

## Estabilidade da resistência de 'Ohio 8245' e 'Heinz 9553' à mancha bacteriana do tomateiro

Nadson de C Pontes; Antonio W Moita; Alice Maria Quezado-Duval

Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70351-970 Brasília-DF; alice@cnph.embrapa.br

### RESUMO

A mancha bacteriana é uma das principais doenças que incidem sobre a cultura do tomate, tanto para consumo *in natura* quanto para processamento industrial. A doença provoca desfolha que reduz a produtividade, além de expor os frutos ao sol. Neste trabalho foi avaliado o nível de resistência das cultivares Ohio 8245 e Heinz 9553, frente às quatro espécies de *Xanthomonas* que causam a doença, para verificar a possibilidade de indicá-los como padrões e/ou fontes de resistência. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento experimental de blocos ao acaso com parcelas subdivididas e três repetições. As parcelas principais corresponderam aos isolados e às subparcelas às cultivares. Foram inoculados três isolados de cada espécie na fase de mudas. Avaliou-se o período de incubação e a severidade da doença em termos de percentual de área foliar lesionada (AFL%) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Foi detectada interação entre os fatores isolados e cultivares. Não foram detectadas diferenças entre as cultivares quanto ao período de incubação, com exceção para o isolado CNPH 142-T de *X. vesicatoria*, para o qual 'Ohio 8245' e 'Heinz 9553' tiveram menor período. Apenas para 'Heinz 9553', houve diferença entre os isolados quanto ao período de incubação, com os menores valores sendo observados para isolados de *X. vesicatoria* e *X. perforans*. Para a maioria dos isolados, observou-se menor AFL% nas cultivares Ohio 8245 e Heinz 9553. Já para a variável AACPD, 'Ohio 8245' destacou-se com menor valor, seguido de 'Heinz 9553'. Os resultados sugerem a existência de resistência quantitativa de amplo espectro em ambas as cultivares, tornando-as úteis para programas de melhoramento genético visando resistência à mancha bacteriana.

**Palavras-chave:** *Xanthomonas euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. gardneri*, *X. perforans*, *X. campestris* pv. *vesicatoria*, interação planta-patógeno.

### ABSTRACT

#### Resistance stability of 'Ohio 8245' and 'Heinz 9553' to tomato bacterial spot

Bacterial spot is one of the major diseases of both processed and fresh-market tomato crops. The disease causes defoliation, which decreases yield and exposes fruits to sunscald. In this work, resistance levels of 'Ohio 8245' and 'Heinz 9553' to the four bacterial spot xanthomonads are reported in order to evaluate these cultivars as patterns and/or sources of resistance. The trial was carried out in greenhouse conditions, in a split-plot completely randomized block design with three replications. The main plot was "isolate", whereas the subplot was "cultivar". Three isolates of each species were inoculated at the seedling stage. Incubation period and severity (leaf diseased area percentage, LDA%, and area under disease progress curve, AUDPC) were evaluated. Interaction was detected among factors for all variables. No differences in the incubation period among cultivars were detected, except for the isolate CNPH 142-T of *X. vesicatoria*, which was less for the cultivars 'Ohio 8245' and 'Heinz 9553'. Differences among isolates were detected only in 'Heinz 9553', with the least values for isolates of *X. vesicatoria* and *X. perforans*. For the majority of isolates, less LDA% was observed for cultivars Ohio 8245 and Heinz 9553. On the other hand, for AUDPC, 'Ohio 8245' had the least value followed by 'Heinz 9553'. It is suggested that these both cultivars have broad spectrum quantitative resistance which can be used for breeding studies.

**Keywords:** *Xanthomonas euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. gardneri*, *X. perforans*, *X. campestris* pv. *vesicatoria*, plant-pathogen interaction.

(Recebido para publicação em 26 de setembro de 2011; aceito em 23 de fevereiro de 2012)

(Received on September 26, 2011; accepted on February 23, 2012)

Os primeiros cultivos de tomate para processamento industrial no Brasil datam do início do século XX, em Pernambuco, com a sua expansão para outras regiões ocorrendo na medida em que as primeiras indústrias processadoras foram sendo instaladas, a partir da década de 1950 (Silva & Giordano, 2000). A maior parte da produção nacional de tomate para processamento concentra-se no estado de Goiás, onde também estão localizados os maiores parques industriais (Quezado-Duval *et al.*, 2005; Villas Bôas *et al.*, 2007).

Essa cadeia tem grande importância no agronegócio brasileiro, além de movimentar indústrias paralelas de insumos, embalagens, máquinas agrícolas e equipamentos de irrigação (Quezado-Duval & Inoue-Nagata, 2009).

O cultivo intensivo do tomate para processamento torna esta cultura extremamente vulnerável ao ataque de inúmeros patógenos, os quais reduzem sua produtividade e/ou qualidade do produto comercial. Em levantamento realizado em 2007, a mancha bacteriana foi apontada por 70% dos produtores

entrevistados como sendo o maior problema para a produção de tomate para processamento industrial (Villas Bôas *et al.*, 2007).

A doença é causada por quatro espécies do gênero *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria*, *X. gardneri*, *X. perforans* e *X. vesicatoria* (Jones *et al.*, 2004). Em estudo realizado por Quezado-Duval *et al.* (2004), observou-se que as populações do patógeno em campos comerciais de tomate para processamento no Centro-Oeste brasileiro compunham-se principalmente de *X. gardneri*, embora

*X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* e *X. perforans* também estivessem presentes. Levantamentos mais recentes demonstram a prevalência das espécies *X. gardneri* e *X. perforans* nas lavouras de tomate industrial (Quezado-Duval & Inoue-Nagata, 2009).

