

Resistência genética à mancha-bacteriana em genótipos de pimentão.¹

Roberto Alexandre Costa; Rosana Rodrigues; Cláudia Pombo Sudré

UENF – CCTA – Lab. Melhoramento Genético Vegetal, Av. Alberto Lamego, 2000, 28.015-620 Campos dos Goytacazes-RJ. E-mail: rosana@uenf.br

RESUMO

A mancha-bacteriana, principal doença bacteriana do pimentão causa desfolha intensa quando em condições favoráveis, deixando os frutos expostos ao sol, depreciando-os e diminuindo a produção. Para estimar, nas condições de Campos dos Goytacazes, os efeitos genéticos da reação do hospedeiro ao patógeno, tanto em folhas como em frutos, foram obtidos híbridos F₁, sem recíprocos, a partir de cruzamentos dialélicos entre cinco genótipos de pimentão, sendo três suscetíveis ('UENF 1420', 'UENF 1421' e 'UENF 1422') e dois resistentes ('UENF 1381' e 'UENF 1382'). A inoculação com *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* conistou de infiltração no mesófilo foliar, utilizando-se a concentração de 10³ células/ml, ajustada com auxílio de espectrofotômetro. Os efeitos de variedade e de heterose média foram significativos para resistência em folhas, indicando que efeitos aditivos e de dominância estão envolvidos no controle genético deste caráter. Para resistência em frutos, apenas os efeitos de variedade foram significativos, indicando a presença de efeitos aditivos no controle desta característica. A partir das análises puderam ser selecionados os parentais para RMB em folhas: 'UENF 1381' e 'UENF 1382'. Para RMB em frutos 'UENF 1381' e 'UENF 1421' foram os melhores parentais. Os melhores híbridos para RMB em folhas foram: 'UENF 1420' x 'UENF 1421', 'UENF 1382' x 'UENF 1420', 'UENF 1381' x 'UENF 1420', 'UENF 1381' x 'UENF 1421', 'UENF 1381' x 'UENF 1422' e 'UENF 1381' x 'UENF 1382'.

Palavras-chave: *Capsicum annuum* L., *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, dialélico, resistência a doenças, heterose, híbridos.

ABSTRACT

Genetic resistance to bacterial leaf spot on sweet pepper genotypes.

Bacterial leaf spot (BLS) is the most important bacterial disease in sweet pepper, causing intense defoliation under favorable conditions, leaving the exposed fruits to sunburn and decreasing the yield. To estimate genetic effects of the reaction to BLS on leaves and fruits, under the conditions of Campos dos Goytacazes (Brazil), hybrids F₁, without reciprocals, were obtained from diallel crosses among five pepper genotypes, three susceptible ('UENF 1420', 'UENF 1421' and 'UENF 1422') and two resistant ('UENF 1381' and 'UENF 1382'). Leaves were inoculated by infiltrating the mesophyll with 10³ cells/ml, adjusted with spectrophotometer. Variety and mean heterosis were significant for resistance on leaves, indicating that additive and dominant effects are involved in the genetic control of this character. For resistance in fruits, only variety effects were significant, indicating the presence of additive effects in the control of this characteristic. Based on these analyses, the genotypes 'UENF 1381' and 'UENF 1382' were selected for resistance to BLS on leaves. For resistance to BLS on fruits, 'UENF 1381' and 'UENF 1421' were the best genotypes. The best hybrids for resistance to BLS on leaves were: 'UENF 1420' x 'UENF 1421', 'UENF 1382' x 'UENF 1420', 'UENF 1381' x 'UENF 1420', 'UENF 1381' x 'UENF 1421', 'UENF 1381' x 'UENF 1422' and 'UENF 1381' x 'UENF 1382'.

Keywords: *Capsicum annuum* L., *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, diallel analysis, disease resistance, heterosis, hybrids.

(Aceito para publicação em 6 de fevereiro de 2.002)

A mancha-bacteriana, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (nova classificação proposta: *X. axonopodis* pv. *Vesicatoria* - Xav, Vauterin *et al.*, 1995), é considerada a principal doença bacteriana da cultura do pimentão, atacando a parte aérea. Essa doença pode causar danos foliares sob altas temperatura e umidade, acarretando perda de produção e qualidade dos frutos (Kimura, 1984; Santos, 1995; Kousik & Ritchie, 1996; Sahin & Miller, 1996; Lopes & Quezado-Soares, 1997). A bactéria afeta a planta em qualquer fase de desenvolvimento, sendo os ataques mais severos na fase de mudas, canteiros e semente-

ras (Salgado & Tokeshi, 1980).

