

HERANÇA DE CARACTERES AGRONÔMICOS E DA RESISTÊNCIA
AO *Pepper yellow mosaic virus* em *Capsicum baccatum* var.
pendulum

LEANDRO SIMÕES AZEREDO GONÇALVES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2010

HERANÇA DE CARACTERES AGRONÔMICOS E DA RESISTÊNCIA
AO *Pepper yellow mosaic virus* em *Capsicum baccatum* var.
pendulum

LEANDRO SIMÕES AZEREDO GONÇALVES

“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 Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas”.

Orientadora: Prof^a Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2010

HERANÇA DE CARACTERES AGRONÔMICOS E DA RESISTÊNCIA
AO *Pepper yellow mosaic virus* em *Capsicum baccatum* var.
pendulum

LEANDRO SIMÕES AZEREDO GONÇALVES

“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 Doutor em Genética e Melhoramento
de Plantas”

Aprovada em 26 de abril de 2010

Comissão Examinadora:

Prof. Francisco Murilo Zerbini Jr. (Ph.D., Virologia Vegetal) - UFV

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D. Sc. Genética e Melhoramento de
Plantas) – UENF

Prof^a Valdirene Moreira Gomes (D. Sc. Ciências Biológicas) - UENF

Prof^a Rosana Rodrigues (D. Sc. Produção Vegetal/Melhoramento de Plantas) -
UENF
Orientadora

Aos meus pais, Roêmio e Rosalina.
Aos meus irmãos, Rafael e Janaina.
A minha namorada Renata Robaina Robaina.
E a todos os meus amigos.

Dedico.

AGRADECIMENTO

A Deus;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade concedida para realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

À professora Rosana Rodrigues, pela orientação, confiança e amizade.

Ao Professor Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pela sua dedicação à pesquisa e por ser um grande incentivador

Aos demais professores do curso, pela oportunidade de aprendizado, incentivo e confiança.

A amiga incondicional Cláudia Pombo Sudré, pela ajuda e companheirismo.

Aos amigos e amigas de UENF.

Aos técnicos e todos os funcionários do LMGV e do CCTA, pelo apoio na realização deste objetivo.

A todos, mesmo que não estejam citados que, direta ou indiretamente, estiveram presente durante este trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. A espécie <i>Capsicum baccatum</i>	4
2.1.1. Origem e botânica.....	4
2.1.2. Importância Econômica.....	5
2.1.3. Variedades Botânicas e cultivares de <i>C. baccatum</i>	7
2.2. <i>Pepper yellow mosaic virus</i> (PepYMV).....	8
2.2.1. Características gerais.....	8
2.2.2. Potyvirus em <i>Capsicum</i>	9
2.2.3. Herança e resistência genética a PepYMV em <i>Capsicum</i>	11
2.3. Bases teóricas para o uso de cruzamentos dialélicos.....	12
2.4. Proteínas relacionadas à patogênese em plantas.....	14
3. Trabalhos.....	17
3.1. Capacidade combinatória de características agronômicas e de resistência ao PepYMV em <i>Capsicum baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	17
3.1.1. Resumo.....	17
3.1.2. Abstract.....	18
3.1.3. Introdução.....	19
3.1.4. Material e Métodos.....	21

3.1.5. Resultados e discussão.....	28
3.1.6. Conclusões.....	40
3.1.7. Literatura citada.....	41
3.2. Uso de marcador tipo CAPS na seleção de plantas de <i>Capsicum</i> spp. resistentes ao PepYMV contendo o gene <i>Pvr4</i>	45
3.2.1. Resumo.....	45
3.2.2. Abstract.....	46
3.2.3. Introdução.....	47
3.2.4. Material e Métodos.....	49
3.2.5. Resultados e discussão.....	53
3.2.6. Conclusões.....	55
3.2.7. Literatura citada.....	55
3.3. Proteínas relacionadas à patogênese em <i>Capsicum baccatum</i> var. <i>pendulum</i> resistente ao <i>Pepper yellow mosaic virus</i>	59
3.3.1. Resumo.....	59
3.3.2. Abstract.....	60
3.3.3. Introdução.....	60
3.3.4. Material e Métodos.....	62
3.3.5. Resultados e discussão.....	65
3.3.6. Conclusões.....	71
3.3.6. Literatura citada.....	71
3.4. Herança de caracteres relacionados à produção de frutos em <i>Capsicum baccatum</i> var. <i>pendulum</i> com base em análise dialélica de Hayman.....	75
3.4.1. Resumo.....	75
3.4.2. Abstract.....	76
3.4.3. Introdução.....	77
3.4.4. Material e Métodos.....	79
3.4.5. Resultados e discussão.....	92
3.4.6. Conclusões.....	99
3.4.7. Literatura citada.....	100
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104

RESUMO

GONÇALVES, Leandro Simões Azeredo; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Abril, 2010; Herança de caracteres agrônômicos e da resistência ao *Pepper yellow mosaic virus* em *Capsicum baccatum* var. *pendulum*; orientadora: Rosana Rodrigues; Conselheiros: Valdirene Moreira Gomes e Antonio Teixeira do Amaral Júnior.

Um dos principais entraves no cultivo da pimenta é a ocorrência de doenças, que representam um fator limitante da produção. Entre as doenças, o mosaico amarelo causado pelo *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) é considerado uma das mais importantes para a cultura da pimenta, e obter cultivares resistentes é prioridade nos programas de melhoramento no Brasil. O objetivo geral do presente trabalho foi iniciar um programa de melhoramento de *C. baccatum* var. *pendulum* visando à resistência a doenças e à alta produtividade. Para tanto, utilizaram-se cinco genótipos de *C. baccatum* var. *pendulum*, sendo dois resistentes ao PepYMV (UENF 1624 e UENF 1732) e três suscetíveis (UENF1616, UENF 1629 e UENF 1639), em esquema de dialelo completo, sem recíprocos. Foram conduzidos experimentos em condições de campo, sob estrutura protegida (polítúnel), na área de convênio UENF/PESAGRO-RIO, em Campos dos Goytacazes, RJ, no período de julho a dezembro de 2009, para características agrônômicas e, em câmara de crescimento, para avaliação da resistência ao PepYMV. Nas condições do polítúnel, o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com três repetições, cujas características agrônômicas avaliadas foram: diâmetro da copa (DC); altura de planta (ALTP); dias para a

frutificação (DF); número de frutos por planta (NFP); peso médio do fruto (PMF); massa seca do fruto (MSF); teor de matéria seca (TMS); comprimento do fruto (CF); diâmetro do fruto (DIAM); espessura da polpa (ESP); teor de sólidos solúveis totais (TSS); e produção por planta (PROD). A resistência ao PepYMV foi avaliada em delineamento inteiramente ao acaso com seis repetições, e as plantas foram mantidas a 22° C (\pm 2° C) e fotoperíodo de 16 horas de luz. Pelo teste F, todas as características foram significativas. As características ALTP, PMF, MSF, TMS, ESP e TSS não revelaram significância para capacidade específica de combinação (CEC), indicando que a dominância não exerce influência no controle desses caracteres para o controle genético dessas características. Para as características DC, DF, NFP, COMP, DIAM, PROD e REST, houve significância tanto para capacidade geral de combinação (CGC) quanto para CEC, indicando variabilidade resultante dos efeitos aditivos e de dominância no controle das características. Pela estimativa dos componentes quadráticos, as características COMP, DIAM e REST expressaram superioridade dos efeitos genéticos aditivos, enquanto, em DC, DF, NFP e PROD, houve maior efeito de dominância. Os híbridos UENF 1629 x UENF 1732, UENF 1616 x UENF 1732 e UENF 1624 x UENF 1639 foram indicados como promissores por possuírem características agrônomicas favoráveis associadas à resistência ao PepYMV. Com os resultados obtidos pelos híbridos, supõe-se que a resistência é governada por um gene dominante, sendo esta hipótese corroborada, devido à detecção da presença do gene *Pvr4* nos genótipos resistentes. Em relação aos parâmetros genéticos relacionados às características agrônomicas, somente PMF, MSF e PROD tiveram ausência de significância nos três testes de suficiência do modelo aditivo-dominante, indicando haver homogeneidade entre as variâncias e covariâncias e, conseqüentemente, ausência de epistasia no controle do caráter. Para as características PMF e MSF, os efeitos genéticos aditivos foram os mais importantes, ao contrário da PROD em que o efeito de dominância foi o mais importante. Verificaram-se dominância parcial para PMF e MSF, e sobredominância para PROD. Os genitores UENF 1616 e UENF 1629 foram os que tiveram as maiores concentrações de alelos favoráveis para as três características em estudo. Para o estudo da identificação de proteínas relacionadas à patogênese (PRs) ao patossistema *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – PepYMV, utilizaram-se mudas do acesso *C. baccatum* (UENF 1624).

Com 45 dias de idade, folhas jovens do acesso foram inoculadas com o vírus e, após períodos de 24, 48, 72, 96 h, as mesmas foram coletadas para análise. As proteínas analisadas foram: PR-2 (β -1,3 glucanase), PR-3 (quitinases), PR-9 (peroxidase) e PR-14 (proteína de transferência de lipídios). Não foi observada diferença no padrão proteico entre mudas-controle e infectadas em relação às proteínas PR-2, 3 e 14. No entanto, para a PR-9, houve diferença nos tempos de 48 e 72 h após a inoculação, registrando-se um aumento na expressão da peroxidase nas mudas infectadas.

ABSTRACT

GONÇALVES, Leandro Simões Azeredo; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; April, 2010; Inheritance of agronomic traits and resistance to *Pepper yellow mosaic virus* in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*; Advisor: Rosana Rodrigues; Committee members: Valdirene Moreira Gomes and Antonio Teixeira do Amaral Júnior.

One of the main hindrances to the chilli pepper cultivation is the occurrences of diseases which represent a limited factor to the production. Among the diseases, the yellow mosaic caused by the *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) is considered one of the most important ones for the chili pepper and obtaining resistant cultivars is a priority concerning improvement programs in Brazil. The general objective of the current work was to begin an improvement program of *C. baccatum* var. *pendulum* aiming the resistance to diseases and high productivity. In order to do that, it was used five genotypes of *C. baccatum* var. *pendulum* being two of them resistant to PepYMV (UENF 1624 and UENF 1732) and three of them susceptible (UENF 1616, UENF 1629 and UENF 1639), in scheme of complete diallelic, without reciprocal ones. Experiments were carried out under field conditions, under protective structure (poli-tunnel) in area from the consortium UENF/PESAGRO-RIO, in Campos dos Goytacazes, RJ, from July/2009 to December/2009, for agronomic traits and in the chamber of growing for assessment of the resistance to PepYMV. Regarding the poli-tunnel conditions, the experimental delineation was the one of casualized blocks with three

repetitions and the following agronomic traits were evaluated: canopy diameter (CD); plant height (PH); days for fructification (DF); number of fruits by plant (NFP); fruit average-weight (FAW); fruit dry mass (FDM); dry matter (DM); fruit length (FL); fruit diameter (FD); pulp thickness (PT); total soluble solids (TSS); and production by plant (PROD). The resistance (REST) to PepYMV was evaluated in delineation completely at random with six repetitions and the plants were maintained at 22°C (\pm 2°C) and photoperiod of 16h under light. Through F test, all characteristics were significant. The characteristics PH, FAW, FDM, DM, PT and TSS did not show significance for specific capacity of combination SCC, indicating that the dominance does not influence on the control of these characters within the genetic control of these features. For the CD, DF, NFP, FL, FD, PROD and REST characteristics, there was relevance not only to the general capacity of combination (GCC), but also to the SCC, indicating variability resultant from the additive effects and the dominance in the control of features. By the estimative of the quadratic components, the characteristics FL, FD and REST expressed superiority of the additive genetic effects whereas there was larger dominance effect regarding the CD, DF, NFP and PP features. The hybrids UENF 1629 X UENF 1732, UENF 1616 X UENF 1732 and UENF 1624 X UENF 1639 were indicated as promising ones since they possess favorable agronomic characteristics associated to the resistance to PepYMV. With the results obtained by the hybrids, it is supposed that the resistance is governed by a dominant gene being this the hypothesis corroborated due to the detection of the presence of the *Pvr4* gene in the resistant genotypes. Regarding the genetic parameters related to the agronomic characteristics, only FAW, FDM and PROD had absence of significance concerning the three tests of sufficiency of the additive dominant model, indicating that there is homogeneity among the variances and co-variances and, consequently, lack of epistasis in the control of character. For the FAW and FDM features, the additive genetic effects were the most important ones. On the contrary, in the PROD the dominance effect was the most important. It was verified a partial dominance for FAW and FDM, and an over-dominance for PROD. The genitors UENF 1616 and UENF 1629 were the ones which had larger concentrations of favorable alleles for the three characteristics under study. Concerning the identification study of pathogenesis-related proteins (PRs) to the pathosystem *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – PepYMV, it was used

seedlings of access *C. baccatum* (UENF 1624). At the age of 45, young leaves of the access were inoculated with the virus and, after periods of 24h, 48h, 72h and 96h, the same ones were collected for analysis. The proteins analyzed were: PR-2 (β -1, 3 gluconase), PR-3 (quitinases), PR-9 (peroxidase) and PR-14 (lipid transfer protein). It was not observed difference in the proteic standard between control seedlings and infected ones in relation to the proteins PR-2, 3 and 14. However, for the PR-9, there was difference in timing of 48h and 72h after the inoculation, registering an increase within the expression of the peroxidase within the infected seedlings.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, no qual estão inseridos os pimentões e as pimentas, é originário das Américas, e é amplamente difundido por todo o mundo, sendo cultivado tanto em regiões tropicais quanto em temperadas. Em relação às pimentas, o continente Asiático têm sido o grande destaque no quesito produção. No Brasil, o mercado de pimentas, considerado até pouco tempo secundário em relação às outras hortaliças, devido ao baixo consumo e ao pequeno volume comercializado, tem assumido grande importância para o país (Nascimento et al., 2007; Pereira e Rodrigues, 2006).

Existe grande variabilidade genética entre as pimentas, observadas principalmente nos frutos com diferentes formatos, coloração, tamanhos e pungência. As pimentas têm uso bastante variado, podendo seus frutos ser utilizados como condimentos, em molhos e conservas. Outro mercado importante para as pimentas é o de plantas ornamentais, em razão da folhagem variegada, do porte anão e dos frutos com diferentes cores no processo de maturação (Moreira et al., 2006). As plantas de pimenta se caracterizaram por produzirem frutos que possuem uma ardência típica, determinada pela presença de alcaloides, em especial da capsaicina. Este alcaloide possui propriedades diversas, sendo considerado antimicrobiano (Carvalho et al., 2003), antioxidante (Howard et al., 2000), analgésico (Dasgupta e Fowler, 1997) e, com isso, cresce o interesse industrial pelas pimentas.

São cultivados no Brasil diferentes tipos varietais pertencentes a quatro espécies domesticadas de *Capsicum* (*C. frutescens*, *C. chinense*, *C. annuum* var. *annuum* e *C. baccatum* var. *pendulum*) e, pelo menos três espécies semidomesticadas (*C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. praetermissum* e *C. baccatum* var. *baccatum*).

Um dos principais entraves no cultivo da pimenta é a ocorrência de doenças, que representam um fator limitante da produção (Lopes e Ávila, 2003). Entre as doenças, o mosaico amarelo causado pelo *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) é considerado uma das mais importantes para cultura da pimenta, e obter cultivares resistentes é prioridade nos programas de melhoramento no Brasil (Nascimento et al., 2007). Os sintomas ocasionados pelo PepYMV em *Capsicum* incluem encrespamento nas folhas, desenvolvimento do mosaico com tonalidade verde-amarelada, redução geral do tamanho da planta e dos frutos e deformação dos mesmos (Carmo et al., 2006).

A principal forma de controle do PepYMV é a resistência genética, que tem uma série de vantagens, principalmente referentes aos aspectos econômicos, ecológicos e práticos (Menten, 1990). Em *Capsicum* spp., as primeiras fontes promissoras de resistência ao PepYMV descritas foram *C. annuum* 'Criollo de Morellos 334' (resistência monogênica dominante) e *C. chinense* 'PI 159236' (resistência monogênica recessiva) (Boiteux et al., 1996).

No mercado, encontram-se algumas cultivares de pimentão ('Myr-10' e 'Myr-29') e alguns híbridos como 'Magali R', 'Reinger', 'Laser', 'Konan R' e 'Natalie' resistentes ao PepYMV (Echer e Costa, 2002; Nascimento, 2005). Entretanto, não existem relatos de cultivares de pimenta resistentes ao PepYMV no mercado.

Bento et al. (2009), avaliando 127 acessos de *Capsicum* spp. existentes no banco de germoplasma da UENF quanto à reação ao PepYMV, identificaram nove genótipos resistentes ao PepYMV, sendo dois acessos da espécie *C. baccatum* var. *Pendulum*, e sete da espécie *C. chinense*.

A maioria dos estudos genéticos realizados no gênero *Capsicum* foi desenvolvida com a espécie *C. annuum*, apesar da enorme variabilidade genética que o gênero possui para um grande número de características de interesse agrônômico (Souza e Maluf, 2003). As informações sobre heterose em outras espécies domesticadas, particularmente *C. baccatum*, são escassas.

O objetivo geral do presente trabalho foi iniciar um programa de melhoramento de *C. baccatum* var. *pendulum* visando á resistênciã a doenças e à alta produtividade. Os objetivos específicos foram: i) avaliar a capacidade combinatória de acessos de *C. baccatum* var. *pendulum* no que diz respeito a características agronômicas e de resistênciã ao PepYMV; ii) identificar combinações híbridas superiores; iii) inferir sobre os modos de ação gênica envolvidos na expressão dos caracteres em estudo; iv) detectar a possível presença do gene Pvr4 em três acessos de *C. baccatum* var. *pendulum*, oito acessos de *C. chinense* e três acessos de *C. annuum*; v) avaliar a indução de proteínas PRs, com ênfase nas classes PR-2, PR-4, PR-9 e PR-14, em plantas de *C. baccatum* var. *pendulum* resistentes ao PepYMV.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A espécie *Capsicum baccatum*

2.1.1 Origem e botânica

A hipótese mais provável do centro de diversidade do gênero *Capsicum* é a Bolívia, com posterior migração e especiação nas regiões dos Andes e terras baixas da Amazônia (Pickersgill, 1971; McLeod et al., 1982; Eshbaugh et al., 1983; Moscone et al., 2007). Hoje, o gênero se encontra difundido por todo o mundo, sendo cultivado tanto em regiões tropicais quanto em temperadas.

Plantas desse gênero pertencem à Divisão Spermatophyta, Filo Angiospermae, Classe Dicotyledoneae, Ramo Malvales-Tubiflorae, Ordem Solanales (Personatae) e Família Solanaceae (Andrews, 1995).

O gênero *Capsicum* é composto por 31 espécies confirmadas e cinco em vias de serem classificadas (Pozzobon et al., 2006; Moscone et al., 2007). As espécies são classificadas de acordo com o nível de domesticação. Dessa forma, o gênero é constituído por cinco espécies domesticadas: *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* e *Capsicum pubescens* (Pickersgill, 1971; Bianchetti, 1996; Moreira et al., 2006).

As flores dessas espécies são hermafroditas, favorecendo a autopolinização, embora a taxa de polinização cruzada possa ser elevada, dependendo da ação de insetos polinizadores (Filgueira, 2000). Em relação ao

número de cromossomos, o gênero *Capsicum* possui $2n= 24$, entretanto, algumas espécies silvestres possuem $2n= 26$ (Moscone et al., 2007).

Outra característica desse gênero é a sua alta variabilidade de tipos de frutos, cores, formas, tamanhos e intensidade da pungência. A última característica é exclusiva do gênero *Capsicum*, e é atribuída a alcaloides, mais especificamente a dois capsaicinoides: a capsaicina e a diidrocapsaicina. Tais alcaloides acumulam-se na superfície da placenta e são liberados quando o fruto sofre qualquer dano físico. O teor de capsaicinoide é avaliado pela escala de Unidades de Calor *Scoville* (em Inglês, *Scoville Heat Units –SHU*) ou por meio de equipamentos específicos. O valor SHU pode variar de zero (pimentas doces) a 300.000 (pimentas picantes) (Carvalho et al., 2003).

A espécie *Capsicum baccatum* possui duas formas ou variações: *C. baccatum* var. *pendulum*, que é a variedade domesticada desta espécie e está amplamente difundida nas regiões tropicais baixas da América do Sul, principalmente da costa do Peru ao Brasil. A segunda é a variedade semidomesticada *C. baccatum* var. *baccatum*, que tem distribuição semelhante à da domesticada. As variedades botânicas de *C. baccatum* exibem uma alta cruzabilidade com mais de 55% de viabilidade polínica nos híbridos (Eshbaugh, 1970). O maior centro de diversidade desta espécie é a Bolívia, sugerindo que este seja também o seu centro de origem (Eshbaugh, 1993; Moscone et al., 2007).

Em relação às características botânicas, *C. baccatum* var. *pendulum* possui corola branca com manchas amareladas e uma única flor por nó (Viñals et al, 1996), enquanto *C. baccatum* var. *baccatum* possui manchas esverdeadas e duas a três flores por nó, sendo estas as únicas diferenças entre as variedades (IBPGR, 1983).

2.1.2 Importância Econômica

Há grandes perspectivas e potencialidades do mercado de pimentas devido à versatilidade de suas aplicações culinárias, industriais, medicinais e ornamentais. Entretanto, as estatísticas mundiais de área cultivada, produção, exportação e consumo são escassas e, geralmente, são divulgadas em conjunto

com pimentão, dificultando o entendimento das perspectivas para esse mercado específico (Rufino e Penteado, 2006).

Apesar dessas limitações, a produção mundial estimada foi em torno de 28 milhões de toneladas em 2006 (FAO, 2008). Deve-se, todavia, salientar que essa estatística não separa os tipos não-pungentes dos pungentes e nem considera a finalidade de produção.

Os maiores volumes de produção ocorrem na China, no México e na Turquia. Esses três países produzem em torno de 60% da produção mundial, sendo a China a maior produtora com uma produção de 13 milhões de toneladas no ano de 2006 (FAO, 2008).

Linguanotto Neto (2006), em sua apresentação no II Encontro Nacional do Agronegócio Pimentas (*Capsicum spp.*), realizado no Brasil, mostrou dados da área plantada, da produção e da exportação de pimentas, destacando-se o Continente Asiático, que reúne os principais países produtores e exportadores de pimentas. Uma segunda região importante no cultivo de pimentas compreende os Estados Unidos, México e países do Caribe. Em relação aos importadores, têm destaque os países da União Européia, os Emirados Árabes, Sri Lanka, Malásia, Japão e Coréia.

No Brasil, o mercado de pimentas, considerado até pouco tempo secundário em relação às outras hortaliças, devido ao baixo consumo e ao pequeno volume comercializado, vem assumindo grande importância para o país (Pereira e Rodrigues, 2006; Nascimento et al., 2007). Essa mudança está relacionada à introdução de novos tipos de frutos e ao desenvolvimento de novos produtos que agregam valor, seja na forma de molhos, conservas, geleias, pimenta desidratada em pó (páprica), dentre outras, que têm contribuído para ampliação do setor (Nascimento et al., 2007). Além disso, é um segmento de grande importância social, pois requer grande quantidade de mão-de-obra, em especial na colheita (Moreira et al., 2006).

No Censo Agropecuário de 2006, a produção foi de aproximadamente 19 mil toneladas, sendo os Estados de Minas Gerais, São Paulo e Goiás os principais estados produtores (Rufino e Penteado, 2006). No Estado do Rio de Janeiro, a produção de pimentas é pequena quando comparada com a de outros estados produtores. Contudo, este mercado está em crescimento, diferentemente

do mercado de pimentão que, ao longo dos anos, está tendo um declínio acentuado de produção (Ceasa-RJ, 2008).

2.1.3 Variedades Botânicas e cultivares de *C. baccatum*

Poucas companhias de sementes de pimentas existem no Brasil, e aquelas que fazem melhoramento restringem-se a alguns tipos específicos, como cultivares de pimenta do tipo ‘Jalapeño’ (sementes importadas), ‘Cambuci’, ‘Malagueta’ e ‘Dedo-de-moça’ (Moreira et al., 2006).

