

71

Circular
Técnica

Pelotas, RS
Outubro, 2008

Autor

Luis A.S. de Castro
Eng. Agrôn. MSC.
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal 403
96001-970 - Pelotas, RS
(suita@cpact.embrapa.br)

Maria do C.B. Raseira
Eng. Agrôn., PhD.
Embrapa Clima Temperado,
Cx. Postal 403
96001-970 - Pelotas, RS
(bassols@cpact.embrapa.br)

José F. Martins Pereira
Eng. Agrôn., MSc.
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal 403
96001-970 - Pelotas, RS
(jfmp@cpact.embrapa.br)

Valter Lopes Abrantes
Eng. Agrôn. BSc.
Auxiliar de laboratório da
Embrapa Clima Temperado,
Cx. Postal 403,
96001-970 - Pelotas, RS
(valter@cpact.embrapa.br)

Nara Eliane M. Rocha
Eng. Agrôn. BSc.
Auxiliar de laboratório
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal 403
96001-970 - Pelotas, RS
(nara@cpact.embrapa.br)

Embrapa

Bonão C12: Cultivar de Pessegueiro Testada

Introdução

O Brasil produz 230.000 toneladas de pêssegos ao ano, com um consumo *per capita* de 700 a 800g. A cultura do pessegueiro é de alta rentabilidade, sendo boa opção para os produtores que buscam alternativas em suas propriedades. No contexto atual, com a abertura do mercado e a grande competitividade que vem se verificando com a presença de produtos importados além da exigência cada vez maior do consumidor, os persicultores brasileiros necessitam buscar e adotar novas tecnologias, processos e produtos que reduzam custos e elevem a produtividade.

Entretanto, várias enfermidades causam prejuízos e representam ameaça à plena produção de frutas no Brasil. Entre estas, encontram-se as viroses, bacterioses e outros microrganismos patogênicos, cujos efeitos se refletem diretamente sobre a produtividade, principalmente por ocasionar redução no desenvolvimento das plantas e no tamanho dos frutos (CARVALHO, 1983; BETTI e KITAJIMA, 1972). A literatura internacional apresenta vários estudos relacionados a doenças ocasionadas por vírus que infectam prunóideas.

As Normas Técnicas Gerais para a Produção Integrada de Frutas (NTGPIF), com relação à legislação vigente sobre mudas, indica como obrigatório "utilizar material sadio, adaptado à região, com registro de procedência credenciada e com certificado fitossanitário" e, ainda, refere-se como proibido "utilizar material propagativo sem o devido registro de procedência e sem o certificado fitossanitário e transitar portando material propagativo sem a competente autorização" (NAKA, 2002).

Qualquer material vegetal só pode ser considerado isento de inóculo causador de enfermidades a partir da realização de testes de indexação. Os métodos são amplamente estabelecidos e incluem sorologia, indexação biológica, molecular, histológica e bioquímica, segundo a conveniência, adequação e necessidade (STOUFER e FRIDLUNG, 1989; SANTOS FILHO e NICKEL, 1993).

Com relação ao pessegueiro, praticamente todo o material propagativo usado no Rio Grande do Sul não tem sido avaliado em relação à infecção por viroses, podendo estar contaminado por um ou mais vírus, reduzindo a produção, comprometendo a qualidade dos frutos ou dos produtos finais e a rentabilidade, pelos altos investimentos de implantação e manutenção de pomares. Portanto, a sustentabilidade desta cadeia produtiva necessita de ações de planejamento e de estruturação do setor, com a adoção de programas para produzir mudas de qualidade.

