

MELHORAMENTO DE *Capsicum annuum* VISANDO RESISTÊNCIA
À ANTRACNOSE: CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE
Colletotrichum spp., HERANÇA DA RESISTÊNCIA E PROPOSTA DE
SÉRIE DIFERENCIADORA

INGRID GASPAR DA COSTA GERONIMO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2018

MELHORAMENTO DE *Capsicum annuum* VISANDO RESISTÊNCIA
À ANTRACNOSE: CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE
Colletotrichum spp., HERANÇA DA RESISTÊNCIA E PROPOSTA DE
SÉRIE DIFERENCIADORA

INGRID GASPAR DA COSTA GERONIMO

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas”

Orientador: Profa. Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

070/2018

G377 Geronimo, Ingrid Gaspar da Costa.

Melhoramento de *Capsicum annuum* visando resistência à antracnose : caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp., herança da resistência e proposta de série diferenciadora / Ingrid Gaspar da Costa Geronimo. – Campos dos Goytacazes, RJ, 2018.

86 f. : il.

Bibliografia: 64 – 74.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2018.

Orientadora: Rosana Rodrigues.

1. Pimentão. 2. Resistência à Doenças. 3. Herança Genética. 4. Raças Fisiológicas. 5. Doenças Fúngicas I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 635.643

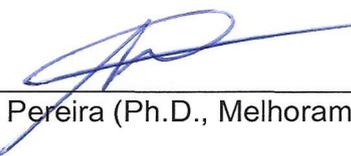
MELHORAMENTO DE *Capsicum annuum* VISANDO
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE: CARACTERIZAÇÃO DE
ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp., HERANÇA DA RESISTÊNCIA
E PROPOSTA DE SÉRIE DIFERENCIADORA

INGRID GASPAR DA COSTA GERONIMO

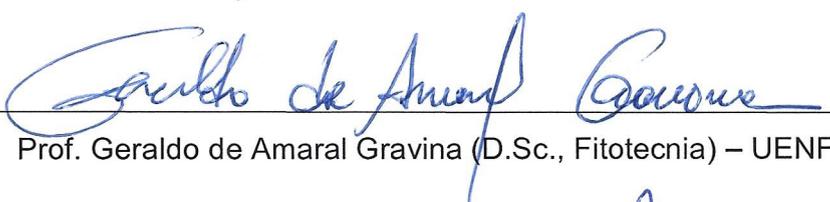
“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e
Melhoramento de Plantas”

Aprovada em 22 de fevereiro de 2018.

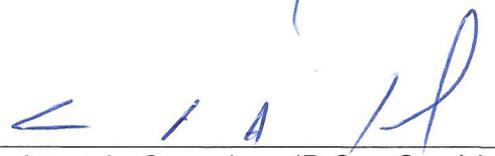
Comissão Examinadora:



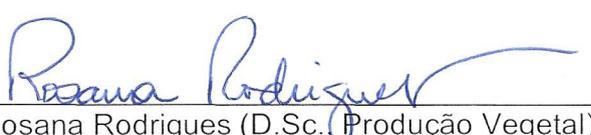
Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas) – UENF



Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D.Sc., Fitotecnia) – UENF



Prof. Leandro Simões Azeredo Gonçalves (D.Sc., Genética e Melhoramento de
Plantas) - UEL



Profa. Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Orientadora)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marcia e Nilton, dedico, com todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus;

À minha família, principalmente meus pais, Marcia e Nilton, por sempre me motivarem nos momentos mais difíceis. Foram vocês que me incentivaram a sempre seguir em frente e tenho certeza que só cheguei tão longe porque vocês estavam ao meu lado. Obrigada pelo amor, sempre;

Ao Renan, obrigada, acima de tudo, pela amizade, companheirismo e por me motivar, aconselhar e acolher durante toda a pós graduação. Por acreditar em mim e sempre vibrar com as minhas conquistas;

À minha república, Lorraine, Rodrigo, Leesi e Flor, que se tornaram uma verdadeira família. Obrigada pelos momentos na cozinha, das conversas animadas e do apoio nos momentos em que mais precisei. Tenho certeza que levarei as melhores lembranças destes anos de convivência e que sem vocês a minha estadia em Campos não teria sido a mesma;

Ao grande amigo Leandro, uma amizade que será levada além da UENF. Obrigada por ser sempre meu anjo em Campos e por estar ao meu lado em todos os momentos, mesmo quando não estava próximo de mim;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de cursar o doutorado. Aos professores, por todo o conhecimento passado;

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, pela bolsa concedida;

À orientadora, Profa. Rosana Rodrigues, um exemplo de profissional que me orientou durante a etapa rumo ao meu objetivo, me estimulando a ser sempre melhor;

Aos membros da banca, Prof. Messias Gonzaga Pereira, Prof. Geraldo de Amaral Gravina e Prof. Leandro Simões Azeredo Gonçalves, por aceitarem fazer parte desta;

Aos professores que me auxiliaram durante a pós graduação: Alexandre Pio Viana, Antônio Teixeira do Amaral Júnior, Gonçalo Apolinário de Souza Filho, Messias Gonzaga Pereira, Telma Nair Santana Pereira, Valdirene Moreira Gomes e aos demais professores do programa de Genética e Melhoramento de Plantas da UENF, seja repassando conhecimento ou esclarecendo as várias dúvidas que surgiram durante este período;

Aos 'Resistentes', Lígia, Paola, André, Jeferson, Claudia Lougon, Claudia Pombo e Claudia Roberta (as Claudias), Maria do Socorro, Thamara, e aos resistentes egressos, Cíntia, Samy, Artur, Lidia, Jéssica, Camilinha. Uma vez resistente, sempre resistente!

Obrigada especial à Claudia Lougon e Claudia Pombo, que me ajudaram diretamente na tese e pelas palavras de apoio e incentivo nesta empreitada final;

À Marcela e Fernandinha, por todo auxílio na condução das análises moleculares;

Ao técnico Vicente, por todo auxílio inicial e estoque dos isolados de fungos;

Ao Secretário Daniel, sempre muito competente e dedicado ao que faz;

Ao núcleo de estudos "Ganho Genético", pelo aprendizado, que permitiu grandes experiências profissionais. E a todos os colegas que fizeram parte da gestão 2016/2017: Ingrid, José Arantes, Lígia, Lucas, Paulo, Rafael, Samuel, Tâmara Rebecca e Thâmara Figueiredo;

A todos que acreditaram em mim, meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. O gênero <i>Capsicum</i>	5
3.2. Antracnose como fator limitante ao cultivo de <i>Capsicum</i>	6
3.3. Genética da resistência de <i>Capsicum</i> ao <i>Colletotrichum</i>	8
3.4. Série diferenciadora de raças fisiológicas.....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1. Coleta e caracterização de isolados de <i>Colletotrichum</i>	13
4.1.1. Coleta e Manutenção dos Isolados.....	13
4.1.2. Caracterização Morfológica e Cultural.....	14
4.1.3. Caracterização Patogênica.....	14
4.1.4. Caracterização Molecular.....	15
4.1.5. Análise das Variáveis.....	16
4.2. Determinação da herança da resistência.....	17

4.2.1.	Obtenção das Gerações.....	17
4.2.2.	Inoculações com <i>C. gloeosporioides</i>	18
4.2.3.	Variáveis analisadas.....	19
4.2.4.	Análise estatística.....	20
4.2.4.1.	Análise qualitativa	20
4.2.4.1.	Estimativas dos parâmetros genéticos com base nos componentes de variância.....	21
4.2.4.2.	Estimativa de parâmetros genéticos com base nas médias de gerações 22	
4.2.4.3.	Seleção de indivíduos	24
4.3.	Ensaio para proposta preliminar série diferenciadora.....	24
4.3.1.	Germoplasma de <i>Capsicum</i>	24
4.3.2.	Inoculações com <i>Colletotrichum</i>	27
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1.	Caracterização dos isolados	29
5.1.1.	Caracterização morfológica, cultural e patogênica	29
5.1.2.	Caracterização molecular	39
5.2.	Herança genética.....	42
5.2.1.	Análise qualitativa.....	42
5.2.2.	Estimativa dos parâmetros genéticos.....	47
5.2.3.	Análise de média de gerações	49
5.2.4.	Seleção de indivíduos para caracteres de interesse	53
5.3.	Proposta de série diferenciadora para o patossistema <i>Capsicum</i> – <i>C. gloeosporioides</i>	56
	R – Resistente; S – suscetível.....	58
6.	CONCLUSÕES.....	63
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

RESUMO

GERONIMO, Ingrid Gaspar da Costa; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro, 2018. Melhoramento de *Capsicum annuum* visando resistência à antracnose: caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp., herança da resistência e proposta de série diferenciadora. Orientadora: Rosana Rodrigues. Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Silvaldo Felipe da Silveira.

Vários patógenos representam fatores limitantes à produção de *Capsicum* spp. comprometendo a produtividade e a qualidade dos frutos. Dentre as doenças, uma das mais importantes é a antracnose, que é causada por um complexo de espécies do gênero *Colletotrichum*. Cultivares de pimentão e pimentas resistentes à antracnose ainda não estão disponíveis no mercado. O presente trabalho visou estabelecer uma coleção de isolados puros e caracterizados morfológicamente, culturalmente e geneticamente; determinar a herança da resistência à antracnose em *C. annuum* e propor uma série diferenciadora entre os genótipos de *Capsicum*. A primeira etapa foi realizada a partir da coleta e caracterização de 31 isolados dos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e São Paulo. Para a caracterização morfológica e cultural foram avaliados os formatos, comprimento e a largura dos conídios. Além disso, a velocidade de crescimento micelial e a coloração das colônias de cada isolado também foram avaliadas. A patogenicidade foi testada em três acessos das espécies *C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens* por meio da inoculação dos 31 isolados e avaliações diárias. A caracterização molecular para estudo da variabilidade genética do patógeno foi realizada com a utilização de 21 iniciadores ISSR. A maioria dos isolados foi classificada como pertencentes ao

complexo *C. gloeosporioides*. Para estudar a herança da resistência à antracnose foram consideradas as populações P₁, P₂, F₁, F₂ e retrocruzamentos obtidos a partir do cruzamento entre acessos de *Capsicum annum* UENF 2285 (suscetível) x UENF 1381 (resistente). As características avaliadas foram a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), o período de incubação (PI) e o período latente (PL) em frutos imaturos. As inoculações foram realizadas em três frutos por planta, utilizando-se o isolado #8.1 na concentração 1 x 10⁶ conídios/mL. A avaliação foi realizada por meio de escala de notas por um período de sete dias. Foi observado que a segregação em F₂ se adequou à proporção de 3 (dominantes, resistentes) : 1 (suscetíveis, recessivos), levando à hipótese de um gene dominante controlando a resistência à antracnose. As herdabilidades no sentido amplo e restrito foram de 62,75% e 48,47%, respectivamente. A estimativa do grau médio de dominância indicou que a ação gênica que está envolvida no caráter é a de dominância parcial (GMD = 0,72). O número mínimo de genes que controlam a resistência foram seis. O modelo aditivo-dominante foi suficiente para explicar os resultados obtidos. Para a proposta preliminar de uma série diferenciadora de *Capsicum* foram testados 15 acessos de *Capsicum* inoculados com cinco isolados de *C. gloeosporioides*. Nesta etapa, seis frutos de cada acesso em cada estágio de maturação foram inoculados. As suspensões de inóculo foram ajustadas para 1x10⁶ conídios/mL e a avaliação foi realizada por sete dias por meio de escala de notas. A característica avaliada foi a AACPD e a nomenclatura proposta para as raças foi dada de acordo com a fixação da sequência de acessos a partir da reação diferencial observada para cada isolado. Reação diferencial foi observada em frutos imaturos de nove acessos e em frutos maduros de sete acessos. Dessa forma, foi possível propor a identificação de cinco raças em cada estágio de maturação: 94, 142, 150, 186 e 254 em frutos imaturos e as raças 6, 14, 50, 122 e 126 em frutos maduros.

ABSTRACT

GERONIMO, Ingrid Gaspar da Costa; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro, 2018. *Capsicum annuum* breeding for resistance to anthracnose: characterization of *Colletotrichum* spp., inheritance of anthracnose resistance and proposal of a differential host. Orientadora: Rosana Rodrigues. Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Silvaldo Felipe da Silveira.

Several pathogens are limiting for yield of chili peppers (*Capsicum* spp.) once they cause diseases that compromise fruit yield and quality. Among these diseases, one of the most important is anthracnose, which is caused by a complex of species of the genus *Colletotrichum*. Anthracnose-resistant peppers are not yet available in the market. The present work aimed to establish a collection of pure and morphologically characterized isolates, culturally, pathogenic and genetically of *Colletotrichum* spp.; to determine the inheritance of anthracnose resistance in *C. annuum*; and to propose a differential series among the genotypes of *Capsicum*. The first step was the collection and characterization of 31 isolates from the states of Rio de Janeiro, Espírito Santo and São Paulo. For the morphological and cultural characterization the conidial shapes were evaluated and the length and width were determined. In addition, the mycelial growth rate and color of colony of each isolate was evaluated. The pathogenicity was evaluated in three accessions of the *C. annuum*, *C. chinense* and *C. frutescens* by inoculation of the 31 isolates and daily evaluations. For the genetic variability of the pathogen we performed the molecular characterization using 21 ISSR primers. Most of the isolates were classified as belonging to the *C. gloeosporioides* complex. To study inheritance to anthracnose

resistance, we used the populations P₁, P₂, F₁, F₂ and backcrossing populations obtained from the intersection between *Capsicum annuum* accesses UENF 2285 (susceptible) and UENF 1381 (resistant). The characteristics evaluated were the area under the disease progress curve (AUDPC), the incubation period (IP) and the latent period (LP) in immature fruits. The inoculations were carried out in three fruits per plant using the isolate # 8.1 in the concentration 1 x 10⁶ conidia / mL. The evaluation was performed daily in a seven days period. It was observed that segregation in F₂ suited the proportion of 3 (dominant, resistant): 1 (susceptible, recessive), leading to the hypothesis of a dominant gene controlling the resistance to anthracnose. Heritabilities in the broad and narrow sense were 62.75% and 48.47%, respectively. The estimate of the average degree of dominance indicated that the gene action that is involved in the character is that of partial dominance (ADD = 0.72). The minimum number of genes controlling the resistance were six. The additive-dominant model was sufficient to explain the results in this work. For the preliminary proposal of a differentiating series of *Capsicum* were tested 15 accesses of *Capsicum* inoculated with five isolates of *C. gloeosporioides*. At this stage, six fruits of each access at each maturation stage were inoculated. The inoculum suspensions were adjusted to 1x10⁶ conidia / mL and the evaluation was performed for seven days by means of the grading scale. The evaluated characteristic was the AACPD and the nomenclature proposed for the races was given according to the fixation of the access sequence from the differential reaction observed for each isolate. Differential reaction was observed in immature fruits of nine accessions and in mature fruits of seven accessions. Thus, it was possible to propose the identification of five breeds at each maturation stage: 94, 142, 150, 186 and 254 in immature fruits and breeds 6, 14, 50, 122 and 126 in mature fruits.

1. INTRODUÇÃO

A antracnose (*Colletotrichum* spp.) é considerada uma das principais doenças em plantas (Diao et al. 2017). Em *Capsicum* spp. (incluindo pimentões e pimentas), a antracnose pode ser causada por mais de 15 espécies de *Colletotrichum* (Than et al., 2008; Liao et al., 2012; Kanto et al., 2014; Sharma et al., 2014; Diao et al., 2015; Diao et al., 2017), sendo as espécies *C. capsici* (Syd.) Butler and Bisby, *C. acutatum* J.H. Simmonds e *C. gloeosporioides* Penz as mais destrutivas e amplamente distribuídas (Ali et al., 2016; Saxena et al., 2016). Os sintomas típicos da antracnose são lesões necróticas e depressivas no tecido, com anéis concêntricos de acérvulo (Manandhar et al., 1995).

A doença pode se desenvolver tanto no campo quanto durante o transporte a longas distâncias. Como forma de controle, toda a parte aérea da planta, incluindo os frutos, são pulverizados com fungicidas, porém, dependendo das condições ambientais, a eficiência é baixa (Haddad et al., 2003). Além da aplicação de defensivos químicos, o controle biológico, a rotação de culturas com espécies não hospedeiras, a eliminação de hospedeiros alternativos, o uso de sementes livres de patógenos e o plantio de cultivares resistentes são medidas gerais recomendadas para o controle de doenças (Agrios, 1997).

A utilização de plantas resistentes tem se mostrado um método eficiente de controle do patógeno, com bom custo benefício, competitivo e não poluente (Monroy-Barbosa e Bosland, 2011). No entanto, para o patossistema *Colletotrichum-Capsicum* ainda não existe cultivar resistente disponível para a

comercialização, apesar de algumas fontes de resistência à antracnose já terem sido identificadas como, por exemplo, o acesso PBC932 (*C. chinense*), resistente à *C. capsici* (AVRDC, 1997; AVRDC, 1999); os acessos UENF 1718 e UENF 1797 (*C. baccatum* var. *pendulum*), resistentes a *C. gloeosporioides* (Silva et al., 2014), e o acesso UENF 1381 resistente em estágio imaturo a *C. gloeosporioides* (Bento et al., 2017). O controle genético para resistência à *Colletotrichum* spp. é altamente variável, dependente de uma série de fatores, como a espécie do patógeno, a fonte de resistência, o método de inoculação e o estágio de desenvolvimento do fruto.

O conhecimento da herança da resistência à antracnose é essencial para o sucesso de um programa de melhoramento e alguns trabalhos já vêm sendo realizados com diferentes acessos para identificar a herança da resistência à antracnose (Park et al., 1990; Pakdeevaporn et al., 2005; Kim et al., 2008a; Kim et al., 2008b, Mahasuk et al., 2009b; Ying et al., 2015; Suwor et al., 2017). Cinco genes de resistência à antracnose em *Capsicum* já foram identificados: os genes *co1*, *co2*, *co3*, *co4* e *Co5*, descritos por Pakdeevaporn et al. (2005) e Mahasuk et al. (2009a; 2009b), observando que a herança pode ser governada tanto por genes recessivos quanto por dominantes, dependendo da população em estudo.

Um fator que pode diminuir a durabilidade da resistência das plantas é a variabilidade do patógeno. Entender a diferença existente entre os isolados e a classificação de raças fisiológicas e, conseqüentemente, a identificação das raças prevalentes em cada local é uma etapa básica dos programas de melhoramento visando a resistência.

A identificação de *Colletotrichum* é baseada, tradicionalmente, em caracteres morfológicos e culturais, como o tamanho e o formato dos conídios, crescimento do micélio e cor da colônia (Damm et al., 2012). Porém, devido à plasticidade dos caracteres fenotípicos, podem ocorrer variações (Than et al., 2008) por causa da variabilidade existente no patógeno. Nesse contexto, a utilização de métodos baseados em sequenciamento de DNA tem se mostrado indispensável para distinguir isolados morfológicamente similares. De acordo com McKay et al. (2009), existem características morfológicas que se sobrepõem e que, por isso, podem ocorrer erros de identificação. As técnicas moleculares são recomendadas para que se acelere e aumente a acurácia na identificação e na caracterização de *Colletotrichum* spp. (Saxena et al., 2014).

Além da identificação, há a necessidade de avaliar a variabilidade existente entre esses isolados. Essa variabilidade pode ser acessada através de marcadores moleculares, como o marcador molecular *Inter simple sequence repeat* (ISSR), o qual tem se mostrado ser uma alternativa viável devido à sua alta estabilidade e reprodutibilidade, além de ser uma técnica simples e com resultados rápidos. Esta técnica tem sido utilizada em estudos de diversidade e caracterização de *Colletotrichum* em diferentes hospedeiros, incluindo *Capsicum* (Kumar et al., 2011; Mahmodi et al., 2014; McKay et al., 2009; Rockenbach et al., 2016; Saxena et al., 2014).