Para a espécie *C. baccatum*, as variedades botânicas são divididas em *C. baccatum* var. *pendulum* (variedades ‘Dedo-de-moça’ e ‘Cambuci’) e *C. baccatum* var. *baccatum* (‘Cumari’). As características de cada variedade botânica são:

‘Dedo-de-moça’ – É considerada a pimenta mais consumida no Brasil, especialmente nas regiões Sul e Sudeste. As plantas são arbustivas, com cerca de 1 m de altura. Os frutos são alongados, de coloração vermelha quando maduros, e medem cerca de 1-1,15 cm de diâmetro e 8-10 cm de comprimento e de pungência suave. Dependendo da região e dos diferentes usos, a mesma pimenta do tipo ‘Dedo-de-moça’ pode receber outros nomes comuns, como pimenta ‘Chifre-de-veado’, por apresentar frutos maiores e de coloração mais intensa, sendo muito utilizado para confecção de molhos; e pimentas ‘vermelhas’ ou ‘calabresa’, quando utilizadas desidratadas na forma de flocos com sementes (Carvalho et al., 2003; Moreira et al., 2006).

‘Cambuci’ – Também chamada ‘Chapéu de bispo’ ou ‘Chapéu-de-frade’, têm frutos em formato campanulado, de tamanho mediano e, geralmente, com 4 cm de comprimento e 7 cm de largura; a coloração do fruto é verde ou verde-clara quando imaturo, e vermelha, após a maturação. Os frutos são considerados doces, entretanto, podem ser encontrados, no mercado, cultivares levemente pungentes (Carvalho et al., 2003; Moreira et al., 2006).

‘Cumari’ – Também conhecida como “Cumari-verdadeira”, pimenta-passarinho, “Cumari-miúda”, “Comari” ou “Pimentinha”, possui frutos pequenos, eretos, de formato arredondado, com cerca de 0,5 cm de diâmetro, ou ovalado com 0,6 a 0,7 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro. Possui aroma suave, pungência elevada, utilizada em conservas (Carvalho et al., 2003; Moreira et al., 2006).

2.2 *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV)

2.2.1 Características gerais

O mosaico amarelo causado pelo *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) é considerado, atualmente, a principal doença viral na cultura da pimenta (Nascimento et al., 2007). Esta espécie pertence ao gênero *Potyvirus*, família Potyviridae, e é considerada a maior e, economicamente, mais importante entre os fitovírus (Berger et al., 2005). Os membros dessa família estão agrupados em seis gêneros - *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus* - que diferem quanto ao tipo de vetor e à organização do genoma. Os potyvirus são considerados cosmopolitas, infectando mais de 2000 espécies de plantas em mais de 550 gêneros e 81 famílias (Berger et al., 2005).

O gênero *Potyvirus* é o mais numeroso da família, com 91 espécies. Todas as espécies virais pertencentes a esse gênero possuem partículas alongadas, flexuosas, com 680 a 900 nm de comprimento por 11 a 13 nm de diâmetro. Seu material genético é constituído de uma molécula de fita simples de RNA com aproximadamente 10 kb de comprimento, possuindo a proteína Vpg ligada a sua extremidade 5', e uma cauda poli-A na extremidade 3'. O RNA é envolto por aproximadamente 2.200 cópias de uma proteína capsidial, com peso molecular de cerca de 34KDa (Spetz et al., 2003; Berger et al., 2005). A tradução ocorre em uma única fase de leitura (ORF), que codifica uma poliproteína com cerca de 350KDa, processada por três proteases virais (P1, HC-Pro e NIa), originando nove produtos (Shukla et al., 1994).

A principal forma de transmissão dos potyvírus é por meio de insetos vetores, especificamente os afídeos. O vírus é adquirido durante as picadas de prova, fica retido no estilete e na porção anterior do esôfago, e é transmitido durante a regurgitação e salivação que antecedem novas picadas de prova. A transmissão é considerada de maneira não-circulativa, já que o vírus fica restrito ao aparelho bucal do inseto (Berger et al., 2005; Carmo et al., 2006).

A transmissão depende de dois fatores: o componente "helper" (HC-Pro), proteína codificada pelo vírus que facilita a adesão da partícula viral na superfície do estilete dos afídeos, e da proteína capsidial do vírus.

Os vírus do gênero *Potyvirus* podem ser também transmitidos experimentalmente, por meio de inoculação mecânica, por meio do extrato bruto ou de preparações purificadas de vírus (Shukla et al., 1994).

O processo de infecção inicia-se quando o vírus, ao penetrar a célula da planta hospedeira, dissocia o RNA viral do capsídeo e, posteriormente, redireciona a tradução da célula hospedeira a favor da tradução do RNA viral, com o objetivo de produção da sua poliproteína (Léonard et al., 2002). A poliproteína sofre autoprotéolise, formando as proteínas virais necessárias para todo o ciclo de infecção. Em seguida, ocorre a replicação do RNA viral, que pode ser transportado para outras células ou formar novas partículas virais (Zerbini e Maciel-Zambolim, 1999).

Os sintomas causados na planta devido à infecção dos potyvirus podem ser de natureza bioquímica (aumento da taxa respiratória, alteração no equilíbrio hormonal e redução da atividade fotossintética) acompanhada de natureza histológica (indo desde a infecção latente, seguida ou não de deformação foliar, até necrose de folhas, entre outros). A intensidade dos sintomas depende da cultivar ou do híbrido plantado, da estirpe do vírus e das condições ambientais (principalmente temperatura) (Hinrichs-Berger et al., 1999; Carmo et al., 2006).

2.2.2 Potyvírus em *Capsicum*

O primeiro relato da ocorrência de potyvírus em *Capsicum* foi feito por Smith, em meados da década 30 (De Bokx e Hutting, 1981, citado por Arnedo-Andrés et al., 2002). Nove espécies do gênero *Potyvirus* já foram descritas e identificadas em *Capsicum*. Entre elas, incluem-se o *Potato virus Y* (PVY), de ocorrência cosmopolita (Romero et al., 2001; Choi et al., 2005); *Tobacco etch virus* (TEV) e *Pepper mottle virus* (PepMov) de ocorrência na América do Norte (Nelson et al., 1982; Purcifull e Hiebert, 1982); *Pepper veinal mottle virus* (PVMV), de ocorrência na África (Berger et al., 2005); *Chili veinal mottle virus* (ChiVMov), de ocorrência na Ásia (Moury et al., 2005); *Pepper vein banding virus* (PVBV), de ocorrência na Índia (Anindya et al., 2004); *Peru tomato virus* (PTV), de ocorrência no Peru (Melgarejo et al., 2004); *Pepper severe mosaic virus* (PepSMV), de ocorrência na Argentina (Feldman e Garcia, 1977; Choi et al., 2006) e *Pepper*

yellow mosaic virus (PepYMV), de ocorrência no Brasil (Inoue-Nagata et al., 2002).

No Brasil, o PVY foi relatado pela primeira vez em 1950 em *Capsicum*, já causando grandes prejuízos para cultura (Costa e Alves, 1950). As perdas ocasionadas por essa virose levaram o pesquisador Hiroshi Nagai a iniciar o primeiro programa de melhoramento de *Capsicum annuum* no Brasil visando á resistência ao PVY, no Instituto Agrônomo de Campinas – SP (IAC) em 1961. Cultivares como ‘Porto Rico Wonder’, ‘Mogi das Cruzes’, ‘Casca Dura’ e uma pimenta (*Capsicum annuum*) introduzida da Flórida, denominada P11, foram utilizadas com sucesso na obtenção da resistência ao PVY, cada qual mostrando resistência às estirpes PVYⁿ, PVY^w, PVY^f e PVY^{ft}, respectivamente (Nagai, 1993).

Gebre-Selassie et al. (1985) propuseram uma classificação de isolados de PVY infectando o gênero *Capsicum*. Esta classificação foi realizada com base na resposta de cultivares diferenciadoras. Sendo assim, isolados de PVY da Europa e das regiões Mediterrâneas foram classificados em três patótipos (PVY-0, 1 e 1-2). Posteriormente, Luis-Arteaga et al. (1997), utilizando a mesma metodologia, descreveram um novo patótipo, denominado PVY-1-3.

Na década de 1990, foi verificada a ocorrência de um isolado de PVY com habilidade de induzir mosaico em cultivares resistentes ao PVY (‘Agrônomo 10G’, ‘Magda’ e ‘Margareth’), nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. Este isolado foi nomeado inicialmente como PVY^m (Boiteux et al., 1996; Echer e Costa, 2002; Sacchi et al., 2003).

Boiteux et al. (1996) relataram que a estirpe PVY^m representava um isolado do patótipo 1-2 do PVY. Entretanto, Inoue-Nagata et al. (2002), utilizando técnicas moleculares, identificaram que a estirpe PVY^M constitui uma nova espécie do gênero *Potyvirus*, denominando-a *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV).

O PepYMV predomina nos principais polos de produção de pimenta e pimentão no país e, junto com a murcha vascular causada por *Phytophthora capsici*, são considerados prioridades nos programas de melhoramento de *Capsicum* no Brasil (Ávila et al., 2004; Inoue-Nagata et al., 2002; Maciel-Zambolim et al., 2004; Nascimento et al., 2007).

O PepYMV e o PVY causam sintomas idênticos em pimentas e são relacionadas sorologicamente, embora possam ser diferenciados por alguns testes sorológicos, como *Double Antibody Sandwich Elisa* (DAS-ELISA) (Truta et

al., 2004; Cunha et al., 2004). Os sintomas causados, nas plantas de pimenta, pelo PepYMV incluem encrespamento nas folhas, desenvolvimento do mosaico com tonalidade verde-amarelada, redução geral do tamanho da planta e dos frutos e deformação dos frutos. Entretanto, a intensidade dos sintomas depende da cultivar ou do híbrido plantado, da estirpe do vírus e das condições ambientais, principalmente da temperatura (Carmo et al., 2006).

As principais formas de controle do PepYMV são a prevenção e a utilização de cultivares resistentes. Em relação à prevenção, diversas medidas devem ser adotadas como, por exemplo, uso de mudas sadias, controle do inseto vetor e evitar o plantio próximo a lavouras velhas de pimenta, pimentão e tomate, com o objetivo de diminuir o risco de infecção viral (Kurozawa et al., 2005)

A resistência genética representa uma importante estratégia no controle efetivo de viroses causadas por potyvírus. Esta alternativa tem uma série de vantagens em relação às demais opções de controle, principalmente referentes aos aspectos econômicos, ecológicos e práticos (Menten, 1990). Estima-se que 25% dos recursos destinados ao melhoramento convencional sejam utilizados no desenvolvimentos de variedades resistentes a doenças (Borém e Miranda, 2005).

2.2.3 Herança e resistência genética a PepYMV em *Capsicum*

Depois de quase 100 anos desde que Biffen descreveu a natureza Mendeliana da resistência das plantas aos patógenos, um dos principais objetivos do melhoramento de plantas é o desenvolvimento de cultivares resistentes aos patógenos. A resistência genética é considerada a principal forma de controle, devido ser altamente eficaz contra um organismo específico. Entretanto, as vantagens da resistência são combatidas pela capacidade de o patógeno evoluir e superar a proteção conferida pela resistência (García-Arenal e McDonald, 2003). Sendo assim, há uma constante necessidade de buscar genótipos que confirmam resistência aos patógenos.

Vários genes de resistência aos potyvírus em *Capsicum*, já foram identificados e vêm sendo utilizados em programas de melhoramento. Esses genes são divididos em dois grupos, sendo quatro recessivos (*pvr1*; *pvr2*; *pvr3* e *pvr5*) e três dominantes (*Pvr4*, *Pvr6* e *Pvr7*) (Parrela et al., 2002).

Em relação ao PepYMV, as primeiras fontes promissoras de resistência foram *C. annuum* 'Criollo de Morellos 334' e *C. chinense* 'PI 159236' (Boiteux et al., 1996). Boiteux et al. (1996), estudando a herança da resistência dos genótipos 'Criollo de Morellos 334' (CM334) e 'PI 159236', identificaram um gene dominante derivado de CM334 e um gene recessivo derivado de 'PI 159236'. Os mesmos autores sugeriram que o nome *Ry 1-2* fosse dado ao gene de resistência do CM334 e *et^{c1}* fosse dado ao gene de resistência do 'PI 159236'. Kyle e Palloix (1997) propuseram uma reclassificação dos genes resistentes ao potyvírus em *Capsicum*, definindo que os genes *et^{c1}* e *Ry 1-2* fossem classificados como *pvr1* e *Pvr4*, respectivamente.

No mercado, encontram-se diversas cultivares de pimentão de polinização livre Myr-10, Myr-29 e em alguns híbridos como 'Magali R', 'Reinger', 'Laser', 'Konan R' e 'Natalie' resistentes ao PepYMV (Echer e Costa, 2002; Nascimento, 2005). Entretanto, não existem relatos de cultivares de pimenta resistentes ao PepYMV no mercado.

Bento et al. (2009), avaliando 127 acessos de *Capsicum* spp. existentes no banco de germoplasma da UENF quanto à reação ao PepYMV, identificaram nove genótipos resistentes ao PepYMV, sendo dois acessos da espécie *C. baccatum* var. *pendulum* e sete da espécie *C. chinense*.

2.3 Bases teóricas para o uso de cruzamentos dialélicos

O termo dialelo tem sido utilizado para expressar um conjunto de $p(p-1)/2$ híbridos resultantes do cruzamento entre p genitores (linhagens, variedades, clones, etc.), podendo-se incluir, além dos pais, os híbridos recíprocos ou outras gerações relacionadas, tais como F_2 's, retrocruzamentos, entre outros (Cruz et al., 2004).

Pelo uso do método dialélico, é possível a determinação de estimativas de parâmetros úteis na seleção de genitores para hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (Ramalho et al., 1993; Cruz e Regazzi, 2001; Cruz et al., 2004).

Esquemas de dialelos que incluem F_1 s entre todos os pares de combinações dos genitores podem, adicionalmente, incluir os progenitores, seus híbridos recíprocos e, algumas vezes, outras gerações relacionadas, como F_2 's e

retrocruzamentos, que são chamados dialelos balanceados, completos ou de meia-tabela. Outros tipos de dialelo são os circulantes, nos quais não são obtidas todas as combinações possíveis entre os progenitores, embora esses sejam representados por um mesmo número de cruzamentos, havendo perda de informações a respeito dos híbridos cujos cruzamentos não foram realizados. Outro tipo são os incompletos, em que os progenitores são representados por um número variável de cruzamentos, que ocorre em decorrência de perdas de tratamentos ou insuficiência de sementes, por exemplo; e, por fim, os dialelos desbalanceados, nos quais todas as combinações híbridas estão presentes, porém, com número desigual de repetições por tratamento (Ramalho et al., 1993; Cruz e Regazzi, 2001; Cruz et al., 2004).

Dentre os métodos para análise de tabelas dialélicas, os mais utilizados são os propostos por Jinks e Hayman, ampliados por Hayman (1954), que se destaca na determinação do controle genético nas espécies estudadas, com imposição de uma série de restrições para sua validade; o método de Gardner e Eberhart (1966), que tem como destaque a estimativa da heterose; e o modelo proposto por Griffing (1956), que estima a capacidade geral de combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC) dos genótipos em cruzamentos, podendo-se identificar os genitores com maior CGC, e, portanto, promissores para os cruzamentos, e geração de populações segregantes com maior CEC. Além disto, se o modelo é aleatório, pode-se inferir sobre os componentes de variância genética, ou seja, variância aditiva e variância não-aditiva (Cruz et al., 2004).

A maioria dos estudos genéticos realizados no gênero *Capsicum* foi desenvolvida com a espécie *C. annuum*, apesar da enorme variabilidade genética que o gênero possui para um grande número de características de interesse agrônomo (Ribeiro, 1987, citado por Souza e Maluf, 2003). As informações sobre heterose em outras espécies domesticadas, particularmente *C. baccatum*, ainda são escassas.

Rego (2001) estudou o cruzamento dialélico, com a metodologia de Hayman (1954), de oito acessos de *C. baccatum* pertencentes ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, utilizando 14 características de qualidade do fruto e morfoagronômicas. Os resultados obtidos mostraram altas correlações nas características avaliadas, com exceção do teor

de matéria seca do fruto e diâmetro da copa entre fileiras, demonstrando a possibilidade de seleção precoce em componentes de produção. Os resultados obtidos permitiram concluir que tanto os efeitos de dominância como os aditivos contribuem na expressão das características diâmetro, comprimento e matéria fresca do fruto e número de frutos por planta, sendo que os efeitos aditivos foram preponderantes. Nessas circunstâncias, a seleção de linhas provenientes de gerações segregantes e a obtenção de híbridos visando explorar heterose ou heterobeltiose podem ser apropriadamente utilizadas como metodologias no melhoramento de pimenta.

Souza e Maluf (2003) avaliaram a heterose e seus componentes em híbridos F_1 provenientes de um cruzamento dialélico de *C. chinense*. O experimento foi conduzido em blocos completos com três repetições. Utilizaram-se 15 tratamentos, sendo cinco introduções de *C. chinense* e 10 híbridos F_1 resultantes dos cruzamentos entre esses genitores. Os caracteres estudados foram produção total, relação comprimento/diâmetro de fruto, matéria seca de frutos por planta, incidência de mancha-bacteriana, rendimento de capsaicina por planta e número de sementes por fruto. Os autores constataram a importância e a predominância de efeitos gênicos não-aditivos para todos os caracteres avaliados. O efeito de epistasia foi importante para matéria seca de frutos por planta, rendimento da capsaicina por planta e número de sementes por fruto. Para as demais características, quando não se detectou ação gênica epistática, a heterose se explicou pela ação gênica de dominância, nos seus mais variados graus, desde dominância incompleta até provável sobredominância.

2.4 Proteínas relacionadas à patogênese em plantas

Os mecanismos de defesa de plantas aos patógenos podem ser divididos em constitutivos e induzidos. Os constitutivos incluem barreiras físicas (por exemplo, papilas, halos, tricomas, cutículas) que dificultam a penetração do patógeno no tecido vegetal, e metabólitos secundários (por exemplo, alcaloides, compostos cianogênicos, fenólicos, glicosinolatos, terpenoides, etc.) que podem evitar a colonização, a reprodução e o desenvolvimento do patógeno. A defesa induzida é caracterizada pela ativação de cascatas de sinalização induzidas após

o estresse biótico, que ativam a transcrição de novos genes cujas proteínas resultantes participam na defesa (Walling, 2000).

Para a ativação das cascatas de sinalização é imprescindível que a planta reconheça o patógeno e ative a sinalização. Em trabalho clássico, Harold H. Flor propôs a existência de um sistema de reconhecimento gene-a-gene, ou seja, para cada gene de resistência do hospedeiro (*R*) há um gene correspondente de avirulência do patógeno (*avr*), e a interação entre os produtos gerados pelos *R* e *avr* leva à ativação dos mecanismos de defesa. O não reconhecimento dos produtos gerados pelos genes *avr* e *R* resultaria na disseminação da doença (Flor, 1971).

A rápida resposta ao reconhecimento entre os produtos dos genes *R* e *avr* leva à resposta de hipersensibilidade (HR), ou seja, leva à formação de lesões necróticas no sítio da infecção, após poucas horas do ataque do patógeno. Essas lesões são derivadas da morte celular programada (Feys e Parker, 2000), que impede a disseminação do patógeno.

A resistência pode também ser ativada após a infecção localizada por patógenos ou em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos, sendo conhecida como resistência sistêmica adquirida (“*systemic acquired resistance*”, SAR). SAR foi observada inicialmente por Chester (1933) que observou que plantas, normalmente, suscetíveis podiam adquirir resistência contra doença, após uma infecção primária causada por patógenos ou após o tratamento com formas atenuadas de agentes patogênicos. Posteriormente, Rossi (1961) mostrou que plantas de fumo, após a infecção localizada com o vírus do mosaico do fumo (TMV) e a consequente formação de lesões necróticas nas folhas inferiores, adquiriam resistência sistêmica contra vários patógenos. SAR está ligada ao aumento do ácido salicílico e à expressão de proteínas relacionadas à patogênese (proteínas PRs) (Walling, 2000; Vallad e Goodman, 2004).

Proteínas PRs começaram a ser investigadas na década de 1970, pelos pesquisadores Van Loon e Van Kammen. Foram primeiramente identificados em folhas de tabaco pela reação de hipersensibilidade à infecção pelos TMV. Tais proteínas foram depois descritas em plantas dicotiledôneas e monocotiledôneas, e descobriu-se que podiam ser induzidas por vários microorganismos (Pinheiro et al., 1999).

Van Loon e Van Strien (1999) propuseram uma nomenclatura para as proteínas PRs, agrupando-as em 14 classes, sendo as cinco primeiras observadas em plantas de tabaco infectadas pelo TMV, e identificadas como PR-1, PR-2 (β -1,3glucanase), PR-3 e PR-4 (quitinases) e PR-5 (taumatina-símile). Posteriormente, foram identificadas outras classes de proteínas PR em plantas de tabaco, tomate, *Arabidopsis* e beterraba, entre elas: PR-6 (inibidor de proteinase), PR-7 (endoproteinases), PR-8 (quitinase), PR-9 (peroxidase), PR-10 (ribonuclease-símile), PR-11 (quitinase), PR-12 (defensivas), PR-13 (tionina) e PR-14 (proteínas transportadoras de lipídeos) (Buchanan et al., 2000).

Em *Capsicum*, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos visando à identificação de proteínas microbianas (Alcazar et al., 1995; Kim e Hwang, 2000; Shin et al., 2001; Ribeiro et al., 2007). Shin et al., (2001) infectaram folhas de *Capsicum annuum* com TMV, sendo observada a expressão de genes de proteínas relacionadas à patogênese (PRs) com respostas ao agressor. Entre os genes das proteínas de defesa, foram detectados um gene para proteína cisteínica, dois para inibidores de proteinases e um para nsLTP.

3. TRABALHOS

3.1. CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E DE RESISTÊNCIA AO PepYMV EM *Capsicum baccatum* var. *pendulum*

3.1.1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a capacidade combinatória de acessos de *C. baccatum* var. *pendulum* no que diz respeito a características agronômicas e de resistência ao *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV); identificar combinações híbridas superiores; e inferir sobre os modos de ação gênica envolvidos na expressão dos caracteres em estudo. O experimento foi conduzido em condições de campo, sob estrutura protegida (politúnel), na área de convênio UENF/PESAGRO–RIO, em Campos dos Goytacazes, RJ, no período de julho a dezembro de 2009, para características agronômicas e, em câmara de crescimento, para avaliação da resistência ao PepYMV. Nas condições do politúnel, o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso casualizados com três repetições, cujas características agronômicas avaliadas foram: diâmetro da copa (DC); altura de planta (ALTP); dias para a frutificação (DF); número de frutos por planta (NFP); peso médio do fruto (PMF); massa seca do fruto (MSF); teor de matéria seca (TMS); comprimento do fruto (CF); diâmetro do fruto (DIAM);

espessura da polpa (ESP); teor de sólidos solúveis totais (TSS); e produção por planta (PROD). A resistência ao PepYMV foi avaliada em delineamento inteiramente ao acaso com seis repetições, e as plantas foram mantidas a 22°C (\pm 2°C) e fotoperíodo de 16 h de luz. A inoculação com o isolado de PepYMV foi feita aos 40 dias após o transplante das mudas, e a avaliação efetuada após 15 dias, utilizando-se uma escala de notas variando entre um (resistentes) e cinco (suscetíveis). Pelo teste F, todas as características foram significativas. As características ALTP, PMF, MSF, TMS, ESP e TSS não revelaram significância para CEC, indicando que a dominância não exerce influência no controle desses. Para as características DC, DF, NFP, COMP, DIAM, PROD e REST, houve significância tanto para CGC quanto para CEC, indicando variabilidade resultante dos efeitos aditivos e de dominância no controle das características. Pela estimativa dos componentes quadráticos, as características COMP, DIAM e REST expressaram superioridade dos efeitos genéticos aditivos, enquanto, para DC, DF, NFP e PROD, houve maior efeito de dominância. Os híbridos UENF 1629 x UENF 1732, UENF 1616 x UENF 1732 e UENF 1624 x UENF 1639 foram indicados como promissores por possuírem características agronômicas favoráveis, associadas à resistência ao PepYMV.

