

# DETECÇÃO SOROLÓGICA DE VÍRUS POR NCM-ELISA EM LAVOURAS DE BATATA-DOCE NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

KROTH, Leandro L.<sup>1</sup>; FUENTES, Segundo<sup>2</sup>; SALAZAR, Luis F.<sup>2</sup>; DANIELS, Julio<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Fitossanidade FAEM/UFPel Campus Universitário s/n, Caixa Postal 354, CEP 96010-900 Pelotas, RS;

<sup>2</sup> Centro Internacional de la Papa - CIP, Lima, Peru;

<sup>3</sup> Embrapa Clima Temperado, BR 392 Km 78 Caixa Postal 403, CEP 96001-970 Pelotas, RS.  
(Recebido para publicação em 14/03/2001)

## RESUMO

O Estado do Rio Grande do Sul é o principal produtor de batata-doce do Brasil, porém a produtividade bastante baixa tem sido atribuída parcialmente a infecção por vírus. Neste trabalho são apresentados os resultados preliminares da utilização de um kit serológico, através da técnica da membrana de nitrocelulose - ELISA (NCM-ELISA), produzido pelo Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú, para a detecção dos seguintes vírus que afetam a espécie: Sweet potato feathery mottle virus (SPFMV), Sweet potato mild mottle virus (SPMMV), Sweet potato latent virus (SPLV), Sweet potato chlorotic flecks virus (SPCFV), Sweet potato mild speckling virus (SPMSV), Sweet potato chlorotic stunt virus (SPCSV) e o vírus C-6. Foram analisadas 338 amostras, coletadas aleatoriamente de 18 lavouras de batata-doce, da principal região produtora do Estado, detectando-se as seguintes percentagens de infecção: SPFMV 13,02; SPLV 2,66; SPCFV 0,59; SPMSV 0,89; e SPCSV (Ky-cp) 0,29. Os vírus C-6, SPMMV e a estirpe Mistura 1 do SPCSV não foram detectados. Os dados obtidos revelaram, surpreendentemente, baixa incidência de vírus, considerando a origem do material de propagação e os processos de cultivo utilizados.

Palavras-chave: diagnose, incidência, *Ipomoea batatas*, NCM-ELISA, serologia.

## ABSTRACT

SEROLOGICAL VIRUS DETECTION (NCM-ELISA) IN SWEET-POTATO FIELDS AT RIO GRANDE DO SUL STATE, BRAZIL. The State of Rio Grande do Sul is the main sweet-potato producer in Brazil, but the relatively low yields obtained had been considered, to be due to virus infection. In this paper preliminary results are presented on the use of a serological kit, based on the nitrocellulose membrane - ELISA (NCM-ELISA) technique, produced by the International Potato Center, Lima, Peru, for the detection of the following viruses that affect the crop: Sweet potato feathery mottle virus (SPFMV), Sweet potato mild mottle virus (SPMMV), Sweet potato latent virus (SPLV), Sweet potato chlorotic flecks virus (SPCFV), Sweet potato mild speckling virus (SPMSV), Sweet potato chlorotic stunt virus (SPCSV), and virus C-6. A total of 338 samples, collected at random in 18 sweet-potato fields from the main producer region in the State, were tested. The following percentages of infection were found: SPFMV, 13,02; SPLV, 2,66; SPCFV, 0,59; SPMSV, 0,89 and SPCSV (Ky-Cp), 0,29. The virus C-6, SPMMV and the Mix-1 strain of SPCSV were not detected. The data obtained indicated a surprisingly low virus incidence, considering the sources of the propagative material and the current crop practices adapted by most growers.

Key words: Diagnosis, incidence, *Ipomoea batatas*, NCM-ELISA, serology.

## INTRODUÇÃO

Cerca de três mil espécies de plantas são cultivadas anualmente, mas destas apenas cento e cinquenta são

consideradas de grande valor econômico no mercado internacional, e só doze são tidas como cultivos fundamentais. Dentro deste restrito grupo, encontra-se a batata-doce (*Ipomoea batatas* (L) Lam.) (BARRERA, 1986).