As raças fisiológicas são definidas de acordo com as respostas observadas após a inoculação em um determinado conjunto de hospedeiros (Caten, 1987). A partir da especificidade da interação patógeno-hospedeiro é que se torna possível identificar as raças fisiológicas. Em *Capsicum* não há uma série diferenciadora de raças fisiológicas para antracnose.

Uma série diferenciadora deve conter diferentes genes de resistência, para, dessa forma, proporcionar a maior variabilidade genética e identificar com maior precisão as possíveis raças existentes no patógeno. Identificar a variabilidade do patógeno, de forma a caracterizá-lo e desenvolver uma série capaz de identificar as raças fisiológicas de *Colletotrichum gloeosporioides*, bem como elucidar a herança da resistência à antracnose é uma etapa útil para os melhoristas desenvolverem uma cultivar resistente à doença.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS

- 2.1.1. Estabelecer uma coleção de culturas monospóricas de vários isolados de *Colletotrichum* spp. e caracterizá-las morfológicamente, culturalmente e geneticamente para dar suporte ao programa de melhoramento visando à resistência à antracnose;
- 2.1.2. Determinar a herança da reação à antracnose a partir de cruzamento entre acessos resistente e suscetível da coleção de *Capsicum* da UENF;
- 2.1.3. Estudar a interação entre diferentes isolados de *Colletotrichum* inoculados em diversos genótipos de *Capsicum* e propor uma série diferenciadora para identificação de raças em *Colletotrichum gloeosporioides* em associação com *Capsicum* spp.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O gênero *Capsicum*

Capsicum pertence à família *Solanaceae* e as plantas desse gênero estão entre as mais antigas cultivadas nas Américas. Dados arqueológicos encontrados no México indicam que espécies de *Capsicum* foram utilizadas pelos homens há cerca de 6.000 anos, como parte de uma complexa dieta. Essas descobertas foram realizadas com base em microfósseis de grãos de pólen amiláceos, em utensílios utilizados para preparar alimentos (Perry et al., 2007).

A origem provável desse gênero é a Bolívia, sendo a espécie *C. chacoense* considerada como ancestral comum, a partir da qual, pelo processo de dispersão e posterior especiação, se originaram as outras espécies (Moscone et al., 2007). Acredita-se que a dispersão tenha ocorrido, inicialmente por pássaros migratórios e nativos indígenas e, posteriormente, pelos navegadores europeus, os quais disseminaram as pimentas pelo mundo (De Witt e Bosland, 1997; Rufino e Penteado, 2006). O gênero possui 35 espécies confirmadas e cinco estavam em vias de classificação (Carrizo et al., 2013). Dentre as espécies, cinco são domesticadas: *C. annum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* e *C. pubescens* (Moscone et al., 2007). O gênero pode ser separado em três categorias que são: domesticadas, as quais já sofreram ação de seleção humana; semidomesticadas, que são as espécies que sofreram alguma pressão de seleção humana e são cultivadas, mas o grau de dependência do homem é pequena, e as silvestres que

são aquelas que não ocorrem naturalmente em ambientes que foram modificados pela ação humana e, por isso, não há dependência do homem (Carvalho e Bianchetti, 2008).

A forma de crescimento e o tamanho das plantas dependem da espécie utilizada e da forma de cultivo empregada. Apresentam porte arbustivo quando cultivadas como perenes, porém em culturas anuais são herbáceas. Há grande variabilidade quanto às suas características morfológicas principais, como formato, cor, tamanho e posição de frutos e flores (Filgueira, 2012). As espécies domesticadas são autógamas, com taxas de polinização cruzada que podem variar de 2 a 90% de acordo com a cultivar, o local e a época de cultivo, as condições climáticas e a população de polinizadores encontrada no local (Nascimento et al., 2006).

O fruto é uma baga com estrutura oca. Há grande variabilidade morfológica dos frutos com várias formas, tamanhos, colorações e pungências. A coloração dos frutos maduros é geralmente vermelha, podendo variar desde o amarelo, alaranjado, salmão, roxo e preto. O formato varia entre as espécies e até dentro delas, com frutos alongados, arredondados, triangulares ou cônicos, campanulados, quadrados e retangulares (Carvalho e Bianchetti, 2004).

As espécies deste gênero possuem dois grupos separados pelo número de cromossomos, um contendo $2n=2x=24$ e outro $2n=2x=26$ (Moscone et al., 2007). As espécies domesticadas são pertencentes ao grupo das espécies com $2n=2x=24$ cromossomos (Pozzobon et al., 2006).

3.2. Antracnose como fator limitante ao cultivo de *Capsicum*

As plantas estão expostas a vários patógenos, o que pode gerar muitas perdas para o produtor e para a economia do país. Na cultura de *Capsicum* podem-se observar muitas doenças causadas por bactérias, vírus, fungos e nematoides (Ali et al., 2016; Bento et al., 2017). As doenças fúngicas podem causar limitações à cultura com perdas significativas, uma vez que produzem esporos que podem ser disseminados pela água, pelo vento, e ainda por máquinas e animais, inclusive pelo homem. Entre as diversas doenças causadas por fungos e que causam prejuízo para a cultura de pimentas e pimentões está a antracnose, uma doença causada por um complexo de espécies de *Colletotrichum* (Ali et al., 2016; Diao et al., 2017).

A antracnose é uma das doenças mais destrutivas para a cultura de pimentas e pimentões, uma vez que pode acarretar prejuízos de até 100%. No Brasil, especialmente quando o período de cultivo coincide com o período de chuvas, clima quente e úmido, a ocorrência da doença é generalizada (Azevedo et al., 2005).

As espécies do gênero *Colletotrichum* foram divididas em três complexos de espécies: o complexo de espécies *C. boninense*, o complexo *C. acutatum* e o complexo *C. gloesporioides*. O complexo das espécies *C. boninense* foi inicialmente identificado como patógeno causador da antracnose e um fungo endofítico de uma grande variedade de hospedeiros (Damm et al., 2012). Os conídios se assemelham aos de *C. gloesporioides*, diferindo levemente no tamanho e na presença de uma marca proeminente na base do conídio, porém a amplificação da região ITS1 demonstrou variação intraespecífica com *C. gloesporioides*, sendo possível identificar a nova espécie (Moriwaki et al., 2003).

O complexo de espécies *C. acutatum* é reconhecido pela forma do conídio, que possui as extremidades pontiagudas (Simmonds, 1965). É um dos mais frequentemente reportado para o gênero e possui várias espécies hospedeiras. O complexo das espécies *C. gloesporioides* é identificado geneticamente dentro de um clado definido por um gene ITS. Dentro desse grupo estão 22 espécies e uma subespécie. No passado, a identificação era feita por traços morfológicos como tamanho e forma dos conídios, presença ou ausência de seta, formato do apressório, cor da cultura, entre outros. Porém, essas características podem ser influenciadas pelo ambiente ou serem perdidas em repetidas subculturas, por isso é cada vez mais importante a utilização de ferramentas moleculares associadas aos estudos filogenéticos destas espécies (Damm et al., 2012).

Em *Capsicum*, os sintomas desta doença normalmente são formações de lesões depressivas circulares, que podem ser encharcadas ou não. Nos estádios mais avançados da infecção, as lesões são cobertas por anéis concêntricos de acérvulos com coloração salmão (Kim et al., 1999). A antracnose pode se expressar tanto em folhas, quanto em caule ou em frutos (Damm et al., 2012). Quando a doença se concentra nos frutos pode causar prejuízos econômicos, como perda de produção e qualidade (Reis et al., 2009) uma vez que os frutos colhidos doentes são impróprios para a comercialização e, por ser uma doença de pós-colheita,

mesmo que não apresentem os sintomas, esses ainda poderão causar grandes perdas nas prateleiras (Lopes e Ávila, 2003).

O controle da doença é realizado, tradicionalmente, com algumas práticas de manejo e aplicação de fungicidas na fase de pré-colheita (Gopinath et al., 2006; Boonyapipat, 2013). Porém, como é considerada uma doença de pós-colheita, não é recomendada a utilização de defensivos durante esse período devido aos prejuízos que podem ser causados à saúde humana e ao potencial surgimento de resistência dos patógenos aos fungicidas (Ali et al., 2016).

3.3. Genética da resistência de *Capsicum* ao *Colletotrichum*

Apesar das inúmeras vantagens da utilização de cultivares resistentes, ainda não há uma cultivar comercial de *Capsicum* resistente à antracnose disponível no mercado. No entanto, algumas fontes de resistência já foram identificadas, por exemplo, em *C. baccatum* L. (Mahasuk et al., 2009b; Silva et al., 2014), *C. chinense* Jacq. (AVRDC, 1997; 1999), e *C. annuum* L. (Kim et al., 2008a; Bento et al., 2017).

Silva et al. (2014) avaliaram a reação de frutos imaturos e maduros de 37 acessos de *Capsicum* spp. a *C. gloeosporioides* e identificaram dois acessos (UENF 1718 e UENF 1797, ambos *C. baccatum* var. *pendulum*) como resistentes. Esses acessos não apresentaram sintomas durante o período de avaliação, sendo promissores fontes de resistência para programas de melhoramento.

Bento et al. (2017), trabalhando com 54 acessos de *Capsicum* objetivaram identificar acessos com resistência múltipla à mancha bacteriana, ao *Pepper yellow mosaic virus* e à antracnose. Foram testados, para antracnose, três frutos em cada estágio de maturação e o genótipo UENF 1381 (*C. annuum*) demonstrou ser resistente ao *C. gloeosporioides* em frutos imaturos.

A partir dos acessos resistentes, estudos para determinação da herança da resistência à antracnose foram realizados. Park et al. (1990) pesquisaram a resistência de *C. annuum* a *C. gloeosporioides* e *C. dematium* utilizando um dialelo de seis genitores e observaram que a mesma se mostrou parcialmente dominante para *C. dematium*, e sobredominante ou parcialmente dominante em frutos verdes para *C. gloeosporioides*.

Pakdeeveraporn et al. (2005) estudaram a população interespecífica resultante do cruzamento entre a linha resistente de *C. chinense* PBC932 e uma cultivar elite de *C. annuum* ('Thai'). Os frutos verdes foram inoculados com *C.*

capsici. A segregação mendeliana indicou que a resistência foi configurada pela presença de um gene recessivo (Tabela 1).

Considerando a herança da resistência a *C. acutatum* em uma população obtida a partir do cruzamento entre a linha resistente '0038-9155', (uma seleção de RC₃F₄ derivada da fonte de resistência em *C. chinense* 'PBC932' e a cultivar de *C. annuum*, 'IR') e da linha suscetível '9955-15' (*C. annuum*), a resistência se mostrou controlada por dois genes dominantes complementares em frutos em estágio imaturo. Nos frutos maduros, a resistência foi controlada por dois genes recessivos (Lin e Gniffke, 2007).

Kim et al. (2008a) estudando as populações derivadas dos parentais 'Yeoju' (*C. annuum* – suscetível) e 'Daepoong-cho' (*C. annuum* – resistente) verificaram que a herança da resistência ao *C. capsici* é controlada por um único gene recessivo. Os testes foram realizados por meio de microinjeções em frutos verdes destacados da planta. Em outro trabalho com as populações oriundas do cruzamento entre *C. baccatum* PI594137 e *C. baccatum* Golden-aji utilizados como parentais, os autores constataram que a herança da resistência a *C. acutatum*, quando foram inoculados frutos maduros e destacados, foi controlada por um gene dominante (Kim et al., 2008b).

Mahasuk et al. (2009b) investigaram a resistência de dois acessos de *C. baccatum*, respectivamente, PBC80 e PBC1422, e do acesso de *C. chinense* PBC932 ao *C. acutatum* e *C. capsici*. Somente o acesso PBC80 não apresentou sintomas e o acesso PBC1422 somente apresentou sintoma para *C. acutatum*. A partir da frequência da distribuição das notas atribuídas para os sintomas das doenças nas populações F₂ e RC₁, os autores sugeriram que a herança era governada por um único gene recessivo nos frutos imaturos e por um único gene dominante nos frutos maduros. Esses dois genes (*co4* e *Co5*) não estavam ligados e não estavam no mesmo *loci* que os genes já encontrados no acesso PBC932 (*co1* e *co2*).

Tabela 1 - Genes de resistência à antracnose identificados em *Capsicum* spp.

Gene	Genitores	<i>Colletotrichum</i>	Estádio fruto	Tipo de herança	Autores
co1	<i>C. chinense</i> 'PBC932' (R) x <i>C. annuum</i> cv 'Banchang' (S)	<i>C. capsici</i>	Maduro	Um gene recessivo	Pakdeevaporn et al., 2005
co2	<i>C. annuum</i> cv 'Banchang' (S) x <i>C. chinense</i> 'PBC932' (R)	<i>C. capsici</i>	Maduro	Um gene recessivo	Mahasuk et al., 2009a
co3	<i>C. annuum</i> cv 'Banchang' (S) x <i>C. chinense</i> 'PBC932' (R)	<i>C. capsici</i>	Plântulas	Um gene recessivo	Mahasuk et al., 2009a
co4	<i>C. baccatum</i> 'PBC 80' (R) x <i>C. baccatum</i> 'PBC 1422' (S)	<i>C. capsici</i>	Imaturo	Um gene recessivo	Mahasuk et al., 2009b
Co5	<i>C. baccatum</i> 'PBC 80' (R) x <i>C. baccatum</i> 'PBC 1422' (S)	<i>C. capsici</i>	Maduro	Um gene dominante	Mahasuk et al., 2009b

Abordagens moleculares para a interação *Capsicum* – *Colletotrichum* também têm sido registradas na literatura. Mapeamento de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) para resistência ao *Colletotrichum* foi realizado por Ying et al. (2015). Esses autores mapearam QTLs para resistência à *C. acutatum* em uma população originada a partir do cruzamento entre PBC932 (*C. chinense*) e um acesso suscetível de *C. annuum*. Foi observado que a resistência era devido a um QTL de efeito maior encontrado no cromossomo P5 com expressão dominante. Também observaram uns poucos QTLs de efeito menor que só expressavam efeito significativo em frutos imaturos.

Pode-se observar que as análises de segregação genética nas populações indicam que a herança da resistência varia dependendo da espécie de *Colletotrichum* e do isolado utilizado, da fonte de resistência e, também, do estágio de maturação dos frutos.

3.4. Série diferenciadora de raças fisiológicas

A variabilidade do patógeno possibilita a adaptação deste aos genes de resistência do hospedeiro, resultando numa ampla gama de respostas observada nas plantas frente aos diferentes isolados. As raças fisiológicas são definidas de acordo com a reação de uma série de genótipos e a inoculação com diferentes patógenos (Caten, 1987). Essa classificação é baseada na teoria gene a gene de Flor (1955), em que o hospedeiro possui genes R que têm a capacidade de reconhecer os efetores dos patógenos codificados pelos genes *Avr*. Dessa forma, quando há a presença do gene R na planta que foi infectada pelo patógeno, contendo o gene *Avr*, a interação é incompatível, ou seja, há a resistência do hospedeiro. Para haver a doença, além do ambiente favorável, a planta não deve possuir o gene R e o patógeno deve possuir o gene *Avr*, causando interação compatível.

A ocorrência de raças de *Colletotrichum graminicola* foi apresentada por Frederiksen & Rosenow em 1971 (Casela e Ferreira, 1987), que observaram diferenças específicas no comportamento de cultivares selecionadas em três estados americanos, a saber, Texas, Mississippi e Georgia.

Ainda não há uma série diferenciadora de raças fisiológicas em *Capsicum* para *C. gloeosporioides* e entender como é o mecanismo de resistência ao patógeno e a estrutura populacional das raças fisiológicas é crucial para o desenvolvimento de cultivares resistentes (Davide e Souza, 2009; Monroy-Barbosa e Bosland, 2011).

Habgood (1970) propôs um sistema onde é possível designar raças de patógenos de acordo com a sua virulência sobre os genótipos diferenciadores. Esse sistema possui a vantagem de poder ser aplicado mesmo quando não se sabe a base genética da resistência.

No patossistema *Phaseolus vulgaris* x *C. lindemuthianum*, é tradicionalmente utilizada uma série diferenciadora com 12 cultivares de feijão, porém essas cultivares têm se mostrado ineficientes em determinar toda a variabilidade encontrada no patógeno (Davide e Souza, 2009). Souza et al. (2010) observaram a existência de variabilidade até mesmo dentro das raças de *C. lindemuthianum*. Sendo assim, alguns trabalhos foram desenvolvidos a fim de sugerir um novo grupo de cultivares diferenciais para determinar a variabilidade

existente na raça 65 de *C. lindemuthianum*, a mais comum no Brasil (Ishikawa et al., 2011).

Souza et al. (2007) identificaram problemas na classificação de raças *Uromyces appendiculatus*, o agente causal da ferrugem do feijoeiro comum, como a determinação de uma série diferenciadora adequada e a nomenclatura adotada para diferenciar as raças. Com essa dificuldade em vista, os autores propuseram a aplicação de um sistema de classificação utilizando uma nova série de cultivares de feijoeiro, em que foram incluídas oito cultivares de feijão, além das cultivares utilizadas como diferenciadoras tradicionalmente e a nomenclatura seguiu um padrão binário. Dessa forma, os autores puderam identificar sete raças a partir de doze isolados inoculados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta e caracterização de isolados de *Colletotrichum*

4.1.1. Coleta e Manutenção dos Isolados

Cinquenta e seis frutos sintomáticos de *Capsicum* foram coletados e a partir destes foi possível obter 31 isolados que foram utilizados no presente estudo. Esses isolados são provenientes de diferentes localidades, obtidos a partir de frutos coletados em mercados municipais, supermercados e feiras dos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e São Paulo nos períodos de fevereiro de 2013 a novembro de 2014. Os frutos foram coletados separadamente em sacolas plásticas a fim de evitar contaminação cruzada.

O isolamento foi realizado assepticamente por meio da coleta direta dos esporos nas lesões, com auxílio de agulha histológica, para placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Agar) com adição de estreptomicina. As placas de Petri foram mantidas em BOD a 25°C até o crescimento micelial durante sete dias. A fim de garantir a uniformidade genética dos isolados, culturas monospóricas de todos os isolados foram obtidas. Esses isolados foram armazenados em papel de filtro embebido em uma solução de 10% de leite em pó desnatado dentro de microtubos com sílica gel e algodão, e armazenados em geladeira a 4 °C até sua utilização.

4.1.2. Caracterização Morfológica e Cultural

As características morfológicas avaliadas foram formato e tamanho dos conídios, coloração da cultura e velocidade de crescimento micelial em meio BDA por sete dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ sob luz fluorescente contínua (Tozze Júnior et al., 2006). Para avaliar o formato e tamanho dos conídios, foi preparada uma suspensão de cada isolado para confecção de lâminas e avaliação ao microscópio óptico Olympus BX 60. Foram mensurados a largura e comprimento de 50 conídios de cada isolado utilizando-se o programa *CellSens* para registrar as imagens. Quanto ao formato, os conídios foram classificados em quatro grupos, como proposto por Sutton (1992): 1) reto, fusiforme com ápices afilados; 2) reto, oblongo, com ápices arredondados; 3) reto, clavado, afilado em uma extremidade; e 4) reto, com constricção.

Cada isolado foi plaqueado, em triplicata, em meio BDA por sete dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ sob luz contínua para avaliar a velocidade de crescimento micelial. As mensurações ortogonais foram realizadas com auxílio de paquímetro digital e a velocidade de crescimento micelial expressa em mm/dia.