A bactéria pode sobreviver em sementes, restos culturais, plantas voluntárias e plantas daninhas (Quezado-Duval & Lopes, 2010), o que torna difícil impedir a disseminação da doença e a eliminação das fontes de inóculo. Para o controle químico da doença, tradicionalmente tem-se utilizado fungicidas cúpricos e antibióticos agrícolas. Entretanto, esses produtos nem sempre apresentam a eficiência desejada devido, principalmente, à presença de estirpes resistentes a estes produtos (Quezado-Duval *et al.*, 2003; Mirik *et al.*, 2007).

A melhor estratégia para o controle de doenças de plantas é o uso de cultivares resistentes, seja pela praticidade ou pela baixa relação custo/benefício para o produtor. Devido às dificuldades enfrentadas com o controle químico, a resistência genética tem sido uma alternativa atrativa para o controle da mancha bacteriana. Porém, não se dispõem de cultivares de tomate para processamento industrial com níveis de resistência satisfatório (Quezado-Duval & Inoue-Nagata, 2009).

Já se conhecem genes que conferem “imunidade” ao tomateiro às raças T1 (*X. euvesicatoria*), T3 e T4 (*Xanthomonas perforans*), sendo esta resistência baseada em reação de hipersensibilidade (HR) (Scott & Jones, 1989, Scott *et al.*, 1995; Astua-Monge *et al.*, 2000). Entretanto, estes genes ainda não foram introduzidos em cultivares devido à existência de estirpes que suplantam esta resistência (Stall *et al.*, 2009). Além disso, a resistência do tipo HR, no patossistema *Xanthomonas*-tomate, não mostra uma alta correlação com a resistência que é observada em nível de campo (Scott *et al.*, 1995; Robbins *et al.*, 2009).

Além da resistência baseada em HR, fontes de resistência quantitativa (“de campo”, “parcial”), de amplo espectro, em geral eficiente contra um amplo espectro de espécies e raças do patógeno têm sido detectadas (Souza *et al.*, 2008; Hutton *et al.*, 2010). Porém, por se tratar

de uma característica quantitativa, normalmente governada por vários genes de efeito aditivo, a incorporação e/ou sua utilização no desenvolvimento de cultivares também é mais complexa e exige maior tempo (Silva-Lobo, 2000). Assim, torna-se necessário não só identificar genótipos que sirvam como fontes de resistência, mas também conhecer a amplitude dessa resistência em relação às diferentes espécies e raças do patógeno que ocorrem nas áreas de produção.

A cultivar Ohio 8245 é uma linha pura desenvolvida durante a década de 1980, derivada de cruzamentos entre ‘Ohio 7870’ e ‘Heinz 722’ (Berry & Gould, 1991). Essa cultivar foi registrada no Brasil com o nome de ‘Agrocica 45’ e, em diversos trabalhos, tem se atribuído a ela certo nível de resistência, sendo inclusive utilizada em programas de melhoramento (Giordano *et al.*, 2000; Silva-Lobo *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2005a; Robbins *et al.*, 2009). O híbrido comercial Heinz 9553, registrado no Ministério da Agricultura como H9553, desenvolvido pela companhia *Heinz Seed* e comercializado no Brasil pela empresa EAGLE Comércio de Sementes Ltda., por sua vez, tem sido cultivado no Brasil desde o advento da utilização de híbridos e ainda é um dos genótipos mais plantados no país e em diversas regiões do mundo (Giordano *et al.*, 2000; Bittar *et al.*, 2011). Observações de campo têm apontado para uma boa tolerância à mancha bacteriana nesta cultivar.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resistência quantitativa de ‘Ohio 8245’ e ‘Heinz 9553’ frente a isolados de diferentes espécies de *Xanthomonas* associadas à mancha bacteriana no Brasil, com vistas à utilização destas cultivares como padrões de resistência quantitativa para futuros ensaios envolvendo outros genótipos destinados ao segmento de tomate para processamento industrial.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado entre 10 de fevereiro e 17 de março de 2004, na Embrapa Hortaliças em Brasília (DF). Foram utilizadas as cultivares Ohio

8245, Heinz 9553 e Yuba, sendo esta última o padrão de suscetibilidade.

As cultivares foram semeadas em bandeja de poliestireno expandido de 128 células contendo substrato comercial (Plantmax®, Eucatex). Para cada cultivar, foram semeadas quatro fileiras de oito células, colocando-se duas sementes por célula. A ordem das quatro fileiras de cada cultivar foi disposta ao acaso em cada bandeja. Após a emergência, foi realizado o desbaste e o replante, de modo que se obtivesse apenas uma planta por célula. Aos 16 dias do semeio, realizou-se o tratamento químico preventivo para o controle de tombamento e mosca branca pela imersão das bandejas de mudas (via sistema radicular) em suspensão contendo metalaxil (Ridomil Gold®, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.) e imidacloprido (Confidor 700 WG®, Bayer S.A.). Semanalmente, foram realizadas pulverizações com detergente neutro (1%) também para controle da mosca branca. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação até o momento da colocação na câmara úmida (20 dias após o semeio), quando as mudas possuíam de duas a três folhas verdadeiras, sendo transferidas para um telado de cobertura de plástico.