3.1.2 ABSTRACT

This study aimed to evaluate the combining ability of accessions from *C. baccatum* var. *pendulum* with respect agronomic traits and resistance to Pepper yellow mosaic virus (PepYMV) identify superior hybrids, and inferences about modes of gene action involved in the expression of traits under study. The experiment was carried out under field conditions, under protective structure (poly-tunnel), in the area of UENF/PESAGRO-RIO, in Campos dos Goytacazes, RJ, from July/2009 to December/2009 for agronomic characteristics and in chamber of growing for assessment of the resistance to PepYMV. Regarding the poly-tunnel conditions, the experimental delineation was the one of casualized blocks with three repetitions and the following agronomic characteristics were evaluated: canopy diameter (CD); plant height (PH); days for fructification (DF); number of

fruits per plant (NFP); mean fruit weight (FAW); fruit dry mass (FDM); dry matter (DM); fruit length (FL); fruit diameter (FD); pulp thickness (PT); total soluble solids (TSS); and production by plant (PP). The resistance (REST) to PepYMV was evaluated in delineation completely at random with six repetitions and the plants were maintained at 22°C (\pm 2°C) and photoperiod of 16h under light. The inoculation with the isolated of PepYMV was done over 40 days after transplanting of the seedlings and the evaluation performed after 15 days by using scales varying between one (resistant) and five (susceptible). Through F test, all characteristics were significant. The characteristics PH, FW, FDM, DM, PT and TSS did not show significance for SCC, indicating that the dominance does not influence on the control of these characters in the genetic control of these features. For the CD, DF, NFP, FL, FD, PROD and REST characteristics, there was relevance not only to GCC, but also to SCC, indicating variability resultant from the additive effects and the dominance in the control of features. By the estimative of the quadratic components, the characteristics FL, FD and REST expressed superiority of the additive genetic effects whereas there was larger dominance effect regarding CD, DF, NFP and PP features. The hybrids UENF 1629 X UENF 1732, UENF 1616 X UENF 1732 and UENF 1624 X UENF 1639 were indicated as promising ones as they possess favorable agronomic characteristics associated to the resistance of PepYMV.

3.1.3. INTRODUÇÃO

O mercado de pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil tem assumido grande importância no cenário econômico das olerícolas, em razão principalmente da grande variedade de produtos e subprodutos, usos e formas de consumo (Moreira et al., 2006; Bento et al., 2007; Henz e Ribeiro, 2008; Moura et al., 2010; Sudré et al., 2010). Contudo, o tamanho real e a importância desse mercado são difíceis de mensurar, em virtude da falta de estatísticas confiáveis e de informações sistematizadas (Henz e Ribeiro, 2008).

Dentre as 31 espécies de *Capsicum* encontradas e descritas, apenas cinco são cultivadas com fins comerciais: *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense*

Jacq., *C. frutescens* L. e *C. pubescens* Ruiz & Pav. (Moscone et al., 2007; Reifschneider e Ribeiro, 2008; Moura et al., 2010). Dentre estas, a espécie *C. baccatum* possui elevada variabilidade genética, evidenciada principalmente nos frutos que podem ter diferentes formatos, coloração, tamanhos e níveis de pungência (Lannes et al., 2007; Rêgo et al., 2009). Entre os tipos mais cultivados desta espécie estão a 'Dedo-de-moça' (ou chifre-de-veado) e a 'Cambuci' (ou chapéu-de-frade) (Carvalho et al., 2003).

As características produtividade, resistência a doenças e pragas, arquitetura da planta, precocidade, fácil destaque dos frutos durante a colheita, bem como as características do fruto (coloração, sabor, aroma, formato, tamanho, espessura da polpa e pungência) são os principais alvos dos programas de melhoramento de *Capsicum* (Wagner, 2003; Rêgo et al. 2009). Entre as doenças, o mosaico amarelo causado pelo *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) é considerado um dos principais entraves ao cultivo da pimenta, e é considerado prioridade em programas de melhoramento no Brasil (Nascimento et al., 2007).

Nesse sentido, o conhecimento da natureza do controle genético dessas características é de elevada importância para a condução eficiente de um programa de melhoramento, orientando a escolha dos procedimentos de seleção e dos métodos de melhoramento mais eficientes na condução de populações segregantes (Cruz e Regazzi, 2001; Lédo et al., 2001; Souza e Maluf, 2003). Entre os diferentes delineamentos genéticos, os cruzamentos dialélicos se destacam devido ao grande número de informações que pode oferecer ao melhorista de plantas (Ramalho et al., 1993; Bordallo et al., 2005; Rodrigues et al., 2009).

Dentre as metodologias de análise dialélica, a proposta de Griffing (1956) permite estimar a capacidade geral de combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC) dos genótipos em cruzamento. A CGC diz respeito ao comportamento médio de um genitor numa série de combinações híbridas e está associada aos efeitos aditivos dos alelos e às ações epistáticas do tipo aditivas. Por sua vez, a CEC permite estimar os desvios do comportamento de um híbrido em relação ao esperado, com base na CGC, estando associados aos efeitos de dominância e epistasia (Cruz e Vencovsky, 1989; Cruz e Regazzi, 1994).

Os trabalhos realizados com dialelo em *Capsicum* no Brasil, não obstante serem raros, têm-se concentrado, quase exclusivamente, nos cruzamentos entre variedades de pimentões (Souza e Maluf, 2003). Em relação à espécie *C. baccatum*, a maioria dos estudos está voltada para as condições de pré-melhoramento.

Rêgo et al. (2009) estimaram a CGC e CEC de oito acessos de *C. baccatum*, para as características qualidade do fruto e produtividade. Os autores observaram que, para quase todas as características avaliadas, ambos os efeitos aditivos e não-aditivos influenciaram no desempenho dos híbridos. Nessas circunstâncias, a seleção de linhas provenientes de gerações segregantes e a obtenção de híbridos, visando explorar a heterose ou a heterobeltiose, podem ser apropriadamente utilizadas no melhoramento desses genótipos.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar a capacidade combinatória de acessos de *C. baccatum* no que diz respeito a características agrônomicas e de resistência ao PepYMV, identificar combinações híbridas superiores, e inferir sobre os modos de ação gênica envolvidas na expressão dos caracteres em estudo.

3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

Genitores e obtenção dos híbridos

Foram utilizados cinco genitores de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) (UENF 1616, UENF 1624, UENF 1629, UENF 1639 e UENF 1732) (Figura 1). Esses genitores foram escolhidos em função da resistência ao PepYMV (Bento et al., 2009) e, nas características morfoagronômicas contrastantes, para as características altura de planta, tamanho e tipo do fruto (Bento et al., 2007) (Tabela 1).

Os cruzamentos envolvendo os cinco genitores foram realizados em esquema de dialelo completo, sem recíprocos, obtendo-se um total de 10 híbridos, conforme a expressão: $F_1 = \left[\frac{p(p-1)}{2} \right]$, onde p é o número de genitores.

As hibridações foram realizadas em condições de casa de vegetação, localizada na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) da UENF, utilizando-se oito vasos por genitor, cada um contendo uma planta, cujos cruzamentos foram realizados entre os meses de abril a junho de 2008. Botões florais recém-abertos de cada um dos genitores masculinos foram coletados para retirada do pólen. O pólen obtido de cada genitor foi armazenado em geladeira, dentro de recipientes contendo sílica-gel, devidamente identificados.



Figura 1 – Variabilidade para formato, tamanho e coloração de frutos e seus respectivos códigos de identificação dos genitores *Capsicum var. pendulum*, utilizados nos cruzamentos dialélicos.

Tabela 1 – Características morfoagronômicas e reação ao *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) dos cinco genitores de *Capsicum baccatum var. pendulum* utilizados neste estudo.

Nº UENF	Procedência	Hábito de crescimento	Cor do fruto maduro	Formato do fruto	Resistência Ao PepYMV*
1616	Viçosa, MG	Intermediário	Alaranjado	Alongado	S
1624	Campos, RJ	Ereto	Vermelho	Alongado	R
1629	Campos, RJ	Intermediário	Vermelho	Alongado	S
1639	Feltrin	Intermediário	Vermelho	Acampanulado	S
1732	Campos, RJ	Intermediário	Vermelho	Acampanulado	R

Fonte: Bento (2007); Bento et al. (2009).

Os botões florais das plantas dos cinco genitores femininos foram emasculados antes da antese, pela manhã, utilizando-se uma pinça de pontas finas e retas. No mesmo período, a polinização foi feita colocando-se grãos de pólen de cada um dos genitores masculinos nos estigmas de cada flor emasculada. Etiquetas foram utilizadas para identificar os frutos oriundos de cada diferente cruzamento.

Características agronômicas avaliadas

Para avaliação das características agronômicas, os híbridos e os genitores foram cultivados sob estrutura protegida, modelo politúnel, na área de convênio da UENF com a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO), Estação Experimental de Campos, em Campos dos Goytacazes, RJ. Os genótipos foram semeados em bandeja de isopor de 128 células, com substrato Plantmax[®] e, após o surgimento de dois pares de folhas definitivas, as mudas foram transferidas para o campo. Durante a condução do experimento, foram efetuados os tratos culturais normalmente recomendados para a cultura (Filgueira, 2005), como capinas, tutoramento, adubação e irrigação pelo sistema de microaspersão.

As características agronômicas avaliadas foram:

Diâmetro da copa (DC) – Mensurado com trena metálica na maior altura da planta em cm, quando 50% das plantas da parcela apresentaram frutos maduros.

Altura de planta (ALTP) – Mensurada com trena metálica na maior altura da planta em cm, quando 50% das plantas da parcela apresentaram frutos maduros.

Dias para frutificação (DF) – Número de dias do transplântio até 50% das plantas da parcela apresentarem frutos maduros na primeira e/ou segunda bifurcação.

Número de frutos por planta (NFP) – Somatório do número de frutos obtidos em todas as colheitas realizadas.

Peso médio do fruto (PMF) – Peso médio em gramas, utilizando-se a razão entre o peso total de frutos por planta e o número de frutos por planta.

Massa seca do fruto (MSF) – Peso médio em gramas de frutos secos, em gramas, utilizando-se estufa de circulação forçada a 65°C e 72 horas. Foram avaliados cinco frutos por planta.

Teor de matéria seca (TMS) – Razão entre MSF *versus* PMF, multiplicada por 100.

Comprimento do fruto (CF) – Mensurado no maior comprimento, em cm, quando o fruto estava maduro, utilizando-se paquímetro digital. Média de cinco frutos por planta.

Diâmetro do fruto (DIAM) – Mensurado na maior largura, em cm, quando o fruto estava maduro, utilizando-se paquímetro digital. Média de cinco frutos por planta.

Espessura da polpa (ESP) – Mensurada na maior espessura, em mm, quando o fruto estava maduro, utilizando-se paquímetro digital. Média de cinco frutos por planta.

Teor de sólidos solúveis totais (TSS) – Em °Brix, utilizando refratômetro digital.

Produção por planta (PROD) – Multiplicação de NFP e PMF (Kg.planta⁻¹).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições e nove plantas por parcela. O espaçamento foi de 1,0 x 0,9 m entre fileiras e plantas, respectivamente.

Resistência ao PepYMV

O experimento para avaliação da resistência ao PepYMV foi conduzido em câmara de crescimento, com temperatura, fotoperíodo e umidade controlados a 22°C, 16 horas e 80%, respectivamente (Figura 2). Foram testadas seis repetições de cada genitor e híbrido, em delineamento inteiramente ao acaso, totalizando 90 plantas. Duas plantas de cada tratamento foram utilizadas como controle.

Como fonte de inóculo, foram utilizadas plantas de *Nicotiana debneyi* infectadas com o isolado 3 de PepYMV, obtido de planta de pimentão coletada no campo do município de Igarapé, Estado de Minas Gerais (Truta et al., 2004), gentilmente cedido pelo Prof. Francisco Murilo Zerbini Júnior (Universidade Federal de Viçosa – UFV). A inoculação foi feita via extrato vegetal tamponado em fosfato potássio 0,05M, pH 7,2, contendo sulfato de sódio a 0,01% e utilizando *carborundum* (600 mesh) como abrasivo (Truta et al., 2004). As plantas foram inoculadas no estádio de três a quatro folhas definitivas e reinoculadas, 48 horas após a primeira inoculação, para evitar a ocorrência de escapes. Foram

inoculadas as duas folhas mais jovens completamente expandidas. Como controle negativo, duas plantas de cada acesso foram inoculadas apenas com a solução-tampão e o abrasivo.



Figura 2 – Condução de experimentos para avaliação da reação ao *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) em cinco genitores e 10 híbridos de *C. baccatum* var. *pendulum*, em câmara de crescimento, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

A avaliação foi realizada 15 dias após a primeira inoculação, quando os sintomas começaram a surgir, e foi realizada a cada dois dias, persistindo por 40 dias. A avaliação foi feita visualmente, utilizando-se uma escala de notas proposta por Bento et al. (2009): nota 1 – plantas com ausência visual de sintomas; nota 2 – plantas com sintomas leves; nota 3 – plantas com sintomas moderados; nota 4 – plantas com sintomas intensos; e nota 5 – plantas com sintomas severos, incluindo, mosaico generalizado, mosaico bolhoso, distorção foliar e redução da área foliar.

Análise dos dados

Todas as características agronômicas e de resistência ao PepYMV foram submetidas à análise de variância para verificar significância pelo Teste F. Posteriormente, foi realizado teste de agrupamento de médias, proposto por Scott-Knott (1974). A análise dialélica foi efetuada, utilizando-se o método 2 de Griffing (1956), no qual são incluídas as cultivares parentais e o conjunto de híbridos F_1 , em que se supõe que as cultivares são de efeito fixo e apenas o erro experimental é de efeito aleatório. Nesse modelo, todas as conclusões deveriam ser limitadas aos genótipos em estudo no presente trabalho.

O modelo estatístico da análise dialélica com base na média das repetições, seguintes efeitos:

$$y_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

onde:

y_{ij} = valor médio da combinação híbrida ($i \neq j$) ou do progenitor ($i=j$);

m = efeito médio de todos os tratamentos;

g_i = efeito da CGC do progenitor i , corresponde ao desvio de seu desempenho médio em combinações híbridas;

g_j = efeito da CGC do progenitor j ;

s_{ij} = efeito da CEC para os cruzamentos entre os progenitores i e j ; sendo

$$s_{ij} = s_{ji};$$

ε_{ij} = erro experimental médio associado às médias da tabela dialélica.

Para estimativa dos efeitos e das somas de quadrados dos efeitos, foi necessário adotar as restrições abaixo, já que esses parâmetros seriam obtidos a partir de um modelo linear $Y = X\beta + \varepsilon$, no qual a matriz X não é de posto-coluna completo.

$$\sum_i g_i = 0 \quad \text{e} \quad s_{ij} + \sum_i s_{ij} = 0$$

Considerando-se essa restrição, os estimadores dos efeitos são descrito a seguir (Cruz et al., 2004):

$$m = \frac{2}{p(p+1)} Y_{..}$$

$$g_i = \frac{1}{p+2} [Y_{ii} + Y_{i.} - \frac{2}{p} Y_{..}]$$

$$s_{ij} = Y_{ij} - \frac{1}{p+2} [Y_{ii} + Y_{ij} + Y_{i.} + Y_{.j}] + \frac{2}{(p+1)(p+2)} Y_{..}$$

A Tabela 2 mostra o esquema de análise de variância para CGC e CEC, com as respectivas esperanças de quadrados médios para o método 2, de Griffing (1956).

Tabela 2 – Esquema da análise de variância para CGC e CEC, segundo a metodologia de Griffing (1956), método 2, modelo1.

FV	GL	SQ	QM	F	E(QM)
CGC	p-1	Sg	QMG	QMG/QMR	$\sigma^2 + (p+2)\theta_g$
CEC	p(p-1)/2	Ss	QMS	QMS/QMR	$\sigma^2 + \theta_s$
Resíduo	f	Sr	QMR		σ^2

Onde:

f = (b-1)(g-1), que corresponde ao número de graus de liberdade do resíduo da análise preliminar;

$$Sg = SQ(g_i) = SQ(CGC) = \frac{1}{p+2} [\sum (Y_{i.} + Y_{ii})^2 - \frac{4}{p} Y_{..}^2];$$

$$Ss = SQ(s_{ij}) = SQ(CEC) = \sum \sum Y_{ij}^2 - \frac{1}{p+2} \sum (Y_{ii} + Y_{i.})^2 + \frac{2}{(p+1)(p+2)} Y_{..}^2$$

$$i \leq j$$

$$\theta_g = \frac{1}{p-1} \sum g_i^2$$

$$\theta_s = \frac{2}{p(p-1)} \sum \sum s_{ij}^2$$

$$i \leq j$$

Todas as análises genético-estatísticas foram realizadas pelo programa GENES (Cruz, 2006).

3.1.5. RESULTADO E DISCUSSÃO

Obtenção dos híbridos

Houve sucesso na obtenção de frutos (Figura 3) e sementes híbridas em todas as combinações de genótipos incluídas no trabalho. Um total de 495 cruzamentos foi realizado, obtendo-se 248 frutos, resultando numa taxa de pegamento de 50,10%. Entre os cruzamentos, o UENF 1616 x UENF 1732 obteve a maior taxa de pegamento com 57,18%. Em contrapartida, o cruzamento UENF1629 x UENF 1639 obteve a menor taxa de pegamento com 42,86% (Tabela 3). A hibridação é uma das maneiras mais eficientes de explorar a variabilidade genética existente em muitas espécies. Nesse contexto, o conhecimento da taxa de pegamento dos cruzamentos é uma informação crucial para o melhorista na condução do programa de melhoramento. Essa taxa de pegamento é influenciada principalmente por fatores abióticos (por exemplo, temperatura); pelo tipo de cruzamento (intraespecífico ou interespecífico) e pelo polinizador.

Campos (2006), avaliando cruzamentos interespecíficos entre as espécies *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. pubescens*, verificou que cruzamentos entre as espécies *C. annuum* x *C. baccatum*, *C. annuum* x *C. frutescens*, e *C. baccatum* x *C. frutescens* foram as combinações mais efetivas para produção de frutos com sementes viáveis. Os cruzamentos, incluindo os recíprocos *C. baccatum* x *C. chinense* e *C. frutescens* x *C. chinense*, foram os que proporcionaram menor número de frutos híbridos, apresentando ou não sementes viáveis.

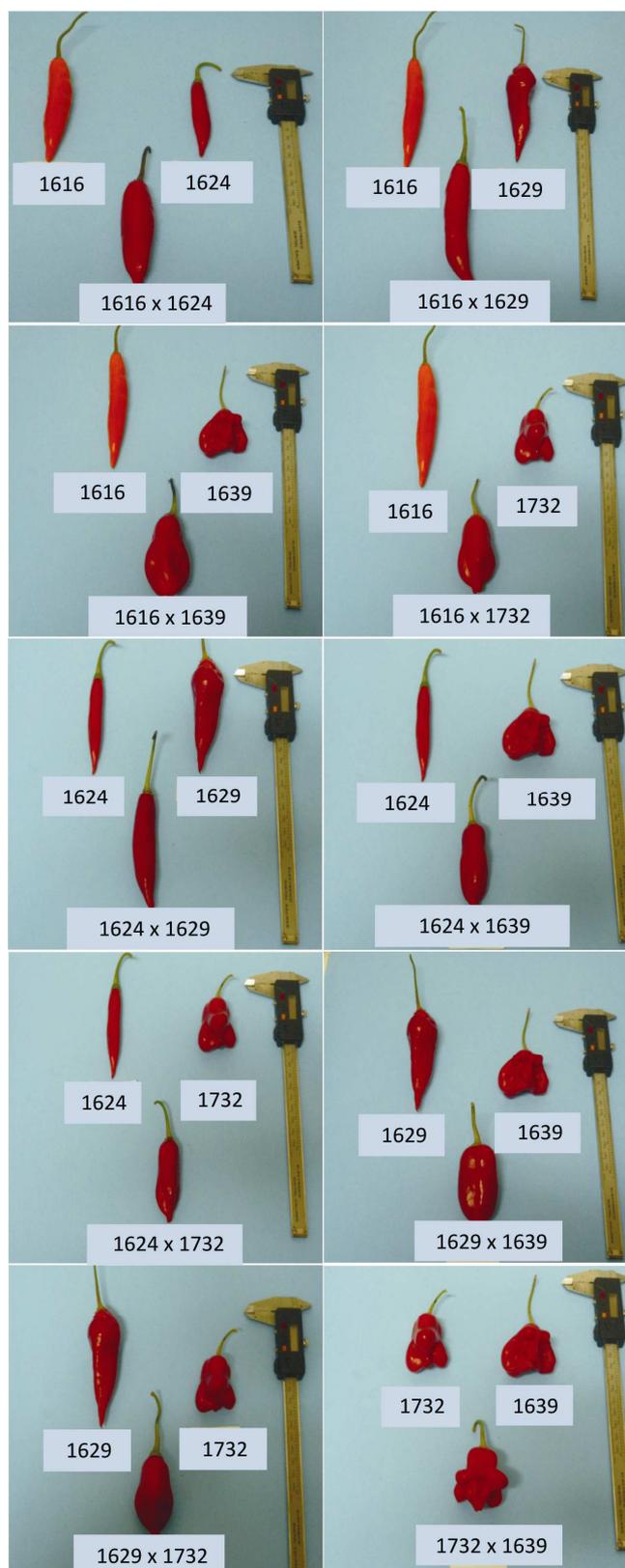


Figura 3 – Variabilidade observada para dez híbridos F_1 , em relação aos seus respectivos genitores e entre si, considerando formato e tamanho de frutos. Os cruzamentos foram feitos em esquema.

Tabela 3 – Cruzamentos intraespecífico entre cinco genitores de *C. baccatum* var. *pendulum* e percentual de formação de frutos.

Híbridos	Cruzamentos	Frutos obtidos	% de pegamento
UENF 1616 X UENF 1624	73	32	43,83
UENF 1616 X UENF 1629	23	11	47,83
UENF 1616 X UENF 1732	33	19	57,58
UENF 1616 X UENF 1639	58	34	58,62
UENF 1624 X UENF 1629	44	23	52,27
UENF 1624 X UENF 1732	49	26	53,06
UENF 1624 X UENF 1639	61	30	49,18
UENF 1629 X UENF 1732	52	25	48,08
UENF 1629 X UENF 1639	49	21	42,86
UENF 1732 X UENF 1639	53	27	50,94

Análise de variância e agrupamento de médias

Na análise de variância univariada, todas as características agrônômicas expressaram diferenças significativas entre os tratamentos, denotando a diferenciação dos genótipos (Tabela 4). Em relação ao coeficiente de variação (CV), a maioria das características avaliadas obtiveram valores inferiores a 20%, exceto NFP e PROD, com valores de 24,17 e 23,90%, respectivamente (Tabela 4). De acordo com Gomes (1990), os coeficientes de variação observados nos ensaios agrícolas de campo podem ser considerados baixos quando inferiores a 10%, médios quando variam de 10 a 20%, altos quando se estendem de 20 a 30%, e muito altos quando superiores a 30%. Nesse contexto, os valores obtidos, no presente trabalho, revelam uma boa precisão experimental, dando confiabilidade quanto aos resultados observados.

Para a característica resistência ao PepYMV, verificaram-se diferenças significativas entre os tratamentos, denotando diferenciação dos genótipos (Tabela 5). O coeficiente de variação foi 9,12, demonstrando uma boa precisão experimental.

Pelo teste de agrupamento Scott-Knott, verificou-se a formação de cinco grupos para DIAM; quatro grupos para COMP; três grupos para DC, DF, NFP, PMF, MSF, PROD e REST; dois grupos para ESP e TSS; e apenas um grupo para ALTP e TMS (%) (Tabela 6). Esses resultados ratificam os resultados obtidos pelo teste F, demonstrando a variabilidade entre os genótipos estudados.

Tabela 4 - Estimativas dos quadrados médios de genótipos de *C. baccatum* var. *pendulum* (genitores e F_{1s}), das capacidades geral e específica de combinação (CGC e CEC) e do resíduo, média dos efeitos quadrados dos efeitos da capacidade combinatória e coeficiente de variação (CV) para 12 características agrônômicas, avaliadas em dialelo completo sem os recíprocos. Campos dos Goytacazes, RJ.