4.1.3. Caracterização Patogênica

Frutos sadios de três espécies de *Capsicum* foram utilizados: *C. annum*, *C. chinense* e *C. frutescens*. Os frutos foram desinfestados em álcool 70% por 1 minuto e, em seguida, por 5 minutos em hipoclorito de sódio 0,2% e, posteriormente, triplamente lavados em água estéril. A inoculação foi realizada por meio de um ferimento realizado com uma agulha entomológica esterilizada e depositado sobre a mesma uma gota de suspensão de conídios contendo $1 \times 10^6/\text{mL}$. Os frutos inoculados foram mantidos em bandejas de plástico com algodão umedecido e cobertos com plástico transparente para formar uma câmara úmida. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso com três repetições por espécie por isolado. Cada repetição consistiu em um fruto de cada espécie. O controle consistiu em frutos inoculados com água esterilizada. As avaliações foram realizadas diariamente, por sete dias seguindo a escala de Montri et al. (2009) e validada por Silva et al. (2014) (Tabela 2).

Tabela 2 – Notas de severidade da antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de *Capsicum* spp., níveis de resistência de *Capsicum* spp e descrição dos sintomas (Montri et al., 2009).

Nota	Nível de Resistência	Detalhes do Sintoma
0	AR: Altamente resistente	Sem infecção
1	R: Resistente	1 – 2% da área do fruto com lesão necrótica ou lesão encharcada ao redor da área de infecção
3	MR: Moderadamente Resistente	> 2 – 5% da área do fruto com lesão necrótica, acérvulo pode estar presente ou lesão encharcada maior que 5% da superfície do fruto
5	MS: Moderadamente Suscetível	> 5 – 15% da área do fruto com lesão necrótica, presença de acérvulo ou lesão encharcada maior que 25% da superfície do fruto
7	S: Suscetível	> 15 – 25% da área do fruto com lesão necrótica com acérvulo
9	AS: Altamente Suscetível	> 25% da área do fruto com lesão necrótica, lesão geralmente circundando o fruto, acérvulos abundantes

4.1.4. Caracterização Molecular

Micélios de cada isolado foram cultivados em meio de cultura BD (Batata-Dextrose) líquido para a extração do DNA genômico. O micélio foi lavado e transferido para microtubos de 2 mL e, posteriormente, macerado com auxílio de pistilos de tubos, nitrogênio líquido e uso de tampão CTAB (cetyltrimethylammonium bromide). Para a extração foi utilizado o *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*.

Para a caracterização molecular foram utilizados 21 iniciadores ISSR (Tabela 3). As reações em cadeia de polimerase (PCR) foram realizadas utilizando tampão 10mM Tris-HCl, 2 mM dNTP, 25 mM MgCl₂, Taq Polimerase, 5 µM de iniciador, 10 ng de DNA genômico e água estéril. As reações de amplificações foram realizadas em termocicladores (*Applied Biosystem Veriti*) utilizando um ciclo de 94 °C por quatro minutos, 35 ciclos de 94 °C por um minuto, temperatura específica para o iniciador por um minuto e 72 °C por três minutos, terminando com um ciclo de 72 °C por sete minutos. Para a avaliação do padrão de bandas, o produto da PCR foi aplicado em gel de agarose preparado em tampão TAE 1X e 2% de agarose. O DNA foi corado com gel *red* e *blue juice*.

Tabela 3 – Marcadores ISSR utilizados na amplificação de isolados *Colletotrichum* spp. com suas respectivas sequências e temperatura de anelamento (TA) em graus Celsius.

Primer	Sequência	TA °C
2	(GT)6CC	52
3	(CAC)3GC	52
4	(GTG)3GC	52
5	(AG)8YT	50
7	(AC)8CT	48
9	(TG)8GG	50
11	(GGAT)3GA	48
12	(GAA)6AA	52
14	(GA)8C	48
16	(GT)8A	48
17	(AC)8T	48
18	(AG)8YC	50
20	(GA)8YT	50
22	(GT)8YC	50
23	(AC)8YG	52
26	(GACA)4	50
32	(AG)8C	50
37	(GGGTG)3	48
43	(GT)8CTC	50
48	(GA)8T	50
51	(ATC)6	48

TA° C: Temperatura de Anelamento em graus Celsius.

4.1.5. Análise das Variáveis

As variáveis de caracterizações morfológica e cultural foram avaliadas a partir de análise estatística descritiva dos caracteres coloração da colônia, coloração do reverso da colônia e formato dos conídios.

Para estudar a divergência fenotípica foram utilizados o comprimento e a largura dos conídios; a relação entre essas medidas; o índice de velocidade do crescimento micelial, e o formato dos conídios. A estimativa de distância entre os isolados foi realizada pelo algoritmo de Gower (Gower, 1971).

Na caracterização da patogenicidade, as variáveis foram testadas para verificar se tinham distribuição normal utilizando-se o teste de normalidade de Lilliefors e foram corrigidas pela fórmula $\sqrt{x} + 1$, para, então, serem submetidas à

análise de variância univariada. As médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 0,05% de probabilidade.

A análise molecular gerou um padrão de bandas que foi codificado como presente (1) e ausente (0) para criar a matriz binária. Foi utilizado o coeficiente de Jaccard para calcular a matriz de distâncias e para ambas as análises os dendrogramas foram obtidos a partir do método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) (Sneath e Sokal, 1973).

A análise conjunta foi realizada a partir das distâncias entre cada par de variável para ser transformado em uma matriz de dissimilaridade utilizando o algoritmo de Gower. Os grupos foram divididos de forma hierárquica, representados por um dendrograma de acordo com o método UPGMA. Para todos os agrupamentos foi obtido o coeficiente de correlação cofenética (CCC) para a validação dos agrupamentos e a significância destes foi calculada pelo teste de Mantel com 1000 simulações (Mantel, 1967). Todas as análises foram realizadas com o auxílio dos programas GENES (Cruz, 2013) e R (R Core Team, 2017). Os dendrogramas foram gerados pelo programa R (pacote *cluster*) (Maechler et al., 2016).

4.2. Determinação da herança da resistência

4.2.1. Obtenção das Gerações

Foram obtidas as gerações F₁, F₂, RC₁ e RC₂ (retrocruzamentos 1 e 2) a partir de dois genótipos de *C. annuum* var. *annuum*, identificados no banco de germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como UENF 2285 (*Early California Wonder*), utilizado como parental feminino e o UENF 1381, utilizado como parental masculino (Figura 1). O parental UENF 2285 é uma linhagem de pimentão, logo sem pungência, suscetível à antracnose. UENF 1381 é um acesso de pimenta pungente resistente à antracnose (Bento et al., 2017).

Para realização dos cruzamentos, os parentais foram semeados em bandejas de poliestireno de 128 células e quando as plântulas apresentaram quatro folhas definitivas, as mesmas foram transplantadas para casa de vegetação em vasos de cinco litros com uma mistura de solo, areia e esterco (1:1:1). Os cruzamentos foram realizados pela manhã ou no fim de tarde, em botões

emasculados na pré-antese e cobertos com sacos de papel a fim de evitar polinização cruzada. Quando maduros, os frutos foram colhidos e as sementes retiradas manualmente (Silva et al., 2017).

As gerações de retrocruzamentos foram obtidas a partir de cruzamentos realizados entre plantas da geração F₁ e cada parental, RC₁ (F₁ x P₁) e RC₂ (F₁ x P₂). Já a geração segregante F₂ foi obtida pela autofecundação de botões de F₁. As plantas foram conduzidas de acordo com as recomendações de Filgueira (2012).

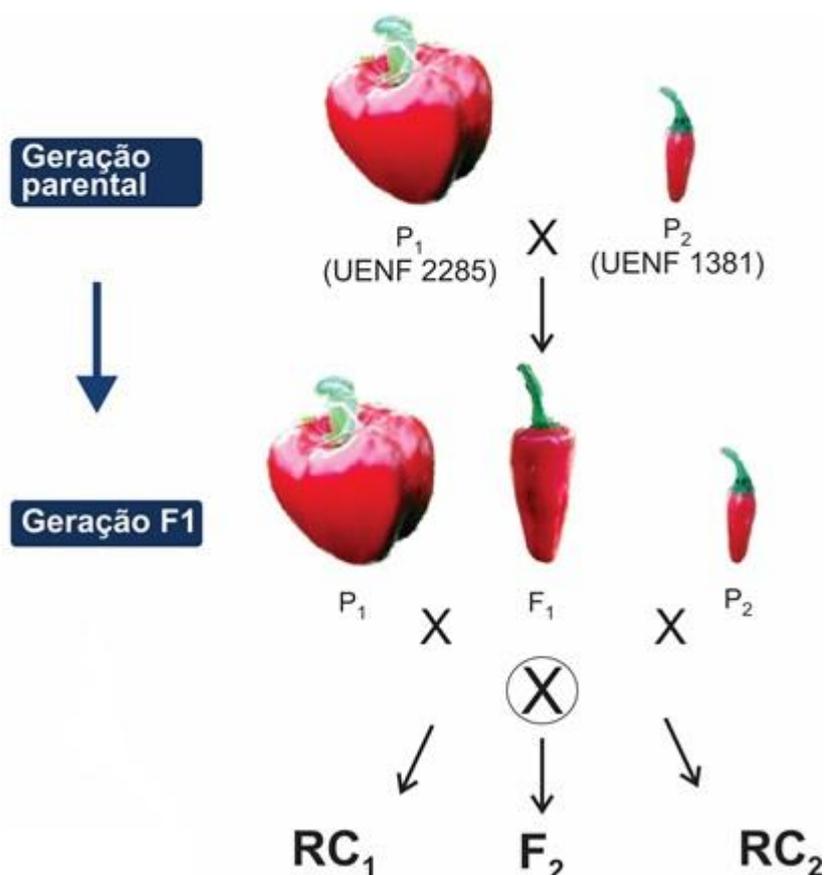


Figura 1 - Fluxograma que mostra a obtenção da população de *Capsicum annuum* a partir de cruzamentos entre UENF 2285 (susceptível à antracnose) x UENF 1381 (resistente à antracnose).

4.2.2. Inoculações com *C. gloeosporioides*

Para as inoculações, um isolado de *C. gloeosporioides* obtido por meio da coleta descrita no item 3.1. foi utilizado. A fim de se obter a correta identificação do isolado, este foi enviado a micoteca da *University Recife Micology* (URM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco para a confirmação da espécie.

O isolado foi mantido em meio Batata-Dextrose-Ágar durante sete dias em BOD, com temperatura de 25 °C com fotoperíodo de 16 h luz-8 h de escuro. Após a incubação, a suspensão de conídios foi preparada utilizando 10 mL de água deionizada autoclavada e uma gota de *Tween* 20. A densidade da suspensão de inóculo foi ajustada para 1×10^6 conídios/mL com auxílio de câmara de Neubauer e microscópio óptico.

Para análise da reação ao isolado de *Colletotrichum* foram utilizados três frutos imaturos de cada planta de cada população e um fruto imaturo de cada planta como controle negativo (Tabela 4). Os pedicelos foram retirados, a fim de evitar contaminações, e a desinfestação foi realizada com imersão em álcool 70% por um minuto, solução de hipoclorito de sódio 0,2% por cinco minutos e, em seguida, foram lavados triplamente em água deionizada autoclavada. Os frutos foram secos e alocados em bandejas de isopor.

A inoculação foi realizada com 10 µL de suspensão de inóculo depositada sobre um ferimento feito na superfície do fruto com auxílio de agulha entomológica. Após a inoculação, os frutos foram mantidos em câmara úmida. A avaliação foi realizada diariamente durante sete dias, utilizando uma escala de notas descrita por Montri et al. (2009).

Tabela 4 - Número de plantas e de frutos de *Capsicum annuum* avaliados para reação à antracnose no estágio imaturo das diferentes gerações obtidas a partir do cruzamento de UENF 2285 (suscetível) x UENF 1381 (resistente). UENF, Campos dos Goytacazes, 2015 – 2016.

População	Número de plantas avaliadas	Número de frutos avaliados
P ₁	13	39
P ₂	16	48
F ₁	14	42
F ₂	174	522
RC ₁	31	93
RC ₂	30	90

4.2.3. Variáveis analisadas

O período de incubação (PI) e o período latente (PL) foram avaliados, sendo PI correspondente ao período, em dias, entre a inoculação e o aparecimento dos

sintomas da doença no fruto. O PL corresponde ao período, em dias, entre a inoculação e o aparecimento de sinais, ou seja, de estruturas reprodutivas do patógeno.

A partir das notas obtidas durante os sete dias pode-se calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Campbell e Madden, 1990).

$$AACPD = \sum_i^{n-1} \left(\frac{x_i + x_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i),$$

onde:

n = o número de observações;

x_i = a severidade da doença na "i"-ésima observação;

T_i = o tempo em dias na "i"-ésima observação.

4.2.4. Análise estatística

4.2.4.1. Análise qualitativa

As plantas foram consideradas resistentes ou suscetíveis, de acordo com os valores de AACPD. A AACPD variou de 0 a 29,5 e, como proposto por Montri et al. (2009), esse intervalo pode ser dividido em seis categorias (AR, R, MR, MS, S e AS), dessa forma, as plantas com médias de AACPD menores que 9,82 foram consideradas resistentes.

Com esses valores foi realizado o teste do qui-quadrado (χ^2), considerando a taxa de segregação de plantas resistentes para suscetíveis nas gerações F₂ e RC₁. O qui-quadrado calculado (χ^2_c) foi estimado pela expressão:

$$\chi^2_c = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Em que:

O_i = número observado de indivíduos na i-ésima classe fenotípica;

E_i = número esperado de indivíduos na i-ésima classe fenotípica;

k = número de classes fenotípicas.

A hipótese de nulidade (H_0) é aceita ou não a partir da comparação entre os valores de χ^2 calculado e o valor de χ^2 tabelado ao nível de 5% de significância e o grau de liberdade igual a $K-1$. As análises foram realizadas com o auxílio do programa GENES (Cruz et al., 2013).

4.2.4.1. Estimativas dos parâmetros genéticos com base nos componentes de variância

Os valores de AACPD foram utilizados para estimar os componentes genéticos e ambientais e realizar a análise das médias de gerações para estimar os efeitos gênicos envolvidos na expressão das características (Cruz et al., 2004). As análises foram realizadas no programa GENES (Cruz et al., 2013).

- Variância fenotípica (σ_f^2): $\sigma_f^2 = \sigma_{F2}^2$
- Variância ambiental (σ_e^2): $\sigma_e^2 = \frac{(\sigma_{P1}^2 + 2\sigma_{F1}^2 + \sigma_{P2}^2)}{4}$
- Variância genotípica (σ_g^2): $\sigma_g^2 = \sigma_{F2}^2 - \sigma_e^2$
- Variância aditiva (σ_a^2): $\sigma_a^2 = 2\sigma_{F2}^2 - (\sigma_{RC1}^2 + \sigma_{RC2}^2)$
- Variância devido aos desvios de dominância (σ_d^2): $\sigma_d^2 = \sigma_g^2 - \sigma_a^2$
- Herdabilidade no sentido amplo (h_a^2): $h_a^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_{F2}^2}$
- Herdabilidade no sentido restrito (h_r^2): $h_r^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_{F2}^2}$, sendo, então

$$\blacksquare h_r^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2}$$

- Grau médio de dominância baseado em médias (GMD): $GMD = \frac{d}{a}$
- Número mínimo de genes (η): $\eta = \frac{R^2 (1+0,5k^2)}{8 \sigma_g^2}$

σ_{P1}^2 = variância da geração P₁;

σ_{P2}^2 = variância da geração P₂;

σ_{F1}^2 = variância da geração F₁;

σ_{F2}^2 = variância da geração F₂;

σ_{RC1}^2 = variância da geração RC₁;

σ_{RC2}^2 = variância da geração RC₂;

R^2 = amplitude total na geração F₂.

4.2.4.2. Estimativa de parâmetros genéticos com base nas médias de gerações

Em relação aos parâmetros genéticos baseados nas médias de gerações, seguem:

$$\overline{P1} = m + a + aa$$

$$\overline{P2} = m - a + aa$$

$$\overline{F1} = m + d + dd$$

$$\overline{F2} = m + \frac{1}{2}d + \frac{1}{4}dd$$

$$\overline{RC1} = m + \frac{1}{2}a + \frac{1}{2}d + \frac{1}{4}aa + \frac{1}{4}ad + \frac{1}{4}dd$$

$$\overline{RC2} = m - \frac{1}{2}a + \frac{1}{2}d + \frac{1}{4}aa - \frac{1}{4}ad + \frac{1}{4}dd$$

Onde:

m = média de todos os possíveis homozigotos;

a = medida dos efeitos aditivos;

d = medida dos desvios de dominância;

aa = medida de todas as interações aditiva x aditiva;

ad = medida de todas as interações aditiva x dominante;

dd = medida de todas as interações epistáticas dominante x dominante.

As médias de cada geração estabelecem um sistema de equações que podem ser representados pelas matrizes $Y = X\beta + \varepsilon$ (Cruz e Regazzi, 2001), onde:

$$Y = \begin{bmatrix} \overline{P1} \\ \overline{P2} \\ \overline{F1} \\ \overline{F2} \\ \overline{RC1} \\ \overline{RC2} \end{bmatrix} \quad X = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & \frac{1}{2} & 0 & 0 & \frac{1}{4} \\ 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{2} & \frac{1}{4} & \frac{1}{4} & \frac{1}{4} \\ 1 & -\frac{1}{2} & \frac{1}{2} & \frac{1}{4} & \frac{1}{4} & \frac{1}{4} \end{bmatrix} \quad \beta = \begin{bmatrix} m \\ a \\ d \\ aa \\ ad \\ dd \end{bmatrix} \quad \varepsilon = \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ e_4 \\ e_5 \\ e_6 \end{bmatrix}$$

Em que:

Y = vetor de média de gerações;

X = matriz de coeficientes;

B = vetor de parâmetros genéticos a serem estimados;

ε = vetor de erros associados às médias.

O sistema anterior dispõe de seis equações as quais correspondem às médias das gerações estudadas e de seis parâmetros a serem estimados. Dessa forma, a solução de mínimos quadrados ordinários coincidem com a solução matemática, onde: $\beta = (x'x)^{-1} x'y = x^{-1}Y$

A partir desta equação pode-se obter a solução:

$$\begin{bmatrix} m \\ a \\ d \\ aa \\ ad \\ dd \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{3}{2} & \frac{1}{2} & 0 & 4 & -2 & -2 \\ \frac{3}{2} & -\frac{1}{2} & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \frac{2}{2} & -\frac{2}{2} & 1 & 8 & 6 & 6 \\ \frac{3}{2} & -\frac{3}{2} & 0 & 4 & 2 & 2 \\ \frac{2}{2} & -\frac{2}{2} & 0 & 0 & 2 & -2 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & -2 \\ -1 & 1 & 2 & 4 & -4 & -4 \\ 1 & 1 & & & & \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \overline{P_1} \\ \overline{P_2} \\ \overline{F_1} \\ \overline{F_2} \\ \overline{RC_1} \\ \overline{RC_2} \end{bmatrix}$$

$$\widehat{m} = \frac{1}{2} \overline{P_1} + \frac{1}{2} \overline{P_2} + 4 \overline{F_2} - 2 \overline{RC_1} - 2 \overline{RC_2}$$

$$\widehat{a} = \frac{1}{2} \overline{P_1} - \frac{1}{2} \overline{P_2}$$

$$\widehat{d} = \frac{3}{2} \overline{P_1} - \frac{3}{2} \overline{P_2} + \overline{F_1} - 8 \overline{F_2} + 6 \overline{RC_1} + 6 \overline{RC_2}$$

$$\widehat{aa} = -4 \overline{F_1} + 2 \overline{RC_1} + 2 \overline{RC_2}$$

$$\widehat{ad} = -\overline{P_1} + \overline{P_2} + 2 \overline{RC_1} - 2 \overline{RC_2}$$

$$\widehat{dd} = \overline{P_1} + \overline{P_2} + 2 \overline{F_1} + 4 \overline{F_2} - 4 \overline{RC_1} - 4 \overline{RC_2}$$

A significância da hipótese de que cada parâmetro é nulo foi avaliada pelo teste t. Admitindo-se que as médias das gerações são independentes, é possível calcular a variância de cada efeito:

$$\hat{V}(\hat{m}) = \frac{1}{4}\hat{V}(\overline{P_1}) + \frac{1}{4}\hat{V}(\overline{P_2}) + 16\hat{V}(\overline{F_2}) + 4\hat{V}(\overline{RC_1}) + 4\hat{V}(\overline{RC_1})$$

$$\hat{V}(\hat{a}) = \frac{1}{4}\hat{V}(\overline{P_1}) + \frac{1}{4}\hat{V}(\overline{P_2})$$

$$\hat{V}(\hat{d}) = \frac{9}{4}\hat{V}(\overline{P_1}) + \frac{9}{4}\hat{V}(\overline{P_2}) + \hat{V}(\overline{F_1}) + 64\hat{V}(\overline{F_2}) + 36\hat{V}(\overline{RC_1}) + 36\hat{V}(\overline{RC_1})$$

$$\hat{V}(\widehat{aa}) = 16\hat{V}(\overline{F_2}) + 4\hat{V}(\overline{RC_1}) + 4\hat{V}(\overline{RC_1})$$

$$\hat{V}(\widehat{ad}) = \hat{V}(\overline{P_1}) + \hat{V}(\overline{P_2}) + 4\hat{V}(\overline{RC_1}) + 4\hat{V}(\overline{RC_1})$$

$$\hat{V}(\widehat{dd}) = \hat{V}(\overline{P_1}) + \hat{V}(\overline{P_2}) + 4\hat{V}(\overline{F_1}) + 16\hat{V}(\overline{F_2}) + 16\hat{V}(\overline{RC_1}) + 16\hat{V}(\overline{RC_1})$$

A soma de quadrado dos parâmetros foi decomposta em somas de quadrados para cada efeito individual, e a adequação do modelo completo e aditivo dominante foi avaliada utilizando o coeficiente de determinação (R^2), para avaliar a contribuição dos efeitos gênicos na característica em estudo (Cruz e Regazzi, 2001).