A infecção se dá através de aberturas naturais tais como: estômatos, hidatódios e lenticelas. Pequenas lesões causadas pelo vento, chuvas ou insetos também podem servir de porta de entrada para o patógeno (Kimura, 1984). A disseminação do patógeno se dá de planta para planta através da água das chuvas ou de irrigação (Carmo *et al.*, 1996).

Entre os métodos de controle recomendados, a resistência genética é considerado o mais econômico e tecnicamente mais prático, principalmente quando se observam os custos, o risco potencial de resíduos químicos nos frutos e a resistência do patógeno aos produtos químicos

utilizados. Deste modo, há um crescente interesse em desenvolver cultivares de pimentão com resistência à mancha-bacteriana (Sahin & Miller, 1998).

Três genes de resistência (*Bs1*, *Bs2* e *Bs3*) foram identificados nos seguintes acessos, respectivamente: PI 163192 (*Capsicum annuum*), PI 260435 (*C. chacoense*) e PI 271322 (*C. annuum*). Neste último acesso, foram detectados também componentes de resistência quantitativa e o gene *Bs1*. Estudos baseados nesses acessos mostraram que as interações envolvendo estes genes seguem a hipótese gene-a-gene. O gene *Bs2* confere resistência às raças 0; 1; 2 e 3, comumente encontradas, mas não

¹ Parte da tese apresentada pelo primeiro autor para obtenção do título de Mestre. Pesquisa financiada pela FENORTE

Tabela 1. Valores médios para notas obtidas pelos parentais e seus respectivos híbridos F₁ para reação à mancha-bacteriana em folhas. Campos dos Goytacazes, UENF, 2000.

Parentais	'UENF1420'	'UENF1421'	'UENF1422'	'UENF1382'	'UENF1381'
'UENF1420'	3,00 cd	3,00 cd	3,67abc	2,83 de	3,00cd
'UENF1421'	-	3,00 cd	4,17a	3,17bcd	2,17 e
'UENF1422'	-	-	3,83ab	3,00cd	3,00 cd
'UENF1382'	-	-	-	2,33 e	3,00 cd
'UENF1381'	-	-	-	-	1,00 f

DMS= 0,6943

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

às raças 4; 5 e 6 (Reifschneider & Lopes, 1997). Resistência à raça 6 foi descrita em *Capsicum pubescens* (PI 235047), e com base na reação deste acesso foi proposta uma nova classificação das raças em P0, P1, P3, P4 e P6 (incompatíveis com PI235047), e P2, P5, P7 e P8 (compatíveis com PI 235047) (Sahin e Miller, 1998).

A determinação dos componentes de capacidade combinatória é muito importante em programas de melhoramento para escolha de parentais geneticamente divergentes que foram utilizados em esquemas de cruzamento, principalmente quando se objetiva identificar híbridos promissores e/ou o desenvolvimento de linhagens superiores a partir destes híbridos (Allard, 1971). O dialelo é um método genético-estatístico que permite estimar a magnitude relativa dos componentes da variância genética relativas às características de interesse do melhoramento (Blank, 1997). O método de análise dialélica proposto por Gardner & Eberhart (1966) fornece informações importantes sobre o potencial dos progenitores e da heterose manifestada em seus híbridos (Cruz & Vencovsky, 1989).

O objetivo deste trabalho foi estimar os efeitos genéticos da reação à mancha-bacteriana (RMB), em folhas e frutos, utilizando o método de análise dialélica proposta por Gardner & Eberhart (1966).

MATERIAL E MÉTODOS

Para estudar o controle genético da resistência à mancha-bacteriana do pimentão em folhas e frutos, foram avaliados os parentais e a geração F₁ de um dialelo completo, sem recíprocos. As avaliações foram conduzidas em Cam-

pos dos Goytacazes (RJ), em área do Convênio UENF/PESAGRO-RIO.

Cinco genótipos de *C. annuum* L. foram utilizadas, sendo três deles suscetíveis à mancha-bacteriana ('UENF 1420', 'UENF 1421' e 'UENF 1422') e dois resistentes ('UENF 1381' e 'UENF 1382'). Estes progenitores foram escolhidos com base no seu comportamento em relação à mancha-bacteriana, descritas em literatura (Santos, 1995) e nas características morfoagronômicas divergentes.

