

## Uso de folhas enraizadas de batata para avaliação da resistência à murcha-bacteriana.

Mirtes Freitas Lima<sup>1</sup>; Carlos Alberto Lopes; Paulo Eduardo de Melo.  
Embrapa Hortaliças, Caixa Postal 218, 70359-970 Brasília - DF.

### RESUMO

Sete clones de batata, resultantes de genótipos provenientes do Centro Internacional de la Papa, Peru, previamente selecionados como resistentes a *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* e as cultivares Atlantic (suscetível), Achat (resistente) e Mondial, foram utilizados na avaliação da técnica de inoculação de folhas de batata enraizadas visando a seleção de genótipos para resistência à murcha-bacteriana. Utilizaram-se folhas de duas posições (terceiro/quarto; sétimo/décimo nó a partir do ápice), enraizadas em areia estéril, por 15 dias, sendo oriundas de plantas aos 30 dias após o plantio dos tubérculos. As folhas, quando enraizadas foram retiradas da areia, as raízes lavadas e cortadas em até um terço do seu comprimento e a porção de raízes remanescentes, imersa em suspensão bacteriana ( $10^8$  ufc/ml por 1 min.) As folhas enraizadas foram, então, plantadas em vasos contendo solo autoclavado e mantidos à temperatura de 23-40°C. A avaliação foi feita pela contagem do número de folhas murchas quatro, seis, oito e doze dias após a inoculação. O delineamento experimental foi blocos ao acaso com três repetições e parcelas subdivididas. Os resultados deste ensaio foram comparados àqueles obtidos com a inoculação de brotos enraizados, dos mesmos genótipos de batata, em casa-de-vegetação. Folhas da segunda posição foram mais suscetíveis à inoculação com *R. solanacearum* do que folhas da primeira posição, não diferenciando os padrões suscetível e resistente. Apesar de terem sido detectadas diferenças significativas entre genótipos com a inoculação de folhas enraizadas, este método não foi considerado adequado, pois mostrou baixa correlação quando comparado à inoculação de brotos, que foi correlacionada com testes de campo. Devido à facilidade de enraizamento e à rapidez na manifestação dos sintomas, a utilização de folhas enraizadas é mais adequada para testes de patogenicidade e de virulência de isolados de *R. solanacearum*.

**Palavras-Chave:** *Solanum tuberosum*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas solanacearum*, técnica de inoculação.

### ABSTRACT

#### Use of rooted potato leaves to evaluate resistance to bacterial wilt.

Seven potato clones, from genotypes of Centro Internacional de la Papa, Peru, previously selected as resistant to *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* in the field, as well as the cultivars Atlantic (susceptible), Achat (resistant) and Mondial were evaluated for the feasibility of using rooted leaves to screen resistance to bacterial wilt. Leaves from two positions (third/fourth; seventh/tenth nodes from the top) were detached from thirty-day-old plants and rooted in sterile sand for 15 days. Approximately one-third of the root system was cut off and the rooted petiole immersed in a bacterial suspension ( $10^8$  cfu/ml for 1 min) and immediately transplanted to pots containing sterile soil in the greenhouse. The pots were kept at temperature of 23-40°C. The evaluation was done by counting the number of wilted leaves at four, six, eight and twelve days after inoculation. The experimental layout was a split-plot design with three replications. The wilt data obtained were compared with results from inoculated rooted sprouts in greenhouse, which correlates well with field trials. Leaves of the second position were more susceptible to *R. solanacearum* than those of the first position and were not adequate to differentiate resistant and susceptible patterns. Although there were significant differences among genotypes, the rooted leaf inoculating method was not considered reliable, because it did not correlate well with the rooted sprout technique. However, because of the high rate of multiplication and quick wilt response, the rooted leaf technique can be a useful tool for pathogenicity and virulence studies on *R. solanacearum*.

**Keywords:** *Solanum tuberosum*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas solanacearum*, inoculation technique.