4.2.4.3. Seleção de indivíduos

Para a seleção dos indivíduos, a fim de dar prosseguimento ao programa de melhoramento, utilizou-se o índice de seleção de Mulamba e Mock (1978) com seleção de 30%. Este índice de seleção é baseado na soma de *ranks*, que consiste em classificar os genótipos em relação a cada uma das características avaliadas, de forma que o melhoramento seja favorecido.

As características utilizadas relativas à resistência à *Colletotrichum* foram AACPD, PI, PL e as características agrônômicas foram diâmetro do fruto e comprimento do fruto. A fim de direcionar a seleção para obtenção de pimentão resistente, optou-se por utilizar também a característica agrônômica comprimento do fruto, sendo que esses dados foram obtidos por Silva (2018).

4.3. Ensaio para proposta preliminar série diferenciadora

4.3.1. Germoplasma de *Capsicum*

Para esta etapa, 15 acessos do banco de germoplasma da UENF foram utilizados (Tabela 5). Esses acessos foram escolhidos a partir de caracterização e

testes prévios com o isolado #8.1. A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno de 128 células, com substrato comercial Vivatto[®] e, após o surgimento de dois pares de folhas definitivas, as mudas foram transferidas individualmente para vasos plásticos de cinco litros contendo uma mistura de solo: substrato: esterco (proporção 1:1:1). As plantas foram conduzidas seguindo-se os tratamentos culturais recomendados por Filgueira (2012).

Tabela 5 - Dados de passaporte dos acessos de *Capsicum* spp. avaliados quanto à resistência à antracnose. UENF, Campos dos Goytacazes, 2017.

Nº UENF	Espécie	Caracterização	Procedência
UENF 1381	<i>C. annuum</i>	Bento et al. (2017)	PESAGRO – EEI
UENF 1718	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Silva et al. (2014); Sudré e Bento (2013)	Renascença – PR
UENF 1738	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>		Viçosa – MG
UENF 1764	<i>C. chinense</i>	Bianchi (2017)	Belém, PA
UENF 1775	<i>C. frutescens</i>	Silva et al. (2014)	Bequimás – MA
UENF 1790	<i>C. frutescens</i>	Bento et al. (2017)	São Luiz – MA
UENF 1795	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Sudré e Bento (2013)	-
UENF 2034	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>		Campos dos Goytacazes – RJ
UENF 2078	<i>C. chinense</i>	Bianchi (2017)	UNEMAT – MT
UENF 2079	<i>C. chinense</i>	Bianchi (2017)	UNEMAT – MT
UENF 2093	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Silva et al. (2014); Sudré e Bento (2013)	Renascença – PR
UENF 2097	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Silva et al. (2014); Sudré e Bento (2013)	Campos – RJ
UENF 2101	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Sudré e Bento (2013); Bento et al. (2017)	Campos – RJ
UENF 2133	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Silva et al. (2014); Sudré e Bento (2013); Bento et al. (2017)	Cachoeira de Macacu – RJ
UENF 2153	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Sudré e Bento (2013)	Viçosa – MG

4.3.2. Inoculações com *Colletotrichum*

De acordo com a caracterização morfo-cultural, molecular e análise da severidade realizadas e descritas no item 3.1., dentre os possíveis isolados de *C. gloeosporioides*, foram selecionados cinco isolados (#8.1, #9, #16, #53, #72) obtidos a partir de lesões características em pimentões (Tabela 6).

Tabela 6 - Identificação, procedência e caracterização morfológica dos isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizados para inoculação em acessos de *Capsicum* spp. visando propor uma série diferenciadora.

Isolado	Procedência	Tamanho conídio (Comp x Larg)	Cor da colônia (frente/ reverso)
8.1	Nova Friburgo,RJ	19,06 x 6,9	Branca com centro cinza/ Salmão
9	NI	11,7 x 4,15	Branca com centro laranja/ Salmão
16	NI	13,88 x 4,45	Branca com centro cinza/ Salmão com anéis castanhos
53	Teresópolis, RJ	10,31 x 3,61	Branca com centro cinza/ Salmão
72	Santo André, SP	12,07 x 3,8	Branca com centro laranja/ Salmão com anéis castanhos

Os isolados foram mantidos em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) durante sete dias em BOD, com temperatura de 25 °C com fotoperíodo de 16 h luz/8 h de escuro. Após a incubação, a suspensão de conídios foi preparada com 10 mL de água deionizada autoclavada e uma gota de *Tween 20*. A densidade da suspensão de inóculos foi ajustada para 1×10^6 conídios/mL.

Seis frutos imaturos e seis maduros de cada acesso foram avaliados. Os pedicelos foram retirados, a fim de evitar contaminações, e a desinfestação foi realizada com imersão em álcool 70% por um minuto, solução de hipoclorito de sódio 0,2% por sete minutos e, em seguida, foram lavados triplamente em água deionizada autoclavada. Os frutos foram secos e alocados em bandejas de isopor.

A inoculação foi realizada com 10 µL de suspensão de inóculo onde foi realizado um fermento com auxílio de agulha entomológica. Após a inoculação, os frutos foram mantidos em câmara úmida por sete dias.

A avaliação foi realizada diariamente durante sete dias, utilizando uma escala de notas descrita por Montri et al. (2009). A partir das notas foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), de acordo com Campbell e Madden (1990).

A partir da escala proposta por Montri (2009), as seis categorias foram agrupadas a fim de formar os grupos resistentes (AR, R e MR) e suscetíveis (MS, S e AS) para a construção da matriz binária.

Como proposto por Habgood (1970), os genótipos selecionados como série diferenciadora foram alocados em uma sequência fixa e a reação do hospedeiro ao patógeno foi avaliada de acordo com uma notação binária, sendo 0 para resistente e 1 para suscetível. Cada genótipo possui um valor em notação decimal em que, a partir da série binária e a soma da notação decimal, foi gerado um número com o qual a raça será identificada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos isolados

5.1.1. Caracterização morfológica, cultural e patogênica

Para o formato dos conídios, cerca de 70% dos isolados apresentaram o formato reto, cilíndrico, de ápice arredondado (71,44%); 14% tiveram formato reto, cilíndrico e com apenas uma extremidade arredondada, 9,48% formato arredondado, 3,67% reto com constrição e 1,41% reto com ápices afilados (Tabela 7). O comprimento variou entre 6,27 a 19,06 μm , com média de 11,56 μm e a largura entre 3,12 a 6,92 μm , e média de 4,13 μm . A relação comprimento/largura variou de 1,26 a 3,39, com média de 2,79.

Tabela 7 - Características culturais e morfológicas de isolados de *Colletotrichum* spp. de *Capsicum*.

Identificação	Comp. (μm)	Largura (μm)	C/L	VCC(mm/dia)	Cor da colônia	Cor do reverso da colônia	Procedência
Isolado 1	11,00	3,98	2,76	7,052	Branca com centro laranja	Salmão	Teresópolis/RJ
Isolado 2	8,79	3,12	2,82	7,88	Branca cotonada	Branca com centro cinza	-
Isolado 6	10,42	3,89	2,68	7,55	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	Santa Maria de Jetibá/ES
Isolado 8.1	19,06	6,92	2,75	7,35	Branca com centro laranja	Salmão	Nova Friburgo/RJ
Isolado 9	11,70	4,15	2,82	6,88	Branca com centro laranja	Salmão	NI-1
Isolado 12	13,28	4,27	3,11	7,38	Branca cotonada	Branco com centro cinza	São João da Barra/RJ Benassi ES
Isolado 13	12,76	4,09	3,12	6,57	Branca com centro laranja	Salmão	Distribuidora de hortifruti granjeiro LTDA
Isolado 15	11,57	3,86	3,00	7,44	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	CEASA/RJ
Isolado 16	13,88	4,45	3,12	8,80	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	-
Isolado 17	12,97	3,75	3,46	7,64	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	Produção de mudas da Pesagro/RJ
Isolado 1804	10,91	3,41	3,20	6,09	Branca com centro laranja	Salmão	

Tabela 7 – Cont.

Identificação	Comp. (µm)	Largura (µm)	C/L	VCC(mm/dia)	Cor da colônia	Cor do reverso da colônia	Procedência
Isolado 22	11,99	4,65	2,58	7,24	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	-
Isolado 26	12,74	4,37	2,92	6,71	Branca com centro laranja	Salmão	-
Isolado 27	13,07	3,89	3,36	8,02	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	-
Isolado 28	11,61	4,49	2,59	7,58	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	-
Isolado 29	6,27	5,02	1,25	10,76	Branca disperso	Branco com anéis	Vitória – ES
Isolado 30	11,92	3,78	3,15	8,12	Branca cotonada	Branco com centro cinza	Vitória – ES
Isolado 36	9,72	3,45	2,82	7,03	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	São João da Barra/RJ
Isolado 37	12,52	3,92	3,19	6,77	Branca com centro cinza	Branco	São João da Barra/RJ
Isolado 41	6,415	3,39	1,89	7,15	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	São João da Barra/RJ
Isolado 42	12,47	4,10	3,04	8,34	Branca com centro laranja	Salmão	São João da Barra/RJ
Isolado 43	12,65	4,20	3,01	7,49	Branca cotonada	Branca com centro cinza	São João da Barra/RJ
Isolado 45	6,61	3,31	2,00	4,77	Branca dispersa	Salmão	Teresópolis – RJ
Isolado 48	13,26	4,12	3,22	7,36	Branca com centro cinza	Branca com centro cinza	Teresópolis – RJ

Tabela 7 – Cont.

Identificação	Comp. (µm)	Largura (µm)	C/L	VCC(mm/dia)	Cor da colônia	Cor do reverso da colônia	Procedência
Isolado 50	12,2	3,72	3,28	8,11	Branca com centro cinza	Salmão	Teresópolis – RJ
Isolado 53	10,31	3,61	2,86	7,81	Branca com centro cinza	Salmão	Teresópolis – RJ
Isolado 61	14,055	4,58	3,07	6,54	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	Teresópolis – RJ
Isolado 64	12,76	3,96	3,22	7,71	Branca com centro cinza	Salmão com anéis castanhos	Teresópolis – RJ
Isolado 71	9,425	3,93	2,40	7,93	Branca cotonada	Salmão com anéis castanhos	Teresópolis – RJ
Isolado 72	12,07	3,80	3,18	8,22	Branca com centro laranja	Salmão com anéis castanhos	Teresópolis – RJ
Isolado 73	7,785	4,02	1,94	7,86	Branca dispersa	Branco	Santo André – SP

^{1/}Comp. = comprimento da colônia; Larg. = largura; e VCC= velocidade de crescimento da colônia

O formato do conídio predominante encontrado foi reto, cilíndrico, de ápices arredondados seguido de conídios retos, cilíndricos com pelo menos uma extremidade afilada. Esses formatos correspondem a *C. gloeosporioides*, de acordo com Sutton (1992). Este autor descreve *C. gloeosporioides* com conídios medindo entre 12 e 17 μm e largura entre 3,5 e 6 μm e com formato reto, cilíndrico com os ápices arredondados. Vinnere (2004) e Tozze Jr (2006) também observaram, para *C. gloeosporioides*, conídios afilados em somente uma das extremidades. Esta característica está de acordo com a segunda forma de conídio mais encontrada neste trabalho.

A relação comprimento/largura médio do conídio de 2,19 foi similar ao encontrado por Andrade et al. (2007) para *Colletotrichum* isolado de mamoeiros, e esses autores observaram que a relação comprimento/largura variou de 2,36 a 3,54 para os isolados de *C. gloeosporioides*. A relação entre o comprimento e a largura está diretamente relacionada ao seu formato, no qual os valores próximos de 1,0 indicam formato mais arredondado e valores mais baixos indicam o formato reto e cilíndrico.

Quanto à coloração, 48,39% teve cor da colônia branca com o centro cinza, 25,80% branca com o centro laranja, 16,13% branca densa e cotonosa e 9,68% branca dispersa (Figura 2). O mesmo foi observado por Tozze Júnior et al. (2015), os quais constataram que 60,2% dos isolados de *Colletotrichum* estudados apresentaram colônias brancas com o centro cinza.

A velocidade de crescimento da colônia variou entre 4,77 a 10,76 mm/dia. O crescimento médio foi de 7,5 mm/dia. O isolado #29 teve o maior crescimento, 73,81 mm, e o 1804 foi o que menos cresceu com 38,50 mm. O tamanho médio das colônias ao final de sete dias foi de 52,19 mm de diâmetro. Andrade et al. (2007) observaram que a velocidade de crescimento dos isolados se dava a uma taxa de crescimento de 9 a 11 mm/dia, valor superior ao encontrado no presente trabalho. Estes valores de crescimento micelial foram atribuídos aos isolados de *C. gloeosporioides* (Andrade et al., 2007).

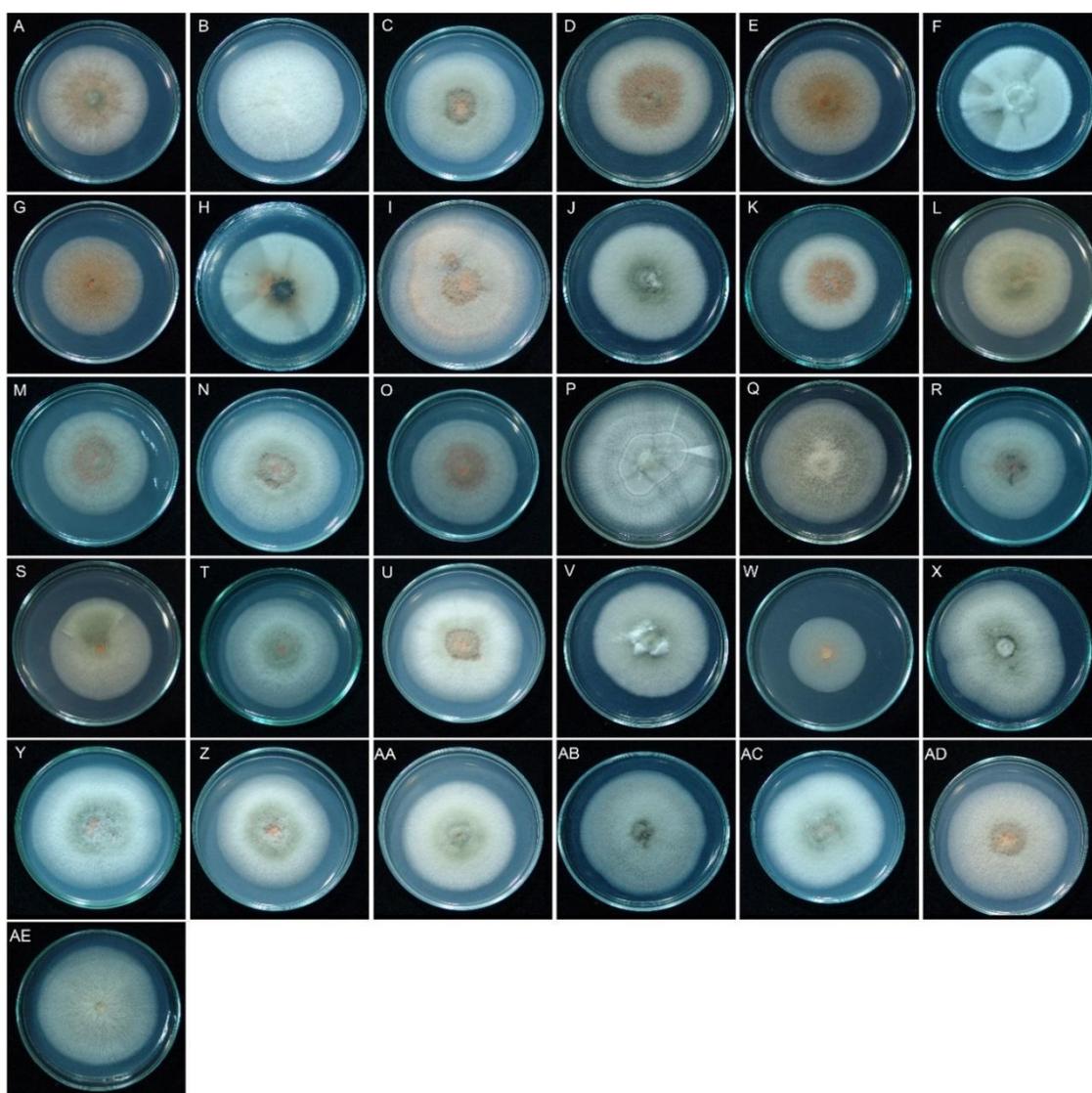


Figura 2. Verso das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* cultivadas em meio BDA por 10 dias. A) Isolado 1; B) Isolado 2; C) Isolado 6; D) Isolado 8.1; E) Isolado 9; F) Isolado 12; G) Isolado 13; H) Isolado 15; I) Isolado 16; J) Isolado 17; K) Isolado 1804; L) Isolado 22; M) Isolado 26; N) Isolado 27; O) Isolado 28; P) Isolado 29; Q) Isolado 30; R) Isolado 36; S) Isolado 37; T) Isolado 41; U) Isolado 42; V) Isolado 43; W) Isolado 45; X) Isolado 48; Y) Isolado 50; Z) Isolado 53; AA) Isolado 61; AB) Isolado 64; AC) Isolado 71; AD) Isolado 72; AE) Isolado 73.

A partir dos dados morfológicos foi realizado um agrupamento pelo método UPGMA com CCC de 0,91, demonstrando alta consistência no padrão do agrupamento (Cruz e Carneiro, 2003). Foi utilizado um corte a 0,33 de distância, formando quatro grupos. No entanto, os três primeiros grupos ficaram com apenas um isolado, sendo que estes não apresentaram as características morfológicas esperadas para o gênero *Colletotrichum*. Já o quarto grupo, formado pelos demais

28 isolados estão de acordo com as características esperadas para este gênero. Assim, decidiu-se subdividir este quarto grupo utilizando o segundo corte a 0,2 de distância, resultando em sete subgrupos (Figura 3).