Para a inoculação das plantas, foram utilizados três isolados de cada uma das quatro espécies de *Xanthomonas* associadas à mancha bacteriana do tomateiro (Tabela 1). Cada isolado, preservado em tampão fosfato (pH 7,0), foi recuperado em placas contendo meio Nutriente Ágar (NA), as quais foram mantidas em câmara de crescimento a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  por 72 horas. Colônias isoladas típicas da bactéria foram semeadas em placas contendo meio NA, de modo a preencher toda a placa, e mantidas em câmara de crescimento a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Com o auxílio de uma alça de Drigalski e solução de sulfato de magnésio (10 mM), a massa bacteriana foi coletada e a concentração da suspensão obtida ajustada em espectrofotômetro para  $\text{O.D.}_{600} = 0,3$ , o que corresponde a aproximadamente  $5 \times 10^8$  ufc/mL, e diluída para  $5 \times 10^7$  ufc/mL.

Foram adicionados 20 L da suspensão bacteriana correspondente a cada isolado em bandejas de plástico. As plantas foram inoculadas imergindo-se a

parte aérea na suspensão de inóculo por 1 minuto. As plantas foram submetidas à condição de câmara úmida durante 48 horas antes e após a inoculação, utilizando-se nebulizadores de teto em regime de 30 segundos de nebulização a cada 30 minutos, resultando em uma umidade relativa média no período de 68%. Durante o período compreendido entre a inoculação e a última avaliação, as médias de temperatura máxima e mínima foram de 27,8 e 18,2°C, respectivamente.

As plantas foram acompanhadas diariamente para observação do início dos sintomas, quando foi determinado o período de incubação (P.inc). A severidade da doença foi avaliada aos 14 dias após a inoculação, determinando-se o percentual de área foliar lesionada do primeiro folíolo da segunda folha verdadeira. O percentual de área foliar lesionada (AFL%) foi determinado pela medição das áreas totais e com sintomas em cada folíolo utilizando um medidor de área foliar LI-3100 (LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA), sendo os valores inseridos na fórmula  $AFL\% = (\text{área com sintomas no folíolo}/\text{área total}) * 100$ . Em adição a esta variável, também foi avaliada a incidência da doença nas parcelas. Com base no percentual de incidência da doença nas oito plantas que compunham a parcela, observada aos cinco, seis, sete, nove, doze e quatorze dias após a inoculação, determinou-se

a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

O experimento foi instalado seguindo o delineamento experimental em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, com três repetições para cada tratamento. A parcela experimental foi composta de oito plantas localizadas no centro das quatro fileiras de cada cultivar, em cada bandeja. Os isolados corresponderam à parcela principal, enquanto as cultivares às subparcelas. Aceitos os pressupostos da análise de variância (ANOVA), de homogeneidade de variâncias e normalidade do erro, essa foi realizada para avaliar o efeito dos fatores (isolados e cultivares). Tendo em vista que o teste F da análise de variância não é um bom parâmetro para o estudo de interações (Snedecor & Cochran, 1980), o efeito da interação destes fatores foi avaliado por meio do desdobramento da soma de quadrados da interação. Para comparação das médias, foram efetuados contrastes entre os tratamentos pelo teste t-Student a 0,0001% de probabilidade, para se obter um nível de significância global de aproximadamente 5%, conforme descrito no manual do SAS Institute Inc. (2004), considerando-se o número de contrastes (66). As análises estatísticas foram efetuadas no programa SAS 9.1 (*Statistical Analysis System*, SAS Institute, Cary, NC), utilizando-se os procedimentos: *univariate*, *glm* e *mixed*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os primeiros sintomas da mancha bacteriana foram observados em algumas parcelas da cultivar Yuba inoculadas com isolados de *X. perforans*, logo aos cinco dias após a inoculação. Por meio da análise de variância, foi possível observar efeito na variável P.inc apenas para o fator "isolado" (F,  $p \leq 0,05$ ), com os menores valores médios observados para os isolados CNPH AM-85, CNPH H9992-4, CNPH 345-T e CNPH 89-T. Entretanto, a decomposição da soma de quadrados entre os fatores demonstrou haver interação significativa entre isolados e cultivares no que diz respeito a essa variável. Nas cultivares Ohio 8245 e Yuba, não houve diferença entre os isolados (F,  $p \leq 0,05$ ). Já para 'Heinz 9553', dois isolados de *X. vesicatoria* (CNPH 89-T e CNPH 345-T) e dois de *X. perforans* (CNPH H9992-4 e CNPH AM-85) ocasionaram sintomas com apenas seis dias após a inoculação, em média, diferindo dos demais isolados (Tabela 2). Houve diferenças entre as cultivares quanto ao P.inc quando da utilização dos isolados CNPH 518-T, de *X. euvesicatoria*, e CNPH 142-T, de *X. vesicatoria* (Tabela 2).

Ao se avaliar os valores de AFL% para os diferentes tratamentos, foi possível observar efeito apenas das cultivares (F,  $p \leq 0,05$ ), com 'Ohio 8245' e 'Heinz 9553' apresentando os menores valores

**Tabela 1.** Procedência, ano da obtenção e espécie hospedeira dos isolados de *Xanthomonas* spp. (origin, year of collection and host species of *Xanthomonas* spp. isolates). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2004.