FV	GL	Quadrados médios ^{1/}											
		DC	ALTP	DF	NFP	PMF	MSF	TMS	COMP	DIAM	ESP	TSS	PROD
Genótipos	14	304,69**	92,95*	48,90**	982,88**	89,04**	2,76**	2,41*	1593,98**	263,87**	0,31**	2,64**	0,23*
CGC	4	327,75**	164,03*	44,25**	1387,06**	267,26**	8,80**	4,92*	5217,24**	815,99**	0,94**	7,66**	0,28*
CEC	10	295,46**	64,52 ^{NS}	50,76**	821,21**	17,76 ^{NS}	0,35 ^{NS}	1,40 ^{NS}	144,67**	43,02**	0,07 ^{NS}	0,63 ^{NS}	0,21*
Resíduos	28	76,23	41,49	7,90	248,75	8,51	0,19	1,12	37,02	11,59	0,07	0,55	0,08
Médias dos quadrados dos efeitos													
CGC		11,98	7,68	1,73	54,21	12,32	0,41	0,18	246,68	38,30	0,041	0,34	0,01
CEC		73,08	5,84	14,28	190,82	3,08	0,05	0,09	35,89	10,48	0,002	0,03	0,04
CV (%)		11,81	9,65	2,06	24,17	15,08	13,81	6,46	7,86	10,29	10,01	8,01	23,90

^{1/} DC = diâmetro da copa (cm); ALTP = altura da planta (cm); DF = dias para frutificação; NFP = número de frutos por planta; PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); TMS = teor de matéria seca (%); COMP = comprimento do fruto (mm); DIAM = diâmetro do fruto (mm); ESP = espessura da polpa (mm); TSS = teor de sólidos solúveis totais (%); e PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹). ^{ns} = Não-significativo em nível de 0,05; * = Significativo em nível de 0,01; e * = significativo em nível de 0,05.

Tabela 5 – Estimativa do quadrado médio de genótipos de *C. bacatum* var. *pendulum* (genitores e F₁'s), das capacidades geral e específica de combinação (CGC e CEC) e do resíduo, média dos efeitos quadrados dos efeitos da capacidade combinatória e coeficiente de variação (CV) para característica resistência ao PepYMV, avaliadas em dialelo completo sem os recíprocos. Campos dos Goytacazes, RJ.

FV	GL	Quadrado médio
		Resistência ao PepYMV
Genótipos	14	10,3234**
CGC	4	26,5947**
CEC	10	3,8149**
Resíduos	98	0,2645
Média dos quadrados dos efeitos		
CGC		0,6269
CEC		0,5917
CV (%)		9,12

** = Significativo em nível de 0,01

Em relação às médias para DC, os genitores UENF 1629 e UENF 1639 obtiveram os maiores valores (77,22 e 75,62 cm, respectivamente), enquanto o genitor UENF 1624, o menor valor (45,93 cm). Já para os híbridos, os valores variaram entre 70,89 (UENF 1624 x UENF 1732) a 88,48 cm (UENF 1629 x UENF 1732). Essa característica é importante no quesito espaçamento, ou seja, genótipos com menores diâmetros de copa permitem espaçamentos menores, alocando maior número de plantas, favorecendo, assim, o aumento de produtividade. Para altura de planta, apesar de esta característica ter apresentado significância pelo teste F, foi observado apenas um grupo pelo teste de agrupamento de Scott-Knott. A utilização de outros testes, como, por exemplo, Tukey, Duncan e Scheffé, pode melhor explicar a variação entre os genótipos

Para DF, o genitor UENF 1616 apresentou maiores dias para frutificação, com 147 dias; enquanto UENF 1639; os menores valores, com 137 dias. Os híbridos variaram entre 131,67 (UENF 1624 x UENF 1639) a 137 dias (UENF 1616 x UENF 1624).

Tabela 6 - Médias de 13 características avaliadas em cinco genitores e 10 híbridos de *C. baccatum* var. *pendulum*, seguidas pelo agrupamento entre médias de Scott Knott, em 5% de probabilidade. Campos dos Goytacazes, RJ.

Genótipos ^{2/}	Características Agronômicas ^{1/}												Resistência ao PepYMV	
	DC	ALTP	DF	NFP	PMF	MSF	TMS	COMP	DIAM	ESP	TSS	PROD	Notas	Reação ^{3/}
P ₁	65,31 b	59,60 a	147,00 a	50,88 c	24,25 a	3,96 a	18,45 a	105,80 a	25,99 d	2,47 b	11,15 a	1,23 b	1,71 c	Rmoderada
P ₂	45,93 c	62,89 a	140,67 b	58,33 c	9,36 c	1,44 c	15,38 a	82,20 b	18,73 e	2,10 b	8,12 b	0,55 c	1,14 c	R
P ₃	77,22 a	63,99 a	138,33 b	37,64 c	28,06 a	4,79 a	17,11 a	91,74 b	33,79 c	3,11 a	9,71 a	1,06 b	4,43 a	S
P ₄	64,96 b	68,20 a	140,00 b	75,52 b	12,64 c	2,09 c	16,73 a	40,89 d	42,60 b	2,55 b	7,82 b	0,94 b	1,2 c	R
P ₅	75,62 a	71,82 a	137,33 c	51,61 c	23,54 a	3,83 a	16,56 a	44,64 d	48,66 a	3,09 a	9,85 a	1,19 b	4,75 a	S
P ₁ x P ₂	77,75 a	66,37 a	137,00 c	72,65 b	16,23 c	2,63 c	16,23 a	99,97 a	24,42 d	2,30 b	9,05 b	1,18 b	1,00 a	R
P ₁ x P ₃	79,99 a	56,59 a	135,33 c	56,94 c	20,98 b	4,18 a	17,82 a	105,70 a	29,09 c	2,64 b	9,87 a	1,18 b	2,63 b	S
P ₁ x P ₄	70,89 a	63,94 a	134,00 c	68,92 b	22,29 b	3,61 b	16,25 a	71,50 c	37,86 b	2,90 a	9,97 a	1,53 a	1,25 c	R
P ₁ x P ₅	76,92 a	68,89 a	133,67 c	67,62 b	19,84 b	3,13 b	15,82 a	80,86 b	31,76 c	2,65 b	10,37 a	1,35 b	2,5 b	S
P ₂ x P ₃	79,96 a	68,73 a	136,67 c	54,34 c	18,54 b	3,05 b	16,60 a	109,55 a	25,42 d	2,41 b	8,72 b	0,95 b	1,15 c	R
P ₂ x P ₄	70,24 a	65,19 a	132,67 c	87,13 b	13,07 c	2,08 c	16,07 a	64,88 c	25,28 d	2,38 b	8,01 b	1,16 b	1,13 c	R
P ₂ x P ₅	83,97 a	74,85 a	131,67 c	108,90 a	12,85 c	1,98 c	15,46 a	68,45 c	27,14 d	2,39 b	8,92 b	1,40 a	1,25 c	R
P ₃ x P ₄	88,48 a	73,52 a	133,33 c	79,52 b	22,01 b	3,47 b	15,81 a	67,56 c	37,68 b	2,77 a	9,90 a	1,74 a	1,00 c	R
P ₃ x P ₅	72,08 a	61,32 a	132,67 c	44,54 c	25,76 a	4,06 a	15,80 a	84,64 b	36,52 b	3,16 a	9,06 b	1,13 b	3,88 a	S
P ₄ x P ₅	79,77 a	75,07 a	134,00 c	64,23 c	20,63 b	3,34 b	15,30 a	42,47 d	51,47 a	2,89 a	8,76 b	1,31 b	1,25 c	R

^{1/} DC = diâmetro da copa (cm); ALTP = altura da planta (cm); DF = dias para frutificação; NFP = número de frutos por planta; PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); TMS = teor de matéria seca (%); COMP = comprimento do fruto (mm); DIAM = diâmetro do fruto (mm); ESP = espessura da polpa (mm); BRIS = teor de sólidos solúveis totais (%); PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹) e REST = resistência ao PepYMV (notas). ^{2/} P₁ = UENF 1616; P₂ = UENF 1624; P₃ = UENF 1629; P₄ = UENF 1732; e P₅ = UENF 1639. ^{3/}R = resistência; e S = Suscetibilidade.

Para a característica NFP, destacou-se o genitor UENF 1732, com 75,52 frutos por planta, seguido pelo genitor UENF 1624, com 58,33 frutos por planta. Em relação ao híbrido formado a partir desses genitores, verificou-se que este obteve 87,13 frutos por planta, sendo o segundo híbrido com maior número de frutos, atrás somente do cruzamento UENF 1624 x UENF 1639, que obteve 108,90 frutos por planta.

Em relação aos caracteres PMF e MSF, os genitores UENF 1616, UENF 1629 e UENF 1639 obtiveram frutos de maiores pesos (24,25 g; 28,06 g e 23,54 g; respectivamente) e, conseqüentemente, maior massa seca (3,96 g; 4,79 g e 3,83 g; respectivamente). O híbrido UENF 1629 x UENF 1639 apresentou o maior PMF e MSF, com 25,76 g e 4,06 g, respectivamente.

Para COMP e DIAM, verificou-se uma ampla variabilidade entre os genitores avaliados, variando entre 40,89 e 105,80 mm para COMP, e de 18,73 a 48,66 mm para DIAM, refletindo assim uma grande amplitude entre os híbridos, que variaram de 42,47 a 109,55 mm para COMP, e 24,42 a 51,47 mm para DIAM. Já para ESP e TSS, essa variação foi menor: de 2,10 a 3,11 mm e 7,82 a 11,15 °Brix, respectivamente, entre os genitores; e de 2,30 a 3,16 mm e 8,01 a 10,37 °Brix, respectivamente, entre os híbridos.

Entre os genitores avaliados, UENF 1624 foi o que obteve a menor produtividade, com 0,55 Kg.planta⁻¹, seguido de UENF 1732, UENF 1629, UENF 1639 e UENF 1616, com 0,94, 1,06, 1,19 e 1,23 Kg.planta⁻¹, respectivamente. Entre os híbridos, UENF 1629 x UENF 1732, UENF 1616 x UENF 1732, e UENF 1624 x UENF 1639 foram os mais produtivos, com 1,74, 1,53 e 1,40 Kg.planta⁻¹, respectivamente.

Os resultados obtidos, para a resistência ao PePYMV, pelos genitores foram semelhantes aos obtidos por Bento et al. (2009). Os genitores UENF 1624 e UENF 1732 obtiveram as menores notas e foram confirmados como resistentes ao PepYMV (Tabela 6). O genitor UENF 1616 obteve nota final média de 1,71, considerado como resistente moderado. Esse valor está próximo ao obtido por Bento (2008), cuja nota final média foi de 2,00. Entretanto, quando esse genótipo foi cruzado com acessos suscetíveis, verificou-se que todos os híbridos foram suscetíveis ao PepYMV. Já os genitores UENF 1629 e UENF 1639, obtiveram notas de 4,43 e 4,75, respectivamente. Em relação ao híbrido deste cruzamento, a nota foi de 3,88.

Com os resultados obtidos pelos híbridos, supõe-se que a resistência seja governada por um gene dominante. As primeiras fontes de resistência ao PepYMV identificadas foram CM-334 e *C. chinense* PI 159236 (Boiteux e Pessoa, 1994). Boiteux et al. (1996), estudando a herança da resistência desses genótipos, identificaram um gene de resistência dominante em CM-334 e um gene recessivo em PI 159236.

Análise dialélica

Pelo desdobramento da soma de quadrados de genótipos em soma de quadrados para capacidade geral de combinação, observou-se que a CGC foi significativa para todas as características estudadas, indicando que efeitos aditivos estão envolvidos no controle genético desses caracteres. Este fato é importante, sobretudo em se tratando de uma espécie autógama como *C. baccatum*, já que implica que os valores superiores para essas características podem ser fixados ao longo das sucessivas gerações de autofecundação, obtendo-se linhagens e cultivares superiores às existentes atualmente (Tabela 4). Deve-se ressaltar que não houve significância em termos de CEC para ALTP, PMF, MSF, TMS, ESP e TSS, indicando que efeitos de dominância não estão envolvidos no controle desses caracteres. Por outro lado, DC, DF, NFP, COMP, DIAM, PROD e REST, ao exibirem significância para CGC e CEC, revelaram que os efeitos aditivos e não-aditivos são relevantes no controle genético dessas características (Tabela 4).

Rêgo et al. (2009), avaliando diferentes características para qualidade do fruto e produtividade em *C. baccatum*, verificaram significância para os efeitos CGC e CEC para a maioria das características, exceto para altura da primeira bifurcação, que foi significativa apenas para CEC.

Quanto às estimativas dos componentes quadráticos, as características ALTP, PMF, MSF, TMS, COMP, DIAM, ESP, TSS e REST expressaram superioridade dos efeitos genéticos aditivos em relação aos não-aditivos, indicando ganhos satisfatórios para essas características (Tabela 4 e 5) (Miranda et al. 1988; Ramalho et al. 1993; Kurek et al. 2001). Por sua vez, para DC, DF, NFP e PROD, observou-se o inverso, ou seja, houve maior efeito de dominância, denotando que ganhos ou perdas para essas características exigem implementação de estratégias de melhoramento mais complexas (Tabela 3). É

importante destacar que trabalhos com análise dialélica em pimentas são raros, havendo, dentre os poucos estudos, divergência quanto aos resultados obtidos. Entretanto, os resultados obtidos, no presente trabalho, corroboram os obtidos por Rêgo et al. (2009), exceto para teor de sólidos solúveis totais, quando os autores verificaram efeitos não-aditivos.

A escolha dos genitores para a formação das populações segregantes é crucial para a obtenção de êxito nos programas de melhoramento, sendo a capacidade combinatória, com presença de genes complementares, a grande responsável pelo sucesso. Segundo Vencovsky e Cruz (1989), o baixo valor de CGC indica que a média dos híbridos em que a linhagem i participa não difere da média geral do dialelo. Por outro lado, altos valores, sendo positivo ou negativo, revelam que a linhagem i é muito melhor ou pior que as demais linhagens incluídas no dialelo, com relação à média de seus híbridos.

Nesse sentido, o genitor UENF 1624, torna-se promissor por seus valores de \hat{g}_i negativos e altos para DC e REST; e positivo e alto para NFP. Contudo, esse genitor torna-se inadequado para as características TMS, ESP, TSS e PROD, por obter valores de \hat{g}_i negativos para essas características (Tabela 7). Já o genitor UENF 1616 apresentou valores de \hat{g}_i negativos e altos para DC e ALTP, e positivos e altos para TMS e TSS. Em contrapartida, obteve valores negativos de \hat{g}_i para NFP.

O genitor UENF 1732 também apresentou valores de \hat{g}_i negativos para DC, DF e REST, e valor elevado de \hat{g}_i para NFP e PROD. Contudo, valores negativos de \hat{g}_i foram registrados para TMS (%) e TSS por esse genitor. Para os genitores UENF 1629 e UENF 1639, valores negativos e altos de \hat{g}_i para DF foram verificados, sendo esses resultados de interesse para o melhoramento devido à diminuição do ciclo da cultura no campo. Porém, os mesmos genitores apresentaram valores negativos de \hat{g}_i para NFP e positivos para REST, o que não é desejável já que implica contribuição negativa para a produção e aumento da suscetibilidade ao vírus. Em relação à PROD, o genitor UENF 1639 apresentou valores positivos de \hat{g}_i , ao contrário do genitor UENF 1629 que apresentou valores negativos.

Tabela 7 - Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) para 13 características avaliadas em cinco genitores de *C. baccatum* var. *pendulum* em esquema de dialelo completo, sem os recíprocos. Campos dos Goytacazes, RJ.

Genitores	Características Agronômicas ^{1/}												Resistência ao PepYMV
	DC	ALTP	DF	NFP	PMF	MSF	TMS	COMP	DIAM	ESP	TSS	PROD	Notas
UENF 1616	-1,066	-3,628	2,324	-3,375	1,688	0,345	0,695	15,042	-3,351	-0,069	0,835	0,079	-0,191
UENF 1624	-5,696	0,076	0,229	6,882	-5,229	-0,920	-0,434	6,130	-8,405	-0,322	-0,682	-0,196	-0,748
UENF 1629	4,473	-1,751	-0,438	-11,553	3,912	0,755	0,299	12,370	-0,326	0,181	0,180	-0,007	0,781
UENF 1732	-0,618	1,963	-0,533	8,474	-1,820	-0,338	-0,180	-19,450	5,561	0,017	-0,490	0,066	-0,732
UENF 1639	2,906	3,340	-1,581	-0,428	1,450	0,159	-0,380	-14,092	6,521	0,193	0,156	0,058	0,889

^{1/} DC = diâmetro da copa (cm); ALTP = altura da planta (cm); DF = dias para frutificação; NFP = número de frutos por planta; PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); TMS = teor de matéria seca (%); COMP = comprimento do fruto (mm); DIAM = diâmetro do fruto (mm); ESP = espessura da polpa (mm); BRIX = teor de sólidos solúveis totais (%); PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹) e REST = resistência ao PepYMV (notas).

De acordo com Cruz et al. (2004), o efeito da CEC é interpretado como desvio do híbrido em relação ao que seria esperado com base na CGC de seus genitores. Deste modo, baixos valores apresentados de s_{ij} indicam que os híbridos têm um comportamento conforme o esperado, com base nos valores da CGC, enquanto altos valores absolutos de s_{ij} indicam um desempenho melhor ou pior do que o esperado. Já o sinal de s_{ij} indica a existência ou não de dominância unidirecional, do que decorre: a) se s_{ij} for negativo, os desvios de dominância serão positivos e, neste caso, os genes dominantes contribuem para aumentos na expressão da característica; e b) se os sinais forem negativos e positivos, haverá expressão de dominância bidirecional (Cruz e Vencovsky, 1989; Cruz et al., 2004).

Nesse sentido, no que se referem às estimativas dos efeitos de s_{ij} , as características DC, NFP e PROD obtiveram sinais negativos para todos os genitores, indicando que houve dominância unidirecional no sentido de os genes dominantes contribuírem para aumento ou diminuição dessas características (Tabela 6). A característica DC teve as combinações UENF 1616 x UENF 1732 e UENF 1629 x UENF 1639 com os melhores resultados, por registrarem valores negativos para s_{ij} . Esse resultado não era esperado para a combinação UENF 1629 x UENF 1639, já que nenhum dos seus genitores apresentou valor negativo de g_i médio, o que demonstra que esse híbrido é melhor do que o esperado com base no g_i dos genitores (Tabela 8).

Referindo-se a NFP, destacaram-se as combinações UENF 1624 x UENF 1639, UENF 1629 x UENF 1732, UENF 1616 x UENF 1629, UENF 1624 x UENF 1732 e UENF 1616 x UENF 1639 com as estimativas mais elevadas para s_{ij} . No entanto, de acordo com as estimativas do efeito médio de g_i , apenas os genitores UENF 1624 e UENF 1732 foram superiores, porque apresentaram valores positivos elevados. Desse modo, apenas as combinações UENF 1624 x UENF 1639, UENF 1629 x UENF 1732 e UENF 1624 x UENF 1732 são promissoras, visto que possuem pelo menos um genitor superior para o efeito médio de g_i em relação à característica avaliada.

Tabela 8 - Estimativas dos efeitos da capacidade específica de combinação ($\hat{\sigma}_{ii}$ e $\hat{\sigma}_{ij}$) para 12 características avaliadas em dialelo completo entre cinco genitores de *C. baccatum* var. *pendulum* em esquema de dialelo completo, sem os recíprocos. Campos dos Goytacazes, RJ.

Efeitos ($\hat{\sigma}_{ii}$ e $\hat{\sigma}_{ij}$)	Características Agronômicas ^{1/}												Resistência ao PepYMV
	DC	ALTP	DF	NFP	PMF	MSF	TMS(%)	COMP	DIAM	ESP	TSS	PROD	Notas
P ₁ x P ₁	-6,49	0,12	6,06	-7,63	1,54	0,09	0,70	-1,67	-0,40	-0,04	0,19	-0,12	0,07
P ₁ x P ₂	10,57	3,19	-1,84	3,89	0,44	0,03	-0,39	1,41	3,09	0,04	-0,39	0,11	-0,08
P ₁ x P ₃	2,64	-4,76	-2,84	6,62	-3,96	-0,10	0,47	0,90	-0,33	-0,13	-0,43	-0,09	0,01
P ₁ x P ₄	-1,36	-1,12	-4,08	-1,43	3,08	0,43	-0,63	-1,48	2,55	0,30	0,34	0,19	0,14
P ₁ x P ₅	1,14	2,45	-3,36	6,17	-2,63	-0,55	-0,86	2,52	-4,50	-0,13	0,10	0,02	-0,22
P ₂ x P ₂	-16,62	-3,99	3,92	-20,68	0,49	0,10	-0,11	-7,45	2,45	0,09	0,20	-0,25	0,61
P ₂ x P ₃	7,24	3,67	0,59	-6,24	0,52	0,04	0,38	13,66	1,06	-0,11	-0,06	-0,04	-0,81
P ₂ x P ₄	2,61	-3,58	-3,32	6,52	0,78	0,16	0,33	0,81	-4,97	0,03	-0,10	0,09	0,58
P ₂ x P ₅	12,82	4,70	-3,27	37,19	-2,71	-0,43	-0,09	-0,98	-4,07	-0,13	0,16	0,34	-0,91
P ₃ x P ₃	-5,67	0,76	2,92	-4,50	0,90	0,10	0,15	-10,39	1,35	0,09	0,07	-0,12	0,84
P ₃ x P ₄	10,69	6,58	-1,98	17,35	0,58	-0,12	-0,67	-2,75	-0,65	-0,08	0,92	0,49	-1,07
P ₃ x P ₅	-9,24	-7,00	-1,60	-8,73	1,07	-0,03	-0,48	8,97	-2,77	0,13	-0,56	-0,11	0,18
P ₄ x P ₄	-7,74	-2,45	4,78	-6,68	-3,05	-0,41	0,73	2,40	-1,61	-0,13	-0,49	-0,38	0,64
P ₄ x P ₅	3,54	3,04	-0,17	-9,07	1,67	0,34	-0,49	-1,37	6,29	0,02	-0,19	-0,01	-0,93
P ₅ x P ₅	-4,13	-1,59	4,21	-12,78	1,30	0,34	0,96	-4,57	2,52	0,05	0,25	-0,12	0,95

^{1/} DC = diâmetro da copa (cm); ALTP = altura da planta (cm); DF = dias para frutificação; NFP = número de frutos por planta; PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); TMS = teor de matéria seca (%); COMP = comprimento do fruto (mm); DIAM = diâmetro do fruto (mm); ESP = espessura da polpa (mm); BRX = teor de sólidos solúveis totais (%); PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹) e REST = resistência ao PepYMV (notas), ^{2/} P₁ = UENF 1616; P₂ = UENF 1624; P₃ = UENF 1629; P₄ = UENF 1732; e P₅ = UENF 1639.

Para a característica PROD, buscaram-se combinações cujos valores de s_{ij} sejam positivos e elevados. Observou-se que os genitores UENF 1616 x UENF 1624, UENF 1616 x UENF 1732, UENF 1624 x UENF 1732, UENF 1624 x UENF 1639 e UENF 1629 x UENF 1732 apresentaram valores positivos para s_{ij} , destacando-se o híbrido UENF 1624 x UENF 1639 e UENF e UENF 1629 x UENF 1732, com valores de s_{ij} de 0,34 e 0,49, respectivamente.

Para DF, as melhores combinações foram provenientes dos genitores UENF 1732 e UENF 1639, por expressarem valores negativos para estimativa de s_{ij} para todas as combinações, nas quais os genitores participaram. O híbrido UENF 1616 x UENF 1732, registrou o menor valor de s_{ij} .

Com relação ao TMS (%), as melhores combinações foram UENF 1616 x UENF 1629; UENF 1624 x UENF 1629; e UENF 1624 x UENF 1732, por expressarem valores positivos elevados para a estimativa s_{ij} . Contudo, apenas as combinações UENF 1616 x UENF 1629 e UENF 1624 x UENF 1629 possuem pelo menos um dos genitores com valores desejáveis para estimativa do efeito médio de g_i .

Quanto à característica TSS, objetivam-se encontrar combinações com maiores teores de sólidos solúveis totais. Assim, as combinações mais promissoras foram aquelas que expressaram os valores positivos para a característica, quais sejam: UENF 1616 x UENF 1732; UENF 1624 x UENF 1639; e UENF 1629 x UENF 1732.