(Aceito para publicação em 22 de outubro de 1997)

A murcha-bacteriana (MB), causada por *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* E.F. Smith, é uma das doenças bacterianas mais importantes em diversas culturas de importância econômica (Engelbrecht & Hatting, 1989). A doença é favorecida por altas temperaturas, solos bem úmidos e com pH abaixo de 7,0 (Lopes & Santos, 1994), ocorrendo em regiões tropicais e sub-tropicais. A MB afeta um grande número de espécies pertencentes a mais de 35 famílias botânicas, des-

tacando-se entre estas a família Solanaceae com batata, tomate, berinjela e pimentão (Kelman, 1953). A MB afeta também banana, gengibre e amendoim (Hayward, 1985). Este grande círculo de hospedeiras, além da alta sobrevivência da bactéria no solo, dificultam o seu controle (Lopes & Santos, 1994).

No Brasil, a MB é uma das doenças mais importantes da batata (Lopes *et al.*, 1993), sendo particularmente importante em cultivos das regiões Norte e Nordeste e em áreas de baixa altitude situa-

das nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (Lopes & Santos, 1994).

No caso da batata, apesar dos esforços no sentido de se desenvolver cultivares resistentes à MB, os níveis de resistência conseguidos não têm sido suficientes para o controle da doença, principalmente pela quebra desta resistência por estirpes mais virulentas do patógeno ou por altas temperaturas (French & De Lindo, 1982). Uma vez que a estabilidade da resistência é dependente das condições ambientais, tor-

<sup>1</sup> Endereço atual do primeiro autor: Embrapa Semi-Árido, Caixa Postal 23, 56300-000 Petrolina - PE.

na-se difícil a obtenção de cultivares com resistência efetiva (Kurosawa & Pavan, 1995). Por outro lado, medidas isoladas de controle têm se mostrado pouco eficazes e/ou dispendiosas. Portanto, a utilização de cultivares com algum nível de resistência, como parte de um controle integrado, parece ser a melhor medida para se reduzir as perdas provocadas pela doença (Lopes *et al.*, 1990). A escolha do terreno para o plantio dos tubérculos, assim como a utilização de batata-semente certificada e rotação de culturas são, também, medidas muito importantes e que devem ser consideradas no controle da doença (Lopes & Quezado-Soares, 1995).

A avaliação de genótipos de batata pelo plantio de tubérculos em campo infestado com *R. solanacearum* tem sido uma técnica eficiente na identificação de clones com altos níveis de resistência à MB, entretanto, para avaliar um grande número de clones em campo, vários ciclos são necessários (Gonzalez *et al.*, 1972). A condução de testes em campo pode ser dificultada, também, pela ocorrência de outros agentes, além de *R. solanacearum*, o que pode causar grandes perdas e elevar os custos dos ensaios (Gonzalez *et al.*, 1973). Portanto, faz-se necessário o estudo de uma metodologia, na qual possa ser possível avaliar um grande número de genótipos, visando a seleção daqueles que, provavelmente, sejam resistentes em testes a nível de campo.

A técnica de folhas enraizadas, utilizada para a multiplicação rápida de clones de batata (CIP, 1992), possui potencial como método adicional na avaliação da resistência de batata à MB, considerando a economia de tempo e de espaço, além da eliminação de etapas básicas, quando são utilizados tubérculos, como multiplicação (90 dias) e período de dormência (três a quatro meses). Com a técnica de enraizamento de folhas destacadas de plantas de batata, pode-se obter um grande número de indivíduos, geneticamente uniformes, a partir de poucas plantas de um mesmo genótipo. Pela metodologia tradicional, com a avaliação de tubérculos em campo, que envolve clonagem, multiplicação, seleção e testes em campo, são necessários, praticamente, dois anos para a avaliação completa de genótipos (Lopes *et al.*, 1993).

Este trabalho teve por objetivo a avaliação da técnica de inoculação de *R.*

*solanacearum* em folhas destacadas e enraizadas de batata, como procedimento de identificação de genótipos resistentes à MB.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Folhas enraizadas.** Foram avaliados sete clones de batata (299103G-3; 377835-1; 385312-2; 386095-1; 386095-6; 386095-12; RM 0-20) do Programa de Melhoramento da Embrapa Hortaliças em colaboração com o Centro Internacional de la Papa (CIP), Peru e a cv. Mondial. Estes clones, quando avaliados em campo, pelo plantio em área infestada (campo G-13) com *R. solanacearum*, exibiram certa reação de resistência à murcha-bacteriana (MB). Como testemunhas foram utilizadas as cvs. Atlantic (suscetível) e Achat (resistente). Brotos apicais e laterais de 7-10 cm de comprimento foram cortados, com bisturi, de plantas provenientes de tubérculos plantados em solo estéril em casa-de-vegetação. Após retiradas as folhas maiores, um terço do comprimento da haste dos brotos foi imerso em solução enraizadora (Bryan *et al.*, 1981) por 30 segundos e plantado em areia autoclavada úmida. Após 10-12 dias, os brotos enraizados foram transplantados para vasos em casa-de-vegetação (23-40°C).