Para obtenção dos híbridos foram realizadas todas as combinações possíveis entre os cinco parentais (sem os recíprocos). Os cruzamentos foram realizados em condições de casa de vegetação. Os botões florais foram emasculados e polinizados em seguida. Os frutos dos cruzamentos foram colhidos maduros separadamente e as sementes retiradas manualmente.

Os híbridos e os parentais, num total de 15 genótipos (tratamentos), foram cultivados em casa de vegetação, em vasos de plástico com capacidade para 5 L, em substrato tratado com brometo de metila. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com seis repetições para RMB em folhas e oito para RMB em frutos, sendo que cada parcela foi representada por uma planta por vaso.

Para inoculação foi utilizado o isolado de *X. c. pv. vesicatoria* ENA 4135, cedido pelo depto. de fitopatologia da UFPA, cuja virulência foi constatada em ensaios preliminares. O isolado foi cultivado em meio líquido DYGS (Rodrigues Neto *et al.*, 1986; Carmo *et al.*, 1996), por cerca de 30 h. Em seguida, com auxílio de alça de platina, a suspensão bacteriana foi transferida para placas de Petri contendo meio DYGS. Após período de 36 a 48 h de cresci-

mento, a 28± 2°C (Carmo *et al.*, 1996), as células bacterianas foram suspensas em água esterilizada e a concentração de células ajustada para 10⁸ células/ml, em espectrofotômetro, utilizando-se 600 nm de comprimento de onda, e densidade óptica equivalente a 0,5 (adaptado de Bongiolo Neto *et al.*, 1986). Em seguida, as suspensões originais foram submetidas à diluição em série, também em água esterilizada, para obtenção de 10³ células/ml.

A inoculação foi feita aproximadamente aos 40 dias de idade, na 3ª folha verdadeira. Para inoculação foliar foi utilizado o método de infiltração de suspensão bacteriana no mesófilo (Bongiolo Neto *et al.*, 1986; Santos, 1995). A infiltração do inóculo foi feita até se observar o encharcamento da folha. Nos frutos, a inoculação foi efetuada em dois frutos por planta com auxílio de agulhas hipodérmicas, previamente colocadas em contato com células bacterianas em placas de Petri.

Em folhas, as avaliações foram realizadas três semanas após a inoculação contando-se o número de pústulas (x) numa área de 1,0 cm², atribuindo notas de 1 a 6 (nota 1 = 0 < x < 5, nota 2 = 6 < x < 15, nota 3 = 16 < x < 30, nota 4 = 31 < x < 40, nota 5 = 41 < x < 50 e nota 6 = x > 50), sendo a nota 1 correspondente à resistência e a nota 6 correspondendo à suscetibilidade. Em frutos, as avaliações foram conduzidas sete dias após a inoculação. As lesões foram medidas em seu maior comprimento (y), com auxílio de paquímetro digital, e sendo utilizada a seguinte escala de notas, adaptada de trabalhos com o patossistema feijão-*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Arnaud-Santana *et al.*, 1994; Rodrigues, 1997): resistente = 0 < y < 1 mm; moderadamente resistente = 1 < y

Tabela 2. Valores médios para notas obtidas pelos parentais e seus respectivos híbridos F₁ para reação à mancha-bacteriana em frutos. Campos dos Goytacazes, UENF, 2000.

Parentais	'UENF1420'	'UENF1421'	'UENF1422'	'UENF1382'	'UENF1381'
'UENF1420'	3,75ab	2,71 cde	3,88a	3,43ab	1,75 fg
'UENF1421'	-	2,13 ef	2,57 de	2,71 c	1,75 fg
'UENF1422'	-	-	3,25 bc	3,57ab	1,88 f
'UENF1382'	-	-	-	2,75 cd	2,50 de
'UENF1381'	-	-	-	-	1,25 g

DMS= 0,5891

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

< 2 mm; moderadamente suscetível = 2 < y < 3 mm; suscetível = 3 < y < 4 mm; altamente suscetível = y > 4 mm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quadrados médios foram significativos pelo teste F ($\alpha < 0,01$), para todas as características avaliadas, o que evidencia a existência de variabilidade genética entre os genótipos utilizados. A precisão do experimento, baseada no coeficiente de variação, foi 12,8% e 18,0%, para RMB em folhas e em frutos, respectivamente.