Código	Espécie (grupo)	Procedência	Ano	Hospedeira
CNPH 33-P	<i>X. euvesicatoria</i> (A)	Presid. Olegário-MG	1997	<i>C. annuum</i> <sup>1</sup>
CNPH 215-T	<i>X. euvesicatoria</i> (A)	Petrolina-PE	1996	<i>S. lycopersicum</i> <sup>2</sup>
CNPH 518-T	<i>X. euvesicatoria</i> (A)	Abaré-BA	1998	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH 89-T	<i>X. vesicatoria</i> (B)	Itapaci-GO	1995	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH 142-T	<i>X. vesicatoria</i> (B)	Itapaci-GO	1995	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH 345-T	<i>X. vesicatoria</i> (B)	Itapaci-GO	1997	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH 599-T	<i>X. perforans</i> (C)	Uruaçu-GO	2002	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH AM-85	<i>X. perforans</i> (C)	Itaberaí-GO	2002	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH H9992-4	<i>X. perforans</i> (C)	Vicentinópolis-GO	2003	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH 467-T	<i>X. gardneri</i> (D)	Morrinhos-GO	1998	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH 638-T	<i>X. gardneri</i> (D)	Morrinhos-GO	2000	<i>S. lycopersicum</i>
CNPH AM-10	<i>X. gardneri</i> (D)	Morrinhos-GO	2002	<i>S. lycopersicum</i>

<sup>1</sup>*Capsicum annuum*. <sup>2</sup>*Solanum lycopersicum*.

**Tabela 2.** Médias dos valores de período de incubação da mancha bacteriana (dias) observados nas diferentes cultivares de tomate inoculadas com *Xanthomonas* spp. (incubation period average values of bacterial spot (days) observed in different tomato cultivars inoculated with *Xanthomonas* spp.). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2004.

Isolados	Espécie <sup>1</sup>	Cultivares		
		Ohio 8245	Heinz 9553	Yuba
CNPH 33-P	<i>Xe</i>	6,6 A a	6,6 A bc	6,3 A a
CNPH 215-T	<i>Xe</i>	7,0 A a	7,0 A b	7,3 A a
CNPH 518-T	<i>Xe</i>	6,6 B a	8,0 A a	6,3 B a
CNPH 89-T	<i>Xv</i>	6,0 A a	6,0 A c	6,0 A a
CNPH 142-T	<i>Xv</i>	7,0 A a	7,0 A b	6,0 B a
CNPH 345-T	<i>Xv</i>	6,0 A a	6,0 A c	6,0 A a
CNPH 599-T	<i>Xp</i>	6,6 A a	6,3 A bc	6,6 A a
CNPH AM-85	<i>Xp</i>	6,0 A a	6,0 A c	6,0 A a
CNPH H9992-4	<i>Xp</i>	6,3 A a	6,0 A c	5,6 A a
CNPH 467-T	<i>Xg</i>	6,3 A a	6,3 A bc	7,0 A a
CNPH 638-T	<i>Xg</i>	7,0 A a	6,6 A bc	6,6 A a
CNPH AM-10	<i>Xg</i>	6,6 A a	6,3 A bc	6,6 A a

Médias de tratamentos seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna, não diferem entre si (t,  $p \leq 0,0001$ ) (treatment means followed by the same capital letter in the line, and tiny one, in the column, do not differ from each other). <sup>1</sup>*Xe*= *X. euvesicatoria*, *Xv*= *X. vesicatoria*, *Xp*= *X. perforans*, *Xg*= *X. gardneri*.

**Tabela 3.** Médias dos valores de severidade da mancha bacteriana (percentual de área foliar lesionada) nas diferentes cultivares de tomate inoculadas com *Xanthomonas* spp. (severity average values of bacterial spot (percentage of leaf diseased area) in different cultivars of tomato inoculated with *Xanthomonas* spp.). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2004.

Isolados	Espécie <sup>1</sup>	Cultivares		
		Ohio 8245	Heinz 9553	Yuba
CNPH 33-P	<i>Xe</i>	6,3 A a	8,6 A a	47,3 B abc
CNPH 215-T	<i>Xe</i>	9,6 A a	9,6 A a	14,6 A bc
CNPH 518-T	<i>Xe</i>	9,0 A a	8,0 A a	12,0 A c
CNPH 89-T	<i>Xv</i>	8,0 A a	8,0 A a	47,0 B abc
CNPH 142-T	<i>Xv</i>	6,3 A a	7,3 A a	38,6 B abc
CNPH 345-T	<i>Xv</i>	11,5 A a	11,5 A a	45,5 B abc
CNPH 599-T	<i>Xp</i>	6,0 A a	6,6 A a	36,0 B abc
CNPH AM-85	<i>Xp</i>	14,0 A a	9,0 A a	48,3 B abc
CNPH H9992-4	<i>Xp</i>	6,6 A a	9,0 A a	51,6 B ab
CNPH 467-T	<i>Xg</i>	7,0 A a	9,0 A a	28,3 A abc
CNPH 638-T	<i>Xg</i>	4,6 A a	9,6 A a	24,3 A abc
CNPH AM-10	<i>Xg</i>	5,3 A a	6,0 A a	57,0 B a

Médias de tratamentos seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna, não diferem entre si (t,  $p \leq 0,0001$ ) (treatment means followed by same capital letter in line, and tiny one, in the column, do not differ from each other). <sup>1</sup>*Xe*= *X. euvesicatoria*, *Xv*= *X. vesicatoria*, *Xp*= *X. perforans*, *Xg*= *X. gardneri*.