Trinta dias após o transplante dos brotos, folhas foram coletadas e os seus pecíolos mergulhados em solução enraizadora por 30 segundos. As folhas foram plantadas em areia autoclavada umedecida, em bandejas de plástico e mantidas em casa-de-vegetação à temperatura média de 23°C (19,5 - 25,8°C) durante nove dias, para favorecer o enraizamento e, depois, a 29,5°C (20,5-33,7°C), até a inoculação (Lima & Lopes, 1994). Foram utilizadas duas posições de folhas: do terceiro ao quarto e do sétimo ao décimo nó a partir do ápice da planta. Fizeram-se duas adubações foliares antes da inoculação, cinco e nove dias após o plantio das folhas em areia esterilizada. Aplicou-se o inseticida cartap, 2g do p.c./l, contra a traça (*Gnorimoschema operculella*) a cada cinco dias.

Para a inoculação, utilizou-se o isolado CNPH 13 de *R. solanacearum*, pertencente à raça 1, biovar I, obtido a partir de plantas de batata com sintomas da doença, provenientes do campo experi-

mental naturalmente infestado - G 13, área na qual os clones haviam sido plantados para a avaliação à MB. O isolado, preservado em água, foi cultivado em meio de Kelman com tetrazólio (Kelman, 1954) para seleção das colônias virulentas, com incubação a 27°C por dois dias, na ausência de luz. A partir de colônias isoladas, a bactéria foi repicada para placas contendo meio de Kelman e incubadas sob as mesmas condições anteriormente citadas. Após o período de incubação, o inóculo foi preparado pela adição de água estéril às placas e raspagem da superfície do meio de cultura com alça de vidro. A concentração da suspensão foi ajustada em espectrofotômetro para 10<sup>8</sup> ufc/ml, de acordo com equação previamente estabelecida.

Para a inoculação, as folhas foram retiradas da areia e lavadas para retirada da areia, evitando-se o rompimento das raízes (comprimento médio de 8 cm). Cortou-se um terço do comprimento das raízes com tesoura e os dois terços remanescentes foram imersos em suspensão do inóculo por um minuto. Imediatamente, após a inoculação, as folhas foram transplantadas para vasos de 0,5 l de capacidade, contendo solo autoclavado, previamente, umedecido. Após o transplante, verteu-se 5 ml da suspensão bacteriana por vaso, próximo às raízes de cada folha.

As plantas inoculadas foram mantidas em casa-de-vegetação aquecida (23 - 40°C), mantendo-se à noite, a temperatura entre 20 - 28°C. O solo foi mantido úmido, de maneira a favorecer a ocorrência da doença. A avaliação foi feita quatro, seis, oito e doze dias após a inoculação, pela contagem do número de folhas enraizadas com sintomas de murcha. Posteriormente, os dados, em porcentagem, foram transformados para  $\sqrt{x+1}$ , 0.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso com dez tratamentos (genótipos), em parcelas subdivididas, com três repetições. Na parcela considerou-se genótipo e na subparcela, posição da folha. Cada parcela foi constituída por seis vasos, contendo uma folha enraizada cada.

A análise estatística dos dados consistiu, inicialmente, em uma análise de variância individual para cada época de avaliação, com aplicação do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

para separação das médias dos genótipos. Posteriormente, executou-se a análise por componentes principais, considerando cada época de avaliação como variável. Uma vez identificado o componente principal, este foi utilizado como variável para a análise dos dados. A diferenciação das médias dos genótipos para cada posição de folha foi feito pelo teste de Duncan (5%) e o teste t foi utilizado para a diferenciação das duas médias, considerando as duas posições de folha, dentro de cada genótipo.