Estabelecendo-se que valores para RMB em folhas acima de 2,0 devem ser descartados por não apresentarem nível de resistência satisfatório, foram selecionados os seguintes genótipos: 'UENF 1382', 'UENF 1381', 'UENF 1420' x 'UENF 1421', 'UENF 1382' x 'UENF 1420', 'UENF 1381' x 'UENF 1420', 'UENF 1381' x 'UENF 1421', 'UENF 1381' x 'UENF 1422' e 'UENF 1381' x 'UENF 1382' (Tabela 1).

Para RMB em frutos, considerando-se o valor correspondente à metade da escala adotada para a característica, podem ser selecionados os seguintes genótipos: 'UENF 1421', 'UENF 1382', 'UENF 1381', 'UENF 1421' x 'UENF 1422', 'UENF 1421' x 'UENF 1382', 'UENF 1420' x 'UENF 1381', 'UENF 1421' x 'UENF 1381', 'UENF 1422' x 'UENF 1381' e 'UENF 1382' x 'UENF 1381' (Tabela 2).

Todos os híbridos obtidos a partir do genótipo 'UENF 1381' foram selecionados por apresentarem níveis satisfatórios de resistência, indicando que esse acesso é uma boa fonte de resistência em folhas e frutos. No entanto, os genótipos 'UENF 1420' x 'UENF 1421', 'UENF 1420' x 'UENF 1382' e

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros média e efeitos de variedade (Vi) e seus desvios-padrão (DP) para reação à mancha-bacteriana (RMB) em folhas e frutos avaliados em cinco genótipos de *Capsicum annum* L. e seus híbridos F_{1s} de acordo com o método de GARDNER & EBERHART (1966). Campos dos Goytacazes, UENF, 2000.

Variedades (V _i)	RMB	
	Folhas	Frutos
1. 'UENF 1420'	0,0653	0,2615
2. 'UENF 1421'	0,0524	-0,1246
3. 'UENF 1422'	0,2872	0,1704
4. 'UENF 1382'	-0,0476	0,1322
5. 'UENF 1381'	-0,3571	-0,4396
Média das variedades	1,8753	1,8844
DP (Média Varied.)	0,0456	0,0310
DP(V _{ij})	0,0690	0,0813
DP(V _i - V _j)	0,1091	0,1285

'UENF 1382', que foram selecionados para RMB em folhas, não o foram para frutos, enquanto que os genótipos 'UENF 1421' e 'UENF 1421' x 'UENF 1422', que não foram selecionados para RMB em folhas, foram selecionados para RMB em frutos. Já os genótipos 'UENF 1420', 'UENF 1422', 'UENF 1420' x 'UENF 1422', 'UENF 1421' x 'UENF 1382' e 'UENF 1422' x 'UENF 1382' não foram selecionados em nenhuma das avaliações.

Do ponto de vista epidemiológico, o ataque de Xav em folhas é de maior importância, uma vez que uma maior superfície da planta está sujeita ao ataque do patógeno, facilitando a sua disseminação e o progresso da doença no campo, devido a maior fonte de inóculo secundário. O patógeno quando infecta as folhas, além de causar desfolha, impedindo que a planta produza fotoassimilados importantes para o seu desenvolvimento, expõe os frutos ao sol, depreciando-o para a comercialização.

Uma vez observada diferenças significativas entre tratamentos, foi possível por meio do método de análise proposta por Gardner & Eberhart (1966), decompor o quadrado médio de genótipos em efeitos de variedades e heterose, sendo esta decomposta em heterose média, varietal, e específica.

Os quadrados médios para efeitos de variedade foram altamente significativos ($\alpha < 0,01$), tanto para RMB em folhas quanto em frutos, sendo que o efeito de heterose média só foi significativo para RMB em folhas. Isto indica que efeitos aditivos são mais importantes no controle da RMB, ou seja, há possibilidade de fixação destas características em gerações futuras e obtenção de linhagens superiores. Para o caso da RMB em folhas, a significância da heterose média indica que a média dos híbridos diferiu da média dos parentais. Isto sugere que os melhores híbridos poderão ser selecionados para esta característica, e que efeitos de dominância e/ou epistasia es-

tão presentes no controle deste caráter.

Souza (1998), avaliando o patossistema mancha-bacteriana x pimenta, observou que além dos efeitos de variedade e heterose média, a heterose específica foi altamente significativa, o que não foi observado no presente trabalho.

As estimativas de média e efeitos de variedades (V_i) mostram que os parentais 'UENF 1381', 'UENF 1382', 'UENF 1421' e 'UENF1381', apresentaram valores de V_i negativos para RMB em folhas e em frutos, respectivamente (Tabela 3). Isto significa que estes parentais contribuíram para reduzir os valores apresentados por seus híbridos nesta característica (Cruz & Regazzi, 1994), ou seja, aumentaram a resistência nas combinações híbridas, uma vez que a escala de notas utilizada é decrescente.