As duas viroses mais comuns encontradas nos pomares de pessegueiro são causadas pelo vírus da mancha anelar necrótica de *Prunus* (*Prunus Necrotic Ringspot Virus*, PNRSV) e pelo vírus do nanismo da ameixeira (*Prune Dwarf Virus*, PDV), sendo que já foram detectadas nos pomares do Rio Grande do Sul (DANIELS et al., 1994; DANIELS e

CARVALHO, 1995). São encontradas em todas as regiões produtoras de *Prunus* do mundo, isoladamente ou em combinação (PDV + PNRSV); neste último caso, a doença é conhecida por “nanismo do pessegueiro” (“Peach Stunt Disease”, PSD) e pode causar danos econômicos mais expressivos na cultura do pessegueiro. No Brasil, não é conhecido o percentual de danos que estas enfermidades ocasionam. Entretanto estudos realizados na Califórnia (EUA) mostraram que a presença do complexo de PDV e PNRSV pode resultar em redução da produção de pêssegos da ordem de 30% (UYEMOTO et al., 1992).

Em levantamentos para determinar a incidência de *Ilarvirus* em pomares das principais cultivares de pessegueiro, em regiões produtoras do Rio Grande do Sul (Pelotas, Porto Alegre e Serra Gaúcha), foi comprovada a incidência de PNRSV e PDV em pomares comerciais pelo teste sorológico ELISA, utilizando anti-soros comerciais. Os dois vírus foram detectados em todas as cultivares analisadas, sendo que, no total, 36,7% das plantas estavam infectadas (MACIEL et al., 2002). Devido à alta incidência de *Ilarvirus* em pomares de pessegueiros gaúchos, os autores concluíram que é grande a necessidade de implantação de um programa de produção de mudas de pessegueiros, fundamentado na seleção e indexação de materiais propagativos. As principais regiões produtoras de frutas no mundo adotaram como estratégia principal, o uso de programas de certificação de mudas, associados a medidas regulatórias que impedem a entrada, trânsito e comercialização de material infectado. A moderna fruticultura está baseada em pomares produtivos e o sucesso do empreendimento depende da utilização de mudas com garantias genéticas e sanitárias. Isto só é possível com o uso de material propagativo livre de pragas e doenças importantes que podem limitar o crescimento, desenvolvimento e a qualidade das frutas (FACHINELLO, 2000).

Para o desenvolvimento de um sistema de produção e distribuição de material básico certificadamente sadio, países onde a fruticultura tem longa tradição há muito estabeleceram sistemas de limpeza e distribuição de material propagativo

(MEIJNEKE et al., 1982). Atualmente, a maioria dos produtores de frutas e viveiristas estão conscientes do risco que as doenças transmitidas vegetativamente representam para suas plantas e para toda a atividade econômica. Mudas produzidas a partir de material propagativo livre de vírus apresentam melhor desenvolvimento. Material propagativo obtido por seleção e checagem, cultura de meristemas, termoterapia e indexação, pode ser mantido sadio, desde que sejam seguidas normas específicas que evitem contaminações futuras. Esse material básico deve ser confinado de forma a impedir a recontaminação através de vetores.

Nos últimos oito anos, várias ações de pesquisa foram realizadas no sentido de obter plantas matrizes de pessegueiro isentas de organismos patogênicos, através da seleção de plantas isentas de enfermidades (plantas escapes), obtidas após a realização periódica de baterias de testes de sanidade.

O objetivo do trabalho realizado foi obter plantas da cultivar Bonão, testadas em relação às principais viroses que ocorrem no pessegueiro, disponibilizando material propagativo com alta sanidade para as entidades de pesquisa e aos viveiristas regionais.

Características da cultivar bonão, seleção e manutenção das plantas matrizes

O programa de Melhoramento Genético do Pessegueiro da Embrapa Clima Temperado visa à criação de cultivares para uma ampla faixa de adaptação climática, visando atender a diversidade que apresenta o sul do Brasil. Dentre os objetivos prioritários do Programa estão a obtenção de cultivares cujos frutos sejam de maturação precoce, tenham boa uniformidade tanto de forma como tamanho, e proporcionem qualidade ao produto industrializado. A cv. Bonão preenche estes requisitos (RASEIRA, 2008).