de AFL% (t,  $p \leq 0,05$ ). Porém, também foi observada interação entre isolados e cultivares após o desdobramento ( $p \leq 0,05$ ). Quando as cultivares foram inoculadas com os isolados CNPH 215-T,

CNPH 518-T (*X. euvesicatoria*), CNPH 467-T e CNPH 638-T (*X. gardneri*), não houve diferenças entre elas quanto ao AFL% ( $p \leq 0,05$ ). Para os demais isolados, foi observada uma

menor severidade da doença em ‘Ohio 8245’ e ‘Heinz 9553’ em relação à ‘Yuba’ (Tabela 3). Quanto à diferença entre os isolados, esta só foi observada na cultivar Yuba (F,  $p \leq 0,05$ ), para a qual a maior severidade da doença foi proporcionada pela utilização dos isolados CNPH AM-10 e CNPH H9992-4, de *X. gardneri* e *X. perforans*, respectivamente.

Para a variável AACPD, foi observado efeito significativo em função dos isolados e cultivares (F,  $p \leq 0,05$ ), e também foi observada interação entre os fatores avaliados após o desdobramento. Os isolados CNPH 345-T e CNPH 89-T, de *X. vesicatoria*, apresentaram as maiores médias de AACPD (t,  $p \leq 0,05$ ). Para ‘Ohio 8245’, observou-se a menor média de AACPD (511,01), a qual diferiu (t,  $p \leq 0,05$ ) da média observada para ‘Heinz 9553’ (545,08), que, por sua vez, também foi significativamente menor que a média de AACPD de ‘Yuba’ (579,83).

Quando da análise do desdobramento, não se observou diferenças entre as cultivares pela inoculação dos isolados CNPH 215-T, CNPH 89-T, CNPH 345-T, CNPH AM-85 e CNPH 467-T, quanto ao valor da AACPD (F,  $p \leq 0,05$ ). Levando-se em consideração os demais isolados, a cultivar Ohio 8245 obteve sempre o menor valor de AACPD (Tabela 4). Para o híbrido Heinz 9553, obtiveram-se valores intermediários de AACPD entre os de ‘Ohio 8245’ e ‘Yuba’. Ao se avaliar o efeito dos isolados dentro de cada cultivar, houve sempre diferença entre estes quanto a AACPD (F,  $p \leq 0,05$ ), sendo que o isolado CNPH 345-T (*X. vesicatoria*), esteve sempre entre os isolados que proporcionaram os maiores valores de AACPD, independente da cultivar avaliada (Tabela 4).

Ao se considerar apenas a variáveis epidemiológicas, período de incubação e percentual de área foliar lesionada, os isolados diferiram entre si apenas quando inoculados em ‘Heinz 9553’ e ‘Yuba’, respectivamente. O fato de não se ter observado diferenças entre os isolados na cultivar com maior nível de resistência (‘Ohio 8245’) corrobora a ideia de que a resistência quantitativa seja eficiente contra as diferentes variantes do patógeno (Scott, 1997; Stall

**Tabela 4.** Médias dos valores de área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana em função do percentual de plantas doentes observados nas diferentes cultivares de tomate inoculadas com *Xanthomonas* spp. (area under bacterial spot progress curve average values based on diseased incidence percentage, in different cultivars of tomato inoculated with *Xanthomonas* spp.). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2004.

Isolados	Espécie <sup>1</sup>	Cultivares		
		Ohio 8245	Heinz 9553	Yuba
CNPH 33-P	<i>Xe</i>	487,5 A cde	543,7 AB ab	579,7 B cde
CNPH 215-T	<i>Xe</i>	410,4 A e	420,8 A c	462,5 A g
CNPH 518-T	<i>Xe</i>	429,1 A de	427,1 A c	520,83 B f
CNPH 89-T	<i>Xv</i>	613,9 A a	641,6 A a	650,0 A ab
CNPH 142-T	<i>Xv</i>	514,5 A bcd	577,1 B ab	595,8 B cd
CNPH 345-T	<i>Xv</i>	616,1 A a	636,6 A a	653,1 A a
CNPH 599-T	<i>Xp</i>	529,1 A abc	583,3 AB ab	617,9 B abc
CNPH AM-85	<i>Xp</i>	604,1 A ab	569,0 A ab	601,0 A bcd
CNPH H9992-4	<i>Xp</i>	541,6 A abc	604,1 B a	627,1 B abc
CNPH 467-T	<i>Xg</i>	510,4 A dc	562,5 A ab	558,3 A def
CNPH 638-T	<i>Xg</i>	404,1 A e	495,8 AB bc	541,6 B ef
CNPH AM-10	<i>Xg</i>	470,8 A cde	479,1 A bc	550,0 B def

Médias de tratamentos seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna, não diferem entre si ( $t, p \leq 0,0001$ ) (treatment means followed by same capital letter in line, and tiny one in the column, do not differ from each other). <sup>1</sup>*Xe*= *X. euvesicatoria*, *Xv*= *X. vesicatoria*, *Xp*= *X. perforans*, *Xg*= *X. gardneri*.

*et al.*, 2009).

Não se observou diferenças quanto às cultivares para alguns isolados, o que pode ser resultado da baixa agressividade destes isolados, os quais não diferiram as cultivares mais resistentes por terem resultado em baixa intensidade da doença na cultivar suscetível ('Yuba'). Neste artigo o termo agressividade é utilizado para caracterizar os isolados quanto à capacidade de causar mais ou menos doença (*sensu* Van der Plank, 1968, citado por Fry, 1982).