3.1.6. CONCLUSÕES

1. Houve predominância de efeitos aditivos para as características ALTP, PMF, MSF, TMS, TMS, ESP e TSS, indicando que genótipos superiores poderão ser obtidos para esses caracteres.
2. Para as características DC, DF, NFP, COMP, DIAM, PROD e REST, ao exibirem significância para CGC e CEC revelaram variabilidade resultante dos efeitos aditivos e de dominância no controle da expressão gênica.
3. Pela estimativa dos componentes quadráticos, as características COMP, DIAM e REST expressaram superioridade dos efeitos genéticos aditivos;

em contrapartida, para DC, DF, NFP e PROD, houve maior efeito de dominância.

4. As combinações híbridas UENF 1629 x UENF 1732; UENF 1616 x UENF 1732; e UENF 1624 x UENF 1639 são promissoras para dar início a um programa de melhoramento de *C. baccatum*, visto reunirem características agronômicas favoráveis e de resistência ao PepYMV.

3.1.7. LITERATURA CITADA

Bento, C. dos S.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R.; Riva, E.M.; Pereira, M.G. (2007). Descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas. *Scientia Agraria*, 8: 149-156.

Bento, C. dos S.; Rodrigues, R.; Zerbini Júnior, F.M.; Sudré, C.P. (2009). Sources of resistance against the Pepper yellow mosaic virus in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 27: 196-201.

Bordallo, P.N.; Pereira, M.G.; Amaral Júnior, A.T.; Gabriel, A.P.C. (2005). Análise dialélica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. *Horticultura Brasileira*, 23: 123-127.

Carvalho, S.I.C.; Bianchetti, L.B.; Bustamante, P.G.; Silva, D.B. (2003). Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças. 49p.

Cruz, C.D.; Regazzi, A.J. (1994). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. UFV: *Imprensa Universitária*, 390p.

Cruz, C.D.; Regazzi, A.J. (2001). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. UFV: *Imprensa Universitária*, 390p.

Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2004). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. UFV: *Imprensa Universitária*, 480p.

Cruz, C.D.; Vencovsky, R. (1989). Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, 12: 425-438.

Filgueira, F.A. (2005). Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2 ed. Viçosa: Editora UFV. 412.

Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, v.9, 463-493.

Henz, G.P.; Ribeiro, C.S.C. (2008). Mercado e comercialização. In: Ribeiro, C.S.C (Ed) Pimentas *Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 15-24.

Janzac, B.; Fabre, M.F.; Palloix, A.; Moury, B. (2009). Phenotype and spectrum of action on the Pvr4 resistance in pepper against potyviruses, and selection for virulent variants. *Plant Pathology*, 58: 443-449.

Lannes, S.D.; Finger, F.L.; Schuelter, A.R.; Casali, V.W.D. (2007). Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. *Scientia Horticulturae*, 112: 266-270.

Lédo, F.J.S.; Casali, V.W.D.; Cruz, C.D.; Lédo, C.A.S. (2001). Análise genética em um dialelo de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36: 493-499.

Moreira, G.R.; Caliman, F.R.B.; Silva, D.J.H.; Ribeiro, C.S.C. (2006). Espécies e variedades de pimentas. *Informe Agropecuário*, 27: 16-29.

Moura, M.C.C.L.; Gonçalves, L.S.A.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R.; Amaral Júnior, A.T.; Pereira, T.N.S. (2010). Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta (*Capsicum chinense*) por meio da análise conjunta de variáveis quantitativas e qualitativas. *Horticultura Brasileira*, 28: 155-161.

Moscone, E.A.; Scaldaferrro, M.A.; Grabielle, 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.

Nascimento, I.R.; Valle, L.A.C.; Maluf, W.R.; Gonçalves, L.D.; Gomes, L.A.A.; Moreto, P.; Lopes, E.A.G.L. (2007). Reação de híbridos, linhagens e progênes de pimentão à requeima causada por *Phytophthora capsici* e ao mosaico amarelo causado por Pepper yellow mosaic virus (PepYMV). *Ciência Agrotecnologia*, 31: 121-128.

Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B.; Zimmermann, M.J.O. (1993) Genética Quantitativa em Plantas autógamias: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia - GO, 271p.

Rêgo, E.R.; Rêgo, M.M.; Finger, F.L.; Cruz, C.D.; Casali, V.W.D. (2009). A diallel study of yield components and fruit quality in chilli pepper (*Capsicum baccatum*) *Euphytica*, 168: 275-287.

Reifshneider, F.J.B.; Ribeiro, C.S.C. (2008). Cultivo. In: Ribeiro, C.S.C (Ed) Pimentas *Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 11-14.

Rodrigues, F.; Von Pinho, R.G.; Albuquerque, C.J.B.; Faria Filho, E.M.; Goulart, J.C. (2009). Capacidade de combinação entre linhagens de milho visando à produção de milho verde. *Bragantia*, 68: 75-84.

Scott, A.J.; Knott, M.A. (1974). Cluster analysis methods for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30: 507-512.

Souza, J.A.; Maluf, W.R. (2003). Diallel analyses and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Scientia Agricola*, 60: 105-113.

Sudré, C.P.; Gonçalves, L.S.A.; Rodrigues, R.; Amaral Júnior, A.T.; Riva-Souza, E.M.; Bento, C. dos S. (2010). Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and Molecular Research*, 9: 283-294.

Truta, A.A.C.; Souza, A.R.R.; Nascimento A.V.S.; Pereira, R.C.; Pinto, C.M.F.; Brommonschenkel, S.H.; Carvalho, M.G.; Zerbini, F.M. (2004). Identidade e propriedades de isolados de potyvírus provenientes de *Capsicum* spp. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 160-168.

Wagner, C.M. (2003). Variabilidade e base genética da pungência e de caracteres do fruto. Implicações no melhoramento de uma população de *Capsicum annuum* L. Tese (Doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP) – Piracicaba – SP, 104p.

3.2. USO DE MARCADOR TIPO CAPS NA SELEÇÃO DE PLANTAS DE *Capsicum* spp. RESISTENTES AO PepYMV CONTENDO O GENE *Pvr4*

3.2.1. RESUMO

No Brasil, o mosaico amarelo causado pelo potyvírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) é considerado uma das principais doenças em *Capsicum* spp., e obter plantas resistentes ao vírus tem sido prioridade nos programas de melhoramento de pimentões e pimentas. Genes de resistência dominantes e recessivos encontram-se caracterizados para *C. annuum* e *C. chinense*, e alguns desses genes já foram associados a marcadores moleculares específicos, possibilitando a seleção assistida por marcadores de DNA. Um desses genes é o *Pvr4*, cujo marcador do tipo CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequences*) permite selecionar de modo rápido e seguro plantas resistentes ao PepYMV. Em *C. baccatum* var. *pendulum*, a resistência ao PepYMV foi constatada, sendo possivelmente controlada por um gene dominante. O objetivo deste trabalho foi detectar a possível presença do gene *Pvr4* em dois acessos de *C. baccatum* var. *pendulum*; sete acessos de *C. chinense*; e um acesso de *C. annuum* pelo uso de marcador molecular tipo CAPS. Quatorze genótipos, cujas reações ao PepYMV foram estabelecidas previamente sob condições de inoculação controlada, foram testados. O DNA foi extraído de plantas cultivadas em casa-de-vegetação aos 45 dias após a semeadura. As reações de amplificação, clivagem do DNA com enzima de restrição e a fixação dos fragmentos amplificados foram feitos de

acordo com protocolo já padronizado. A presença do gene *Pvr4* foi constatada nos dois acessos de *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624 e UENF 1732) e em cinco acessos de *C. chinense*. Os acessos UENF 1730 e UENF 1755 de *C. chinense* não possuem o gene *Pvr4*, embora sejam resistentes ao PepYMV. O marcador CAPS testado se mostrou eficiente para detectar a presença do gene *Pvr4*, sendo uma ferramenta útil para programas de melhoramento genético visando à resistência ao PepYMV.

3.2.2. ABSTRACT

In Brazil, the *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) is considered one of the main diseases in *Capsicum* spp., and to obtain plants resistant to the virus has been a priority in the programs of improvement of pepper and chili peppers. Genes of dominant resistance and recessive ones are found characterized for *C. annuum* and *C. chinense* and some of these genes have already been associated to specific molecular markers, making it possible the assisted selection by DNA markers. One of these genes is the *Pvr4* whose marker of the type CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequences*) allows to select fast and safely plants resistant to PepYMV. In *C. baccatum* var. *pendulum*, a resistance to PepYMV was checked, being possibly controlled by at least a dominant gene. The aim of that work was to detect the possible presence of the gene *Pvr4* in two accesses of *C. baccatum* var. *pendulum*, seven accesses of *C. chinense* and an access of *C. annuum* by the use of molecular marker type CAPS. Fourteen genotypes, whose reactions to PepYMV were previously established under controlled inoculation conditions, were tested. The DNA was extracted from cultivated plants in greenhouse over the 45 days after the sowing. The amplification reactions, the cleavage of the DNA with enzyme of restriction and the fixation of the amplified fragments were done according to standardized protocol. The presence of the gene *Pvr4* was checked in two accesses of *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624 and UENF 1732) and in five accesses of *C. chinense*. The accesses UENF 1730 and UENF 1755 of the *C. chinense* do not possess the gene *Pvr4*, though, they are resistant to PepYMV. The marker CAPS tested showed to be efficient to

detect the presence of the gene *Pvr4*, being a useful tool for programs of genetic improvement aiming resistance to PepYMV.

3.2.3. INTRODUÇÃO

Como resultado da sua ampla distribuição geográfica, a pimenta e o pimentão (*Capsicum* spp.) estão expostos a muitos patógenos, incluindo mais de 20 espécies de vírus, entre estes, o potyvírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (Dogimont et al., 1996; Caranta et al., 1999; Inoue-Nagata et al., 2002; Janzac et al., 2009).

No Brasil esse vírus é a causa do mosaico amarelo, uma das principais doenças em *Capsicum*, e obter cultivares resistentes tem sido considerado prioridade nos programas de melhoramento (Echer e Costa, 2002; Maciel-Zambolim et al., 2004; Nascimento et al., 2007). Os sintomas ocasionados pelo PepYMV são semelhantes àqueles causados pelo potyvírus *Potato vírus Y* (PVY), porém a diferenciação entre os agentes patogênicos pode ser efetuada por alguns testes sorológicos como *Double Antibody Sandwich Elisa* (DAS-ELISA) (Cunha et al., 2004; Truta et al., 2004). Especialmente em plantas de pimenta, os sintomas incluem encrespamento nas folhas, desenvolvimento do mosaico com tonalidade verde-amarelada, redução geral do tamanho da planta e dos frutos, e deformação dos frutos. Entretanto, a intensidade dos sintomas depende da cultivar ou do híbrido plantado, da estirpe do vírus e das condições ambientais, principalmente a temperatura (Carmo et al., 2006).

A forma mais eficiente de controle de doenças virais é a utilização de cultivares resistentes. Em relação ao potyvírus, diferentes mecanismos de ação para impedir a replicação e a movimentação viral têm sido associados à resistência ao vírus (Janzac et al., 2009). Esses diferentes mecanismos possuem diferentes controles genéticos, estando envolvidos genes recessivos e dominantes. No primeiro caso, a resistência monogênica recessiva, conferida pelos genes *pvr1*, *pvr2*, *pvr 3* ou *pvr5*, é o resultado de um mecanismo passivo em que a ausência da interação entre o fator de resistência da planta e o fator de virulência do vírus impede o vírus de completar o seu ciclo de replicação. Por

outro lado, a resistência dominante, representada pela presença dos genes *Pvr4*, *Pvr6* ou *Pvr7*, está baseada no modelo gene-a-gene (Flor, 1971; Caranta et al., 1999; Grube et al., 2000; Parrela et al., 2002).

Em sua maioria, esses alelos conferem resistência a duas ou mais espécies de potyvírus. Por exemplo, o alelo dominante *Pvr4*, identificado em *C. annuum* cv. Criollo de Morelos 334 (CM334) confere resistência a PVY, PepMoV, PepYMV, ERV, PTV e PepSMV, frequentemente usado em cultivares de pimenta devido à sua ampla ação (Janzac et al., 2009).

Com exceção do gene *pvr3*, todos os demais alelos da série *pvr* estão associados a um ou mais marcadores moleculares. O gene *Pvr4*, inicialmente associado a marcadores do tipo AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), teve tal marca convertida em marcador com base em reação de polimerase em cadeia (PCR), desenvolvido por Caranta et al. (1999). Esse é um marcador do tipo CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequences*) codominante, obtido por meio do cruzamento entre as cultivares *Yolo Wonder* (suscetível) e CM-334 (resistente), usando análise de *bulk* segregante, associado com iniciador AFLP. Este marcador está a $2,1 \pm 0,8$ cM do gene *Pvr4*.

Das diversas vantagens da seleção assistida por marcadores moleculares, pode-se citar a ausência de efeitos ambientais, quando o sintoma é dependente das condições ambientais, principalmente da temperatura, dificultando a seleção de genitores resistentes em programas de melhoramento. Outro fator é a independência do estágio de desenvolvimento da planta. Muitos marcadores moleculares associados a genes de resistência a vírus têm sido desenvolvidos, entretanto, sua utilização não é frequente, devido, principalmente, ao fato de tais marcadores não estarem próximos do gene de interesse. Esse não é o caso do gene *Pvr4* (Caranta et al., 1999).

Bento et al. (2009) avaliaram 127 acessos de *Capsicum* spp. existentes no banco de germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) quanto à resistência ao PepYMV. Desses, nove foram identificados como resistentes, sendo dois acessos da espécie *C. baccatum* var. *pendulum* e sete da espécie *C. chinense*.

O objetivo deste trabalho foi detectar a presença do gene *Pvr4* nesses dois acessos de *C. baccatum* var. *pendulum*; sete acessos de *C. chinense*; e um acesso de *C. annuum*, pelo uso de marcador molecular tipo CAPS.

3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

Genótipos testados e condições de cultivo

Quatorze genótipos, sendo três acessos de *C. annuum*, três acessos de *C. baccatum* e oito acessos de *C. chinense*, foram testados quanto à presença do gene *Pvr4* (Tabela 1). Os acessos UENF 1624, UENF 1703, UENF 1730, UENF 1732, UENF 1751, UENF 1755, UENF 1764, UENF 1770 e UENF 1803 foram escolhidos para o trabalho, sendo descritos como resistentes por Bento et al. (2009). Os genótipos Ikeda e Cambuci Ubatuba foram incluídos como padrões de suscetibilidade e, portanto, não portadores do gene *Pvr4*. O acesso UENF 1381, amplamente utilizado em programas de melhoramento da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), ainda não tinha sido avaliado quanto à resistência ao PepYMV. Nesse sentido, este genótipo foi inoculado com o PepYMV conforme a metodologia descrita no Capítulo 1, para verificação da resistência.

As plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação, na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), uma área experimental do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Foram semeadas 20 sementes de cada genótipo, em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato Vivato[®]. Após 21 dias, as mudas foram transplantadas para potes plásticos com capacidade para 0,5 L, contendo substrato tratado. Aos 45 dias, amostras de 3,0 g de folhas jovens foram coletadas para a análise molecular, realizada no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do CCTA da UENF. As folhas correspondentes a cada genótipo foram maceradas em N₂ líquido e acondicionadas em tubos de 15 mL com tampa, devidamente identificados, em congelador.

Extração e quantificação do DNA

Cerca de 300 mg de tecido macerado foram transferidos para tubos de 2,0 mL e imersos em N₂ líquido para a extração de DNA, de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle (1987), com as modificações descritas a seguir.

Tabela 1 – Identificação (código e espécie) e reação dos 14 genótipos testados para presença do gene *Pvr4*, que confere resistência ao *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV).

Nº	Código	Espécie	Reação ao PeYMV	Fonte	Observação
1	UENF 1381	<i>C. annuum</i>	I	–	–
2	UENF 1624	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	R	Bento et al. (2009)	–
3	UENF 1732	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	R	Bento et al. (2009)	–
4	IAC 984	<i>C. chinense</i>	R	Boiteux e Pessoa (1994)	PI 159236
5	IAC 1279	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	S	–	‘Cambuci Ubatuba’
6	IAC 1355	<i>C. annuum</i>	R	Boiteux e Pessoa (1994)	‘Criollo de Morelos 334’
7	UENF 1703	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
8	UENF 1730	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
9	UENF 1751	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
10	UENF 1755	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
11	UENF 1764	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
12	UENF 1770	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
13	UENF 1803	<i>C. chinense</i>	R	Bento et al. (2009)	–
14	Ikeda	<i>C. annuum</i>	S	Bento et al. (2009)	–

*I = indeterminado; R = resistente ao PepYMV; e S = suscetível ao PepYMV.

Foi adicionado aos tubos 1 mL do tampão de extração pré-aquecido, contendo 2% CTAB, 1,4 mol L⁻¹ NaCl, 20 mmol L⁻¹ EDTA, 100 mmol L⁻¹ Tris-HCl (pH 8,0), 1% PVP e 0,2 % β - mercaptoetanol. Este material foi incubado a 65°C por 45 minutos, e agitado suavemente a cada 10 minutos. Em seguida, foi realizado uma centrifugação a 13200 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante (cerca de 800µl) foi transferido para um novo tubo devidamente identificado, e foi adicionado igual volume de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) para se efetuar a desproteíntização. Este material sofreu suaves inversões durante

aproximadamente 10 minutos até ficar turvo. A fase orgânica foi separada por centrifugação, a 13200 rpm, por 5 minutos.

O sobrenadante foi recolhido e extraído mais uma vez com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), sendo os ácidos nucleicos precipitados pela adição de dois terços do volume de isopropanol gelado, e incubados por 2 horas a -20°C . O precipitado foi sedimentado por centrifugação, a 13200 rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi removido e o precipitado lavado duas vezes com 300 μL etanol a 70%, para retirada de sal presente e, uma vez, com 300 μL etanol a 95% (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 13200 rpm durante 10 minutos). Após o descarte do último sobrenadante, o material foi seco em condições naturais e, posteriormente, o material foi ressuscitado em 300 μL de solução TE (Tris-EDTA – 10mmol L^{-1} Tris-HCl, 1 mmol L^{-1} EDTA, pH 8,0) com RNase numa concentração final de $40\mu\text{g.mL}^{-1}$ e incubado em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Em seguida, adicionaram-se 30 μL de NaCl 5 mol L^{-1} e 220 μL de isopropanol gelado, para precipitar o DNA novamente, incubando-se os tubos por 2 horas a -20°C . Logo após, o DNA foi sedimentado por centrifugação, a 13200 rpm, por 10 minutos e lavado, duas vezes, com etanol a 70% e, uma vez, com etanol a 95%. Após seco, o precipitado final foi suspenso em 150 μL de água.

A quantificação foi realizada em géis de agarose 0,8% (p/v) submetidos à eletroforese por 2 horas a 90 V. Alíquotas de DNA de cada amostra foram aplicadas nos poços do gel ao lado de um marcador com concentração conhecida (λ). A concentração das amostras foi estimada por comparação visual da intensidade de fluorescência das bandas do DNA (λ). O gel foi corado com a mistura de *blue juice* 6X (0,4 mL TAE 10X, 0,5 M; 0,2 mL SDS 10%; 0,2 mL de azul bromofenol; 7,0 mL de glicerol; 1,7 mL de água estéril) com *Gel Red* 5X (1 μL de *Gel Red* 10.000X em DMSO 0,5 mL; 2 mL de água ultrapura), na proporção de 1:1, e a imagem foi revelada pelo sistema MiniBis Pro.

Marcador CAPS: reações de amplificação, clivagem e observação das bandas

O marcador molecular utilizado foi do tipo CAPS, desenvolvido por Caranta et al. (1999). Esse tipo de marcador se caracteriza por ser codominante, ou seja, permite a identificação de genótipos homocigotos dominantes e recessivos. As

sequências dos iniciadores utilizados foram CSO-F (5'-CGAAGAGAGAAGGTC-3'), CSO-R (5'-TCAGGGTAGGTTATT-3'). Para a clivagem dos fragmentos amplificados, foi utilizada a enzima de restrição *A/w*NI (Caranta et al., 1999).

Após a quantificação do DNA, as reações de amplificação foram feitas em termociclador modelo *Mastercycler gradient* (Eppendorf), num volume de 25 µL, contendo: 2,5 µL de tampão PCR 10x; 1,0µL MgCl₂ 50mM; 0,5 µL dNTP 10mM; 0,38 µL do iniciador CSO-F (5'-CGAAGAGAGAAGGTC-3'), 10pmol; 0,38 µL do iniciador CSO-R (5'-TCAGGGTAGGTTATT-3'), 10 pmol; 1,0 µL de Taq polimerase 1U; 1,0 µL de DNA 30ng; 18,24 µL de ddH₂O. As condições das reações de amplificação no termociclador foram as seguintes: 1min/93°C, seguido por 35 ciclos de 45 s/93°C; 1 min/47°C e 2 min/72°C . A reação final de alongação foi de 6 min/72°C.

A clivagem dos fragmentos amplificados foi feita a uma temperatura de 37°C em banho-maria, por um período de 2 horas, nas seguintes condições: 2,0 µL da solução amplificada por PCR; 1,00 µL de Buffer 1x; 0,5 µL da enzima de restrição *A/w*NI e 6,5 *A/w*NI H₂O, dando um volume total de 10,00 µL. Os produtos, após a clivagem, foram fixados em gel de agarose 1,0%, contendo *gel red* e tampão 0,5 x TE e visualizados em sistema MiniBis Pro.

Análise dos fragmentos

A determinação da presença do gene *Pvr4* foi feita analisando-se o tamanho das bandas obtidas por cada genótipo testado. Plantas contendo o padrão de banda única com 458 pb correspondem, nos casos em que há ligação entre o marcador e o alelo *Pvr4*, aos genótipos presumivelmente suscetíveis homocigotos (*Pvr4*⁺/*Pvr4*⁺). Por sua vez, plantas contendo o padrão de banda única de 444 pb correspondem a genótipos presumivelmente homocigotos resistentes (*Pvr4*/*Pvr4*), enquanto plantas contendo ambas as bandas correspondem aos genótipos presumivelmente heterocigotos (*Pvr4*⁺/*Pvr4*)

3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genótipos identificados como resistentes, por Bento et al. (2009), da espécie *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624 e UENF 1732) revelaram a presença do gene *Pvr4* (Figura 1). Em relação aos genótipos da espécie *C. chinense*, apenas UENF 1730 e UENF 1755 não apresentaram a presença do *Pvr4* indicando o(s) outro(s) gene(s) responsáveis pela resistência desses acessos ao PepYMV. Em relação ao PepYMV, as primeiras fontes promissoras de resistência identificadas foram CM-334 e *C. chinense* PI 159236 (Boiteux e Pessoa, 1994). Boiteux et al. (1996), estudando a herança da resistência dos genótipos CM-334 e PI 159236, identificaram um gene de resistência dominante, quando derivado de CM-334, e um gene recessivo derivado de PI 159236. Os mesmos autores sugeriram que o nome *Ry 1-2* fosse dado ao gene de resistência de CM-334 e *et^{c1}* fosse dado ao gene de resistência de PI 159236. Posteriormente, Kyle e Palloix (1997) propuseram uma reclassificação dos genes de resistência, definindo que os genes *et^{c1}* e *Ry 1-2* fossem classificados como *pvr1* e *Pvr4*, respectivamente. Nesse sentido, os genótipos UENF 1730 e UENF 1755 podem conter o gene *pvr1*.

O genótipo UENF 1381, amplamente utilizado em programas de melhoramento de plantas na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), como fonte de resistência à mancha-bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Costa et al., 2002; Costa e Rodrigues, 2003; Riva-Souza et al., 2004; Riva-Souza et al., 2007; Riva-Souza et al., 2009; Moreira et al., 2009) ainda não tinha sido avaliado quanto à resistência ao PepYMV. Em ensaio de inoculação do vírus em condições controladas, constataram-se sintomas severos de mosaico e redução da parte aérea aos 15 dias após a inoculação (Figura 2). Para esse genótipo, por meio do marcador CAPS, verificou-se uma banda de 458 pb e, portanto, foi considerado como confirmada a ausência do *Pvr4*, demonstrando a eficiência deste marcador na distinção de genótipos resistentes e suscetíveis ao PepYMV (Figura 1).