Os isolados #29, #45 e #73 ficaram separados provavelmente pelo formato e pelas medidas dos conídios, os quais não correspondem a nenhum formato e tamanho para *Colletotrichum* descrito por Sutton (1992).

O isolado #29 é proveniente de Vitória – ES e apresentou tamanho médio de conídio de 6,27 μm de comprimento e 5,02 μm de largura. A relação comprimento/largura foi de 1,26, indicando que ele possui um formato arredondado. Esses valores estão abaixo da média encontrada. A colônia apresentou micélio de cor branca e esparsa e com reverso branco com anéis concêntricos bem delimitados. A velocidade de crescimento foi de 10,76 mm/dia, a maior velocidade entre os isolados estudados.

O isolado #45 é originário de Teresópolis – RJ, possui conídios que medem 6,61 μm de comprimento e 3,31 μm de largura. Além disso, a colônia foi de coloração branco esparsa e o reverso salmão e de crescimento médio lento, 4,77 mm/dia.

O isolado #73 é proveniente do estado de São Paulo e apresentou tamanho médio de conídio de 7,78 μm de comprimento e 4,02 μm de largura e um formato arredondado. A colônia apresentou micélio esparsa de cor branca na frente e no verso e média de velocidade de crescimento de 7,03 mm/dia.

O grupo IV é composto pelos isolados #1, #2, #6, #8.1, #9, #12, #13, #15, #16, #17, #1804, #22, #26, #27, #28, #30, #36, #37, #41, #42, #43, #48, #50, #53, #61, #64, #71 e #72 foram alocados em um grande grupo, que foi subdividido em sete subgrupos. Esses isolados apresentaram o formato predominante reto, oblongo, com ápices arredondados, característico do complexo *C. gloeosporioides* (Sutton, 1992).

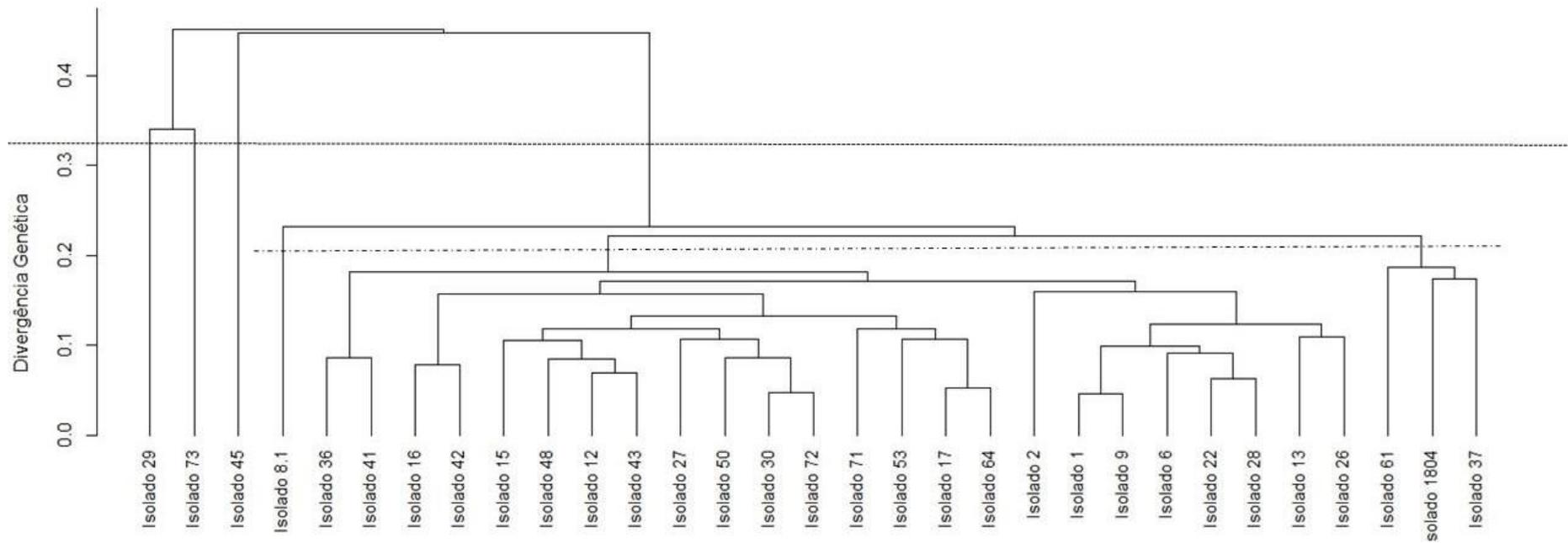


Figura 3 - Dendrograma de similaridade grupamento dos isolados de *Colletotrichum* com base em caracteres morfológicos representado pelo algoritmo de Gower e agrupamento UPGMA. CCC= 0,91

O isolado #8.1 foi o mais distante dentro do grupo IV, com distância de aproximadamente 0,24. Além disso, possui as maiores medidas, 19,06 µm de comprimento e 6,92 µm de largura. O crescimento médio foi de 7,35 mm/dia e a colônia apresentou coloração branca com o centro laranja e o reverso salmão com anéis castanhos. No entanto, este isolado foi doado pelo IB como *C. gloeosporioides* e, posteriormente, confirmada a espécie pela micoteca URM (*University Recife Micology*) da UFPE.

As espécies do gênero *Colletotrichum* possuem grande plasticidade fenotípica, o que torna a sua identificação e classificação mais difícil. Isso pode gerar resultados divergentes e difícil de interpretar (Tozze Júnior et al., 2006). Dessa forma, se torna cada vez mais necessária a integração de métodos morfológicos e moleculares.

Devido a esta plasticidade fenotípica pode-se perceber neste trabalho que diversos isolados ora se assemelham a *C. gloeosporioides*, ora a *C. acutatum*. Isso devido à morfometria, em que os conídios se mostraram com medidas sobrepostas. Apesar disso, os formatos dos conídios e o agrupamento morfológico sugerem que há apenas uma espécie. Fato similar foi observado por Andrade et al. (2007) e Tozze Junior (2015).

Em relação à patogenicidade, os 31 isolados foram patogênicos, mas não em todas as espécies de *Capsicum*, como foi o caso do isolado #29 que não gerou sintomas nos acessos de *C. chinense* e *C. annuum*. As lesões geradas pelos isolados #29, #45 e #73 não foram típicas de antracnose. Já as lesões geradas pelos outros isolados foram iniciadas em dias diferentes de acordo com o hospedeiro. Inicialmente, surgiram as depressões e pequenas manchas marrons, que evoluíram para a necrose do tecido e anéis concêntricos e lesões encharcadas de acérvulos. Houve, também, variação nos diâmetros das lesões. Essas variações indicam a severidade existente entre os isolados da coleção (Tabela 8).

Para *C. annuum* e *C. chinense*, o isolado menos agressivo foi o #29. O mais agressivo para *C. annuum* foi o isolado #43 e para *C. chinense* foi o isolado #8.1. Já para *C. frutescens*, o isolado menos agressivo foi o #45 e o mais agressivo foi o isolado #13.

Tabela 8 - Severidade dos isolados de *Colletotrichum* spp. inoculados em três espécies de *Capsicum* comparados pelos valores médios de AACPD (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença).

Isolados	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. annuum</i>
	AACPD	AACPD	AACPD
1	30,00 Aa ¹	16,16 Ab	19,16 Bab
2	29,33 Aa	14,50 Ab	27,50 Aab
6	29,66 Aa	15,16 Ab	31,50 Aa
8.1	26,83 Aa	23,50 Aa	25,50 Aa
9	35,33 Aa	17,16 Ab	23,83 Bab
12	18,66 Aa	19,16 Aa	18,83 Ba
13	36,66 Aa	20,83 Aa	26,50 Aa
15	30,00 Aa	20,83 Aa	27,50 Aa
16	33,33 Aa	18,50 Ab	29,50 Aab
17	20,33 Aa	17,83 Aa	12,83 Ca
1804	28,50 Aa	8,16 Bb	23,50 Aa
22	28,16 Aa	16,50 Aa	29,50 Aa
26	36,66 Aa	17,50 Ab	23,50 Aab
27	29,33 Aa	15,83 Aa	18,50 Ba
28	30,66 Aa	16,83 Aa	29,16 Aa
29	15,33 Aa	0,16 Cb	0 Eb
30	26,00 Aa	9,83 Bb	4,50 Db
36	25,66 Aa	7,83 Bb	16,50 Bab
37	25,00 Aab	12,16 Ab	26,83 Aa
41	27,16 Aa	4,50 Bb	32,16 Aa
42	26,00 Aa	11,83 Ab	30,50 Aa
43	26,66 Aa	7,16 Bb	32,83 Aa
45	16,16 Aa	4,50 Bb	4,50 Db
48	20,16 Aab	10,16 Bb	26,83 Aa
50	28,66 Aa	11,16 Bb	24,50 Aa
53	19,5 Aab	8,50 Bb	30,50 Aa
61	25,16 Aa	13,83 Aa	17,50 Ba
64	32,66 Aa	19,5 Aa	21,16 Bb
71	30,33 Aa	10,83 Bb	11,83 Cab
72	32,5 Aa	14,50 Ab	21,50 Bb
73	31,83 Aa	12,16 Ab	9,50 Cb

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas (isolados) não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas (espécies de *Capsicum*) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As lesões geradas pelas inoculações foram significativas, indicando diferentes níveis de agressividade entre os isolados. Também foi registrado patogenicidade para todos os isolados testados nessa espécie. Os isolados #29 e

#45 foram patogênicos apenas para *C. frutescens* e o isolado #73 obteve notas menores que cinco para *C. chinense* e *C. annuum*. O número de conídios por placa aos sete dias de crescimento variou de $0,38 \times 10^6$ a $71,2 \times 10^6$, com média de $14,4 \times 10^6$ e todos os isolados foram patogênicos a pelo menos uma espécie de *Capsicum*.

5.1.2. Caracterização molecular

Na análise molecular utilizando marcadores ISSR, os 21 iniciadores utilizados geraram um total de 243 marcas que puderam ser avaliadas claramente, variando entre cinco a 18 marcas por iniciador. Todas as bandas geradas foram polimórficas, indicando que são adequadas para a separação dos isolados em estudo.

Os iniciadores permitiram a formação de um padrão multibandas para os isolados. O iniciador #20 gerou o menor número de bandas, ou seja, cinco bandas e o iniciador #, o maior número de bandas (18 bandas). A média foi de 11 bandas polimórficas por iniciador.

O agrupamento utilizando o método UPGMA a um corte de 0,79 revelou cinco grupos. Devido ao grupo IV contemplar 74% dos isolados, optou-se por fazer uma subdivisão deste grupo que possibilitou a formação de sete subgrupos (IVa a IVg) (Figura 4). Três grupos foram formados por apenas um isolado. Dois destes também ficaram isolados pelo agrupamento morfológico, não sendo considerados *C. gloeosporioides*, o que está de acordo com o dendrograma contendo os dados moleculares. O grupo I foi composto apenas pelo isolado #29 e o grupo III, formado pelo isolado #73.

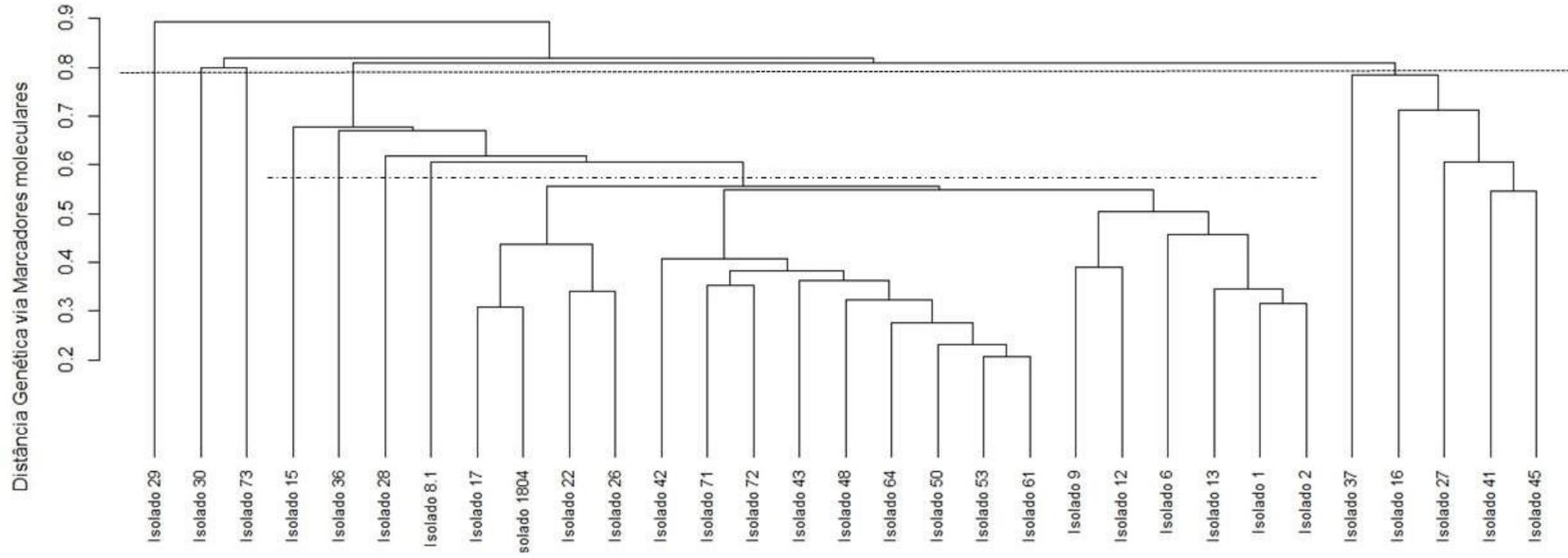


Figura 4 - Agrupamento dos isolados de *Colletotrichum* com base em marcas geradas pelos marcadores ISSR representado pelo coeficiente de Jaccard e agrupamento UPGMA. CCC = 0,94.

Fungos do gênero *Colletotrichum* tem uma variada gama de hospedeiros, o que favorece a disseminação de um isolado em diversos hospedeiros. Sendo assim, os isolados que não foram considerados *Colletotrichum* pelas análises morfológica e molecular podem ser provenientes de infecções cruzadas. Silva et al. (2006) demonstraram a patogenicidade cruzada de isolados de *C. gloeosporioides* em várias fruteiras testadas como manga, maracujá, goiaba e mamão. Já Bonett et al. (2010) encontraram que os isolados de *C. gloeosporioides* causaram lesões em várias frutas e hortaliças, incluindo pimentas e pimentões.

Já o grupo II foi composto pelo isolado #30, com conídios medindo 11,92 µm e 3,78 µm, de comprimento e largura, respectivamente. O crescimento médio foi de 8,12 mm/dia e a coloração branca com o reverso branco com centro cinza. Este isolado também não foi coletado na região norte fluminense, e sim em Vitória – ES.

O grupo IV foi subdividido em sete subgrupos, IVa, IVb, IVc, IVd, IVe, IVf, IVg. Os subgrupos IVa, IVb, IVc e IVd são formados por apenas um isolado cada subgrupo, #15, #36, #28 e #8.1, respectivamente.

Os subgrupos IVe e IVf foram diferenciados basicamente pela localidade dos isolados. A maioria dos isolados pertencentes ao grupo IVe foi coletada no mercado municipal da cidade de Campos dos Goytacazes – RJ. O único isolado pertencente à outra localidade foi o #1804, proveniente do Instituto Biológico de São Paulo. Este isolado também foi o que apresentou o menor tamanho de conídio dentro do subgrupo, tendo uma relação comprimento/largura de 2,6. Os outros isolados possuem essa relação com valor acima de 3,0. O tamanho médio de conídio dentro do subgrupo foi de 12,08 µm de comprimento e 4,37 µm de largura e crescimento médio do micélio de 6,9 mm/dia.

O subgrupo IVf teve a maioria dos seus isolados originária de Teresópolis – RJ, com apenas dois isolados, dos nove isolados agrupados, provenientes da cidade de São João da Barra – RJ. Os conídios medem, em média, 12,06 µm e 4,02 µm com crescimento médio de 7,72 mm/dia.

Subgrupo IVg foi formado pelos isolados #1, #2, #6, #9, #12, #13, com isolados provenientes do estado do Rio de Janeiro e do Espírito Santo. A média dos tamanhos dos conídios foi de 11,25 µm e 3,86 µm. O crescimento médio das colônias foi de 7,22 mm/dia.

O Grupo V foi formado pelos isolados #16, #27, #37, #41 e #45. O isolado #45 não foi considerado *Colletotrichum* de acordo com os dados morfológicos,

porém foi incluído neste grupo. Os isolados #41 e #45 possuem cerca de 0,58 de distância genética. Além disso, apresentaram tamanhos de conídios semelhantes, 6,41 µm de comprimento e 3,39 µm de largura no isolado #41 e 6,61 e 3,31 µm no isolado #45. A maior diferença entre estes dois isolados está no formato dos conídios e na sua coloração. O isolado #41, assim como os outros isolados que foram classificados como inseridos no complexo *C. gloeosporioides*, possuem os conídios no formato reto com pelo menos uma extremidade oblonga. O isolado #45 apresentou um formato arredondado que não é característico do gênero. Além disso, a sua coloração é branca com micélio bastante esparso. Estas características e o agrupamento com isolados de *C. gloeosporioides* pela análise molecular indicam a possibilidade de se tratar de uma espécie muito próxima ou subespécie.

Outra hipótese para esse agrupamento é que nem todos os alelos que os marcadores ISSR utilizados englobam estão ligados a estes caracteres morfológicos estudados. Os marcadores ISSR têm a capacidade de explorar uma porção maior do genoma, incluindo regiões codantes e não codantes, os quais os marcadores fenotípicos são características expressas somente por regiões que contêm genes. Dessa forma, a caracterização molecular pode ter representado regiões que não estão relacionados às regiões que codificam os caracteres morfológicos estudados. Ao realizar o teste de Mantel entre as matrizes, foi observado baixa correlação entre as matrizes morfológica e molecular demonstrando, assim, a importância das duas etapas para a melhor caracterização dos isolados em estudo.

5.2. Herança genética

5.2.1. Análise qualitativa

A AACPD variou de zero a 29,5. Dessa forma, esse intervalo foi dividido em seis classes (AR, R, MR, MS, S e AS), como proposto por Montri et al. (2009), e as plantas com médias de AACPD menores que 9,82 foram consideradas resistentes. Sintomas da antracnose foram observados em todos os frutos do genitor suscetível (P₁). Os valores médios de AACPD, PI e PL para esse genitor em estágio imaturo foram de 15,97 2,90 e 5,40, respectivamente, confirmando a sua suscetibilidade

(Figura 5). Os frutos do genitor resistente (P_2) apresentaram valores de AACPD mais baixos, com média de 3,44, PI de cinco dias e sem aparecimento de sinais do patógeno, sendo considerado altamente resistente. Bento et al. (2017), em seu trabalho de identificação de fontes de resistência a três doenças em *Capsicum* spp., identificaram que o acesso UENF 1381 (P_2) foi considerado resistente à antracnose, mancha bacteriana e ao *Pepper yellow mosaic virus*. Em antracnose, o acesso foi considerado resistente em frutos imaturos e moderadamente resistente em frutos maduros.

As plantas F_1 apresentaram sintomas de forma mais moderada, tendendo para a resistência, também apresentando valores de AACPD mais baixos, com média na população F_1 igual a 5,19. A média de PI foi de 3,9 dias e a de PL foi de 7,6 dias (não apresentou sinal do patógeno durante o período de avaliação do experimento). As plantas F_2 demonstraram uma grande variedade de sintomas, desde frutos sem nenhum sintoma, com nota 0, a frutos com nota 9, o que caracteriza a variabilidade dessa geração (Figura 6). A média de AACPD também tendeu para o pai resistente, com valor de 7,63. A média de PI foi baixa, 3,7 dias, porém o PL foi de 7, com a apresentação do sinal do patógeno apenas no último dia de avaliação.