Quando da utilização de isolados menos agressivos, como os isolados CNPH 215-T (*X. euvesicatoria*) e CNPH 467-T (*X. gardneri*), não foi possível detectar diferenças entre as cultivares quanto ao nível de resistência. Fatos como estes dificultam a realização de trabalhos de prospecção de fontes de resistência. Não é raro encontrar diferenças quanto à agressividade entre isolados de uma mesma espécie de bactéria fitopatogênica (Jaunet & Wang, 1999; Yahiaoui-Zaidi *et al.*, 2010). Desta forma, ao se avaliar o nível de resistência de diferentes genótipos de tomate, faz-se necessário a utilização do maior número possível de isolados do patógeno, de forma a representar melhor a

sua diversidade nas áreas de produção.

A observação de interações significativas entre isolados e cultivares para todas as variáveis avaliadas pode ser consequência, além da variabilidade entre os isolados, do comportamento da cultivar Heinz 9553, que demonstrou um nível intermediário de resistência, algumas vezes igual ao de 'Ohio 8245', outras vezes não diferindo da cultivar suscetível Yuba.

As espécies *X. vesicatoria* e *X. perforans* mostraram-se mais agressivas nas condições em que o experimento foi realizado. Segundo Quezado-Duval & Lopes (2010), tem-se observado que estas espécies são mais agressivas que as demais em condições de temperaturas mais elevadas (25-30°C). Como o ensaio foi conduzido entre os meses de fevereiro e março, época de temperaturas mais elevadas (>25°C) na região de Brasília-DF, este fator pode ter contribuído para uma maior agressividade de *X. vesicatoria* e *X. perforans*.

As variáveis epidemiológicas utilizadas neste estudo tiveram pouca ou nenhuma correlação entre si. Comparando-se os valores de AFL% com os valores de P.inc e AACPD, foram obtidos valores de coeficiente de cor-

relação de Pearson de -0,12 ( $p=0,2$ ) e 0,31 ( $p<0,01$ ), respectivamente. Já o valor do coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis P.inc e AACPD foi de 0,56 ( $p<0,01$ ). Segundo Seem (1984), nem sempre essas variáveis epidemiológicas possuem correlação significativa entre si. Isso pode ser reflexo da existência de diferentes mecanismos de resistência à doença o que implica que o processo infectivo pode se iniciar em um mesmo momento, mas não necessariamente irá evoluir em uma mesma velocidade. Além disso, o estudo de maior número possível de componentes de resistência (crescimento populacional do patógeno, taxa de aumento da lesão), auxilia a obtenção de conclusões mais acuradas a respeito do nível de resistência de determinados materiais vegetais ou da agressividade das diferentes variantes do patógeno. Desta forma, as variáveis AFL%, P.inc e AACPD foram avaliadas individualmente neste trabalho.

Diferentemente dos resultados obtidos por Silva-Lobo *et al.* (2005) no presente trabalho, para a maioria dos isolados avaliados, o componente de resistência "período de incubação" não diferenciou as cultivares resistentes do padrão suscetível (Tabela 2). É sabido que essa variável tem correlação com o desenvolvimento da doença no campo (Silva-Lobo, 2000). Entretanto, as condições artificiais de inoculação podem favorecer o aparecimento precoce dos sintomas de doenças, mesmo em cultivares mais resistentes. A análise da variável AFL% (Tabela 3) permitiu a distinção das cultivares mais resistentes do padrão suscetível, confirmando a eficiência deste componente na seleção de indivíduos resistentes, fato também observado por Silva-Lobo *et al.*, (2005). Da mesma forma, a variável AACPD também foi eficiente em diferenciar as cultivares quanto ao nível de resistência (Tabela 4). Esta eficiência justifica a ampla utilização destas variáveis em trabalhos de avaliação de resistência à mancha bacteriana do tomateiro.

A resistência quantitativa da cultivar Ohio 8245 à mancha bacteriana foi confirmada em razão dos melhores resultados para as variáveis epidemiológicas avaliadas, tendo também sido

demonstrado sua abrangência para as quatro espécies de *Xanthomonas* associadas à doença. As menções anteriores da resistência desta cultivar à mancha bacteriana referem-se apenas às espécies *X. vesicatoria* (Silva-Lobo *et al.*, 2005) e a *X. euvesicatoria* (Yang *et al.*, 2005a), ou ainda não especificam a espécie (Robbins *et al.*, 2009).

Até meados da década de 1990, as cultivares constituídas por linhas puras (também denominadas de “polinização aberta”, embora sejam autógamas) eram responsáveis por mais de 80% da área plantada de tomate para processamento industrial no Brasil, e ‘Ohio 8245’, conhecida no Brasil como ‘Agrocica 45’, era uma das principais cultivares utilizadas (Argerich *et al.*, 1997). Com o advento dos híbridos comerciais, mais produtivos, a cultivar Agrocica 45 e outras cultivares de polinização aberta não têm sido mais plantadas (Giordano *et al.*, 2000). Em um trabalho realizado em 1998, em condições experimentais de campo, na ausência da doença, cultivares de polinização aberta não tiveram a mesma produção que os híbridos comerciais avaliados (Quezado-Duval & Lopes, 2010). No entanto, ‘Ohio 8245’ tem sido utilizada em programas de melhoramento no país e no exterior (Pereira, 2010; Robbins *et al.*, 2009), principalmente pela característica de resistência quantitativa à mancha bacteriana. Linhagens derivadas de populações geradas a partir de cruzamentos complexos entre genótipos superiores, incluindo ‘Ohio 8245’, têm se mostrado mais resistentes à mancha bacteriana em ensaios de casa de vegetação (Pereira, 2010). Além disso, Robbins *et al.* (2009) indicaram que um *background* genético superior no quesito resistência à mancha bacteriana, aumenta o nível de resistência governada pelo gene *Rx-4* (HR para T3, *X. perforans*) que é expressa em campo.