**Brotos enraizados.** Utilizou-se os mesmos clones e cultivares de batata, citados anteriormente. Brotos enraizados foram inoculados com *R. solanacearum*, em casa-de-vegetação e sua reação comparada à reação obtida pela inoculação da bactéria segundo a metodologia de avaliação de MB em folhas enraizadas. Brotos medindo 2 - 3 cm de comprimento, com uma pequena porção do tecido tuberoso, foram retirados de tubérculos brotados, com auxílio de bisturi e enraizados em areia estéril úmida por quinze dias, em casa-de-vegetação (Bryan *et al.*, 1981).

A inoculação das plântulas oriundas de brotos foi feita da mesma maneira que para as folhas enraizadas, com corte e imersão das raízes em suspensão bacteriana ( $10^8$  ufc/ml) e plantio em vasos contendo solo autoclavado. Utilizou-se o mesmo isolado de *R. solanacearum* (CNPH 13), na mesma concentração de inóculo. A avaliação da doença foi realizada sete dias após a inoculação.

O delineamento foi blocos ao acaso com quatro repetições, sendo a parcela experimental constituída por quatro vasos com uma planta cada. Foi calculado o índice de correlação entre os dados obtidos neste ensaio e os obtidos com a inoculação de folhas enraizadas, considerando as médias para as duas posições de folhas, obtidas pela análise por componentes principais, considerando cada época de avaliação como variável.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando-se a avaliação de folhas enraizadas, através da análise de variância simples, realizada para cada época, observou-se diferença significativa entre genótipos para a segunda, terceira e quarta avaliações ( $P = 5\%$ ). A variável posição da folha foi significativa apenas quando em interação com

genótipo, indicando que para determinados materiais existe diferença em suscetibilidade se inoculadas folhas da primeira (terceiro/quarto nó a partir do ápice da planta) ou segunda posição (sétimo/décimo nó).

Como a diferenciação entre os genótipos, fornecida pela análise de variância simples, não foi satisfatória, optou-se pela análise de componentes principais, com o objetivo de estudar a variabilidade dos genótipos ao longo das quatro épocas de avaliação.

A análise de componentes principais decompôs a variabilidade dos dados em quatro vetores ou componentes principais, dos quais o primeiro deles agregou 72,03% da variabilidade total, tendo sido constituído, basicamente, pelas segunda e terceira avaliações, representando 31,32% da variância agregada no componente, cada uma, e, quarta e primeira avaliações, representando 20,02% e 17,34%, respectivamente. O primeiro componente principal foi, então, utilizado como variável para a análise dos dados.

Houve diferença significativa entre os genótipos para as duas posições de folhas. Para a primeira posição (terceiro/quarto nó), o teste de Duncan (5%) separou os genótipos em três grupos distintos, tendo o clone 385312-2, apresentado comportamento semelhante ao do padrão suscetível 'Atlantic' (Tabela 1).

O padrão de resistência 'Achat' mostrou 37,1% de folhas murchas, sendo estatisticamente diferente do padrão suscetível 'Atlantic' (75,0%). Para folhas enraizadas da segunda posição (sétimo/décimo nó), observou-se um aumento na suscetibilidade dos genótipos a *R. solanacearum*, em comparação à inoculação em folhas da primeira posição (terceiro/quarto nó), não ocorrendo, portanto, uma diferenciação satisfatória entre os genótipos.

Pela diferenciação de médias dentro de cada genótipo através do teste t, observou-se que a significância da interação entre genótipos e posição de folha foi devida ao comportamento de quatro materiais 'Atlantic', '386095-12', '299103G-3' e 'Achat', que apresentaram diferenças em suscetibilidade quando inoculados com *R. solanacearum* em folhas enraizadas da primeira ou segunda posições. Os demais genótipos não comportaram-se de maneira diferenciada com relação a posição de folhas. Observou-se, também, que folhas da segunda posição foram mais suscetíveis à inoculação com *R. solanacearum* do que folhas da primeira posição, inclusive para o padrão de resistência 'Achat'. A variabilidade em suscetibilidade a *R. solanacearum* foi observada quando estacas múltiplas de uma mesma planta de batata foram ino-

**Tabela 1** - Incidência de murcha-bacteriana em plântulas originárias de brotos enraizados ou em folhas enraizadas de batata. Brasília, Embrapa Hortaliças, 1995.