Valores de AACPD altos indicam maior virulência do patógeno, sendo desejáveis menores valores para esse caráter. Já os valores de PI e PL desejáveis são os mais altos, indicando que os sintomas e os sinais do patógeno demoram para serem visíveis.

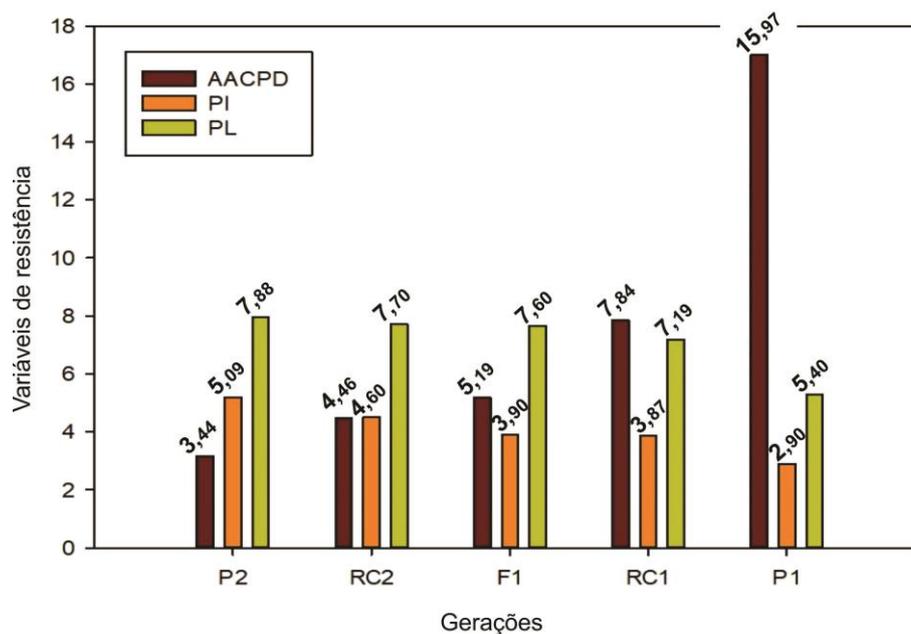


Figura 5 - Médias obtidas para Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença e Período Latente, em plantas das gerações de P₂, RC₂, F₁, RC₁ e P₁ a partir do cruzamento entre UENF 2285 x UENF 1381 quanto à resistência à antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos imaturos.

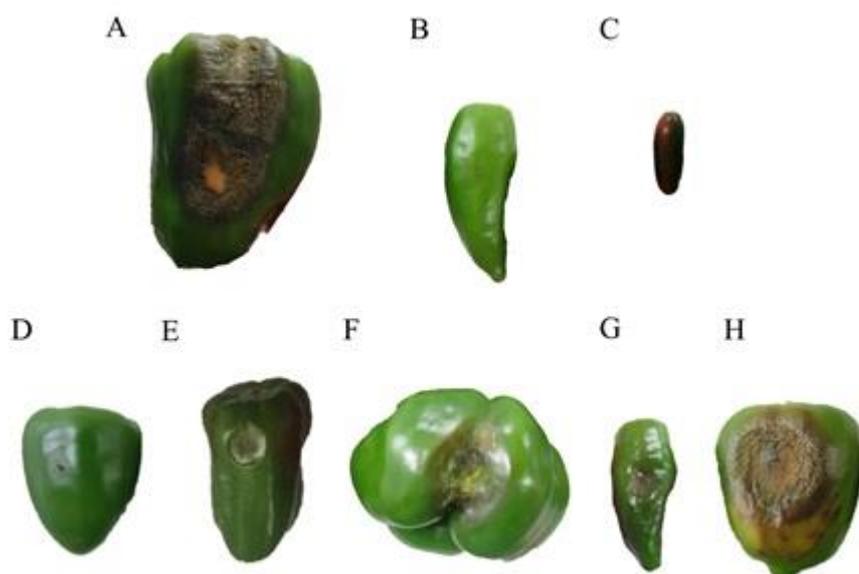


Figura 6 - Reação à antracnose de frutos em estágio imaturo das diferentes gerações obtidas a partir do cruzamento entre UENF 2285 x UENF 1381. Campos dos Goytacazes, 2015 – 2016. A – fruto da população P₁ (UENF 2285 – suscetível); B – fruto da população F₁; C – fruto da população P₂ (UENF 1381 – resistente); D – H – frutos da população F₂.

Em frutos imaturos, na geração F₂ (Figura 7) foi possível observar uma distribuição normal dos indivíduos entre as classes para resistência à antracnose, sendo que a curva está deslocada para a resistência. A maioria dos indivíduos estão nas classes Altamente Resistente (AR) e Resistente (R).

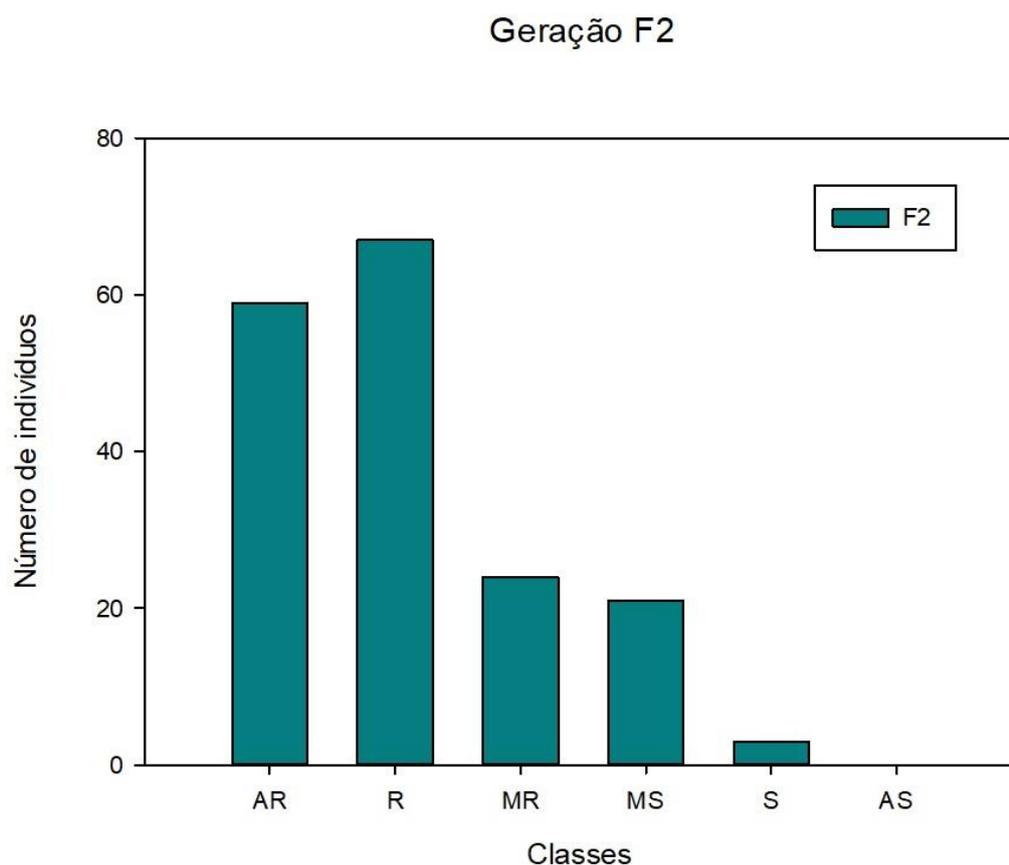


Figura 7 - Número de plantas da geração F₂ do cruzamento UENF 2285 x UENF 1381 separadas por classes em relação à Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença quanto à reação à *Colletotrichum gloeosporioides*. AR – Altamente Resistente; R – Resistente; MR – Moderadamente Resistente; MS – Moderadamente Suscetível; S – Suscetível; AS – Altamente Suscetível.

Foram testadas as taxas de segregação das plantas resistentes para suscetíveis de 0:1, 1:0, 1:0, 3:1, 1:1 e 1:0 para as gerações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁ e RC₂, respectivamente. A taxa de segregação de 3:1 na população F₂ e de 1:1 na população RC₁ indica que a resistência é controlada por um gene dominante, como pode ser observado pelo resultado do teste qui-quadrado (χ^2), em nível de 5% de

significância (Tabela 8). Pakdeevaporn et al. (2005) utilizando a fonte de resistência PBC932 (*C. chinense*) cruzado com a cultivar Banchang (*C. annuum*) identificaram que a frequência de segregação observada foi de 3:1 (suscetibilidade:resistência), indicando que a resistência é governada por um gene recessivo.

Kim et al. (2007) estudaram a resistência ao *C. acutatum* em frutos imaturos utilizando a linha resistente *C. annuum* AR (uma planta selecionada da geração RC₃F₆ derivada da fonte de resistência a partir de *C. chinense* 'PBC932') cruzada com a cultivar Daopoong-cho (*C. annuum*) e com a linha HN 11(*C. annuum*). As taxas de segregação observadas nas populações F₂ e RC₁ indicam que a resistência da linha *C. annuum* AR é governada por um gene recessivo.

Kim et al. (2008b) identificaram uma fonte de resistência à antracnose em *C. baccatum* PI594137 e observaram que a segregação de resistência para suscetibilidade se adequou à proporção mendeliana 3:1, indicando que a resistência a um isolado de *C. acutatum* é controlada por um gene dominante. Mahasuk et al. (2009b), utilizando um cruzamento entre *C. baccatum*, identificaram que a segregação também se ajustou à proporção mendeliana de 3:1 de resistente para suscetível, indicando que a resistência, em frutos maduros, era governada por um gene dominante. No mesmo trabalho, os autores identificaram que em frutos imaturos outro gene era responsável pela herança, com segregação de 3:1 de suscetível para dominante.

Tabela 9 - Número de plantas de *Capsicum annuum* resistentes e suscetíveis à *Colletotrichum gloeosporioides* nas gerações obtidas a partir do cruzamento UENF 2285 (susceptível) x UENF 1381 (resistente) e o teste do qui-quadrado (χ^2)

Geração	Número de Plantas			Hipótese	Probabilidade	
	Total	Resistentes	Suscetível		χ^2	
P ₁	13	0	13	0:1	-	-
P ₂	16	16	0	1:0	-	-
F ₁	14	13	1	1:0	-	-
F ₂	174	126	48	3:1	0,6206*	0,4307
RC ₁	31	20	11	1:1	2,61*	0,1059
RC ₂	30	27	3	1:0	-	-

χ^2 tab (1GL) = 3,84

5.2.2. Estimativa dos parâmetros genéticos

Os dados obtidos para AACPD foram utilizados para estimar os parâmetros genéticos (Tabela 10). A variância fenotípica foi de 25,42 e a variância ambiental foi de 9,46. A variância genotípica foi de 15,95, o que significa que 37,21% da variância é ambiental e que 62,74% da variação observada é devido às causas genéticas. A variância genotípica foi predominantemente aditiva, com um valor de 12,32. A variância de dominância contribuiu menos com a variância genotípica, com valor de 3,62. A variância aditiva é um dos parâmetros genéticos mais importantes para o melhorista, já que ela atua diretamente na herdabilidade, possibilitando melhores resultados na seleção dos indivíduos (Ramalho et al., 1993).

Riva et al. (2004), estudando a herança da resistência à mancha bacteriana em populações derivadas do cruzamento entre dois acessos de *C. annuum*, encontraram maior valor de variância aditiva que de dominância.

Tabela 10 - Parâmetros genéticos obtidos a partir dos valores da AACPD para avaliação da resistência à antracnose em frutos imaturos de *Capsicum annuum*.

Parâmetro	Estimativa
Variância fenotípica	25,42
Variância ambiental (F ₂)	9,46
Variância genotípica	15,95
Variância aditiva	12,32
Variância dominância	3,62
Herdabilidade ampla (%)	62,75
Herdabilidade restrita h ² (%)	48,47
Grau médio da dominância (baseado em médias)	0,76
Valor máximo em F ₂	22,83
Valor mínimo em F ₂	0
Número de genes (baseado em variâncias)	6

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo foi de 62,75%, e no sentido restrito foi de 48,47%. Esse valor indica que 62,75% da variação observada na população F₂ são de causas genéticas e que, 48,47% é atribuído à causa genética de natureza aditiva, a qual indica ser possível fixar essa característica ao longo de sucessivas gerações de autofecundação. Silva et al. (2017) avaliaram as mesmas populações para a resistência à mancha bacteriana e encontraram valor de herdabilidade igual a 49,74%. Matiello et al. (2012), em seu estudo com antracnose em duas populações de milho e realizando dois testes por população, encontraram valores intermediários de herdabilidade no sentido amplo, variando de 29,2% a 85,7%, dependendo da população e do teste realizado.

Syukur et al. (2013) analisaram os parâmetros genéticos para a resistência à antracnose causada por *C. acutatum* em um dialelo completo, utilizando cinco genótipos de *C. annuum* L., sendo um genótipo resistente e quatro suscetíveis. Os autores observaram que as estimativas das herdabilidades no sentido amplo e restrito foram de 47,5% e 46,7%, respectivamente. Estes parâmetros genéticos dependem da população e do ambiente em estudo (Riva et al., 2004).

Foi observado segregação transgressiva para a suscetibilidade em F₂, com valor de AACPD máximo de 22,83. Esse valor excedeu os valores máximos observados para o genitor UENF 2285, evidenciando que mais de um gene controla a resistência ao *C. gloeosporioides*.

O grau médio de dominância foi de 0,76, demonstrando ação gênica do tipo dominância parcial. Resultado similar foi observado por Silva et al. (2017), na

mesma população, estudando a herança da resistência para a mancha bacteriana. Syukur et al. (2013) analisaram a resistência ao *C. acutatum* em um dialelo completo, utilizando cinco linhas de *C. annuum* e também observaram dominância parcial.

A estimativa do número mínimo de genes que controlam a resistência à antracnose na população estudada foi de seis, indicando uma resistência do tipo poligênica (Tabela 10). Porém, devido à análise qualitativa estimada, pode-se inferir na existência de um gene maior com efeito dominante sobre os outros genes que atuam nesta característica. Tran e Kim (2010) observaram que em populações de *C. annuum* L. inoculados com *Ralstonia solanacearum*, a herança foi considerada poligênica ou oligogênica. Silva et al. (2017), para a mesma população, testada para a resistência à *Xanthomonas*, encontraram que o número mínimo de genes que controlam a característica foi cinco.

Esses valores obtidos confirmam outros dados disponíveis na literatura que indicam a herança da resistência à antracnose em *Capsicum* como um caráter complexo, tornando a obtenção de cultivares resistentes mais difícil para os programas de melhoramento e que é necessária a seleção em gerações mais avançadas.

5.2.3. Análise de média de gerações

O parâmetro genético com o maior valor foi a média (15,75) seguida pelo efeito aditivo (6,37). O valor do efeito de dominância foi negativo. O sinal do componente de dominância depende da direção predominante da dominância (Mather e Jinks, 1984), ou seja, no sentido de resistência nas famílias, sendo a AACPD uma variável para avaliação da doença em que os menores valores são os desejáveis.

Os efeitos de média, aditividade e dominância foram significativos no teste t a 1% de probabilidade. Os efeitos epistáticos aditivo-aditivo, aditivo-dominante e dominante-dominante foram significativos no teste t a 5% de probabilidade (Tabela 11).

Tabela 11 - Estimativa dos efeitos genéticos e teste de significância da hipótese de nulidade dos parâmetros genéticos (t) no modelo completo em frutos imaturos de *Capsicum annuum* inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Efeito	Estimativa	Variância	T
m	15,63	7,61	5,66**
a	6,26	0,26	12,16**
d	-21,56	57,69	-2,8**
aa	-5,92	7,35	-2,18*
ad	-5,77	6,07	-2,34*
Dd	11,12	26,75	2,14*

** e * - Significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t.

Foi realizada a decomposição não-ortogonal da soma de quadrados no modelo completo e pode-se verificar que o efeito com maior importância no controle do caráter de resistência foi o efeito aditivo, com um coeficiente de determinação de 72,88%, seguido pela média com 15,80%, indicando a importância desses efeitos no controle da resistência à antracnose (Tabela 12). Syukur et al. (2013) encontraram que o parâmetro com maior magnitude foi o efeito aditivo, enquanto o efeito de dominância foi indistinto para a resistência em *C. annum* ao *C. acutatum*.

A soma dos efeitos *aa*, *ad* e *dd* mostraram contribuição de 11,92% do total da variabilidade observada, indicando que os efeitos epistáticos não são tão importantes no controle genético da característica analisada (Tabela 12). Candido et al. (2017) observaram, no modelo completo, valores similares, com os efeitos epistáticos contribuindo com 10,69% da variabilidade da resistência à *Meloidogyne incognita* na cultura do melão. No patossistema *Capsicum* x PepYMV foi identificado que, no modelo completo, a soma da contribuição dos efeitos epistáticos foi de 16,44% e a média também apresentou o maior valor, seguido pelo efeito epistático dominante-dominante (Bento et al., 2013).

Tabela 12 - Decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros ajustados para a resistência à antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* no modelo completo em frutos imaturos de *Capsicum annuum*.

FV	SQ	R ² (%)
m	32,08	15,80
a	147,91	72,88
d	8,06	3,97
Subtotal		88,05
Aa	4,77	2,35
Ad	5,79	2,70
Dd	4,62	2,27
Total epistasia		11,92

Quando se consideram as médias observadas e as esperadas (Tabela 13), nota-se que, como esperado, o modelo completo teve um coeficiente de correlação equivalente à unidade ($r=1$), demonstrando a adequação do modelo para explicar os efeitos envolvidos no controle da resistência. Bento et al. (2013), considerando a herança da resistência ao PepYMV em *C. baccatum* identificaram que o modelo completo se adequou para explicar os efeitos envolvidos.

Tabela 13 - Médias observadas e esperadas para seis gerações a partir do cruzamento entre UENF 2285 x UENF 1381, considerando-se o modelo completo de análise para resistência a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos imaturos de *Capsicum annuum*.

Geração	Média observada	Média esperada
P1	15,97	15,97
P2	3,44	3,44
F1	5,19	5,1
F2	7,63	7,63
RC1	7,83	7,83
RC2	4,46	4,46
	$r = 1$	
	$R^2 = 1$	

Também foi testado o modelo aditivo-dominante (Tabela 14) e, novamente, o parâmetro mais importante foi a média. O teste t indicou significância para todos os parâmetros a 1% de probabilidade.

Tabela 14 - Estimativa dos efeitos genéticos e teste de significância da hipótese de nulidade dos parâmetros genéticos (t) no modelo aditivo-dominante em frutos imaturos.

Efeito	Estimativa	Variância	t
m	9,57	0,21	20,52**
a	5,87	0,21	12,73**
d	-4,51	0,86	-4,86**

** e * - Significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t.

No modelo aditivo-dominante, o coeficiente de determinação para a média foi de 69,39%. O efeito aditivo teve um coeficiente de determinação de 26,14% (Tabela 15). O coeficiente de determinação apresentado a partir das médias esperadas e das observadas (Tabela 16) para o modelo aditivo-dominante foi de 0,97, dessa forma, ele também é eficiente para explicar os resultados obtidos, indicando que os efeitos epistáticos não foram importantes no controle genética da resistência à antracnose. Silva et al. (2017), trabalhando com a mesma população no patossistema *Capsicum* – *Xanthomonas*, observaram que o modelo aditivo-dominante foi suficiente para explicar os efeitos genéticos observados a partir da AACPD. Juhász et al. (2008) encontraram, a partir da análise da média de gerações, que o modelo aditivo-dominante foi adequado para explicar os efeitos genéticos envolvidos na herança da resistência de tomateiro ao PepYMV, encontrando o efeito aditivo como o de maior magnitude, explicando 83,89% da variação total e o efeito dominante sendo o menos significativo.