Originária de cruzamento realizado em 1995, entre a seleção Conserva 594 e a cv. Pepita, esta cultivar é vigorosa e produtiva, com plantas de crescimento semi-vertical e com muito boa adaptação a condições de inverno ameno. A plena floração ocorre em geral entre a segunda e terceira semana de julho e a colheita inicia no final de outubro ou

início de novembro. As frutas da cv. Bonão apresentam forma redonda cônica, podendo apresentar sutura levemente desenvolvida, o tamanho é médio a grande e o peso médio é, geralmente, superior a 100 gramas. A polpa é amarela assim como a película, a qual em alguns anos pode apresentar até 5% de vermelho. A polpa tem firmeza média e sabor doce-ácido. As plantas da cv. Bonão adaptam-se em áreas com cerca de 200 horas de frio hibernal. Não são resistentes à podridão parda ou antracnose, mas devido à época de maturação necessitam poucos tratamentos fitossanitários.

Para obter plantas matrizes de alta sanidade, foi utilizada uma planta de campo da cultivar Bonão, durante processo de desenvolvimento da cultivar, ainda com a denominação de “Conserva 1124” localizada em um pomar existentes na Embrapa Clima Temperado

(Pelotas, RS), durante o ano de 2003. Foi realizada a enxertia de gema, seguindo-se o procedimento descrito por Finardi (1998) sobre porta-enxertos de pessegueiro obtidos a partir de sementes da cultivar Capdeboscq. Um grupo de mudas obtidas foram selecionadas levando-se em consideração suas características visuais, sendo plantadas posteriormente sob condições de telados cobertos. Foram inicialmente mantidas em vasos plásticos individuais, com capacidade de 100 litros. Como substrato para o desenvolvimento das mudas, foi desenvolvida uma mistura estruturada na proporção de 5 partes de terra vegetal, 3 partes de areia grossa lavada e 2 partes de esterco bovino curtido. A adição de calcário e nutrientes foi administrada de acordo com a análise de laboratório. Os tratamentos fitossanitários foram realizados conforme as normas técnicas recomendadas para o cultivo do pessegueiro.

Foto: José Francisco Martins Pereira



Figura 1. Frutos da cultivar Bonão, clone 12 (Bonão C12), obtidos de plantas mantidas sob telados cobertos na Embrapa Clima Temperado.

Um grupo de 12 mudas que apresentavam o mesmo padrão fenológico e, conseqüentemente, idênticas geneticamente à planta padrão da cultivar Bonão, após vários testes de avaliações fitossanitárias foi selecionado para compor o grupo de matrizes fornecedoras de material propagativo para introdução no borbulheiro de prunoideas localizado na Embrapa Clima Temperado. A partir do primeiro ano de desenvolvimento, as mudas foram indexadas em relação às principais doenças transmitidas vegetativamente, selecionando-se plantas "escapes", ou seja, plantas cujos resultados de todos os testes apresentaram resposta negativa à presença dos principais organismos patogênicos que infectam o pessegueiro.

Atualmente, uma parte dos clones selecionados (12 plantas) está sendo mantida em sistema confinado, em telados cobertos (Figura 2). Um outro grupo de clones (5 plantas) foi colocado em pomar, a campo, para avaliação do comportamento das plantas sem a interferência das condições controladas existentes no sistema confinado (Figura 3). Neste sistema, que tem por finalidade manter as matrizes fornecedoras

de borbulhas sadias, as plantas estão sendo mantidas em borbulheiras, construídas de forma a respeitar rigorosamente normas técnicas pré-estabelecidas. A utilização de tela anti-afídeos impede a entrada de insetos vetores de viroses. Internamente, existem corredores concretados, com 1,5m de largura para circulação e afastamento das plantas da tela de proteção. Entre os corredores, uma camada de brita com aproximadamente sete centímetros de espessura forma a plataforma de apoio dos vasos, que evita a eventual possibilidade de contato das raízes das plantas com o solo, além de facilitar a manutenção do ambiente limpo. A assepsia do local é realizada através de desinfecções rotineiras do piso dos corredores. Periodicamente, são realizadas desinfestações gerais com defensivos específicos, visando prevenir contaminações locais por insetos e patógenos.

