

DETECÇÃO DE VIROSES NO CONTROLE DE QUALIDADE DA BATATA-SEMENTE PRÉ-BÁSICA NO CNPH/EMBRAPA

André Nepomuceno Dusi

EMBRAPA/CNPH CP 07.0218, Brasília, DF, 70.359

Em 1984, o Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPH/EMBRAPA) iniciou a produção de tubérculos de batata-semente pré-básica de visando atender a demanda do Serviço de Produção de Sementes Básicas (SPSB/EMBRAPA), gerência local de Canoinhas-SC. Até 1989, foram produzidos cerca de 48.000 minitubérculos de diferentes cultivares (J. A. BUSO, informação pessoal).

A produção de tubérculos da "classe" pré-básica envolve uma equipe de pesquisadores das áreas de melhoramento genético, cultura de tecidos e fitopatologia, além de um técnico responsável pela tecnologia de produção de tubérculos sementes.

O controle de qualidade para viroses (indexação) atua em duas etapas do processo de produção (Figura 1). A primeira após a obtenção de plântulas por cultura de meristemas e a segunda durante o processo de produção em telado. A tolerância adotada é zero para viroses.

CONTROLE DE QUALIDADE

1. CULTURA DE MERISTEMAS

No CNPH, plantas matrizes são selecionadas em campo, observando-se as características típicas de cada cultivar no processo de seleção. Estas plantas são submetidas a cultura de meristemas e as plântulas obtidas são repicadas para 4 tubos.

1.1. SOROLOGIA

Um tubo de cada amostra é testado por sorologia para os vírus PLRV (enrolamento da folha), PVS, PVX e PVY (viroses de importância econômica na cultura da batata no Brasil). A técnica sorológica utilizada é DAS-ELISA (CLARK e ADAMS, 1977). Os antisoros são produzidos no CNPH, à exceção de AS-PLRV que é utilizado o comercial importado. As plântulas são testadas individualmente e quando é detectada alguma planta infectada, o genótipo é submetido a novo ciclo de cultura de meristema.