Tabela 15- Decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros ajustados para a resistência à *Colletotrichum gloeosporioides*, no modelo aditivo-dominante em frutos imaturos de *Capsicum annuum*.

FV	SQ	R ² (%)
m	421,14	69,39
a	162,13	26,71
d	23,62	3,89

Tabela 16 - Médias observadas e esperadas para seis gerações a partir do cruzamento entre UENF 2285 x UENF 1381, considerando-se o modelo aditivo-dominante para resistência a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos imaturos de *Capsicum annuum*.

Geração	Média observada	Média esperada
P1	15,97	15,45
P2	3,44	3,70
F1	5,19	5,06
F2	7,63	7,32
RC1	7,83	10,25
RC2	4,46	4,38
$r = 0,97$		
$R^2 = 0,94$		

Tanto no modelo completo como no modelo aditivo-dominante foi observado que o efeito aditivo possui maior magnitude para a resistência à antracnose. Para *Capsicum*, que é uma espécie considerada autógama, esse efeito é muito importante, pois as plantas homozigotas serão mais abundantes na população e os efeitos genéticos aditivos indicam que a característica será fixada nas gerações seguintes (Lobo et al., 2005).

5.2.4. Seleção de indivíduos para caracteres de interesse

A fim de dar prosseguimento ao programa de melhoramento de *Capsicum* à antracnose, visando os aspectos da resistência à doença, associado com características de fruto, foi utilizado o índice de Mulamba e Mock (1978), obtido somando-se os valores individuais de classificação para cada caráter em cada indivíduo de cada geração. Foram selecionados 30% de indivíduos da geração F₂ (Tabela 17), utilizando-se as características: AACPD, PI, PL, comprimento do fruto e diâmetro do fruto.

Tabela 17– Seleção dos melhores indivíduos na geração F₂ de genótipos provenientes do cruzamento UENF 2285 x UENF 1381 para as características Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), Período de Incubação (PI), Período Latente (PL), Comprimento do Fruto (CF) e Diâmetro do Fruto (DF) por meio do índice de Mulamba e Mock (1978).

Ordem de Classificação	Identificação do Indivíduo F ₂	Características				
		AACPD	PI	PL	CF	DF
1	235	0,17	7,67	8	88,08	28,22
2	317	0	8	8	74,84	27,57
3	313	0	8	8	53,43	32,25
4	101	1,17	6,67	8	62,53	31,11
5	245	0	8	8	42,18	28,19
6	120	0,83	6,67	8	60,78	24,62
7	170	1,5	6,33	8	83,43	23,31
8	309	1,83	6,33	8	79,33	29,23
9	104	1,5	6,33	8	68,9	26,32
10	123	1,67	6	8	73,8	25,1
11	307	0	8	8	36,65	20,85
12	310	1,83	6	8	58,95	29,96
13	116	2	6	8	52,69	31,5
14	155	2,5	5	8	79,28	30,15
15	255	2,5	5	8	55,39	37,96
16	164	2	6	8	63,21	23,46
17	301	2,67	5,67	8	64,06	35,41
18	88	2,5	6,33	8	48,87	31,45
19	254	2,67	5	8	51,67	41,1
20	247	2,5	5	8	64,5	25,07
21	161	2,83	5,33	8	63,31	34,09
22	237	2,83	5,33	8	68,45	30,3
23	228	2,83	5	8	83,44	26,71
24	253	3	4,67	8	86,14	29,1
25	152	2,83	4,67	8	74,16	23,15
26	321	2,83	5	8	71,2	21,29
27	234	3,5	4	8	55,44	30,8
28	323	3,5	4	8	49,28	32,62
29	335	3,5	5	8	54,76	29,74
30	241	3,5	4	8	61,35	27,61
31	260	3,5	4	8	65,3	25,08
32	158	2,83	5,33	7,67	91,58	24,81
33	41	3,83	3,67	8	75,41	31
34	171	3,5	4	8	72,85	20,57
35	328	3,5	5	8	69,38	21,75

Tabela 18– Cont.

Ordem de Classificação	Identificação do Indivíduo F ₂	Características				
		AACPD	PI	PL	CF	DF
36	95	3,67	4	8	98,38	19,59
37	52	3,83	3,67	8	68,01	29,68
38	47	3,5	4	8	41,7	27,07
39	37	4	4	8	64,63	28,71
40	325	3,5	4	8	46,98	22,04
41	48	3	5,33	7,67	67,49	26,48
42	305	3,67	4,33	8	52,3	22,08
43	308	4,17	3,33	8	60,26	31,84
44	182	3,17	6	7,67	57,37	24,06
45	50	3	6	7,33	72,4	21,58
46	177	4,83	3	8	77,22	30,29
47	318	4,5	3	8	56,89	28,19
48	319	4,5	3	8	65,24	24,63
49	24	4,83	3	8	53,07	32,07
50	175	4,5	3	8	54,44	24,26
51	153	4,5	3	8	33,16	26,76
52	184	4,5	3	8	55,85	20,28
53	151	3,83	5,67	7,67	61,88	28,3
54	226	5,17	3,67	8	85,13	28,77
55	91	5,33	4	8	211,86	30,22
56	231	4,83	2,67	8	52,57	24,94
57	176	4,83	3,67	8	41,78	26,48
58	181	5	5	8	58,23	21,31
59	49	5,17	2,33	8	51,41	28,69
60	42	4,17	6	7,67	57,11	26,67

As características AACPD, PI, PL e CF obtiveram ganho de seleção de -31,59%, 10,07%, 5,75% e 2,02%, respectivamente, no primeiro ciclo de seleção. É importante observar que o caráter AACPD teve ganho de seleção negativo, o que é totalmente condizente com o objetivo do trabalho que é reduzir a ocorrência da doença, selecionando-se, assim, plantas com menor AACPD e, portanto, mais resistentes. O caráter DF obteve variância genética negativa (Silva, 2018), por isso o ganho foi igual a zero, mas por ser uma característica importante para a seleção de frutos com tamanhos e formatos de pimentão foi decidido incluí-la na seleção.

5.3. Proposta de série diferenciadora para o patossistema *Capsicum* – *C. gloeosporioides*

Dos 15 genótipos de *Capsicum* testados, nove tiveram reação diferencial para os frutos imaturos e sete acessos apresentaram reação diferencial para os frutos maduros. Em ambos estádios de maturação o acesso UENF 1381, padrão de resistência, foi considerado resistente quando inoculado com os cinco isolados testados (Figura 9). Os acessos UENF 1718 e UENF 1795 foram considerados resistentes a todos os isolados quando inoculados em frutos maduros, sendo cogitados como novas fontes de resistência promissoras para a utilização no programa de melhoramento de *Capsicum*, visando a obtenção de cultivares resistentes à antracnose.

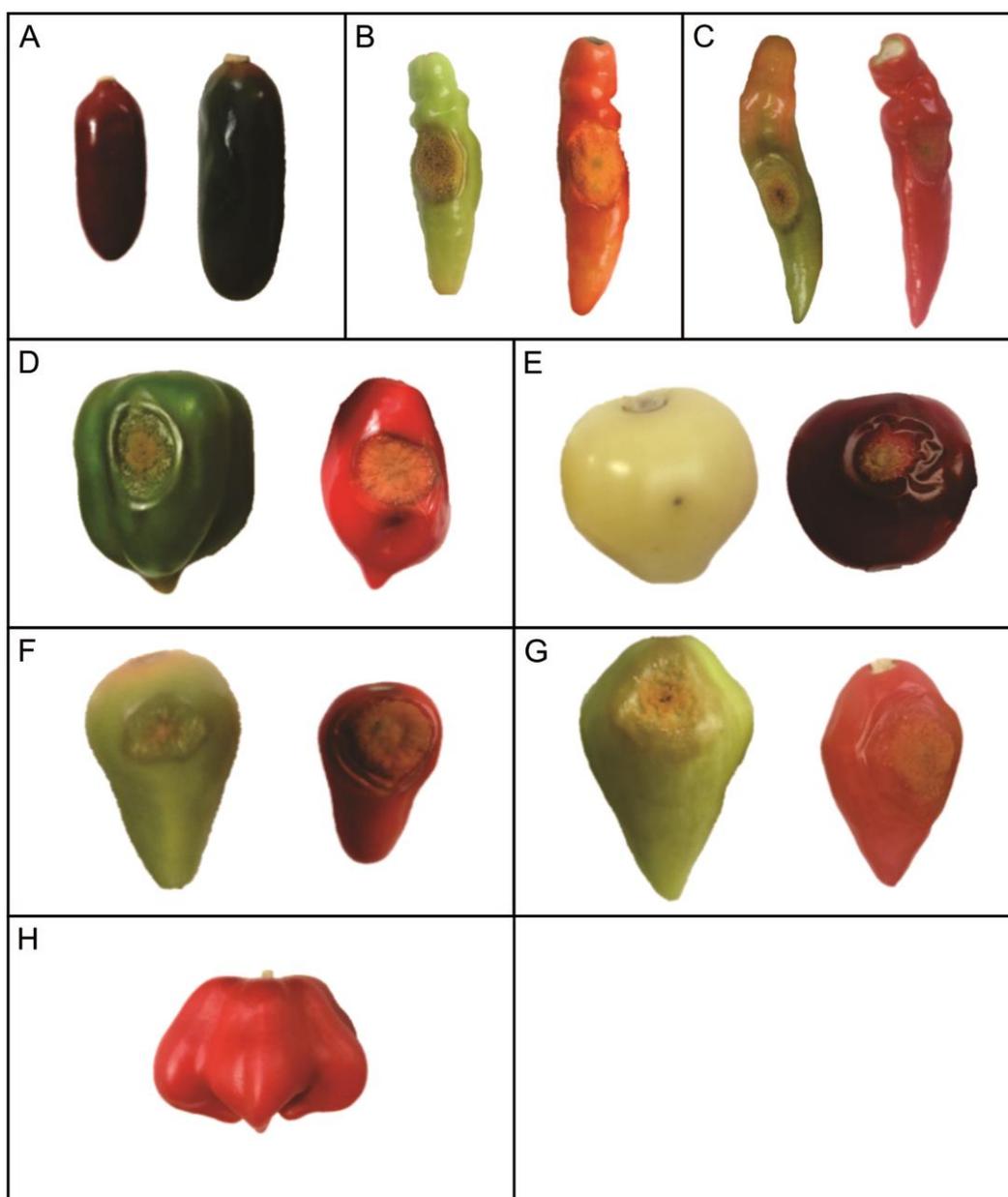


Figura 8 – Reação após sete dias em frutos selecionados para a proposta de série diferenciadora de *Colletotrichum-Capsicum*. A – acesso 1381; B – acesso 2097; C – acesso 2093; D – acesso 1764; E – acesso 1738; F – acesso 2153; G – acesso 2133; H – acesso 1718.

Em frutos imaturos, os acessos UENF 1775, UENF 2079, UENF 2078, UENF 2097 e UENF 2101 foram suscetíveis para todos os isolados, enquanto em frutos maduros, os acessos UENF 1775, UENF 1790, UENF 2034, UENF 2078 e UENF 2097 foram suscetíveis a todos os isolados do complexo *C. gloeosporioides* (Tabela 18 e 19).

Tabela 19 – Reação frutos imaturos de 15 genótipos de *Capsicum* a cinco isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*

Acessos	Espécie	Isolados				
		8.1	9	16	53	72
UENF 1381	<i>C. annuum</i>	R	R	R	R	R
UENF 1795	<i>C. baccatum</i>	R	R	S	R	R
UENF 2034	<i>C. annuum</i>	S	R	R	R	R
UENF 1738	<i>C. baccatum</i>	R	R	S	S	R
UENF 1790	<i>C. frutescens</i>	R	S	S	R	R
UENF 2153	<i>C. baccatum</i>	R	S	S	R	R
UENF 1718	<i>C. baccatum</i>	S	R	S	S	S
UENF 1764	<i>C. chinense</i>	S	S	S	S	R
UENF 2093	<i>C. baccatum</i>	R	S	S	S	S
UENF 2133	<i>C. baccatum</i>	S	S	S	R	S
UENF 1775	<i>C. chinense</i>	S	S	S	S	S
UENF 2079	<i>C. chinense</i>	S	S	S	S	S
UENF 2078	<i>C. chinense</i>	S	S	S	S	S
UENF 2097	<i>C. baccatum</i>	S	S	S	S	S
UENF 2101	<i>C. baccatum</i>	S	S	S	S	S

R – Resistente; S – suscetível

Tabela 20 - Reação frutos maduros de 15 genótipos de *Capsicum* a cinco isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*

Acessos	Espécie	Isolados				
		8.1	9	16	53	72
UENF 1381	<i>C. annuum</i>	R	R	R	R	R
UENF 1718	<i>C. baccatum</i>	R	R	R	R	R
UENF 1795	<i>C. baccatum</i>	R	R	R	R	R
UENF 1738	<i>C. baccatum</i>	S	R	S	S	R
UENF 2153	<i>C. baccatum</i>	S	R	S	R	R
UENF 1764	<i>C. chinense</i>	S	R	S	S	R
UENF 2079	<i>C. chinense</i>	S	S	S	R	R
UENF 2093	<i>C. baccatum</i>	S	R	S	R	S
UENF 2133	<i>C. baccatum</i>	R	S	S	R	S
UENF 2101	<i>C. baccatum</i>	R	S	S	S	S
UENF 1775	<i>C. chinense</i>	S	S	S	S	S
UENF 1790	<i>C. frutescens</i>	S	S	S	S	S
UENF 2034	<i>C. annuum</i>	S	S	S	S	S
UENF 2078	<i>C. chinense</i>	S	S	S	S	S
UENF 2097	<i>C. baccatum</i>	S	S	S	S	S

O fato do acesso UENF 1381 ser resistente a todos os isolados testados em ambos estádios de maturação indica que esse acesso é uma boa fonte de resistência à antracnose. As reações diferenciais apresentadas pelos genótipos testados sugerem que esse grupo pode ser utilizado para discriminar a variabilidade entre os isolados.

Costa et al. (2014) identificaram cinco raças de *C. graminicola* em milho e propuseram uma série diferencial com quatro genótipos. Por sua vez, Ribeiro et al. (2016) propuseram uma série diferencial para determinar a variabilidade existente dentro da raça 65 de *C. lindemuthianum* a fim de auxiliar os programas de melhoramento de feijoeiro a inserir uma resistência mais duradoura em novas cultivares.

A série proposta neste trabalho designa as raças de acordo com a sua virulência sobre os acessos e apesar do número de isolados testados neste trabalho ter se limitado a cinco, foi observada a existência de reação diferencial, indicando a possibilidade da existência de variabilidade na patogenicidade dos isolados inoculados.

Cinco raças para frutos imaturos (150, 94, 254, 186 e 142) (Tabela 20) e cinco para frutos maduros (122, 6, 126, 50 e 14) (Tabela 21) puderam ser distinguidas. Uma das formas de se analisar a variabilidade do patógeno é com a ocorrência de raças fisiológicas. No patossistema *Phaseolus – Colletotrichum* foram identificadas aproximadamente 50 raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* no Brasil e essa alta variabilidade do patógeno demonstra a importância de identificar as principais raças encontradas nas diferentes regiões (Silva et al., 2007).

Considerando a variabilidade existente no patógeno, a série diferenciadora se torna uma ferramenta útil para a análise da interação da planta com o patógeno, uma vez que com a identificação das raças, novos genes de resistência também podem ser identificados (Ribeiro et al., 2016). Considerando que a herança da resistência depende de alguns fatores como a maturação dos frutos (Mahasuk et al., 2009b; Silva et al., 2014, Suwor et al., 2015), torna-se.

necessário que se seja proposta uma série diferenciadora de raças fisiológicas para inoculações em frutos imaturos e maduros

Tabela 21 – Proposta de determinação das raças de *C. gloeosporioides* em frutos imaturos de acessos de *Capsicum* spp.

Isolados	Acessos								Soma	Raça
	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF		
	1718 2 ⁷ (128)	2153 2 ⁶ (64)	1738 2 ⁵ (32)	1764 2 ⁴ (16)	2093 2 ³ (8)	2133 2 ² (4)	2097 2 ¹ (2)	1381 2 ⁰ (1)		
8.1	S (1)	R (0)	R (0)	S (1)	R (0)	S (1)	S (1)	R (0)	128+16+4+2	150
9	R (0)	S (1)	R (0)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	64+16+8+4+2	94
16	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	128+64+32+16+8+4+2	254
53	S (1)	R (0)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	S (1)	R (0)	128+32+16+8+2	186
72	S (1)	R (0)	R (0)	R (0)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	128+8+4+2	142

Tabela 22 – Proposta de determinação das raças de *C. gloeosporioides* em frutos maduros de acessos de *Capsicum* spp.

Isolados	Acessos								Soma	Raça
	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF	UENF		
	1718 2 ⁷ (128)	2153 2 ⁶ (64)	1738 2 ⁵ (32)	1764 2 ⁴ (16)	2093 2 ³ (8)	2133 2 ² (4)	2097 2 ¹ (2)	1381 2 ⁰ (1)		
8.1	R (0)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	S (1)	R (0)	64+32+16+8+2	122
9	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (1)	S (1)	R (0)	4+2	6
16	R (0)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	64+32+16+8+4+2	126
53	R (0)	R (0)	S (1)	S (1)	R (0)	R (0)	S (1)	R (0)	32+16+2	50
72	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (1)	S (1)	S (1)	R (0)	8+4+2	14

Para a classificação dos isolados foi proposto que os genótipos diferenciadores de *Capsicum* sejam dispostos da seguinte forma, de acordo com as respostas às inoculações e seus números binários: primeiro, o genótipo utilizado como padrão de resistência, UENF 1381 ($2^0 = 1$), seguido pelo genótipo suscetível universal, ou seja, aquele em que a resposta às inoculações foram de suscetibilidade em frutos maduros e imaturos, UENF 2097 ($2^1 = 2$); em seguida, os genótipos que apresentaram resposta diferencial aos isolados, UENF 2133 ($2^2 = 4$); UENF 2093 ($2^3 = 8$); UENF 1764 ($2^4 = 16$); UENF 1738 ($2^5 = 32$), UENF 2153 ($2^6 = 64$) e UENF 1718 ($2^7 = 128$), de acordo com a proposta de Habgood (1970).

A utilização de espécies diferentes na série diferenciadora é suportada pela hipótese de que genes de resistência diferentes estão presentes em diferentes genomas. Embora o conceito clássico de raças fisiológicas determine que elas devem ser observadas a partir da reação diferencial em variedades da mesma espécie, alguns exemplos do uso de espécies diferentes como diferenciadoras são encontrados na literatura. Por exemplo, em *Brassica*, 15 acessos das espécies *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. juncea*, *B. napus* e *B. oleracea* são utilizados como série diferenciadora para *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Vicente et al., 2001). A série diferenciadora proposta no presente trabalho pode servir como referencial de classificação de isolados de *C. gloeosporioides*.

Identificar as raças de cada região é uma tarefa necessária para que os programas de melhoramento possam focar nas raças predominantes de cada área com o objetivo de controlar a doença (Davide e Souza, 2009). Além disso, conhecendo as raças também é possível entender como é a estrutura populacional de cada isolado, entendendo como é feita a disseminação do patógeno (Ribeiro et al., 2016). Um sistema de determinação de raças universal facilita a troca de informações entre os pesquisadores, como por exemplo, das fontes de resistência a determinado patógeno ou sobre a dinâmica populacional do patógeno. Uma série diferenciadora ideal teria diversos genes de resistência, levando a uma classificação mais precisa das raças (Kamoun et al., 1992; Davide, 2006).