A capacidade potencial de produção de material propagativo com alta sanidade corresponde a 1.200 borbulhas anuais, com finalidade de produção de plantas matrizes, para viveiros, que darão origem às mudas comercializadas.

Foto: Luis Antônio Castro



Figura 2. Plantas matrizes da cultivar Bonão C12, mantidas em sistema confinado, sob condições de telados cobertos, na Embrapa Clima Temperado.

Foto: Luis Antônio Castro



Figura 3. Plantas da cultivar Bonão C12 no início do 4º ciclo vegetativo (04/08/2008), mantidas em condições de pomar, desde a seleção inicial das matrizes de alta sanidade, para avaliação do comportamento a campo, sem a interferência das condições controladas do confinamento em telados cobertos.

Enfermidades Indexadas e Testes Realizados

1. Enfermidades Indexadas

Embora a literatura internacional descreva aproximadamente 60 vírus infectando *Prunus*, três viroses destacam-se como problemas de importância econômica para a cultura do pessegueiro. Duas destas têm sido diagnosticadas em nossas regiões produtoras, Prune Dwarf Vírus e Prunus Necrotic Ringspot Vírus, justificando suas indexações neste trabalho. Outra enfermidade virótica que foi avaliada é denominada Sharca (Plum Pox Vírus) a qual, embora ainda não esteja relatada em nosso País, ocasiona

sérios prejuízos nas regiões onde ocorre, constituindo-se em risco potencial para os pomares de pessegueiro, principalmente devido à introdução de material vegetal sem acompanhamento técnico adequado.

O Prune Dwarf Virus (PDV) está associado a várias doenças economicamente importantes em frutas de caroço. O agente causal dessa enfermidade pertence ao grupo ilarvírus, com partículas isométricas ou na forma de pequenos bacilos. Trabalhos de pesquisa desenvolvidos na Embrapa Clima Temperado indicaram sua presença em amostras coletadas em diferentes cultivares de pessegueiro. Este vírus infecta um grande número de espécies de *Prunus* e

pode ser transmitido, por inoculação, para várias espécies de plantas herbáceas. A disseminação ocorre através do pólen, da semente e, principalmente, através do uso de material vegetal contaminado, durante a produção de mudas. As medidas de controle envolvem, principalmente, os programas de certificação de mudas. Para esta virose, na avaliação das plantas matrizes de Bonão, foram utilizados testes em plantas indicadoras, o teste imunológico ELISA e a microscopia eletrônica.

O Prunus Necrotic Ringspot Vírus pode infectar várias espécies de *Prunus*. Algumas linhagens não induzem sintomas aparentes; entretanto, podem ser diagnosticados com o uso de plantas indicadoras, como, por exemplo, a cerejeira Shirofugen ou através de testes sorológicos, principalmente o teste de ELISA. O agente causal inclui um complexo de vírus. Este nome é utilizado para designar todos os membros sorologicamente relacionados do grupo Iarvirus subgrupo III, cujas partículas podem ser isométricas ou na forma de pequenos bacilos. Pode ser inoculado em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) ou quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). As medidas de controle envolvem programas de certificação de mudas. Na avaliação das plantas matrizes de Bonão, para esta virose, foi utilizado o teste imunológico ELISA, a microscopia eletrônica e testes em plantas indicadoras.

