCR assay to characterize Potato virus Y isolates and identify strain mixtures. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 7, p. 935-940, 2006.

LUTALADIO, N.; CASTALDI, L. Potato: the hidden treasure. **J Food Compos**, 2009, Anal 22:491–493

MARTELLI, G. et al. Family Flexiviridae: A case study in virion and genome plasticity. **Annual Review of Phytopathology**, 2007, 45, 73–100.

MAYO, M.; ZIEGLER-GRAFF, V. Molecular biology of luteoviruses. **Advanced in Virus Research**, 1996, 46, 413–460.

MCNEILL, W. How the potato changed the world's history. **Social Res**, 1999 66:67–83.

NADEEM, A. et al. Identification of resistance source in Potato Germplasm against PVX and PVY. **Pak J Bot**, 2011, 43(6):2745–2749.

NIE, X.; SINGH, R. Specific differentiation of recombinant PVY^{N:O} and PVY^{NTN} isolates by multiplex RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 113, p. 69–77, 2003.

NUNN, N.; QIAN, N. The potato's contribution to population and urbanization: evidence from a historical experiment. **Quart J Econ**, 2011, 126:593–650.

ORTIZ, O.; MARES, V. The historical, social, and economic importance of the potato crop. In: **The Potato Genome**. Springer, Cham, 2017. p. 1-10.

PETER, K. et al. The C terminus of the poliovirus p5 readthrough domain limits virus infection to the phloem. **Journal of Virology**, 2009, 83, 5419–5429.

PRUSS, G. et al. Plant viral synergism: the potyviral genome encodes a broad range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. **Plant Cell**, Rockville, 1997, v. 9, n. 6, p. 859-868.

QUENOUILLE, J., VASSILAKOS, N., MOURY, B. Potato virus Y: a major crop pathogen that has provided major insights into the evolution of viral pathogenicity. **Molecular Plant Pathology** (2013) 14(5), 439–452, 2013.

SANTILLAN, F. et al. The biology and phylogenetics of potato virus S isolates from the Andean region of South America. **Plant Disease**, 2018, 102, 869–885

SCHOLTHOF, K. et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. **Mol. Plant Pathol.** 2011, 12, 938–954.

SHUKLA, D.; WARD, W.; BRUNT, A. The potyviridae. **Wallingford: CAB International**, 516 p. 1994

SINGH, B.; RANA, R. Potato for food and nutritional security in India. **Indian Farm**, 2013, 63:37–43

SINGH, R. et al. Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato. **Arch. Virol.** 2008, 153, 1–13.

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

SLACK, S. Identification of an isolate of the Andean strain of potato virus S in North America. **Plant Disease**, 1983, 67, 786–789

SOLOMON-BLACKBURN, M.; BARKER, H. Breeding virus resistant potatoes (*Solanum tuberosum*): A review of traditional and molecular approaches. **Heredity** (Edinb), 2001, 86, 17–35.

THIELE, G.; THEISEN, K.; BONIERBALE, M.; WALKER, T. Targeting the poor and hungry with potato science. **Potato J**, 2010, 37:75–86.

VALKONEN, J. Viruses: Economical losses and biotechnological potential. In *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*; **Elsevier**: Amsterdam, The Netherlands, 2007; pp. 619–641.

VANDENBROEKE, C. Cultivation and consumption of the potato in the 17th and 18th century. **Acta Historiae Neerlandica**, 1971, 1: 15–39.

WEBSTER, G. et al. Diagnosis of plant viral pathogens. **Current science**, 2004, p. 1604-1607.

WHITFIELD, A.; FALK, B.; ROTENBERG, D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. **Virology**, 2015, 479–480, 278–289.

WOODHAM-SMITH, C. *The Great Hunger. Ireland 1845-49*, London, Hamish Hamilton, London. 1962, 510p