6. CONCLUSÕES

A maioria dos isolados coletados se enquadrou na descrição morfológica de *C. gloeosporioides* e não se constatou redundância entre os isolados.

Quando inoculados em plantas de *Capsicum*, os possíveis isolados de *C. gloeosporioides* provocaram diferentes reações, permitindo-se a proposição preliminar de uma série diferenciadora, para ambos os estádios de maturação dos frutos, composta dos seguintes acessos na ordem: UENF 1381; UENF 2097; UENF 2133; UENF 2093; UENF 1764; UENF 1738; UENF 2153 e UENF 1718.

A resistência à antracnose em frutos do estágio imaturo na população estudada é governada por pelo menos seis genes, sendo um gene maior dominante e outros genes de efeito menor, com predominância de efeito gênico aditivo, e herdabilidade no sentido restrito moderada, o que permite antever possibilidade de fixação desse caráter nas gerações de seleção subsequentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, E.M., Uesugi, C.H., Ueno, B., Ferreira, M.A.S.V. (2007) Caracterização Morfocultural e Molecular de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Patogênicos ao Mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*. 32 (1): 21 – 31.
- AVRDC (1997) Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, *Tainan Taiwan*, 191p.
- AVRDC (1999) Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, *Tainan Taiwan*, vii + 152 p.
- Agrios, G. N. (1997) Plant Pathology. 4th ed. Londres: *Academic Press Limited*. 635.
- Ali, A., B ordoh, P.K., Singh, A., Siddiqui, Y., Droby, S. (2016) Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Protection*. 90: 132 – 141.
- Azevedo, C. P., Café filho, A. C., Henz, G. P., Reis, A. (2005) Pimentão: antracnose arrasadora. *Cultivar HF*, 18-20p.
- Bento, C. S., Souza, A. G., Sudré, C. P., Pimenta, S., Rodrigues, R. (2017) Multiple genetic resistances in *Capsicum* spp. *Genetic and Molecular Research*. 16 (3): 1 – 13.

- Bento, C. S., Rodrigues, R., Gonçalves, L. S. A., Oliveira, H. S., Santos, M. H., Pontes, M. C., Sudré, C. P. (2013) Inheritance of resistance to Pepper yellow mosaic virus in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Genetics and Molecular Research*. 12(2): 1074 – 1082.
- Bianchi, P.A. (2017) *Variabilidade intraespecífica para caracteres morfológicos, agronômicos e moleculares entre acessos de Capsicum chinense L.* Dissertação (mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Bonett, L.P., Almeida, M., Gonçalves, R.G.A., Aquino, T.F., Bernardi-Wenzel, J. (2010) Caracterização morfocultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós colheita. *Ambiência Guarapuava*. 6:451 – 463.
- Boonyapipat, P. (2013) Study of three fungicides to control anthracnose (*Colletotrichum capsici*) in chilli (*Capsicum frutescens*): case study from Songkhlaprovince. *Thail. Acta Horticulturae*. 973: 103 - 108.
- Campbell, C. L., Madden, L. M. (1990) *Introduction to plant disease epidemiology*. New York. John Wiley Sons.
- Candido, W. S., Castoli, R., Santos, L. S., Tobar-Tosse, D. E., Soares, P. L., Braz, L. T. (2017) Genetic parameters of resistance to *Meloidogyne incógnita* in melon. *Ciência Rural*. 47(5).
- Carrizo, G.C., Sterpetti, M., Volpi, P., Ummarino, M., Saccardo, F. (2013) Wild Capsicums: identification and in situ analysis of Brazilian species. XVth EUCARPIA Meeting on genetics and breeding of *Capsicum* and *Eggplant*. Torino, Italy. 205-213p.
- Carvalho, S.I.C.; Bianchetti, L.B (2004) Sistema de produção de pimentas (*Capsicum* spp.):botânica. Embrapa Hortaliças. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/botanica.html>..
- Carvalho, S.I., Bianchetti, L.B. (2008) Botânica e recursos genéticos. In: Ribeiro, C.S.C., Lopes, C.A., Carvalho, S.I.C., Henz, G.P.; Reifschneider, F.J.B. Pimentas *Capsicum*. Brasília: *Embrapa Hortaliças*. 39-54.

- Casela, C.R., Ferreira, A.S. (1987) Proposta de um sistema para classificação de raças de *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose em sorgo (*Sorghum bicolor*). *Fitopatologia Brasileira* 12:337-344.
- Caten, C.E. (1987) *In Populations of plant pathogens: Their dynamics and genetics, Concept of race in plant pathology*, eds Wolfe, M.S., Caten C.E. (Blackwell, Oxford, UK), p 21–37.
- Costa, R.V., Cota, L.V., Silva, C.C., Parreira, C.R., Casela, C.R., Landau, E.C. (2014) Races of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to maize in Brazil. *Crop Protection*. 56: 44 – 49.
- Cruz C.D. (2013) GENES - A Software Package for Analysis in Experimental Statistics and Quantitative Genetics. *Acta Sci. Agron.* 35: 271-276.
- Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2003) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: Editora UFV. 579p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (2001) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 390p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A. J., Carneiro, P.C. (2004) *Biometric templates applied to genetic improvement*. UFV, Viçosa. 480p.
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., Johnston, P. R., Weir, B. S., Tan, Y. P., Shivas, R. G., Crous, P. W. (2012) In: Damm, U., Cannon, P. F., Crous, P. W.(ed.) *Colletotrichum: complex species or species complex? Studies in Micology*. 73: 1 – 36.
- Davide, L. M. C. (2006) *Comprovação da variabilidade patogênica dentro da raça 65 de Colletotrichum lindemuthianum*. 60 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG
- Davide, L.M.C., Souza, E.A. (2009) Pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for common bean breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 9(1), 23-30.
- De Witt, D., Bosland, P.W. (1997) Peppers of the world: an identification guide. *Ten Speed Press*, Berkeley, California, 219p.

- Diao, Y.Z., Zhang, C., Liu, F., Wang, W.Z., Liu, L., Cai, L., Liu, X.L., (2017) *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. *Persoonia*. 38: 20 – 37.
- Diao, Y., Zhang, C., Xu, J., Lin, D., Liu, L., Mtung'e, O.G., Liu, X. (2015) Genetic differentiation and recombination among geographic populations of the fungal pathogen *Colletotrichum truncatum* from chili peppers in China. *Evol Appl* 8: 108–118.
- Filgueira, F. A. R. (2012) *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, 402p.
- Flor, H.H. (1955) Host-parasite interaction in flax rust-its genetic and other implications. *Phytopathology*. 45:680–685.
- Gopinath, K., Radhakrishnan, N.V., Jayaraj, J. (2006) Effect of propiconazole and difenoconazole on the control of anthracnose of chilli fruits caused by *Colletotrichum capsici*. *Crop Protection*. 25: 1024 -1031.
- Gower, J. C. (1971) A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*. *Arlington*.. 27 (4): 857-874.
- Habgood, R. M. (1970) Designation of physiological races of plant pathogens. *Nature*, v.227, 1268 – 1269p.
- Haddad F., Maffia L.A., Mizubuti E.S.G. (2003) Avaliação de fungicidas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. *Fitopatol. Bras*. 28: 435-437.
- Ishikawa, F. H., Ramalho, M. A. P., Souza, E. A. (2011) Common bean lines as potential differential cultivars for race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal of Plant Pathology*. 93 (2): 461 – 464.
- Juhász, A.C.P., Silva, D.J.H., Zerbini Júnior, F.M., Carneiro, P.C.S., Soares, B.O., Cruz, C.D. (2008) Base genética da resistência de um acesso de tomate silvestre ao mosaico-amarelo do pimentão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 43 (6): 713 – 720.
- Kamoun, S., Kamdar, H.V., Tola, E., Kado, C.I. (1992) Incompatible interactions

- between crucifers and *Xanthomonas campestris* involve a vascular hypersensitive response: Role of the *hrpX* locus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 5: 22 – 23.
- Kanto T, Uematsu S, Tsukamoto T, Moriwaki, J., Yamagishi, N. (2014) Anthracnose of sweet pepper caused by *Colletotrichum scovillei* in Japan. *Journal of General Plant Pathology*. 80: 73–78.
- Kim, K.D., Oh, B.J., Yang, J. (1999) Differential interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* isolates with green and red pepper fruits. *Phytoparasitica*. 27 (2) – 97 – 106.
- Kim, S.H., Yoon, J.B., Do, J.W., Park, H.G. (2007) Resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in Chili Pepper (*Capsicum annuum*). *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 10(4) – 277 – 280.
- Kim, S.H., Yoon, J.B., Do, J.W., Park, H.G. (2008a) A major recessive gene associated with anthracnose resistance to *Colletotrichum capsici* in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Breeding Science*. 58: 137 – 141.
- Kim, S.H., Yoon, J.B., Park, H.G. (2008b) Inheritance of Anthracnose Resistance in a New Genetic Resource, *Capsicum baccatum* PI594137. *Journal of Crop Science Biotechnology*. 11: 13 – 16.
- Kumar, N., Jhang, T., Sharma, S., Sharma, T. R. (2011) Molecular and Pathological Characterization of *Colletotrichum falcatum* Infecting Subtropical Indian Sugarcane. *Journal of Phytopathology*. 159: 260 – 267p.
- Liao, C.Y., Chen, M.Y., Chen, Y.K., Wang, T.C., Sheu, Z.M., Kuo, K.C., Chang, P.F.L., Chung, K.R., Lee, M.H. (2012) Characterization of three *Colletotrichum acutatum* isolates from *Capsicum* spp. *European Journal of Plant Pathology*. 133: 599 – 608.
- Lin, S. W., Gniffke, P. A., Wang, T. C. (2007) Inheritance of resistance to pepper anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Acta Horticulturae*. 769: 329 – 334.

- Lobo, V.L. da S., Giordano, L., Lopes, C.A. Herança da Resistência à Mancha Bacteriana em Tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*. 30(4): 343 – 349.
- Lopes, C. A., Ávila, A. C. (2003) Doenças do pimentão: diagnose e controle. Brasília: *Embrapa Hortaliças*, p. 96.
- Maechler, M., Rousseeuw, P., Struyf, A., Hubert, M., Hornik, K. (2017) Cluster: *Cluster Analysis Basics and Extensions*. R package version 2.0.6.
- Mahasuk, P., Khumpeng, N., Wasee, S., Taylor, P.W.J., Mongkolporn, O. (2009a) Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum capsici*) at seedling and fruiting stages in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Breeding*. 128: 701 – 106.
- Mahasuk, P., Taylor, P.W.J., Mongkolporn, O. (2009b) Identification of Two New Genes Conferring Resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Capsicum baccatum*. *Phytopathology*. 99: 1100 – 1104.
- Manandhar, J.B., Hartman, G.L., Wang, T.C. (1995) Anthracnose development on pepper fruits inoculated with *Colletotrichum gloesporioides*. *Plant Disease*. 79: 380 – 3.
- Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Research*, Birmingham. 27 (2): 209-220.
- Matiello, R.R., Brunelli, K.R., Lopes, M.T.G., Morello, R.M.S.C., Silva, H.P., Camargo, L.E.A. (2012) Inheritance of resistance to anthracnose stalk rot (*Colletotrichum graminicola*) in tropical maize inbred lines. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 12: 179 – 184.
- Mather, K., Jinks, J.L. Introdução à genética biométrica. Ribeirão Preto: *Sociedade Brasileira de Genética*, 1984. 242p
- McKay, SF, Freeman, S, Monz, D, Maymon, M, Sedgley, M, Collins, GC, Scott, ES (2009) Morphological, Genetic, and Pathogenic Characterization of *Colletotrichum acutatum*, the Cause of Anthracnose of Almond in Australia. *Phytopathology*. 99:985 – 995.
- Monroy-Barbosa, A., Bosland, P. W. (2011) Identification of Novel Physiological Races of *Phytophthora capsici* Causing Foliar Blight Using the New Mexico

- Recobinant Inbred Pepper Lines Set as a Host Differential. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 136 (3): 205 – 210.
- Montri, P., Taylor, P. W. J., Mongkolporn, O. (2009) Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. *Plant Disease*, v. 93,p.17 – 20.
- Moriwaki, J., Sato, T., Tsukiboshi, T. (2003) Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum boninenses* p. nov. from Japan. *Mycoscience*. 44:47 – 53.
- Moscone E.A., Scaldaferrro, M.A., Grabiele, M., Cecchini, N.M., García, Y.S., Jarret, R., Daviña, J.R., Ducasse, D.A., Barboza, G.E., Ehrendorfer, F. (2007) The evolution of chili peppers (*Capsicum* – Solanaceae): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae* 745: 137-169
- Mulamba, N.N., Mock, J. J. (1978) Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egypt Journal of Genetics and Cytology*. 7: 40 – 51.
- Nascimento, W.M., Dias, D.C.F.S., Freitas, R.A.F. (2006) Produção de sementes de pimentas. *Informe agropecuário*, 27: 30-39.
- Pakdeevvaraporn, P., Wasee, S., Taylor, P.W.J., Mongkolporn O. (2005) Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. *Plant Breeding*.124(2): 206 – 208
- Park, H.K., Kim, B.S., Lee, W.S. (1990) Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in pepper (*Capsicum annuum* L.) I. Genetic analysis of anthracnose resistance by diallel crosses. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*. 31: 91 – 105.
- Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D.M., Piperno, D.R., Berman, M. J.,Cooke, R.G., Radermaker, K., Ranere, A.J., Raymond, S., Sandweiss, D.H., Scaramelli,F., Tarble, K., Zeidler, J.A., (2007) Starch Fossils and the Domestication and Dispersal ofChilli Peppers (*Capsicum*spp. L.) in the Americas. *Science*. 315:986-988.

- Pozzobon, M. T., Schifino-Wittmann, M. T., Bianchetti, L. B. (2006) Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species: do $x = 12$ and $x = 13$ represent two evolutionary lines?. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 151: 259 – 269.
- R Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ramalho, M. A. P., Santos, J. B., Zimmermann, M. J. (1993) *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro*. Editora UFG, Goiânia, 271p.
- Reis, A., Boiteux, L. S., Henz, G. P. (2009) Antracnose em Hortaliças da Família Solanacea. Brasília: *Embrapa Hortaliças*. 9p. (Circular Técnica 79).
- Ribeiro, T., Esteves, J.A.F., Silva, D.A., Gonçalves, J.G.R., Carbonell, S.A.M., Chiorato, A.F. (2016) Classification of *Colletotrichum lindemithianum* races in differential cultivars of common bean. *Acta Scientiarum Agronomy*. 38(2)
- Riva, E.M., Rodrigues, R., Pereira, M.G., Sudré, C.P., Karasawa, M. (2004) Inheritance of bacterial spot disease in *Capsicum annum*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 4: 490- 494.
- Rocha, M.C., Gonçalves, L.S.A., Rodrigues, R., Silva, P.R.A., Carmo, M.G.F., Abboud, A.C.S. (2010) Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. *Acta Scientiarum*. 32(3), 423-431p.
- Rockenbach, M. F., Velho, A. C., Gonçalves, A. E., Mondino, P. E., Alaniz, S. M., Stadnik, M. J. (2016) Genetic Structure of *Colletotrichum fructicola* Associated to Apple Bitter Rot and Glomerella Leaf Spot in Southern Brazil and Uruguay. *Phytopatology*. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0222-R>
- Rufino, J.L.S., Pentead, D.C.S. (2006) Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. *Informe Agropecuário*. 27(235):7-15.

- Saxena, A., Raghuwanshi, R., Singh, H.B (2014) Molecular, phenotypic and pathogenic variability in *Colletotrichum* isolates of subtropical region on north-eastern India, causing fruit rot of chillies. *Journal of Applied Microbiology*. 117:1422 – 1434.
- Saxena, A., Raghuwanshi, R., Gupta, V.K., Singh, H.B., Mahavidyalaya, M. (2016) Chilli anthracnose: The epidemiology and management. *Frontiers in Microbiology*. 4: 1–53.
- Silva, K.S., Rebouças, T.N.H., Lemos, O.L., Bomfim, M.P., Bomfim, A.A., Esquivel, G.L., Barreto, A.P.P., José, A.R.S., Dias, N.O., Tavares, G.M. (2006) Patogenicidade causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal – SP. 28:131 – 133.
- Silva, K.J.D., Souza, E.A., Ishikawa, F.H. (2007) Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the state of Minas Gerais, Brazil. *Journal of Phytopathology* 155: 241-247.
- Silva, S.A.M., Rodrigues, R., Gonçalves, L.S.A., Sudré, C.P., Bento, C.S., Carmo, M.G.F., Medeiros, A. (2014) Resistance in *Capsicum* spp. to anthracnose affected by different stages of fruit development during pre- and post-harvest. *Tropical Plant Pathology*. 39(4): 335 – 341.
- Simmonds, J. H. (1965) A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruitrots in Queensland. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Science*.22: 437–459.
- Sharma G, Shenoy, B.D. (2014) *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 47: 1179–1194
- Sneath, P.H., Sokal, R.R. (1973) Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman. 573p.
- Souza, E. A., Camargo Júnior, O. A., Pinto, J. M. A. (2010) Sexual recombination in *Colletotrichum lindemuthianum* occurs on a fine scale. *Genetics and Molecular Research*, 9(3), 1759-1769.

- Souza, T. L. P. O., Ragagnin, V. A., Sanglard, D. A., Moreira, M. A., Barros, E. G. (2007) Identification of races of selected isolates of *Uromyces appendiculatus* from Minas Gerais (Brazil) based on the new international classification system.
- Sutton, B. C. (1992) The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum* (pp. 1–26). In J. A. Bailey & M. J. Jeger (Eds.), *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford, UK: CAB International.
- Suwor P, Thummabenjapone P, Sanitchon J, Kumar S, et al. (2015) Phenotypic and genotypic responses of chili (*Capsicum annuum* L.) progressive lines with different resistant genes against anthracnose pathogen (*Colletotrichum* spp.). *Europ. J. Plant Pathol.* 143: 725-736.
- Suwor, P., Sanitchon, J., Thummabenjapone, P., Kumar, S., Techawongstien, S. (2017) Inheritance analysis of anthracnose resistance and marker-assisted selection in introgression populations of chili (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae.* 220: 20 – 26
- Syukur, M., Sujiprihati, S., Koswara, J., Widodo. (2013) Genetic analysis for resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) using diallel crosses. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics.* 45 (3): 400 – 408.
- Than, P.P., Jeewon, R., Hyde, K.D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., Taylor, P.W.J. (2008a) Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology.* 57: 562 – 572.
- Tozze Júnior, H.J., Firmino, A.C., Fischer, I.H., Furtado, E.L., Massola Junior, N.S. (2015) Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica.* Botucatu. 41(4): 270 – 280.
- Tozze Júnior, H. J., Mello, M. B. A., Massola Júnior, N. S. (2006) Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. *Summa Phytopathologica.* 32(2), 71 – 79.

- Vicente, J.G., Conway, J., Roberts, S.J., Taylor, J. D. (2001) Identificaion and origin of *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* races and related pathovars. *Phytopathology*. 91(5): 492 – 499.
- Vinnere, O (2004) Approaches to Species Delineation in Anamorphic (mitosporic) Fungi: A Study on Two Extreme Cases. *Comprehensive summaries of Uppsala dissertations from the Faculty of Science and Technology*, Uppsala, 917:72.
- Tran, N.H., Kim, B.S. (2010) Inheritance of resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in pepper (*Capsicum annuum* L.) *Horticulture Environment And Biotechnology*. 51 (5) – 431 – 439.
- Ying, S. C., Li, M. S., Hai, Z. Z., Alain, P., Hao, W. L., Xi. Z. B. (2015) Resistances to anthracnose (*Colletotrichum acutatum*) of *Capsicum* mature green and ripe fruit are controlled by a major dominant cluster of QTLs on chromosome P5. *Scientia Horticulturae*. 181: 81 – 88p.