O Rio Grande do Sul é o principal produtor de batata-doce do Brasil, com área cultivada em torno de 19.000 ha e produção de cerca de 200.000 t, que representam 36% do volume colhido no país (IBGE, 1996). A baixa produtividade, cerca de 10 t/ha, é atribuída, em parte, à má qualidade das mudas utilizadas na implantação das lavouras, que apresentam, entre outros problemas, infecção por viroses. Nos principais países produtores, diversas viroses afetam a espécie, geralmente constituindo doenças complexas causadas por dois ou mais vírus. No Brasil, foram relatadas as ocorrências de *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV), *Sweet potato latent virus* (SPLV) (DANIELS, 1999; GAMA, 1998; KITAJIMA, 1984; POSEER et al. 1992; PIO RIBEIRO et al. 1993; POZZER, 1994). Porém, no Rio Grande do Sul, desconhece-se quais são os vírus mais importantes que afetam este cultivo.

Como a produção comercial desta espécie é baseada na propagação vegetativa, as viroses tendem a acumular-se e perpetuar-se nas mudas. A obtenção de material propagativo livre de vírus, obtido através de cultura de tecidos, tem permitido ganhos de produtividade para o cultivo em diversos países. A técnica tem sido utilizada, também, há mais de dez anos, pela Embrapa Clima Temperado, porém, na avaliação do estado sanitário das matrizes, utiliza-se a indexação biológica através da enxertia em *Ipomoea setosa*, método que, embora sensível, demanda tempo, espaço em casa de vegetação e não possibilita a discriminação das viroses.

São apresentados neste trabalho os resultados da utilização de uma técnica simplificada na avaliação da incidência de viroses, em cultivos comerciais da batata-doce na principal região produtora do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Imunologia e Microscopia Eletrônica da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, utilizando-se um kit sorológico desenvolvido pelo Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Peru, que utiliza a técnica da membrana de nitrocelulose - ELISA (nitrocellulose membrane-ELISA - NCM-ELISA) ou dot-ELISA, possibilitando discriminar os seguintes vírus: SPFMV, SPMMV, SPLV, *Sweet potato chlorotic flecks virus* (SPCFV), *Sweet potato mild speckling virus* (SPMSV), C-6 e duas estirpes de *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV).

As amostras foram coletadas aleatoriamente em lavouras comerciais de batata-doce nos municípios de Barra do Ribeiro e Mariana Pimentel, que constituem a principal região produtora do Estado. As amostras coletadas nas

lavouras de número 1 a 10 (Tabela 1), foram colhidas no dia anterior ao processamento para o teste, e consistiram de duas folhas bem desenvolvidas por haste, uma da região mediana e outra da ponteira, que foram acondicionadas separadamente em sacos plásticos. As amostras coletadas nas lavouras de número 11 a 18 (Tabela 1) foram coletadas cerca de 45 dias antes do teste, e consistiram em hastes com cerca de 30 cm de comprimento, enraizadas em frasco contendo água por uma semana e transplantadas para vasos contendo mistura de solo com vermiculita, em casa de vegetação, retirando-se as duas folhas para o teste no dia do processamento.

Das duas folhas que constituíram as amostras cortaram-se, na região de inserção do pecíolo, quatro discos foliares, com auxílio de um tubo de ensaio com diâmetro de 1 cm, macerando-se o tecido vegetal com auxílio de um tubo de ensaio de paredes grossas, em presença de 3 ml do tampão de extração. Após uma hora de repouso para decantação, 20 µl do sobrenadante foi pipetado no centro do quadrado marcado na membrana de nitrocelulose. Após secarem, as membranas foram imersas em 30 ml do tampão de bloqueamento, incluindo tiras de membrana contendo o controle positivo da reação. A seguir, procedeu-se a execução das demais etapas do teste, conforme o protocolo fornecido com o kit. A interpretação dos resultados foi efetuada visualmente, considerando-se positivas as amostras que resultaram no aparecimento de manchas de coloração púrpura na membrana.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das trezentos e trinta e oito amostras testadas, houve reação positiva para SPFMV, SPLV, SPCFV, SPMSV e SPCSV Pab Ky-cp em 44 (13,02 %), 9 (2,66 %), 2 (0,59 %), 3 (0,89 %) e 1 (0,29 %) amostras, respectivamente (Tabela 1). Para os outros anti-soros do kit (SPMMV, C-6 e SPCSV Mistura 1) os resultados foram negativos. Apenas quatro amostras indicaram a presença de complexos virais, apresentando dois vírus infectando a mesma planta (duas com SPFMV+SPLV, uma com SPFMV+SPCFV e uma com SPMSV+SPCSV estirpe Ky-Cp). Porém, nenhuma das amostras coletadas apresentou sintomas fortes de infecção por vírus, revelando-se a presença de infecções latentes na maioria das amostras testadas positivamente.