Genótipo	Plântulas (%) <sup>1/</sup>	Folhas enraizadas (%) <sup>2/</sup>	
		3º/4ºnó	7º/10ºnó
Atlantic	100,0a <sup>3/</sup>	75,00 a A	38,32 ab B
RM-020	87,5ab	31,68 c A	46,68 ab A
385312-2	87,5ab	80,83a A	68,35 a A
386095-6	87,5ab	31,68 c A	16,65 b A
386095-12	81,3ab	56,68 b A	19,98 b B
386095-1	68,8ab	41,68 bc A	23,35 b A
377835-1	62,5abc	36,68 c A	34,18 ab A
Mondial	43,8 bc	30,00 c A	47,19 ab A
299103G-3	37,5 c	16,68 c B	44,18 ab A
Achat	18,8 c	37,10 bc B	70,43 a A
C.V.(%)	9,9	4,42	7,31

<sup>1/</sup> Média de 16 plântulas aos sete dias após a inoculação, obtidas a partir de brotos;

<sup>2/</sup> Valores de incidência da doença relativos ao primeiro componente obtido através da análise de componentes principais, considerando-se quatro avaliações (aos quatro, seis, oito e doze dias após a inoculação);

<sup>3/</sup> Letras minúsculas para comparação de médias dentro da mesma coluna (Duncan, 5%) e maiúsculas, para comparação dentro da mesma linha (t, 5%). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si.

culadas com a bactéria; estacas mais novas, de posições mais apicais, foram mais resistentes à MB do que as de posições mais basais (CIP, 1992).

Para brotos enraizados, os sintomas iniciais de murcha nas plântulas foram observados a partir do quarto dia após a inoculação, embora ainda não fossem representativos para a maioria dos materiais. Foram observadas diferenças significativas entre os genótipos, destacando-se '299103G-3' como o mais resistente (37,5% de plântulas murchas), sem diferença significativa da testemunha resistente 'Achat' (18,8% de murcha). Os padrões de resistência 'Achat' e suscetibilidade 'Atlantic' (100% de murcha), mantiveram-se em suas respectivas classes de resistência (Tabela 1).

Os coeficientes de correlação entre os dois métodos de inoculação não foram significativos ( $P=0,05$ ), quando comparados os resultados obtidos com a inoculação de brotos e aqueles obtidos com as variáveis de componentes principais para as duas posições de folhas enraizadas. O índice obtido entre brotos e a primeira posição de folhas foi  $r = 0,6$  e entre brotos e a segunda posição de folhas,  $r = 0,4$ . Isto indica que as reações dos clones a *R. solanacearum*, quando inoculados folhas e brotos enraizados, não estão associadas de maneira linear.

Ainda que estes clones tenham se comportado como resistentes quando tubérculos foram plantados em campo naturalmente infestado com *R. solanacearum*, os resultados obtidos com a inoculação da bactéria em brotos e folhas enraizadas destes mesmos clones, em casa-de-vegetação, mostrou que para a maioria dos materiais, a reação de resistência exibida em campo era de escape. Muito provavelmente, as plantas destes genótipos, supostamente resistentes em campo (área G-13), podem ter estado situadas em manchas de solo, cuja população de *R. solanacearum* fosse relativamente baixa, considerando-se que a população da bactéria nesta área não está homoganeamente distribuída.

Os clones 386095-6 e 377835-1, que apresentaram reações similares quando inoculados com *R. solanacearum*, possuem o mesmo pedigree BW2TD/18 X 377964.5, com provável fonte de resistência obtida a partir de *Solanum sparsipilum*,

*S. chacoense*, *S. microdontum* ou *S. phureja* (Lopes *et al.*, 1993).

A utilização de brotos enraizados para avaliação da resistência de batata à MB apresentou resultados consistentes, com diferenciação dos padrões de resistência e suscetibilidade, demonstrando ser um método acurado para a avaliação de genótipos de batata a esta doença. Os brotos apresentaram como vantagens rápido enraizamento, formação de raízes com maior comprimento e em maior número, menor índice de mortalidade (5%) em relação às folhas (até 50%), além de maior capacidade de regeneração, muito provavelmente, por tratar-se de tecido fisiologicamente mais novo e ainda pouco diferenciado. O índice de enraizamento para folhas foi de 60-80%. Brotos enraizados, inoculados via imersão de raízes, têm sido utilizados na avaliação de clones de batata, que se relaciona com testes em campo (dados não publicados).