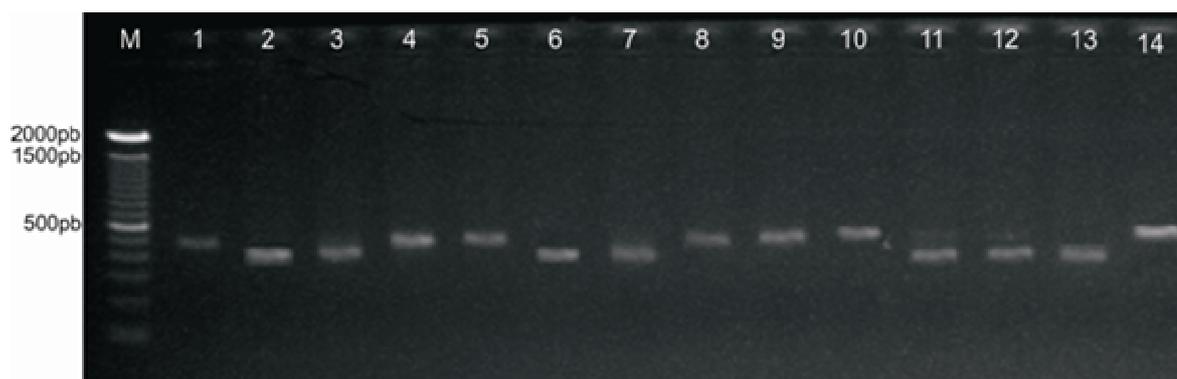


Figura 1 – Padrão eletroforético de fragmentos de DNA amplificados para o marcador CAPS ligado ao gene *Pvr4*, em acessos de *Capsicum* spp.: **M** - Ladder (250 pb), **1** – UENF 1381; **2** - UENF 1624; **3** - UENF 1732; **4** – IAC 984; **5** – IAC 1279; **6** – IAC 1355; **7**- UENF 1703; **8** – UENF 1730; **9** – UENF 1751; **10** – UENF 1755; **11** – UENF 1764; **12** – UENF 1770; **13** – UENF 1803; e **14** – Ikeda.

O marcador molecular do tipo CAPS mostrou-se altamente eficiente em distinguir as plantas resistentes homozigotas *Pvr4/Pvr4* conhecidas ('Criollo de Morelos 334') das plantas suscetíveis homozigotas *Pvr4⁺/Pvr4⁺* conhecidas (pimenta Cambuci Ubatuba e pimentão Ikeda) (Figura 1). Este marcador gera bandas de 458 pb nos genótipos suscetíveis e 444 pb nos genótipos resistentes, constituindo-se assim numa importante ferramenta para identificação e seleção de genótipos resistentes ao PepYMV. Segundo Alzate-Marin et al. (2005), os marcadores moleculares são uma ferramenta poderosa no processo de transferência de alelos de resistência como, por exemplo, serem usados na seleção assistida por marcadores (SAM), particularmente nas etapas iniciais e intermediárias do melhoramento.



Figura 2 – Sintomas de severidade do acesso UENF 1381 (*C. annuum*), após 15 dias da inoculação com *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV).

3.2.6. CONCLUSÕES

1. O marcador molecular do tipo CAPS mostrou-se eficiente em distinguir as plantas resistentes e suscetíveis ao PepYMV.
2. Os acessos UENF 1624 e UENF 1732 (*C. baccatum* var. *pendulum*) revelaram a presença do gene *Pvr4*.
3. Dois acessos de *C. chinense*, embora resistentes em condições de inoculação com PepYMV, não possuem o gene *Pvr4*.

3.2.7. LITERATURA CITADA

Alzate-Marin, A.L.; Cervigni, G.D.L.; Moreira, M.A.; Barros, E.G. (2005). Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. *Fitopatologia Brasileira*, 30: 333-342.

Boiteux, L.S.; Pessoa, H.B.S.V. (1994). Additional sources of resistance to an isolate PVY^m in *Capsicum* germoplasm. *Fitopatologia Brasileira*, 19: 291.

Bento, C.S.; Rodrigues, R.; Zerbini Júnior, F.M.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R. (2009). Sources of resistance against the *Pepper yellow mosaic virus* in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 27: 196-201.

Boiteux, L.S.; Cupertino, F.P.; Silva, C.; Dusi, A.N.; Monteneshich, D.C. (1996). Resistance to *Potato virus Y* (pathotype 1-2) in *Capsicum annuum* and *Capsicum chinense* is controlled by two independent major genes. *Euphytica*, 87: 53-58.

Caranta, C.; Thabuis, A.; Palloix, A. (1999). Development of a CAPS marker for the Pvr4 locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. *Genome*, 42: 1111-1116.

Carmo, M.G.F.; Zerbini-Júnior, F.M.; Maffia, L.A. (2006) Principais doenças da cultura da pimenta. *Informe Agropecuário*, 27: 87-98.

Costa, R.A.; Rodrigues, R. (2003). Genetic analysis of resistance to bacterial spot in sweet pepper genotypes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2: 11-16.

Costa, R.A.; Rodrigues, R.; Sudré, C.P. (2002). Resistência genética à mancha bacteriana em genótipos de pimentão. *Horticultura Brasileira*, 2: 86-89.

Cunha, L.C.V.; Resende, R.O.; Nagata, T.; Inoue-Nagata, A.K. (2004). Distinct features of *Pepper yellow mosaic virus* isolates from tomato and sweet pepper. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 663-667.

Dogimont, C.; Palloix, A.; Daubeze, A.M.; Marchoux, G.; Gebre-Selassie K.; Pochard, E. (1996). Genetic analysis of broad spectrum resistance to potyviruses in haplodiploid progenies of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 88: 231-239.

Doyle, J.J.; Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. *Phytochemistry*, 19: 11-15.

Echer, M.M.; Costa, C.P. (2002). Reaction of sweet pepper to the *Potato virus Y* (PVYM). *Scientia Agricola*, 59: 309-314.

Flor, H.H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9: 275-296.

Grube, R.C.; Blauth, J.R.; Arnedo-Andrés, M.S.; Caranta, C.; Jahn, M. (2000). Identification and comparative mapping of dominant potyvirus resistance gene cluster in capsicum. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 852-859.

Inoue-Nagata, A.K.; Fonseca, M.E.N.; Resende, R.O.; Boiteux, L.S.; Monte, D.C.; Dusi, A.N.; Ávila, A.C.; Van Der Vlugt, R.A.A. (2002). *Pepper yellow mosaic virus*, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. *Archives of Virology*, 147: 849-855.

Janzac, B.; Fabre, M.F.; Palloix, A.; Moury, B. (2009). Phenotype and spectrum of action of the *Pvr4* resistance in pepper against potyviruses, and selection for virulent variants. *Plant Pathology*, 58: 443-449.

Kyle, M.M.; Palloix, A. (1997). Proposed revision of nomenclature for potyvirus resistance genes in *Capsicum*. *Euphytica*, 97: 183-188.

Maciel-Zambolim, E.; Costa H.; Capucho, A.S.; Ávila, A.C.; Inoue-Nagata, A.K.; Kitagima, E.W. (2004). Surto epidemiológico do vírus do mosaico amarelo do pimentão em tomateiro na região serrana do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 325-327.

Moreira, S.O.; Rodrigues, R.; Araújo, M.L.; Sudré, C.P.; Riva-Souza, E.M. (2009). Desempenho agrônômico de linhas endogâmicas recombinadas de pimenta em dois sistemas de cultivo. *Ciência Rural*, 39: 1387-1393.

Nascimento, I.R.; Costa do Vale, L.A.; Maluf, W.R.; Gonçalves, L.D.; Gomes, L.A.A.; Moreto, P.; Lopes, E.A.G.L. (2007). Reação de híbridos, linhagens e progênes de pimentão a requeima causada por *Phytophthora capsici* e ao mosaico amarelo causado por *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV). *Ciência Agrotecnologia*, 31: 121-128.

Parrela, G.; Ruffel, S.; Moretti, A.; Morel, C. (2002). Recessive resistance genes against potyviruses are localized in collinear genomic regions of the tomato (*Lycopersicon* spp.) and pepper (*Capsicum* spp.) genomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 855-861.

Riva, E.M.; Rodrigues, R.; Pereira, M.G.; Sudré, C.P.; Karasawa, M.; Amaral Júnior, A.T. (2004). Inheritance of bacterial spot disease in *Capsicum annum* L.. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4: 490-494.

Riva-Souza, E.M.; Rodrigues, R.; Sudré, C.P.; Pereira, M.G.; Viana, A.P.; Amaral Júnior, A.T. (2007). Obtaining pepper F_{2,3} lines with resistance to the bacterial spot using the pedigree method. *Horticultura Brasileira*, 25: 567-571.

Riva-Souza, E.M.; Rodrigues, R.; Sudré, C.P.; Pereira, M.G.; Bento, C.S.; Matta, F.P (2009). Genetics parameters and selection for resistance to bacterial spot in recombinant F₆ lines of *Capsicum annum*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9: 108-115.

Truta, A.A.C.; Souza, A.R.R.; Nascimento, A.V.S.; Pereira, R.C.; Pinto, C.M.F.; Brommonschenkel, S.H.; Carvalho, M.G.; Zerbini, F.M. (2004). Identidade e propriedades de isolados de potyvirus provenientes de *Capsicum* spp. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 160-168.

3.3 PROTEÍNAS RELACIONADAS À PATOGÊNESE EM *Capsicum baccatum* var. *pendulum* RESISTENTE AO *Pepper yellow mosaic virus*

3.3.1. RESUMO

Entre os mecanismos de defesa das plantas, as proteínas relacionadas à patogênese (PRs) representam uma importante barreira ao desenvolvimento de patógenos. Essas proteínas são classificadas em 17 famílias com base nas suas sequências de aminoácidos, sorologia e, ou atividade enzimática ou biológica. O objetivo, deste trabalho, foi identificar proteínas PRs associadas ao patossistema *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV). Plantas de *C. baccatum* (UENF 1624) resistentes ao PepYMV, com 45 dias de idade, foram inoculadas com o vírus e, após períodos de 24, 48, 72, 96 horas, folhas infectadas foram coletadas para análise. As plantas inoculadas e controle foram cultivadas em gaiolas recobertas com tela antiafídeos. As proteínas foram extraídas de tecidos foliares, e analisou-se a presença de PR-2 (β -1,3 glucanase), PR-3 (quitinase), PR-9 (peroxidase) e PR-14 (proteína de transferência de lipídios). Não foi observada diferença no padrão protéico entre mudas-controle e infectadas em relação às proteínas PR-2, 3 e 14. No entanto, para a PR-9 houve diferença nos tempos de 48 e 72 horas após a inoculação, registrando-se um aumento na expressão da peroxidase nas mudas infectadas. Estes dados indicam que a PR-9 pode ser um dos fatores envolvido na resistência de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – UENF 1624 ao PepYMV.

3.3.2. ABSTRACT

Among the defeating mechanisms of the plants, pathogenesis-related proteins (PRs) represent an important barrier toward the development of pathogens. These proteins are classified into seventeen families based on their amino acid sequences, serology and/or enzymatic activity or biologic. The objective of this work was to identify proteins PRs associated to pathosystem *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV). Plants of *C. baccatum* (UENF 1624) resistant to PepYMV at the age of 45 days were inoculated with the virus and after periods of 24h, 48h, 72h and 96h infected leaves were collected for analysis. The inoculated plants and control were cultivated in cages covered with anti-aphid screen. The proteins were extracted from foliar tissues and it was analyzed the presence of PR-2 (β -1, 3 glucanase), PR-3 (quitinase), PR-9 (peroxidase) and PR-14 (lipid transfer protein). It was not observed difference in the proteic standard between control seedlings and infected ones in relation to the proteins PR-2, 3 and 14. However, for the PR-9, there was difference in timing of 48h and 72h after the inoculation, registering an increase within the expression of the peroxidase in the infected seedlings. These data indicate that PR-9 can be one of the factors involved in resistance of *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – UENF 1624 to PepYMV.

3.3.3. INTRODUÇÃO

A resistência das plantas contra doenças está associada a mecanismos pré-formados e induzidos (Hammond-Kosack e Jones, 1997). Os mecanismos pré-formados incluem barreiras físicas (por exemplo, papilas, halos, tricomas, cutículas) que dificultam a penetração do patógeno no tecido vegetal; e metabólitos secundários (por exemplo, alcaloides, compostos cianogênicos, fenólicos, glicosinolatos, terpenoides) que podem evitar a colonização, a

reprodução e o desenvolvimento do patógeno. A defesa induzida, em contrapartida, é um conjunto de respostas ativadas pelo hospedeiro após o contato com agentes patogênicos. A ativação dessas respostas em plantas é dependente da eficiência do hospedeiro em reconhecer a presença do patógeno por meio de percepção e transdução de sinais (Dixon, 2001; Jones e Dangl, 2006; Van Loon et al., 2006; Mehta et al., 2008).

A resistência induzida é frequentemente manifestada como uma resposta de hipersensibilidade (HR), ou seja, a morte das células do hospedeiro dentro de poucas horas após o contato com patógeno. Outras respostas de resistência podem incluir alterações estruturais, acúmulo de espécies reativas de oxigênio, síntese de metabólitos secundários e produção de uma ampla variedade de moléculas de defesa, tais como, as proteínas relacionadas à patogênese (PRs) (Heath, 2000; Van Loon et al., 2006; Elvira et al., 2008).

As PRs foram descobertas em tabaco que expressava HR ao vírus *Tobacco mosaic virus* (TMV). Posteriormente, verificou-se a sua ocorrência em pelo menos 13 famílias de plantas durante infecção por oomicetos, fungos, bactérias, vírus e viroides, bem como nematoides ou ataque de insetos (Van Loon et al., 2006). Essas proteínas são classificadas em famílias com base nas suas sequências de aminoácidos, relações sorológicas e/ou atividade enzimática ou biológica (Van Loon e Van Strien, 1999; Van Loon et al., 2006).

Van Loon e Van Strien (1999) propuseram uma nomenclatura para as proteínas PRs, agrupando-as em 14 classes, sendo as cinco primeiras observadas em plantas de tabaco infectadas pelo TMV, e identificadas como PR-1, PR-2 (β -1,3 glucanase), PR-3 e PR-4 (quitinase) e PR-5 (taumatina-like). Posteriormente, foram identificadas outras classes de proteínas PR, incluindo mais duas classes na proposta de Van Loon e Van Strien (1999), entre elas: PR-6 (inibidor de proteinase); PR-7 (endoproteínase); PR-8 (quitinase); PR-9 (peroxidase); PR-10 (ribonuclease-like); PR-11 (quitinase); PR-12 (defensina); PR-13 (tionina); PR-14 (proteínas transportadora de lipídeos); PR-15 (Oxalato oxidase); PR-16 (Oxalato oxidase-like) e PR-17 (desconhecido) (Van Loon et al., 2006).

O mosaico amarelo, causado pelo potyvírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV), é considerado uma das mais importantes doenças para cultura da pimenta, pimentão e tomate no Brasil (Maciel-Zambolim et al., 2004; Nascimento

et al., 2007; Bento et al., 2009). Os sintomas ocasionados pelo PepYMV em *Capsicum* spp. incluem encrespamento nas folhas, desenvolvimento do mosaico com tonalidade verde-amarelada, redução geral do tamanho da planta e dos frutos, e deformação dos frutos (Carmo et al., 2006).

A principal forma de controle do PepYMV é a resistência genética, que tem uma série de vantagens, principalmente referentes aos aspectos econômicos, ecológicos e práticos (Menten, 1990). Em *Capsicum* spp., as primeiras fontes de resistência ao PepYMV foram encontradas em *C. annuum* 'Criollo de Morellos' (resistência monogênica dominante) e *C. chinense* PI 159236 (resistência monogênica recessiva) (Boiteux e Pessoa, 1994). Outras fontes de resistência ao PepYMV foram detectadas em *C. chinense* e *C. baccatum* var. *pendulum* (Bento et al., 2009). Apesar da identificação de resistência em diferentes espécies de *Capsicum*, os mecanismos de defesa envolvidos com essas resistências ainda não estão esclarecidos.

O objetivo deste trabalho foi analisar a indução de proteínas PR, com ênfase nas classes PR-2, PR-4, PR-9 e PR-14 em plantas de *C. baccatum* var. *pendulum* resistentes ao PepYMV.

3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Sementes do acesso UENF 1624, resistente ao *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (Bento et al., 2009), foram semeados em bandejas de poliestireno de 128 células com substrato comercial (Plantmax[®]). Após o desenvolvimento de dois pares de folhas definitivas, 80 plântulas foram transferidas individualmente para potes plásticos, contendo uma mistura de solo e substrato (2:1). O experimento foi conduzido em gaiolas cobertas com telas antiafídeos, em casa-de-vegetação no período de março a abril de 2008.

Procedimento de inoculação

Como fonte de inóculo foram utilizadas plantas de *Nicotiana debneyi* infectadas com o isolado 3 de PepYMV, obtido de planta de pimentão coletada no campo do Município de Igarapé, Estado de Minas Gerais (Truta et al., 2004). A inoculação foi realizada via extrato vegetal tamponado em fosfato de potássio 0,05M, pH 7,2, contendo sulfito de sódio a 0,01% e utilizando carborundum (600 mesh) como abrasivo (Truta et al., 2004). As mudas foram inoculadas no estádio de três a quatro folhas definitivas. Em cada inoculação, foram inoculadas as folhas mais jovens completamente expandidas. Como controle, mudas foram inoculadas apenas com a solução tampão e abrasivo.

Folhas das mudas do acesso UENF 1624 controle e infectadas com PepYMV foram coletadas por quatro diferentes tempos (24, 48, 72 e 96 horas) após a inoculação.

Extração de proteínas e quantificação

Folhas das plântulas controle e infectadas foram pesadas e, em seguida, submetidas à maceração, usando-se gral e pistilo e N₂ líquido. O material macerado foi utilizado para os diferentes métodos de extração.

Nos ensaios enzimáticos de β -1,3-glucanase e quitinase, a extração foi realizada utilizando-se acetato de sódio, 1% polyvinylpolypyrrolidone (PVPP), 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), na proporção de 1 g de peso fresco de folha para 1mL do tampão, que permaneceu em agitação em microtubos por 60 minutos a 4°C. Em seguida, o material foi centri fugado a 10000 x g a 4°C por 20 minutos, sendo coletado o sobrenadante e descartado o precipitado (Caruso et al., 1999, com modificações sugeridas por Vieira et al., 2009).

Para extração de peroxidase, utilizaram-se borato de sódio 10mM, pH 9,0, NaCl 0,125 M, PMSF 1mM, na proporção de 1 g de peso fresco para 4 mL do tampão, que permaneceu em agitação em tubos por 3 horas a 4°C. Em seguida, o material foi centrifugado a 10000 x g a 4°C por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi coletado e o precipitado descartado. Ao sobrenadante, foi adicionado polietilenoglicol 14% (PEG) e fosfato de potássio a 8,5% (K₂PO₄), para separação dos pigmentos. Após a separação das fases, foi coletada a fase

inferior (Leon et al., 2002). As determinações quantitativas de proteínas foram feitas pelo método de Bradford (1976).

Detecção de enzimas

A atividade de peroxidase (EC 1.11.1.7) foi determinada por espectrofotometria (Shimadzu UVVIS-1203), segundo Leon et al. (2002), com algumas modificações sugeridas por Vieira et al. (2009). A unidade de atividade (u.a) da enzima foi definida como sendo o aumento de 0,01 na absorbância na mistura de reação por 3 min/mg de proteína.

A determinação da atividade β -1,3-glucanase (EC 3.2.1.39) foi realizada segundo método descrito por Fink et al. (1988). Uma unidade de atividade β -1,3-glucanase foi definida como sendo a concentração da enzima que fornece uma absorbância de 0,001 quando lida a 500 nm em espectrofotômetro Shimadzu UVVIS-1203. Os dados foram expressos em “ua. RV (reação de volume)/ VA (volume da amostra). μ g de proteína.mL⁻¹”.

A atividade de quitinase (EC 3.2.1.14) foi determinada em um espectrofluorímetro Shimadzu, de acordo com O'Brien & Colwell (1987). A metilumbeliferona liberada foi medida em espectrofluorímetro, utilizando-se um filtro primário de excitação a 320 nm e um filtro secundário de emissão a 460 nm. Uma unidade da atividade foi definida como 1 nmol de metilumbeliferona liberada por minuto. Os dados foram expressos em “ua. RV/VA. μ g de proteína.mL⁻¹”.

Gel de Eletroforese

O gel de eletroforese Dodecil sulfato de sódio (SDS) – tricina foi realizado de acordo Schangger & Von Jagoew (1987). O gel de eletroforese SDS poliacrilamida (PAGE) foi preparado de acordo com Laemmli (1970).

Western blotting

Para a detecção de LTP, a extração de tecidos vegetais foi realizada de acordo com Granier (1998). Anticorpos policlonais produzidos contra LTP purificados de sementes de *Capsicum* spp foram preparados conforme descrito

por Carvalho et al. (2001). Após a eletroforese, amostra (10 mg de extrato bruto de proteínas de folhas infectadas e não-infectadas) em diferentes momentos após a inoculação (24, 48, 72 e 96 horas) foi transferida as para membranas de nitrocelulose, conforme descrito por Towbin et al. (1979). *Western blots* foram realizados utilizando-se um kit de quimioluminescência (reagente ECL, *Amersham Pharmacia Biotech*), de acordo com as instruções do fabricante.

Deteção da atividade de peroxidase em gel de poliacrilamida

A atividade da peroxidase foi detectada em gel de poliacrilamida a 14% após eletroforese de extrato de tecido foliar em condições não-desnaturantes. As amostras das diferentes extrações, contendo 40 mg de proteínas, foram misturadas com tampão de amostra e carregadas no gel. Após a corrida, o gel foi lavado três vezes por 20 minutos em 25 mL de 0,05 M tampão citrato fosfato, pH 5,4, com agitação lenta. A atividade da peroxidase foi realizada por embebição do gel em 25 mL de tampão citrato-fosfato pH 5,4 contendo 3% de H₂O₂ e 8 mL de guaiacol. Após 2 minutos, bandas marrons indicam atividade de peroxidase (Shimoni, 1994).

3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise dos géis de SDS-PAGE (Figuras 1 e 2), observaram-se perfis proteicos semelhantes para mudas infectadas com PepYMV e controle, nos diferentes tempos após inoculação, para as extrações das proteínas β -1,3 glucanase, quitinase e LTP.

Em relação à atividade de β -1,3-glucanase, observaram-se maiores valores de atividade nas folhas inoculadas em relação às do controle nos diferentes tempos. Essa diferenciação foi mais acentuada nos períodos de 0 e 40 horas após a inoculação (Figura 3). Já para a quitinase, não foi detectada atividade das proteínas em folhas infectadas e controle nos diferentes tempos, por meio do método empregado. Vieira et al. (2009), avaliando proteínas de defesa expressos em plântulas de feijão-de-corda infectados com os fungos *F. oxysporum* f. sp.

phaseoli e *F. oxysporum* f. sp. *ubenses*, não verificaram atividade quitinásica nos diferentes tempos após a inoculação.

As quitinases de plantas podem estar presentes tanto constitutivamente quanto ser induzidas após estresses bióticos e abióticos (El-Katany et al., 2001; Bailey et al., 2005), e estão diretamente relacionadas à defesa contra fungos, juntamente com β -1,3-glucanase, no qual, degradam o homopolímero linear β -1,4 N-acetilglucosamina, componente abundante da parede celular dos fungos (El-Katany et al., 2001; Van Loon et al., 2006).

Em vírus, essas duas proteínas também têm sido relatadas promovendo resistência ao *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) em nabo (Profotová et al., 2007); ao *Brome mosaic virus* (BMV) em milho (Nasser et al., 1988); ao Pepper mild mottle virus (PMMoV) em pimenta (Elvira et al., 2008), entre outras.