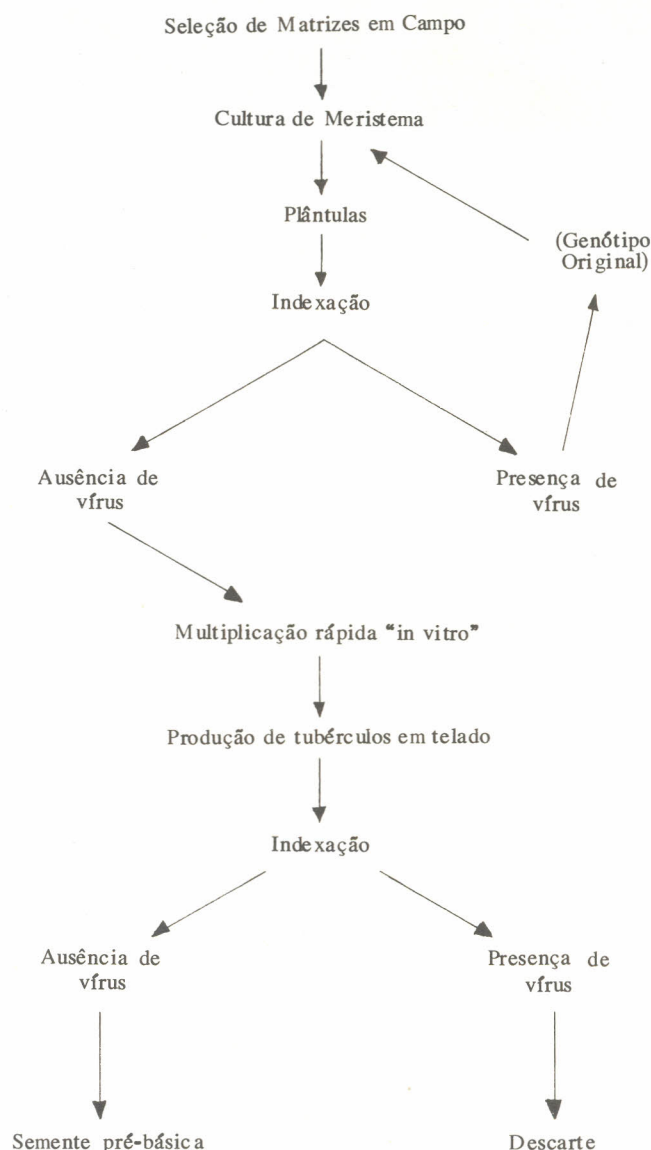


Figura 1. Esquema de produção de sementes pré-básicas no CNPH/EMBRAPA

1.2. CÍRCULO DE HOSPEDEIROS

Um tubo de cada amostra é triturado em tampão de fosfato 0,05M pH 7,0 contendo 0,1 Na₂SO₃ e este extrato é inoculado mecanicamente em um círculo de plantas indicadoras em condições de casa-de-vegetação. É observado o desenvolvimento destas plantas para o aparecimento de sintomas que possam indicar infecção de etiologia viral.

1.3. ELETROFORESE RESERVA

Um tubo de cada amostra é testado por eletroforese reserva (R-PAGE) para detecção do viróide de batata,

"ABCTP Notícias" é publicado três vezes por ano pela Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas. A distribuição é gratuita aos sócios da ABCTP.

Qualquer pessoa ou instituição com interesse na área de Cultura de Tecidos de Plantas pode se associar, remetendo o valor da anuidade (10 BTN's) ao Presidente, Antonio Carlos Torres, EMBRAPA-CNPH, Caixa Postal 07-0218, Cep 70359 - Brasília, DF. A anuidade para empresas é 100 BTN's.

Diretoria da ABCTP para o período 1987 a 1990

Presidente: Antonio Carlos Torres

Secretária: Linda Styer Caldas

Secretária-Adjunta: Maria I. Baggio de Moraes Fernandes

Tesoureiro: Silvio Lopes Teixeira

PSTV (SINGH e BOUCHER, 1987).

A necessidade de se fazer o teste em círculo de hospedeiros além do teste sorológico, é que os testes sorológicos são específicos para cada vírus. Por outro lado, não temos disponibilidade de anti-soros para todos os vírus que infectam a cultura da batata e o custo do teste é muito alto, não justificando seu emprego para viroses de menor importância econômica. Entretanto, estas outras viroses podem entrar no sistema de multiplicação rápida. Com isto, causariam perda total do material, dado a tolerância zero a viroses adotada no esquema de produção de sementes pré-básicas no CNPH/EMBRAPA.

Ainda não foi registrada a ocorrência de PSTV no Brasil (Ávila, et al., 1988). Entretanto, é de extrema importância que se teste todo material do sistema de produção de sementes. Isto objetiva prevenir sua introdução e disseminação País, via multiplicação rápida.

2. PRODUÇÃO EM TELADOS

Plantas matrizes livres de vírus obtidas pelo processo de cultura de meristema são multiplicadas "in vitro" e transplantadas para vasos em telado à prova de insetos, para produção dos tubérculos. É realizado o acompanhamento visual diário pelo técnico responsável e, semanalmente, por fitopatologista. Além da observação quanto ao aparecimento de sintomas típicos de infecção por vírus, é observada a presença de afídeos. A tolerância para afídeos também é zero, uma vez que o PLRV e PVY, principalmente, são transmitidos por afídeos.

Aos 40-50 dias após o transplântio, todas as plantas são testadas, em amostras compostas de 4 a 8 plantas, para PLRV, PVS, PVX e PVY. O teste é feito por DAS-ELISA, utilizando-se anti-soro policlonal artificial para detecção simultânea de PVS, PVX e PVY (Dusi, 1989). Caso seja detectada alguma planta infectada nesta fase, todo o material da amostra é descartado.