As avaliações permitiram selecionar não só parentais superiores para serem utilizados em programas de melhoramento, mas também destacaram híbridos promissores que após estudos de adaptabilidade e estabilidade poderão ser indicados para as condições em que este trabalho foi conduzido.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à pesquisadora Dr^a Maria do Carmo de Araújo Fernandes da PESAGRO-RIO/Estação Experimental de Itaguaí pela doação das sementes dos genótipos 'UENF 1381' e 'UENF 1382'. Ao Prof. Ricardo Magela de Souza, da UFLA, pela ces-

são do isolado bacteriano. À Engenheira Agrônoma Ana Cristina Pinto Juhász, pelo auxílio na revisão do manuscrito, e ao Técnico Agrícola José Manoel de Miranda pelo apoio na condução do experimento.

LITERATURA CITADA

- ALLARD, R.W. *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.
- ARNAUD-SANTANA, E., COYNE, D.P., ESKRIDGE, K.M.; VIDAVER, A.K. Inheritance, low correlations of leaf, pod, and seed reactions to common blight disease in common beans, and implications for selection. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 119, n. 1, p. 116-121. 1994.
- BLANK, A.F. *Teste precoce da capacidade combinatória de linhagens de pimentão (Capsicum annum L.)*. Lavras: UFLA. 1997. 71 p. (Tese doutorado).
- BONGIOLO NETO, A.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; TAKATSU, A. Padronização de metodologia para avaliação da resistência em *Capsicum* spp. à *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye e da virulência de isolados da bactéria. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 12, n. 3, p. 190-193. 1986.
- CARMO, M.G.F.; KIMURA, O.; MAFFIA, L.A.; CARVALHO, A.O. Progresso da pústula bacteriana do pimentão, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, em condições de viveiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 62-70. 1996.
- CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. *Modelos Biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: Imprensa Universitária. 1994. 390 p.
- CRUZ, C.D.; VENCOSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 425-438, 1989.
- GARDNER, C.O., EBERHART, S.A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, 22, 439-452. 1966.
- KIMURA, O. Enfermidades bacterianas do pimentão. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 10, n. 113, 1984.

KOUSIK, C.S.; RITCHIE, D.F. Disease potential of pepper bacterial spot pathogen races that overcome the *Bs2* gene for resistance. *Phytopathology*, v. 86, p. 1336-1343. 1996.

LOPES, C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M. *Doenças bacterianas das hortaliças*. Brasília: DF. EMBRAPA, 1997. 70 p.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; LOPES, C.A. Resistência de plantas a fitobactérias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30, Palestras. Poços de Caldas. SBF. p. 41-46. 1997.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JÚNIOR., V.A.; VICTOR, O. Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. *citri* tipo B. *Summa Phytopathologica*, Campinas, v. 12, n. 1-2, p. 16. 1986.

RODRIGUES, R. Análise genética da resistência ao crestamento bacteriano comum e outras características agrônômicas em *Phaseolus vulgaris* L. Campos dos Goytacazes: UENF. 1997. 103 p. (Tese doutorado).

SAHIN, F.; MILLER, S.A. Characterization of Ohio strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, v. 80, n. 7, p. 773 - 778. 1996.

SAHIN, F.; MILLER, S.A. Resistance in *Capsicum pubescens* to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pepper race 6. *Plant Disease*, v. 82, n. 7, p. 794 - 799. 1998.

SALGADO, C.L.; TOKESHI, H. Doenças das solanáceas (berinjela, jiló, pimentão e pimenta). In: Galli, F. (Coord.) *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Agromônica Ceres, 1980. p. 497-510.

SANTOS, A.S. *Caracterização morfológica de germoplasma do gênero Capsicum e detecção de fontes de resistência à Colletotrichum gloeosporioides (Penzig) Penzig et Saccardo e à Xanthomonas campestris pv. vesicatoria (Doidge) Dye*. Seropédica: UFRRJ. 1995. (Tese mestrado).

SOUZA, J.A. Estimativa de parâmetros genéticos em um diallelo em pimenta (*Capsicum chinense* Jacq.). Lavras: UFLA. 1998. 91 p. (Tese doutorado).

VAUTERIN, L.; HOSTE, B., KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 45, p. 472-489. 1995.