Quanto à utilização de folhas enraizadas, devemos considerar que o processo de enraizamento da folha, já fisiologicamente fragilizada devido ao destaque da planta-mãe, ocorre às suas próprias expensas. Isto, muito provavelmente, pode tê-la enfraquecido, levando à perda de vigor e interferindo em sua capacidade de recuperação, o que pode ter mascarado uma provável diferença na reação de resistência que poderia existir entre as duas posições de folhas.

Ainda que a inoculação de folhas enraizadas tenha indicado genótipos com reação diferencial à MB, esta técnica não mostrou ser acurada na identificação de fontes de resistência. Como exemplo, observou-se que a cv. Achat, resistente em condições de campo (Lopes & Quezado-Soares, 1995), igualou-se estatisticamente aos materiais suscetíveis quando inoculadas folhas enraizadas da segunda posição (Tabela 1). Entretanto, devido à rapidez e facilidade na obtenção de um grande número de indivíduos de um mesmo genótipo, este método poderá ser utilizado em testes de patogenicidade e virulência de isolados, uma vez que a manifestação de sintomas ocorre com rapidez.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro.

## LITERATURA CITADA

- BRYAN, J.E.; JACKSON, M.T.; QUEVEDO B., M.; MELENDEZ G., N. *Esquejes de tallo juvenil, una técnica de multiplicación rápida de papa*. Lima: CIP. 1981. 8 p.
- CIP. *Annual Report*. Disease Management. Program 3. Lima: CIP. 1992. 59p.
- ENGELBRECHT, M.C. & HATTING, M.J. Numerical analysis of phenotypic features of *Pseudomonas solanacearum* strains isolated from tobacco and other hosts in South Africa. *Plant Disease*, v.73, p.893-898, 1989.
- FRENCH, E.R. & De LINDO, L. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in potato: specificity and temperature sensitivity. *Phytopathology*, v.72, p.1408-1412, 1982.
- GONZALEZ, C.L.; SEQUEIRA, L.; ROWE, P.R. A root inoculation technique to screen potato seedlings for resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *American Potato Journal* v.50, p.96-104. 1973.
- GONZALEZ, L.C.; SEQUEIRA, L.; ROWE, P.R.; BIANCHINI, R. Field resistance to bacterial wilt in hybrid potato progenies. *Phytopathology*, v.62, p.760. 1972. (Abstract).
- HAYWARD, A.C. Bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in Asia and Australia. In: PERSLEY, G.J. Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific, Los Banos: *ACIAR Proceedings*, v.13, p.15-24, 1985.
- KELMAN, A. *The bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum: A literature review and bibliography*. Raleigh: North Carolina, Agricultural Experiment Station, 1953, 194p.
- KELMAN, A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, v.44, p.693-695, 1954.
- KUROSAWA, C. & PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. *Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*. 3ª. ed. Ed. Agronômica Ceres. V.2. 1995. p.690-724.
- LIMA, M.F. & LOPES, C.A. Uso de folhas enraizadas de batata para avaliar resistência à murcha bacteriana. *Fitopatologia Brasileira* 19 (Suplemento): 291, 1994.
- LOPES, C.A.; BUSO, J.A.; ACCATINO, P. Screening CIP potato germplasm for resistance to bacterial wilt in Brazil: Methods and preliminary results. *Bacterial Wilt Newsletter: ACIAR*, n.9, p.3-5, 1993.
- LOPES, C.A. & SANTOS, J.R.M. *Doenças do tomateiro*. Embrapa-CNPq. Brasília: Embrapa-SPI. 67p.1994.
- LOPES, C.A.; HIDALGO, O.A.; BUSO, J.A. Melhoramento genético para resistência à murcha-bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum* no Brasil. p.173-177. In: HIDALGO, O.A. & Rincon, H. (eds.) *Avances en el mejoramiento genético de la papa en los Países del con Sur*. Lima: CIP, 1990. p.173-177.
- LOPES, C.A.; LIMA, B.J.C.; BUSO, J.A. Potatoes and tomatoes. *Biological and Cultural Tests*, v.8, p.38, 1993.
- LOPES, C.A. & QUEZADO-SOARES, A.M. Estabilidade da resistência da batata 'Achat' à murcha-bacteriana. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.13, p.57-58, 1995.