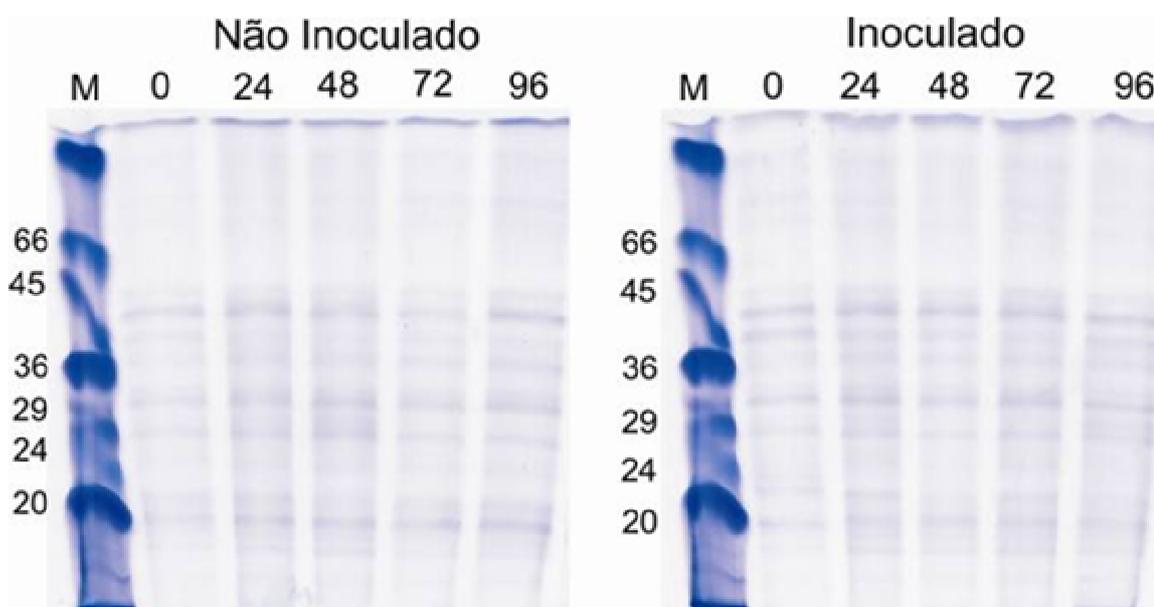


Figura 1 – Eletroforese em gel de poliacrilamida 15% das amostras inoculadas e controle extraídas para β -1,3-glucanase e quitinase, em diferentes tempos após a inoculação com PepYMV (0, 24, 48, 72 e 96 horas) em *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624); M – marcador de massa molecular em KDa.

Pela técnica *Western blotting*, não foi possível detectar a presença de LTP, nos tecidos vegetais das mudas-controle e infectadas em diferentes tempos. A LTP tem como função principal transferir fosfolipídios entre membranas (Kader, 1996). Em relação à defesa das plantas, várias pesquisas vêm demonstrando *in vitro* atividades antimicrobianas contra fungos e bactérias (Cammue et al., 1995; Molina et al., 1997; Wang et al., 2004). Wang et al. (2004), trabalhando com

isolado de LTP de sementes de *Phaseolus* spp., detectaram atividade antifúngica contra *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidermatum* e *Sclerotium rolfsii*; e atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. Foi também detectada nesta LTP uma capacidade de transferência de lipídeos similar às de LTPs de milho e trigo, indicando a sua possível atuação no transporte de lipídeos. Em vírus, Park et al. (2002) verificaram a expressão de cDNA de LTP durante a resposta de resistência ao *Tobacco mosaic virus* (TMV) em *Capsicum*.

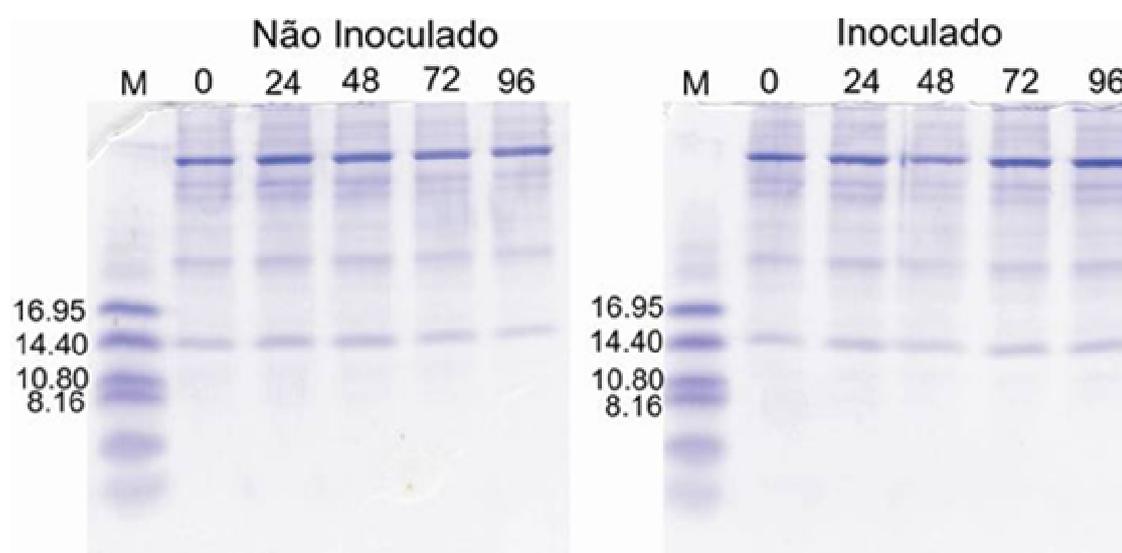


Figura 2 – Eletroforese em gel de poliacrilamida 15% das amostras inoculadas e controle extraídas para LTP, em diferentes tempos, após a inoculação com PepYMV (0, 24, 48, 72 e 96 horas), em *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624); M – marcador de massa molecular em KDa.

Para peroxidase, na análise dos géis SDS-PAGE (Figura 4), observou-se aumento da expressão da banda de aproximadamente 45 KDa, no período de 48 e 72 horas depois de inoculado. Posteriormente, confirmou-se a atividade da peroxidase, neste período, em gel de poliacrilamida 14% em condições não-desnaturantes, no qual a atividade da peroxidase é determinada por bandas de coloração marrom (Figura 5).

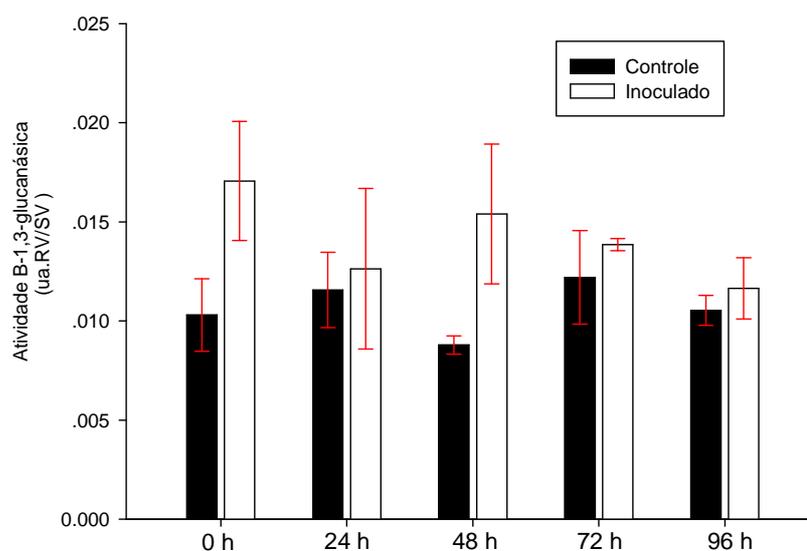


Figura 3 – Atividade β -1,3-glucanásica em folhas de mudas de pimenta *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624) inoculadas (I) e não inoculadas (NI) com PepYMV, no período de 0 a 96 horas.

Para peroxidase, na análise dos géis SDS-PAGE (Figura 4), observou-se aumento da expressão da banda de aproximadamente 45 KDa, no período de 48 e 72 horas depois de inoculado. Posteriormente, confirmou-se a atividade da peroxidase, neste período, em gel de poliacrilamida 14% em condições não-desnaturantes, no qual a atividade da peroxidase é determinada por bandas de coloração marrom (Figura 5).

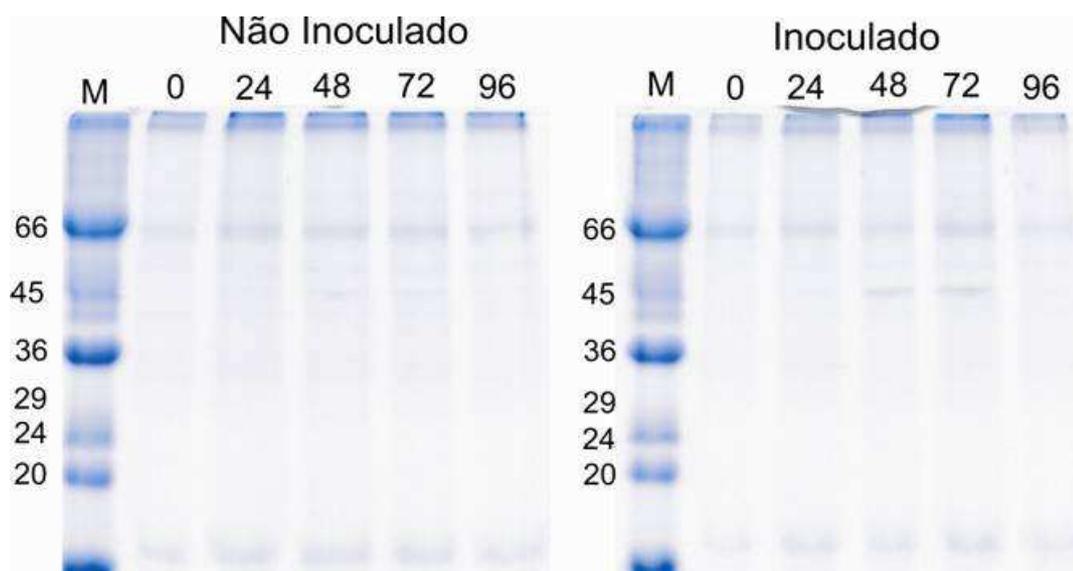


Figura 4 – Eletroforese em gel de poliacrilamida 15% das amostras inoculadas e controle extraídas para peroxidase, em diferentes tempos, após a inoculação com PepYMV (0, 24, 48, 72 e 96 horas), em *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624); M – marcador de massa molecular em KDa.

A atividade peroxidase também foi determinada por espectrofotometria, e corrobora os resultados nos géis SDS-PAGE e desnaturante (Figura 6). Com isso, verificou-se elevada atividade de peroxidase, nos períodos de 48 e 72 horas, nas plantas inoculadas. Já para as plantas não inoculadas, a atividade da peroxidase foi detectada a partir de 48 horas após a inoculação com solução-tampão com carborundum.

A peroxidase é uma importante enzima, presente em plantas e está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da alongação de células, entre outras (Kao, 2003; Passardi et al., 2004).

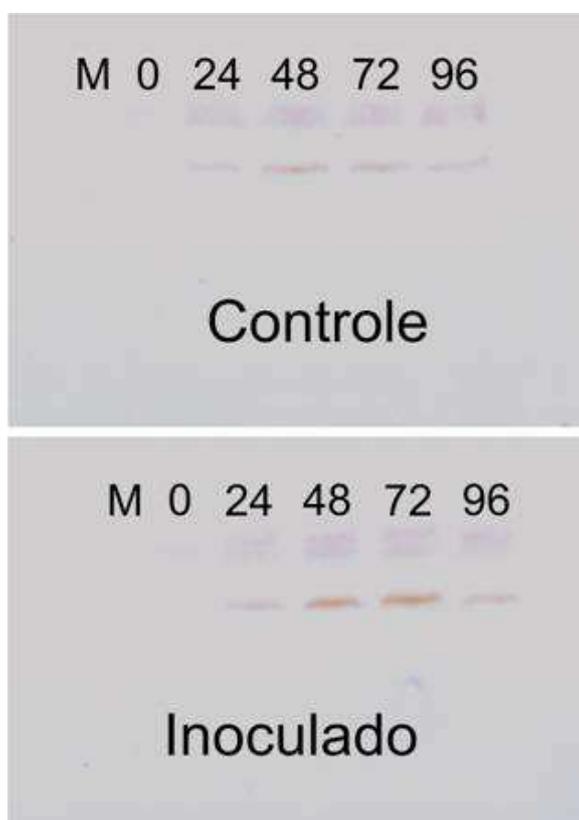


Figura 5 – Atividade peroxidásica em gel de eletroforese 14%, das amostras inoculadas e controle, em diferentes tempos após a inoculação com PepYMV (0, 24, 48, 72 e 96 horas) nas plantas de *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624); M – marcador de massa molecular em KDa.

Diversos trabalhos vêm demonstrando o papel da peroxidase na condução da transdução do sinal oxidativo para o controle redox, homeostase de Ca^{2+} , essenciais ao movimento dos estômatos, expressão de genes relacionados à defesa, resposta ao gravitropismo, plasticidade da parede celular e na alongação

das células das plantas (Quiroga et al., 2000; Kawano, 2003; Vieira et al., 2009). Além da degradação de espécies reativas de oxigênio (EROs), as peroxidases são capazes de gerar EROs (H_2O_2 , OH^\cdot , O_2^\cdot), que são tóxicas aos patógenos, que ocorrem após as interações patogênicas, que são produzidas pela atividade oxidativa da peroxidase extracelular, durante o reforço da parede celular, e pela síntese de ácido salicílico (AS), monoaminas aromáticas (AMAs) e quitooligossacarídeos (COSs) (Hiraga et al., 2001; Kawano, 2003; Vieira et al., 2009).

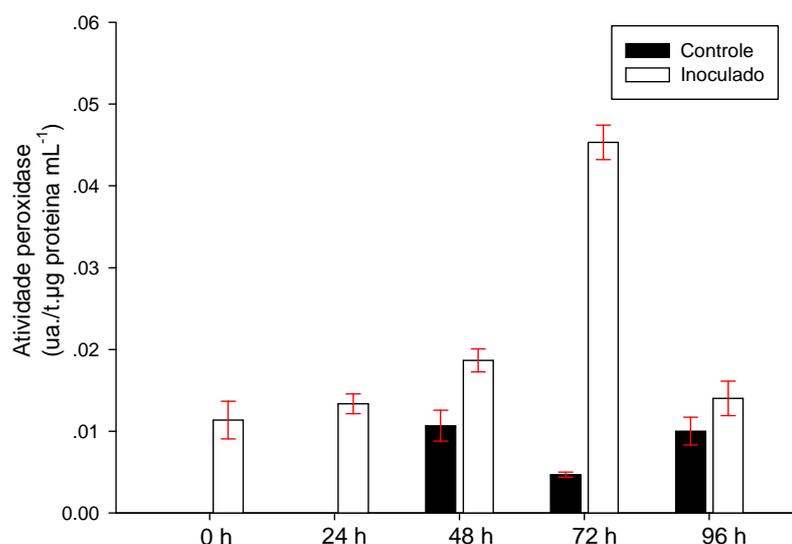


Figura 6 – Atividade β -1,3-peroxidásica em folhas de mudas de pimenta *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624) inoculadas (I) e não inoculadas (NI) com PepYMV, no período de 0 a 96 horas.

A indução ou acúmulo de peroxidase em resposta à inoculação ao patógeno foi demonstrada nos patossistemas arroz -*Pyricularia oryzae* e *Bipolaris sorokiniana*, abobora - *Colletotrichum leganarium*, tomate - *F. oxysporum*, e mandioca - *Xanthomonas cassavae* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, em resposta à inoculação ao patógeno (Pereira et al., 2000; Houtermanetal, 2007; Vieira et al., 2009). Em interações vírus-planta, a atividade da peroxidase foi associada ao fumo contra *Tobacco mosaic virus* (TMV) (Lagrimini e Rothstein, 1987; Ye et al., 1990); em feijão contra *White clover mosaic potexvirus* (WCIMV) (Clarke et al., 2002); e em abobora contra *Cumcuber mosaic virus* (CMV) e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (Técsi et al., 1996; Radwan et al., 2006; Radwan et al., 2007).

3.3.6. CONCLUSÃO

A peroxidase pode ser um dos fatores envolvidos na resistência de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – UENF 1624 ao PepYMV.

3.3.7. LITERATURA CITADA

Boiteux, L.S.; Pessoa, H.B.S.V. (1994). Additional sources of resistance to an isolate PVY^m in *Capsicum* germoplasm. *Fitopatologia Brasileira*, 19: 291.

Bento, C.S.; Rodrigues, R.; Zerbini Júnior, F.M.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R. (2009). Sources of resistance against the *Pepper yellow mosaic virus* in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 27: 196-201.

Carmo, M.G.F.; Zerbini-Júnior, F.M.; Maffia, L.A. (2006) Principais doenças da cultura da pimenta. *Informe Agropecuário*, 27: 87-98.

Caruso, C.; Chilosi, G.; Caporale, C.; Leonardi, L.; Bertini, L.; Magro, P.; Buonocore, V. (1999). Induction of pathogenesis-related proteins in germinating wheat seeds infected with *Fusarium culmorum*. *Plant Science*, 140: 107-120.

Carvalho, A.O.; Machado, O.L.T.; Da Cunha, M.; Santos, I.S.; Gomes, V.M. (2001). Antimicrobial peptides and immunolocalization of a LTP in *Vigna unguiculata* seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39: 137-146.

Clarke, S.F.; Guy, P.L.; Burritt, D.J.; Jameson, P.E.; Kao, C.H. (2003). Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzyme in rice leaves. *Plant Growth Regulation*, 39: 83-89.

Dixon, R.A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411: 843-847.

Elvira, M.I.; Galdeano, M.M.; Gilardi, P.; Garci-Luque, I.; Serra, M.T. (2008). Proteomic analysis of pathogenesis-related proteins (PRs) induced by compatible and incompatible interactions of *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) in *Capsicum chinense* L3 plants. *Journal of Experimental Botany*, 59:1253-1265.

Fink, W.; Liefland, M.; Mendgen, K. (1988) Chitinases and β -1,3 glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.). *Plant Physiology*, 88: 270 - 275.

Granier, F. (1988). Extration of proteins for two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis*. 9, 712-718.

Hammond-Kosack, K.E.; Jones, J.D. (1997) Plant disease resistance genes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 48: 575-607.

Heath, M.C. (2000). Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology*, 44: 321-334.

Jones, J.D.G.; Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444: 323-329.

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.

Leon, J.C.; Alpeeva, I.S.; Chubar, T.A.; Galaev, I.Y.; Csoregi, E.; Sakharov, I.Y. (2002). Purification and substrate specificity of peroxidase from sweet potato tubers. *Plant Science*, 163: 1011-1019.

Maciel-Zambolim, E.; Costa H.; Capucho, A.S.; Ávila, A.C.; Inoue-Nagata, A.K.; Kitagima, E.W. (2004) Surto epidemiológico do vírus do mosaico amarelo do

pimentão em tomateiro na região serrana do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 325-327.

Menten, J.O.M. (1990) Evitação: forma de defesa das plantas contra patógenos que deve ser melhor compreendida e explorada. *Summa Phytopathologica*, 16: 77-82.

Metha, A.; Brasileiro, A.C.M.; Souza, D.S.L.; Romano, E.; Campos, M.A.; Grossi-de Sá, M.F.; Silva, M.S.; Franco, O.L.; Fragoso, R.R.; Bevitori, R.; Rocha, T.L. (2008). Plant-pathogen interactions: what is proteomics telling us? *The FEBS Journal*, 3731-3746.

Nascimento, I.R.; Costa do Vale, L.A.; Maluf, W.R.; Gonçalves, L.D.; Gomes, L.A.A.; Moreto, P.; Lopes, E.A.G.L. (2007). Reação de híbridos, linhagens e progênes de pimentão a requeima causada por *Phytophthora capsici* e ao mosaico amarelo causado por Pepper yellow mosaic virus (PepYMV). *Ciência Agrotecnologia*, 31: 121-128.

Nasser, W.; Tapia, M.; Kauffmann, S.; Montasser-Kouhsari, S.; Burkard, G. (1988). Identification and characterization of maize pathogenesis-related proteins. Four maize PR proteins are chitinases. *Plant Molecular Biology*, 11:529-538.

O'Brien, M., Colwell, R.R. (1987). A rapid test for chitinase activity that uses 4-methylumbelliferyl-N-acetyl-D-glucosaminide. *App. Environm. Microbiol.*, 7: 1718 - 1720.

Park, C.J.; Shin, R.; Park, J.M.; lee, G.L.; You, J.S.; Paek, K.H. (2002). Induction of pepper cDNA encoding a lipid transfer protein during the resistance response to tobacco mosaic virus. *Plant Molecular Biology*, 48: 243-254.

Profotová, B.; Burketová, L; Valentová, O. (2007). Chitinase isozymes induced by TYMV and *Leptosphaeria maculans* during compatible and incompatible interaction with *Brassica napus*. *Biologia Plantarum*, 51:507-513.

Schagger, H.; Von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal. Biochem*, 166: 368-379.

Shimoni, M. (1994). A Method for activity Staining of peroxidase and β -1,3-glucanase isozymes in polyacrylamide electrophoresis gels. *Analytical Biochemistry*, 220: 36-38.

Towbin, H.; Staehelin, T.; Gordon, J. (1979). Eletrophoretic transfer of protein from poliacrilamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Sci.*, 76: 4350-4354.

Truta, A.A.C.; Souza, A.R.R.; Nascimento, A.V.S.; Pereira, R.C.; Pinto, C.M.F.; Brommonschenkel, S.H.; Carvalho, M.G.; Zerbini, F.M. (2004). Identidade e propriedades de isolados de potyvirus provenientes de *Capsicum* spp. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 160-168.

Van Loon, L.C.; Van Strien, E.A. (1999). The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR1 type proteins. Graduate school Experimental Pant Science, Institute of Biology, Section Phytopathology, Utrecht University, The Netherlands. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55, 85-97.

Van Loon, L.C.; Rep, M.; Pieterse, C.M.J. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44: 135-162.

Vieira, F.A.; Carvalho, A.O.; Vitória, A.P.; Retamal, C.A.; Gomes, V.M. (2009). Differential expression of defence-related proteins in *Vigna unguiculata* (L. Walp.) seedlings after infection with *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 1-8.

3.4. HERANÇA DE CARACTERES RELACIONADOS À PRODUÇÃO DE FRUTOS EM *Capsicum baccatum* var. *pendulum* COM BASE EM ANÁLISE DIALÉLICA DE HAYMAN

3.4.1. RESUMO

Este trabalho teve por objetivo estimar parâmetros genéticos relacionados à produção de frutos em um dialelo de pimenta (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*). Foram avaliados cinco genitores de pimenta (UENF 1616; UENF 1624; UENF 1629; UENF 1639; e UENF 1732) e seus respectivos híbridos F₁, a partir de um dialelo completo, sem recíprocos. O experimento foi conduzido em cultivo protegido (polítúnel), na área de convênio UENF/PESAGRO–RIO, Campos dos Goytacazes, no período de julho a dezembro de 2009. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com três repetições e nove plantas por parcela. Avaliaram-se as seguintes características agrônômicas: diâmetro da copa (DC); altura de planta (ALTP); dias para o frutificação (DF); número de frutos por planta (NFP); peso médio do fruto (PMF); massa seca do fruto (MSF); teor de massa seca (TMS); comprimento do fruto (CF); diâmetro do fruto (DIAM); espessura da polpa (ESP); teor de sólidos solúveis totais (TSS); e produção por planta (PROD). Somente as características PMF, MSF e PROD tiveram ausência de significância nos três testes de suficiência do modelo aditivo-dominante, indicando haver homogeneidade entre as variâncias e covariâncias e, conseqüentemente, ausência de epistasia no controle destas características. Para PMF e MSF, os

efeitos gênicos aditivos foram os mais importantes; por sua vez, na expressão de PROD, o efeito de dominância foi o mais importante. Verificaram-se dominância parcial para PMF e MSF, e sobredominância para PROD. Os genitores UENF 1616 e UENF 1629 foram os que tiveram as maiores concentrações de alelos favoráveis para as três características em estudo.

3.4.2. ABSTRACT

This work aimed to estimate genetic parameters related to the production of fruits in a pepper diallel (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*). Five pepper genitors were evaluated (UENF 1616, UENF 1624, UENF 1629, UENF 1639 and UENF 1732) and its respective hybrids F_1 , from an entire diallel without reciprocal ones. The experiment was conducted in protective culture (poli-tunnel) in area from the consortium UENF/PESAGRO-RIO, Campos dos Goytacazes, RJ, from July/2009 to December/2009. The experimental delineation was the one of casualized blocks with three repetitions and nine plants by part. The following agronomic traits were evaluated: canopy diameter (CD); plant height (PH); days for fructification (DF); number of fruits by plant (NFP); fruit average-weight (FAW); fruit dry mass (FDM); dry matter (DM); fruit length (FL); fruit diameter (FD); pulp thickness (PT); total soluble solids (TSS); and yield per plant (PROD). Only the FAW, FDM and PROD had absence of significance concerning the three tests of sufficiency of the additive dominant model, indicating that there is homogeneity among the variances and co-variances and, consequently, lack of epistasis in the control of character. For the FAW and FDM features, the additive genetic effects were the most important ones. On the contrary, in the PROD the dominance effect was the most important. It was verified a partial dominance for FAW and FDM, and an over-dominance for PROD. The genitors UENF 1616 and UENF 1629 were the ones which had larger concentrations of favorable alleles for the three characteristics under study.