Com o maior entendimento da variabilidade das espécies de *Xanthomonas* que causam a mancha bacteriana do tomateiro, a partir de diversos trabalhos realizados por Jones e colaboradores (Stall *et al.*, 2009), fontes de resistência estão sendo melhor caracterizadas quanto à estabilidade. Estudos genéticos de herança e desenvolvimento de mar-

cadores moleculares baseados em locos de caracteres quantitativos (*quantitative trait loci* – QTLs) já estão considerando as diferentes espécies (Yang *et al.*, 2005b), de modo que vários *loci* devem ser combinados para que se vislumbre o desenvolvimento de cultivares com resistência estável à esta doença (Yang & Francis, 2005). Assim, novos trabalhos podem ser realizados a fim de caracterizar a resistência de ‘Ohio 8245’ por meio de técnicas moleculares, de modo a facilitar a incorporação da sua resistência em outras linhagens.

O híbrido Heinz 9553, também obteve níveis significativos de resistência à mancha bacteriana, comparável ao observado para ‘Ohio 8245’ nos componentes da resistência *P.inc* e *AFL%*. Estes resultados confirmam as observações feitas em campos comerciais, onde esta cultivar dava indícios de possuir certo grau de resistência à doença e talvez também justifique, além do seu alto potencial produtivo, a sua ampla utilização, em detrimento à ausência na cultivar de outros genes de resistência a outros importantes patógenos como *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e os begomovírus (Giordano *et al.*, 2000).

A inserção de cultivares com níveis reconhecidamente elevados, intermediários e baixos de resistência à mancha bacteriana nos trabalhos de avaliação e seleção de acessos de tomate auxilia na identificação de novas fontes de resistência, visto que a comparação entre elas permite mensurar o nível de resistência. Além disso, conhecer a diferença entre os níveis de resistência de determinados genótipos pode ser útil para determinar os melhores componentes de resistência a serem utilizados para avaliações de resistência de plantas a doenças (Silva-Lobo *et al.*, 2005), bem como para a validação de novas metodologias de quantificação de doenças.

Foi possível observar que, tanto em ‘Ohio 8245’, quanto em ‘Heinz 9553’, a resistência quantitativa foi de amplo espectro, reduzindo a intensidade da doença em relação à ‘Yuba’ para a maioria dos isolados avaliados. Tal característica é importante e tem sido alvo de diversos trabalhos com este patossistema, os quais têm buscado avaliar a resistência contra as diferentes raças/

espécies do patógeno (Scott *et al.*, 1997; Souza *et al.*, 2008). Assim, as cultivares Ohio 8245 e Heinz 9553 são interessantes padrões para estudos e/ou fontes de resistência à mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial.

## REFERÊNCIAS

- ARGERICH CA; MELO PCT; VALDERRAMA LA. 1997. Update on the agroindustry situation of processing tomatoes in South American Countries. In: Proc. First Int. Conf. Processing Tomato/First Int. Symp. Trop. Tomato Dis., *Anais...* Recife: ASHS Press. p. 15-21.
- ASTUA-MONGE G; MINSAVAGE GV; STALL RE; DAVIS MJ; BONAS U; JONES JB. 2000. Resistance of tomato and pepper to T3 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* is specified by a plant-inducible avirulence gene. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13: 911-21.
- BERRY SZ; GOULD WA. 1991. ‘Ohio 8245’ processing tomato. *HortScience*, 26: 1093.
- BITTAR CA; LUZ JMQ; NASCIMENTO AR; CHAGAS RCS; QUEIROZ AA. 2011. Desempenho e divergência genética de genótipos de tomate para processamento industrial. In: 5° Congresso Brasileiro de Tomate Industrial, *Anais...* Goiânia: CNPH/ABH/FAEG/UFG/AGRODEFESA p. 33.
- FRY WE. 1982. *Principles of plant disease management*. Academic Press: Orlando. 378p.
- GIORDANO LB; SILVA JBC; BARBOSA V. 2000. Escolha de cultivares e plantio. In: SILVA JBC; GIORDANO LB (eds). *Tomate para processamento industrial*. Brasília: Embrapa (Comunicação para transferência de tecnologia). p. 36-59.
- HUTTON SF; SCOTT JW; YANG WY; SIM S; FRANCIS DM; JONES JB. 2010. Identification of QTL associated with resistance to bacterial spot race T4 in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 121: 1275-1287.
- JAUNET TX; WANG JF. 1999. Variation in genotype and aggressiveness diversity of *Ralstonia solanacearum* race I isolated from tomato in Taiwan. *Phytopathology* 89: 320-327.
- JONES JB; LACY GH; BOUZAR H; STALL RE; SCHAAD NW. 2004. Reclassification of xanthomonads associated with bacterial spot of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology* 27: 755-762.
- MIRIK M; AYSAN Y; CINAR O. 2007. Copper-resistant strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Journal of Plant Pathology* 89: 153-154.
- PEREIRA MV. 2010. *Avaliação de híbridos comerciais e linhagens de tomate indústria e acessos do banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças quanto a resistência à mancha bacteriana*. Brasília: Faculdade da Terra de Brasília. 37p. (Monografia).
- QUEZADO-DUVAL AM; GAZZOTO FILHO A; LEITE JR RP; CAMARGO LEA. 2003. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp.

- associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. *Horticultura Brasileira* 21: 670-675.
- QUEZADO-DUVAL AM; INOUE-NAGATA AK. 2009. Mancha bacteriana e geminivirose avançam sobre tomate industrial. *Revista Campo & Negócios HF* 54: 44-47.
- QUEZADO-DUVAL AM; LEITE JÚNIOR RP; TRUFFI D; CAMARGO LEA. 2004. Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in central-west Brazil. *Plant Dis.* 88: 157-161.
- QUEZADO-DUVAL AM; LOPES CA; LEITE JÚNIOR RP; LIMA MF; CAMARGO LEA. 2005. Diversity of *Xanthomonas* spp. associated with bacterial spot of processing tomatoes in Brazil. *Acta Horticulturae* 695: 101-108.
- QUEZADO-DUVAL AM; LOPES CA. 2010. *Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria*. Brasília: Embrapa Hortaliças (Circular técnica 84). 28p.
- ROBBINS MD; DARRIGUES A; SIM SC; MASUD MAT; FRANCIS DM. 2009. Characterization of hypersensitive resistance to bacterial spot race T3 (*Xanthomonas perforans*) from tomato accession PI 128216. *Phytopathology* 99: 1037-1044.
- SAS INSTITUTE INC. 2004. SAS/STAT® 9.1 User's Guide. Cary: SAS Institute Inc. 5121p.
- SCOTT JW; JONES JB. 1989. Inheritance of resistance to foliar bacterial spot of tomato incited by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114: 111-114.
- SCOTT JW; JONES JB; SOMODI GC; STALL RE. 1995. Screening tomato accessions for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, race T3. *HortScience* 30: 579-581.
- SCOTT JW; MILLER SA; STALL RE; JONES JB; SOMODI GC; BARBOSA V; FRANCIS DL; SAHIN F. 1997. Resistance to race T2 of the bacterial spot pathogen in tomato. *HortScience* 32: 724-727.
- SCOTT JW. 1997. Tomato improvement for bacterial disease resistance for the tropics: A contemporary basis and future prospects. in: Proc. First Int. Conf. Processing Tomato/First Int. Symp. Trop. Tomato Dis. *Anais...* Recife: ASHS Press. p. 117-123.
- SEEM RC. 1984. Disease incidence and severity relationships. *Ann. Rev. Phytopathol.* 22: 133-150.
- SILVA JBC; GIORDANO LB. 2000. Produção mundial e nacional. In: SILVA JBC; GIORDANO LB. *Tomate para processamento industrial*. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia/ Embrapa Hortaliças. p. 8-11.
- SILVA-LOBO VL; LOPES CA; GIORDANO LB. 2005. Componentes da resistência à mancha bacteriana e crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, raça T2, em genótipos de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 30: 17-20.
- SILVA-LOBO VL. 2000. *Herança e componentes de resistência à mancha bacteriana (Xanthomonas campestris pv. vesicatoria, raça T2), em tomateiro*. Brasília: UnB. 119p. (Tese doutorado).
- SNEDECOR GW; COCHRAN WG. 1980. *Statistical Methods*. 7 ed. Ames: The Iowa State University Press. 507 p.
- SOUZA MFM; RODRIGUES R; AMARAL-JÚNIOR AT; SUDRÉ CP. 2008. Resistance to *Xanthomonas* spp. in tomato: diallel analysis and gene effects estimative in a breeding program carried out in Brazil. *Journal of Phytopathology* 156: 660-667.
- STALL RE; JONES JB; MINSAVAGE GV. 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to xanthomonads causing bacterial spot. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47: 265-84.
- VILLAS BÔAS GL; MELO PE; CASTELO BRANCO M; GIORDANO LB; MELO FF. 2007. Desenvolvimento de um modelo de produção integrada de tomate indústria – PITI. In: ZAMBOLIM L; LOPES CA; PICANÇO MC; COSTA H. (eds). *Manejo Integrado de Doenças e Pragas – Hortaliças*. UFV/ Embrapa Hortaliças. p. 349-362.
- YAHIAOUI-ZAIDI R; LADJOUZI R; BENALLAOUA, S. 2010. Pathogenic variability within biochemical groups of *Pectobacterium carotovorum* isolated in Algeria from seed potato tubers. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research* 1: 1-9.
- YANG W; FRANCIS DM. 2005. Marker-assisted selection for combining resistance to bacterial spot and bacterial speck in tomato. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 130: 716-721.
- YANG W; SACKSEJ; LEWISIVEYML; MILLER SA; FRANCIS DM. 2005a. Resistance in *Lycopersicon esculentum* intraspecific crosses to race T1 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* causing bacterial spot of tomato. *Phytopathology* 95: 519-527.
- YANG W; MILLER SA; SCOTT JW; JONES JB; FRANCIS DM. 2005b. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers: application to bacterial resistance and marker assisted selection. *Acta Horticulturae* 695: 241-250.