Durante esta etapa, eventualmente, se utiliza a técnica sorológica de aglutinação com anti-soro sensibilizado com látex para detecção rápida de PVS, PVX ou PVY. É bastante comum o aparecimento de plantas com riscas necróticas na haste, clorose de folhas novas e outros sintomas que podem ser associados à infecções viróticas. Entretanto, estes sintomas podem ser devidos à fitotoxidez, deficiência mineral ou à reação fitotó-

xica a inseticidas constantemente aplicados. Nestes casos, a planta é testada individualmente para estas três viroses por látex e, eventualmente, por transmissão mecânica a um círculo de plantas indicadoras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Portaria 154 de 23.07.87 (Ministério da Agricultura, 1987) que regulamenta a produção de batata-semente não reconhece a classe pré-básica. Entretanto, esta classe foi adotada informalmente pelo sistema de produção de batata-semente para designar o material produzido a partir de cultura de tecidos, após a fase de telado. Este material é enviado para o Serviço de Produção de Sementes Básicas (SPSB) da EMBRAPA para multiplicação em telado e campo. Após 2 ou 3 ciclos de multiplicação deste material é que se obtém a primeira geração de sementes básicas de batata. Para estas e demais classes subseqüentes, a legislação define os padrões de qualidade e os critérios para teste do material.

LITERATURA CITADA

- ÁVILA, A.C.; SHINGH, R.P.; DUSI, A.N.; CASTRO, L.A. & FONSECA, M.E.N. Levantamento da ocorrência de potato spindle tuber viroid (PSTV), nas principais regiões bataticultoras do Brasil. *Fitop. bras.*, 13(2), 1988 (Resumos do 21º Congresso SBF).
- CLARK, M.F. e ADAMS, A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34:475-83, 1977.
- DUSI, A.N. Utilização de combinação de anti-soros na detecção simultânea de PVS, PVX e PVY em batata-semente. *Fitop. bras.* 14(2), 1989. (Resumos do 22º Congresso da SBF).
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, *Normas Gerais para Certificação de Batata-Semente*. Secretaria Nacional de Produção Agropecuária — SNAP, Secretaria de Produção Vegetal, Coordenadoria de Sementes e Mudanças, Brasília.
- SINGH, R.P. e BOUCHER, A. Eletrophoretic separation of a severe from mild strains of potato spindle tuber viroid. *Phytopathology* 77:1588-91, 1987.

BIOTECNOLOGIA PEDE PATENTES

Transcrito do Boletim ABRABI, N.º 05, abril de 1989

Um bom sistema de patentes em biotecnologia, associado à operação de uma rede confiável de depósito, é a solução ideal para o desenvolvimento da ciência e da indústria brasileira nesse setor de alta tecnologia. É esta a conclusão preliminar dos estudos sobre propriedade intelectual em biotecnologia, conduzidos pela ABRABI e coordenados pelo diretor de P & D da BioBrás S.A., também professor da UFMG, Marcos Mares-Guia.

O documento interno sobre Propriedade Intelectual em Biotecnologia (publicado no Boletim ABRABI n.º 3), que antecipava as pressões comerciais que o Brasil sofreu no final de 1988, ganhou sugestões e críticas da comunidade científica e empresarial de biotecnologia

e áreas afins. Foram as seguintes considerações que levaram à formulação da proposta de concessão gradual de propriedade intelectual em biotecnologia:

- As empresas e instituições interessadas em biotecnologia moderna não podem expandir em ritmo adequado suas atividades de pesquisa e desenvolvimento sem um intercâmbio aberto com o ambiente científico e com o mercado internacional de insumos e produtos biotecnológicos. Vários desses insumos e produtos são protegidos por patentes, ou mantidos sob segredo industrial. Por serem reaplicáveis e utilizáveis indefinidamente em laboratório, só estão sendo vendidos ou repassados em condições de garantia do país adquirente.

- As empresas brasileiras de biotecnologia vêm-