O Plum Pox Vírus foi inicialmente relatado na Bulgária em 1918. É bastante conhecida pela denominação de "Sharca". Constituiu-se em um problema de extrema seriedade, principalmente para as culturas do pessegueiro e da ameixeira. Até o presente sua introdução não foi relatada nas regiões produtoras brasileiras. Devido à severidade com que esta doença ocorre, há necessidade de divulgar informações com o objetivo de evitar que o vírus seja introduzido, devido ao desconhecimento do assunto por produtores que recebem materiais vegetais de outros países, sem que sejam respeitadas normas de fiscalização. O Plum Pox Virus tem causado sérias perdas em pomares de pessegueiro, nectarineira e ameixeira. O agente causal dessa enfermidade se constitui em um Potyvirus, caracterizado por partículas longas e flexíveis, transmitido por afídeos (pulgões).

O diagnóstico pode ser realizado através do uso de plantas indicadoras como *Nicotiana clevelandii* Gray, *Pisum sativum* L. e *Zinnia elegans* Jacq, entre outras. Em países onde o problema ocorre, as medidas de controle envolvem programas de certificação de mudas, inspeção e remoção de plantas infectadas, cultivares tolerantes e rigoroso programa de controle de afídeos. No Brasil, devido à não detecção dessa enfermidade, o principal modo de controle consiste em evitar a introdução de materiais não certificados e utilização de sistemas quarentenários, mantidos por entidades governamentais. Para esta virose, a avaliação das plantas foi realizada utilizando o teste imunológico ELISA, microscopia eletrônica e testes em plantas indicadoras.

Conforme já mencionado, a literatura internacional descreve aproximadamente 60 vírus infectando *Prunus*, sendo que alguns estão associados, formando complexos. Na avaliação da presença de viroses latentes presentes nas plantas selecionadas da cultivar Bonão, foram realizados testes utilizando a microscopia eletrônica de transmissão e plantas indicadoras de viroses.

2. Metodologias utilizadas nos testes de diagnose

Vários métodos têm sido rotineiramente utilizados na diagnose de doenças transmitidas vegetativamente. Na indexação das principais viroses e bacterioses, cujo agente causal é amplamente conhecido, o teste mais recomendado constitui-se no teste ELISA, pois permite diagnosticar a ocorrência dessas enfermidades com precisão e rapidez, inclusive em algumas viroses latentes, onde os sintomas não são visíveis na planta hospedeira (SUTULA, 1986). Para viroses em que não se dispõe de testes sorológicos, podem ser utilizadas técnicas de microscopia eletrônica e plantas indicadoras, que são processos mais demorados, mas permitem avaliar um número maior de agente infecciosos.

Na sorologia o procedimento básico consistiu no método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), seguindo-se o procedimento determinado por Clark &

Adams (1977) e recomendações específicas determinadas pela empresa fornecedora dos anti-soros (Loewe Biochemical). Portanto, o procedimento utilizado constou das seguintes etapas: a) adição de 200 microlitros de gama globulina, diluída em tampão carbonato, a cada orifício das placas de microtitulação, sendo incubadas a 37°C durante quatro horas. Posteriormente, as placas foram lavadas três vezes com tampão PBS-Tween, em intervalos de três minutos, para retirada do excesso do material de cobertura (processo normal de lavagem). b) adição de 200 microlitros do extrato da amostra a testar em cada orifício das placas de microtitulação, incubando-as sob refrigeração (4°C), durante o período de 18 horas, seguindo-se o processo normal de lavagem, para retirada do excesso de material acrescentado. c) Adição de 200 microlitros do conjugado diluído em tampão PBS-Tween + PVP/40 + albumina de ovo a cada orifício das placas, incubando-as durante quatro horas, à temperatura de 37°C. O excesso do material foi lavado, seguindo-se o processo normal. d) Adição de 200 microlitros do substrato p-nitrofenol fosfato a cada orifício das placas mantendo-as em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), no escuro, durante 90 minutos, para desenvolvimento da cor característica das reações. e) Avaliação dos resultados em leitora de placas de microtitulação.