Demonstrou-se a predominância do SPFMV no complexo viral que afeta a batata-doce na principal região produtora do estado do Rio Grande do Sul, bem como a ocorrência de outros vírus na espécie, porém com incidências relativamente baixas. Devido à origem do material propagativo e aos sistemas de cultivo utilizados na região, os resultados foram surpreendentes. As razões desta baixa incidência de vírus são desconhecidas. Especula-se que a cultivar Catarina, predominante na região, tenha uma alta resistência de campo à infecção por vírus.

TABELA 1 - Detecção serológica (NCM-ELISA)\* de vírus em lavouras de batata-doce nos municípios de Barra do Ribeiro e Mariana Pimentel, RS, Brasil.

Campo	Cultivar	Amostras	Número de amostras com vírus				
			SPFMV	SPLV	SPCFV	SPMSV	SPCSV (Ky-Cp)
1	Morada Inta	20	-	-	-	-	-
2	Catarina	11	-	2	-	-	-
3	Catarina	10	-	1	-	-	-
4	Catarina	16	2	-	-	-	-
5	Catarina	12	3	-	-	1	-
6	Catarina	21	1	5	-	-	-
7	Catarina	11	1	-	-	-	-
8	Catarina	20	3	-	-	-	-
9	Catarina	11	1	-	-	1	-
10	Curitibana	20	1	-	-	-	-
11	Americana	24	5	-	-	-	-
12	Morada Inta	24	3	1	2	-	-
13	Catarina	24	10	-	-	-	-
14	Catarina	19	5	-	-	-	-
15	Catarina	24	4	-	-	1	1
16	Catarina	24	3	-	-	-	-
17	Catarina	24	1	-	-	-	-
18	Catarina	23	1	-	-	-	-
Total		338	44	9	2	3	1
%		100.00	13.02	2.66	0.59	0.89	0.29

Kit fornecido pelo Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Peru.

## CONCLUSÃO

Predomina o SPFMV em lavouras de batata-doce da principal região produtora do Rio Grande do Sul, porém é relativamente baixa a incidência.

## AGRADECIMENTO

Ao técnico de Laboratório José Idalino do Amaral, da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, pelo auxílio na execução dos testes sorológicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Rio de Janeiro. 1996.
- BARRERA, P. **Batata-doce: uma das doze mais importantes culturas do mundo**. São Paulo, Editora Ícone, 1986. 92 p.
- DANIELS, J. Utilização de técnicas serológicas para detecção de vírus em batata-doce. **EMBRAPA/CPACT**, p. 1-3, 1999. (Pesquisa em Andamento, 46).
- GAMA, M.I.C.S. Produção de plantas de batata-doce livres de vírus por termoterapia e cultura de meristema. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, p.283-286, 1988.
- KITAJIMA, E.W.; RIBEIRO, R.L.D.; LIN, M.T.; RIBEIRO, M.I.S.D.; KIMURA, O. COSTA, C.L.; PIMENTEL, J.P. Lista comentada de vírus e organismo do tipo micoplasma em plantas cultivadas e silvestres do Estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.9, p.607-625, 1984.
- POZZER, L.; SILVA, J.B.C.; DUSI, A.N. Avaliação de perdas por virose no cultivo da batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v.10, p.65, 1992.
- PIO RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F.M.; DA PAZ, C.D.; PIRES, C.R.C. Ocorrência de *Sweet potato feathery mottle virus* em germoplasma de batata-doce no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.458-460, 1993.
- POZZER, L.; SILVA, J.B.C.; DUSI, A.N.; KITAJIMA, E.W. Avaliação da taxa de reinfecção de plantas de batata-doce livre de vírus pelo *Sweet potato feathery mottle virus* em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira** v.19, n.2, p.231-234, 1994.