Os anti-soros utilizados foram adquiridos da empresa alemã Loewe Biochemical®, com as seguintes especificações:

- Plum Pox Vírus: anticorpos policlonais obtidos em coelhos. Cat. nº 07050
- Prune Dwarf Vírus: anticorpos policlonais obtidos em coelhos. Cat. nº 07051
- Prunus Necrotic Ringspot Vírus: anticorpos policlonais obtidos em cabras. Cat. nº 07052

Para análises de viroses em microscopia eletrônica de transmissão, foi utilizado o método *leaf dip*, que consiste em uma técnica relativamente simples utilizada para detecção de vírus de planta em preparações obtidas sem necessidade de cortes ultrafinos do tecido vegetal. O método foi introduzido por Johnson em 1951 e utiliza o exsudato do sistema vascular da planta a testar para exame ao microscópio. Kitajima (1965) sugeriu a combinação do método de *leaf*

dip com a contrastação negativa, obtendo excelentes resultados, permitindo a detecção de numerosos vírus isométricos e alongados. A metodologia utilizada para avaliar as plantas da cultivar Bonão consistiu no seguinte procedimento: 1 – Pingou-se uma gota da seiva da planta a testar em uma placa coberta com 2mm de cera. 2 – Pingou-se uma gota do ácido fosfotúngstico a 1% em outra placa também coberta com cera. 3 – Com auxílio de uma pinça, uma telinha de microscopia de transmissão foi colocada sobre a gota de seiva durante um minuto. 4 – Posteriormente, a mesma tela foi colocada sobre a gota do ácido fosfotúngstico, deixando em repouso por 7 minutos. 5 – A seguir, a borda da tela foi encostada em papel filtro para retirar o excesso de líquido. 6 – As telas foram armazenadas em placa de petri contendo papel filtro até o momento da observação. A análise foi realizada em um microscópio eletrônico de transmissão, Zeiss, modelo EM900, com voltagem de aceleração de 80KV.

A utilização de plantas indicadoras consiste no diagnóstico visual ou associado a técnicas de microscopia para avaliação de agentes virais que causam infecções latentes em plantas cultivadas, como é o caso do pessegueiro, mas que apresentam sintomas característicos que permitem sua identificação em outras plantas, denominadas indicadoras. Os sintomas mais evidentes são os foliares, como mosaico (alternância de áreas verde-escuras e claras ou amareladas), necrose sistêmica, amarelecimento (clorose), clareamento das nervuras, manchas anulares, linhas necróticas, redução/encarquilhamento/enrolamento do limbo foliar. Manchas e lesões podem surgir nos ramos e em casos severos, induzem a sua morte pelo anelamento causada pela fusão de lesões. Na planta como um todo pode ocorrer nanismo, declínio e mesmo morte. Para avaliar a presença de visores de menor importância, foram utilizadas plantas indicadoras herbáceas cultivadas a partir de sementes em casa-de-vegetação. Mudanças saudáveis no estágio de duas a quatro folhas, foram inoculadas mecanicamente com extrato de folhas, flores e brotações. O inóculo foi preparado na presença de tampão de fosfato de sódio 0,01M pH 7,0 acrescido de 1% de sulfato de sódio. Em seguida, foi friccionado na superfície adaxial das folhas das plantas indicadoras polvilhadas com a substância abrasiva carborundum

(600 mesh). As indicadoras inoculadas foram: *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium murale* e *Cucumis sativum* L.. As plantas foram avaliadas visualmente durante 45 dias após a inoculação.

Referências

- BETTI, J. A.; KITAJIMA, E. W. Presença de vírus latentes em macieira em São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, Brasília, DF, v. 9, p. 125-127, 1972.
- CARVALHO, M. G. Víroses vegetais e fitovirus. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1983. 77 p.
- CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. Characteristics of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, Cambridge, v. 34, p. 475-483. 1977.
- DANIELS, J.; CARVALHO, T. C. P. Ocorrência de viroses do grupo Ilarvirus em pessegueiro no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO TÉCNICA DE FRUTICULTURA. 4., 1995, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: Fepagro, 1995. p. 119-120.
- DANIELS, J.; UYEMOTO, J. K.; CASTRO, L. A. S. de; CARVALHO, T. C. P. Ocorrência do vírus do nanismo da ameixeira (PDV) em pessegueiros no Rio Grande do Sul. Horti Sul, Pelotas. v. 3, p. 16-20, 1994.
- FACHINELLO, J. C. Problemática das mudas de plantas frutíferas de caroço. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FRUTAS DE CAROÇO, 2000, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 25-40. Editado por Gilmar Arduino Bettio Morodin; Renar João Bender; Paulo Vitor Dutra de Souza.
- FINARDI, N. L. Métodos de propagação e descrição de porta-enxertos. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. do C. B. (Ed.). A cultura do pessegueiro. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1998. p. 100-129.
- JOHNSON, J. Viruses particles in various plant species and tissues. Phytopathology, St. Paul, v. 41, p. 78-93. 1951.
- KITAJIMA, E. W. A rapid method to detect particles of some spherical plant viruses in fresh preparations. Journal of Electron Microscopy, Oxford. v. 14; n. 2; p. 119-121. 1965,
- MACIEL, S. C.; DANIELS, J.; FAJARDO, T. V. M. Incidência de *Ilarvirus* em pomares de pessegueiro no Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira, Brasília, DF, v. 27, p. 20, 2002a. Suplemento.
- MEIJNEKE, C. A. R., OOSTEN, H. J.; PERRBOOM, H. Growth, yield and fruit quality of virus-infected and virus-free Golden Delicious apple trees. Acta Horticulturae. The Hague, v. 44, p. 209-212, 1982.
- NAKA, J. Instrução normativa nº 20, de 27 de setembro de 2001. In: REUNIÃO PRODUÇÃO DE MUDAS E BORBULHAS, 2002, Brasília, DF. Anais. MAPA, 2002.1 CD-ROM.
- RASEIRA, M. do C. B.; BARBOSA, W.; NAKASU, B. Y.; PEREIRA, J. F. M. Pêssego. In: ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.F. de. (Ed). Agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2008. v. 1, p. 519-529.
- SANTOS FILHO, H. P.; NICKEL, O. Microenxertia e indexação. Bases científicas para obtenção de clones de citrus livres de viroses. 1993, Brasília, DF. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília, DF. Programas e resumos. Brasília, DF: Embrapa Cenargen, 1993. p.12-15.
- STOUFER, R. F.; FRIDLUND, P. R. Indexing using wood indicators. In: FRIDLUND, P. R. (Ed.). Virus and virus and viruslike diseases of pome fruits and simulating noninfectious disorders. Pullman: Washington State University. Cooperative Extension, 1989. p. 255-264.
- SUTULA, C. L. Innovative testing products for food and agricultures. Mishawaka: AGDIA, 1986. 12 p.
- UYEMOTO, J. K.; ASAI, W. K.; LUHN, C. F. Ilarviruses: Evidence for rapid spread and effects on vegetative growth and fruit yields of peach trees. Plant Disease, v. 76, p. 71-74. 1992.

Circular Técnica, 71

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: Embrapa Clima Temperado
Endereço: BR 392, Km 78, Caixa Postal 403
Pelotas, RS - CEP 96001-970
Fone: (0xx53) 3275-8100
Fax: (0xx53) 3275-8221
E-mail: www.cpact.embrapa.br
sac@cpact.embrapa.br



1ª edição
1ª impressão (2008): 100

Comitê de publicações

Presidente: *Walkyria Bueno Scivittaro*
Secretário-Executivo: *Joseane Mary L. Garcia*
Membros: *Cláudio Alberto Souza da Silva, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Isabel Helena Verneti Azambuja, Luís Antônio Suita de Castro, Sadi Macedo Sapper, Regina das Graças Vasconcelos dos Santos*

Expediente

Supervisor editorial: *Sadi Macedo Sapper*
Revisão de texto: *Sadi Macedo Sapper*
Editoração eletrônica: *Oscar Castro*