3.4.3. INTRODUÇÃO

O estudo do controle genético de características quantitativas é de grande relevância, para a condução eficiente de um programa de melhoramento de plantas, orientado na escolha dos melhores procedimentos de seleção e dos métodos mais eficientes na condução das populações segregantes (Ramalho et al., 1993; Cruz e Regazzi, 2001; Lédo et al., 2001; Silva et al., 2004; Khan et al., 2009; Schuelter et al., 2010). Os cruzamentos dialélicos se mostram bastante eficientes, devido à geração de informações valiosas para o melhorista como, por exemplo, escolha de genitores para hibridação, identificação de métodos mais eficientes de seleção e conhecimentos das bases genéticas que controlam as características (Cruz e Regazzi, 2001).

Entre os métodos de análise dialélica, Cruz e Regazzi (2001) mencionam como os principais o proposto por Griffing (1956), pelo qual são estimados os efeitos da capacidade geral e específica de combinação; o de Gardner e Ebehart (1966), no qual são avaliados os efeitos variedade e heterose varietal; e o método proposto por Hayman (1954), que gera informações sobre os mecanismos básicos de herança da característica em estudo.

O método de Hayman (1954) se baseia no conhecimento da natureza ambiental e genética de estatísticas (médias, variâncias e covariâncias), obtida a partir de uma tabela dialélica, que fornecem informações sobre o grau médio de dominância da característica, distribuição de alelos entre genitores, limite teórico de seleção, relação entre alelos favoráveis e dominância, proporção entre genes dominantes e recessivos, e coeficientes de determinação genotípica (Cruz et al., 2004; Lédo et al., 2001; Silva et al., 2004; Silva et al., 2010). Entretanto, as restrições do modelo genético-estatístico - a) segregação diploide, b) genitores homocigotos, c) ausência de efeito materno, d) ausência de alelismo múltiplo, e) genes distribuídos independentemente, e f) ausência de epistasia - são obstáculos para a utilização desta metodologia pelos pesquisadores (Cruz et al., 2004; Schuelter et al., 2010; Silva et al., 2010).

Em olerícolas, alguns autores vêm utilizando esta metodologia para incrementar informações em diversos caracteres quantitativos de interesse como, por exemplo, em tomate (Maluf et al., 1982; Miranda et al., 1982; Amaral Júnior et al., 1999; Schuelter et al., 2000; Hazra e Ansary, 2008); alface (Lédo et al., 2001);

e pimentão/pimenta (Souza e Maluf, 2003; Xue-xiao et al., 2007; Patil e Salimath, 2008; Schuelter et al., 2010). No caso mais específico das pimentas, Souza e Maluf (2003), avaliando os componentes genéticos das características produção total, relação comprimento/diâmetro do fruto, matéria seca de fruto por planta, incidência de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, rendimento de capsaicina por planta e número de sementes por fruto em cinco genitores e 10 híbridos de *C. chinense*, constataram a importância e predominância de efeitos gênicos não aditivos para todos os caracteres avaliados. Os autores também evidenciaram importante efeito de epistasia para matéria seca de frutos por planta, rendimento de capsaicina por planta e número de sementes por fruto.

Schuelter et al. (2010) investigaram o controle genético para as características massa total de frutos frescos (MTFF), massa total de frutos secos (MTFS), porcentagem de matéria seca do fruto (PMSF), teor de sólidos solúveis totais (TSS), teor de vitamina C (VITC), pungência de frutos (PUNF) e número de sementes por fruto (NSPF) em 10 acessos de *C. chinense*, incluindo cinco pungentes e cinco não-pungentes. Os autores verificaram que o modelo aditivo dominante foi considerado adequado para as características MTFF, PMSF, TSS e VITC. Os mesmos autores verificaram que os efeitos gênico-aditivos e de dominância foram importantes para as características em estudo e que o incremento das características MTFF, % DM e TSS foi determinado por fatores genéticos recessivos. Os genitores BGH7295-101 (pungente) e BGH6233-85 (não-pungente) detiveram o maior número de alelos dominantes, e os genitores BGH4289-44 (pungente) e BGH4223-39 (não-pungente), o maior número de alelos recessivos.

Em *C. Baccatum*, estudos sobre herança de caracteres quantitativos são raros. Rêgo (2001), em cruzamentos dialélicos envolvendo oito genótipos de *C. baccatum*, verificou que tanto os efeitos de dominância como aditivos contribuem para o controle das características maior diâmetro, comprimento e matéria fresca do fruto e número de frutos por planta, sendo que os efeitos aditivos foram preponderantes.

Este trabalho teve como objetivo determinar o controle genético de alguns caracteres agrônômicos importantes, em um dialelo de cinco acessos de *C. baccatum* var. *pendulum*, com o propósito de obter subsídios para futuros programas de melhoramento.

3.4.4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinco acessos de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) (UENF 1616; UENF 1624; UENF 1629; UENF 1639; e UENF 1732). Os cruzamentos envolvendo os cinco genitores foram realizados em esquema de dialelo completo, sem recíprocos, obtendo-se um total de 10 híbridos, conforme a expressão: $F_1 = \left[\frac{p(p-1)}{2} \right]$, onde p é o número de genitores. As hibridações foram realizadas em condições de casa de vegetação, localizada na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) da UENF, utilizando-se oito vasos por genitor, cada um contendo uma planta, sendo os cruzamentos realizados entre os meses de abril a junho de 2008.

Para a realização dos cruzamentos, botões florais recém-abertos de cada um dos genitores masculinos foram coletados para retirada do pólen. O pólen obtido de cada genitor foi armazenado em geladeira dentro de recipientes, contendo sílica-gel, devidamente identificados.

Os botões florais das plantas dos cinco genitores femininos foram emasculados pela manhã, antes da antese, utilizando-se uma pinça. No mesmo período, a polinização foi feita colocando-se grãos de pólen de cada um dos genitores masculinos nos estigmas de cada flor emasculada. Fios de lã de cores diferentes foram utilizados para identificar os frutos oriundos de cada diferente tipo de cruzamento.

Para avaliação das características agrônômicas, os híbridos e os genitores foram cultivados em politúnel na área de convênio da UENF com Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO), Estação Experimental de Campos, em Campos dos Goytacazes, RJ. Os genótipos foram semeados em bandeja de isopor de 128 células, com substrato Plantmax[®] e, após o surgimento de dois pares de folhas definitivas, as mudas foram transferidas para o campo. Durante a condução do experimento, foram efetuados os tratos

culturais normalmente recomendados para a cultura (Filgueira, 2005) como capinas, tutoramento, adubação e irrigação pelo sistema de microaspersão.

As características agronômicas avaliadas foram:

Diâmetro da copa (DC) – Mensurado com trena metálica na maior altura da planta em cm, quando 50% das plantas da parcela apresentaram frutos maduros.

Altura de planta (ALTP) – Mensurada com trena metálica na maior altura da planta em cm, quando 50% das plantas da parcela apresentaram frutos maduros.

Dias para frutificação (DF) – Número de dias do transplântio até 50% das plantas da parcela, apresentando frutos maduros na primeira e/ou segunda bifurcação.

Número de frutos por planta (NFP) – Somatório do número de frutos obtidos em todas as colheitas realizadas.

Peso médio do fruto (PMF) – Peso médio em gramas, utilizando-se a razão entre o peso total de frutos por planta e o número de frutos por planta.

Massa seca do fruto (MSF) – Peso médio em g de frutos secos, em g, utilizando-se estufa de circulação forçada a 65°C e 72 horas. Foram avaliados cinco frutos por planta.

Teor de matéria seca (TMS) – Razão entre TMS *versus* PMF, multiplicada por 100.

Comprimento do fruto (CF) – Mensurado no maior comprimento, em cm, quando o fruto estava maduro, utilizando-se paquímetro digital. Média de cinco frutos por planta.

Diâmetro do fruto (DIAM) – Mensurado na maior largura, em cm, quando o fruto estava maduro, utilizando-se paquímetro digital. Média de cinco frutos por planta.

Espessura da polpa (ESP) – Mensurada na maior espessura, em mm, quando o fruto estava maduro, utilizando-se paquímetro digital. Média de cinco frutos por planta.

Teor de sólidos solúveis totais (TSS) – Em °Brix, utilizando paquímetro digital.

Produção por planta (PROD) – Multiplicação de NFP e PMF (Kg.planta⁻¹).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições e nove plantas por parcela. O espaçamento foi de 1,0 x 0,9 m entre as fileiras e entre as plantas.

Todas as características agronômicas foram avaliadas utilizando-se o método proposto por Jinks e Hayman (1953) e Hayman (1954a,1954b). Este procedimento baseia-se no conhecimento da natureza ambiental e genética de

estatísticas, tais como, médias, variâncias e covariâncias, obtidas a partir de uma tabela dialélica, envolvendo p genitores homocigotos. Supõe-se que estes diferem em um loco (T/t), ainda existindo uma proporção u_t de genitores com alelos favoráveis e outra, v_t com alelos desfavoráveis, ilustrados na Tabela 1 (Cruz et al., 2004).

Tabela 1 - Número e frequência de genótipos entre genitores

Genitores	número	Frequência	θ_t
TT	p1	u	1
tt	p2	v	- 1
Total	p	1	

$\theta_t = 1$ se o genótipo é favorável e -1 se desfavorável

Cruz *et al.* (2004) consideram que os genes em questão assumem uma distribuição independente entre os genitores, e que os valores genotípicos, relacionados aos genótipos TT, Tt e tt, são, respectivamente, d_t , h_t e $-d_t$, definindo:

a) Valor genotípico do i -ésimo genitor

$$Y_{ii} = \sum_t d_t \theta_{ii}$$

b) Valor genotípico das médias dos progenitores

$$\bar{Y}_p = \frac{1}{p} \sum_i Y_{ii} = \sum_t d_t w_t$$

c) Valor genotípico da progênie entre os genitores i e j

$$Y_{ij} = \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t \theta_{ii}) \theta_{ij} + d_t \theta_{ii} + h_t]$$

d) Valor genotípico da média da i -ésima linha

$$\bar{Y}_i = \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t w_t) \theta_{ii} + d_t w_t + h_t]$$

e) Valor genotípico da média da j -ésima coluna

$$\bar{Y}_{.j} = \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t w_t) \theta_{ij} + d_t w_t + h_t]$$

f) Valor genotípico da média geral

$$\bar{Y}_{..} = \sum_t d_t w_t + \frac{1}{2} \sum_t h_t (1 - w_t^2)$$

Normalmente, entre os híbridos e seus recíprocos, não há diferenças. Sendo assim, utilizam-se, na tabela dialélica, as estimativas de $(Y_{ij} + Y_{ji})/2$. Dessa forma, considerando-se apenas os componentes ambientais (residuais), têm-se:

$$E(Y_{ii}^2) = \varepsilon$$

$$E(Y_{ij}^2) = \frac{1}{2} \varepsilon'$$

Em que ε e ε' são variâncias residuais associadas, respectivamente, aos genitores e aos híbridos.

Segundo Cruz *et al.* (2004), os componentes genéticos e ambientais (residuais), associados às variâncias e covariâncias, são expressos por:

Variância entre genitores

$$\hat{V}_p = \frac{1}{(p-1)} \left[\sum_i Y_{ii}^2 - \frac{1}{p} Y_p^2 \right]$$

O valor paramétrico da variância entre genitores (V_p), sob o aspecto genético, foi dado por:

$$V_{p(g)} = V(Y_{ii}) = V \left[\sum_t d_t \theta_{ii} \right] = \sum_t d_t^2 V(\theta_{ii}) = \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2), \text{ sendo } \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2) = D, \text{ a}$$

medida de variação causada pelos efeitos genéticos aditivos.

Sob o aspecto ambiental, considera-se $E \left[\sum_i Y_{ii}^2 \right] = E(Y_p^2) = p\varepsilon$. Com isto:

$$V_{p(e)} = \varepsilon$$

$$\text{Logo, } V_p = V_{p(g)} + V_{p(e)} = D + \varepsilon$$

b) Variância dentro da linha ou coluna

$$\hat{V}_i = \frac{1}{(p-1)} \left[\sum_j Y_{ij}^2 - \frac{1}{p} Y_{i.}^2 \right]$$

Os componentes genéticos $V_{i(g)}$ e ambientais $V_{i(e)}$, associados à variância V_i , foram dados por:

$$V_{i(g)} = V(Y_{ij}), \text{ para cada } i. \text{ Assim:}$$

$$V_{i(g)} = V \left\{ \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t \theta_{ii}) \theta_{ij} + d_t \theta_{ii} + h_t] \right\}$$

Sendo apenas θ_{ij} variável na i -ésima linha, tem-se que:

$$V_{i(g)} = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii})^2 V(\theta_{ij}) = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii})^2 (1 - W_t^2)$$

Ou ainda:

$$V_{i(g)} = \frac{1}{4} \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2) - \frac{2}{4} \sum_t d_t h_t \theta_{ii} (1 - W_t^2) + \frac{1}{4} \sum_t h_t^2 (1 - W_t^2)$$

Sob o aspecto ambiental, considera-se $E \left[\sum_j Y_{ij}^2 \right] = E(Y_{i.}^2) = \varepsilon + \frac{(p-1)}{2} \varepsilon'$.

Então:

$$V_{i(e)} = \frac{1}{p} \left[\varepsilon + \frac{(p-1)\varepsilon'}{2} \right], \text{ se } \varepsilon = \varepsilon', \text{ então: } V_{i(e)} = \left[\frac{(p-1)}{2p} \right] \varepsilon$$

Portanto, observa-se que:

$$V_i = V_{i(g)} + V_{i(e)} = \frac{1}{4} D - \frac{1}{4} F_i + \frac{1}{4} H_1 + \left[\frac{(p+1)}{2p} \right] \varepsilon,$$

Em que:

$F_i = 2 \sum_t d_t h_t \theta_{ii} (1 - W_t^2)$ correspondente à covariância entre efeitos aditivos e

dominantes nas combinações híbridas do i -ésimo genitor; e $H_1 = \sum_t h_t^2 (1 - W_t^2)$

correspondente à variação causada pelo efeito da dominância.

c) Média das variâncias obtida dentro da linha

$$\bar{V} = \frac{1}{p} \sum_i \hat{V}_i$$

As frações genética e ambiental foram obtidas pela decomposição do valor paramétrico de \bar{V} :

$$\bar{V} = \frac{1}{4} D - \frac{1}{4} F + \frac{1}{4} H_1 + \left[\frac{(p+1)}{2p} \right] \varepsilon,$$

Em que:

$$F = \frac{1}{p} \sum_i F_i = 2 \sum_t d_t h_t W_t (1 - W_t^2)$$

d) Variância entre as médias das linhas

$$\hat{V}_M = \frac{1}{(p-1)} \left[\sum_i \bar{Y}_i^2 - \frac{1}{p} \left(\sum_i \bar{Y}_i \right)^2 \right]$$

Associando o componente genético ao valor paramétrico \hat{V}_M , observam-se:

$$V_{M(g)} = V(\bar{Y}_i) = V \left[\frac{1}{2} \sum_t (d_t - h_t W_t) \theta_{ii} + d_t W_t + h_t \right] = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t W_t)^2 V(\theta_{ii}) =$$

$$\frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t W_t)^2 (1 - W_t^2) = \frac{1}{4} \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2) - \frac{2}{4} \sum_t d_t h_t W_t (1 - W_t^2) + \frac{1}{4} \sum_t h_t^2 W_t^2 (1 - W_t^2)$$

Na obtenção do componente ambiental associado a V_m , foram consideradas as seguintes esperanças matemáticas:

$$E \left(\sum_i \bar{Y}_i^2 \right) = \frac{1}{p^2} \sum_i E \left(\sum_j Y_{ij}^2 \right) = \frac{1}{p^2} \sum_i \left[\varepsilon + \frac{(p-1)}{2} \varepsilon' \right] = \frac{1}{p} \left[\varepsilon + \frac{(p-1)}{2} \varepsilon' \right]$$

$$E \left[\left(\sum_i \bar{Y}_i \right)^2 \right] = \frac{1}{p^2} E \left[\left(\sum_i \sum_j Y_{ij} \right)^2 \right] = \frac{1}{p} \left[\varepsilon + (p-1) \varepsilon' \right]$$

Portanto:

$$V_{M(e)} = \frac{1}{p^2} \left[\varepsilon + \frac{(p-2)}{2} \varepsilon' \right], \text{ se } \varepsilon = \varepsilon', \text{ então: } V_{M(e)} = \frac{\varepsilon}{2p}$$

Deste modo, o valor paramétrico de V_M , estabelecido pelas suas frações genética e ambiental, foi:

$$V_M = \frac{1}{4} D - \frac{1}{4} F + \frac{1}{4} (H_1 - H_2) + \frac{\varepsilon}{2p},$$

sendo que:

$$H_2 = \sum_t h_t^2 (1 - W_t^2)^2$$

$$H_1 - H_2 = \sum_t h_t^2 W_t^2 (1 - W_t^2)$$

e) Covariância entre as médias das colunas e a i-ésima linha

$$\hat{W}_{ci} = \frac{1}{(p-1)} \left[\sum_j Y_{ij} \bar{Y}_{.j} - \frac{1}{p} \sum_j Y_{ij} \sum_j \bar{Y}_{.j} \right], \text{ para cada } i.$$

Assim, a fração genética foi dada por:

$$W_{ci(g)} = \text{Cov}(Y_{ij}, \bar{Y}_{.j}) =$$

$$\text{Cov} \left\{ \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t \theta_{ii}) \theta_{ij}] + d_t \theta_{ii} + h_t, \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t W_t) \theta_{ij} + d_t W_t + h_t] \right\},$$

em que θ_{ij} é o valor variável na expressão anterior. Assim:

$$W_{ci(g)} = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii})(d_t - h_t W_t) V(\theta_{ij}) = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii})(d_t - h_t W_t)(1 - W_t^2) =$$

$$\frac{1}{4} \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2) - \frac{1}{4} \sum_t d_t h_t W_t (1 - W_t^2) - \frac{1}{4} \sum_t d_t h_t \theta_{ii} (1 - W_t^2) + \frac{1}{4} \sum_t h_t^2 W_t \theta_{ii} (1 - W_t^2)$$

A fração ambiental foi obtida, considerando-se as esperanças matemáticas:

$$E \left[\sum_j Y_{ij} \bar{Y}_{.j} \right] = \frac{1}{p} \left[\varepsilon + \frac{(p-1)}{2} \varepsilon' \right]$$

$$E \left[\sum_j Y_{ij} \bar{Y}_{.j} \right] = \frac{1}{p} [\varepsilon + (p-1)\varepsilon']$$

Portanto:

$$W_{ci(e)} = \frac{1}{p^2} \left[\varepsilon + \frac{(p-2)}{2} \varepsilon' \right], \text{ se } \varepsilon = \varepsilon', \text{ então: } W_{ci(e)} = \frac{1}{2p} \varepsilon$$

Por fim, tem-se o valor paramétrico W_{ci} :

$$W_{ci} = \frac{1}{4} D - \frac{1}{8} F - \frac{1}{8} F_i + \frac{1}{4} (H_1 - H_{i2}) + \frac{1}{2p} \varepsilon$$

Em que:

$$H_{i2} = \sum_t h_t^2 (1 - W_t \theta_{ii})(1 - W_t^2)$$

$$H_1 - H_{i2} = \sum_t h_t^2 W_t \theta_{ii} (1 - W_t^2)$$

f) Covariância entre genitores e a i -ésima linha

$$\hat{W}_i = \frac{1}{(p-1)} \left[\sum_j Y_{ij} Y_{ij} - \frac{1}{p} \sum_j Y_{ij} \sum_j Y_{ij} \right]$$

Sua fração genética foi dada por:

$$W_{i(g)} = \text{Cov}(Y_{ij}, Y_{ij}) = \text{Cov} \left\{ \frac{1}{2} \sum_t [(d_t - h_t \theta_{ii}) \theta_{ij}] + d_t \theta_{ii} + h_t, \sum_t d_t \theta_{ij} \right\}$$

Assumindo que θ_{ij} é o valor variável da expressão anterior, observam-se:

$$W_{i(g)} = \frac{1}{2} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii}) d_t V(\theta_{ij}) = \frac{1}{2} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii}) d_t (1 - W_t^2) =$$

$$\frac{1}{2} \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2) \frac{1}{2} \sum_t d_t h_t \theta_{ii} (1 - W_t^2)$$

A fração ambiental de W_i foi obtida, considerando-se as esperanças matemáticas:

$$E \left[\sum_j Y_{ij} Y_{ij} \right] = E \left[\sum_j Y_{ij} \sum_j Y_{ij} \right] = \varepsilon$$

Assim:

$$W_{i(e)} = \frac{1}{p-1} \left[\varepsilon - \frac{\varepsilon'}{p} \right] = \frac{1}{p} \varepsilon$$

Portanto:

$$W_i = \frac{1}{2} D - \frac{1}{4} F_i + \frac{1}{p} \varepsilon$$

g) Média das covariâncias entre genitores e a i-ésima linha

$$\widehat{\bar{W}} = \frac{1}{p} \sum_i \widehat{W}_i$$

Logo:

$$\bar{W} = \frac{1}{2} D - \frac{1}{4} F + \frac{1}{p} \varepsilon$$

h) Quadrado da diferença entre a média geral ($\bar{Y}_{..}$) e a média dos genitores $\bar{Y}_p (M^2)$

Sendo $\hat{M}^2 = (\bar{Y}_{..} - \bar{Y}_p)^2$, tem-se, sob o aspecto genético:

$$M^2_{(g)} = \left[\sum_t d_t W_t + \frac{1}{2} \sum_t h_t (1 - W_t^2) - \sum_t d_t W_t \right]^2 = \frac{1}{4} \left[\sum_t h_t (1 - W_t^2) \right]^2 = \frac{1}{4} h^2$$

em que $h = \sum_t h_t (1 - W_t^2)$

Sob o aspecto ambiental, tem-se:

$$M^2_{(e)} = E(\bar{Y}_{..} - \bar{Y}_p)^2 = E(\bar{Y}_{..}^2 - 2\bar{Y}_{..}\bar{Y}_p + \bar{Y}_p^2)$$

Sendo:

$$E(\bar{Y}_{..}^2) = \frac{1}{p^4} [p\varepsilon + p(p-1)\varepsilon']$$

$$E(\bar{Y}_{..} \bar{Y}_p) = \frac{1}{p} \varepsilon$$

$$E(\bar{Y}_p^2) = \frac{1}{p} \varepsilon$$

Portanto:

$$M^2_{(e)} = \frac{(p-1)}{p^3} [(p-1)\varepsilon + \varepsilon']$$

Estabelecidas as frações genéticas e ambientais, o valor paramétrico de M^2 foi dado por:

$$M^2 = \frac{1}{4}h^2 + \frac{(p-1)}{p^3} [(p-1)\varepsilon + \varepsilon']; \text{ se } \varepsilon = \varepsilon', \text{ então:}$$

$$M^2 = \frac{1}{4}h^2 + \frac{(p-1)}{p^2}\varepsilon$$

As seguintes equações foram obtidas:

$$E(V_p) = D + \varepsilon$$

$$E(V_i) = \frac{1}{4}D - \frac{1}{4}F_i + \frac{1}{4}H_1 + \frac{p+1}{2p}\varepsilon$$

$$E(\bar{V}) = \frac{1}{4}D - \frac{1}{4}F + \frac{1}{4}H_1 + \frac{p+1}{2p}\varepsilon$$

$$E(V_M) = \frac{1}{4}D - \frac{1}{4}F + \frac{1}{4}H_1 - \frac{1}{4}H_2 + \frac{1}{2p}\varepsilon$$

$$E(W_i) = \frac{1}{2}D - \frac{1}{4}F_i + \frac{1}{p}\varepsilon$$

$$E(\bar{W}) = \frac{1}{2}D - \frac{1}{4}F + \frac{1}{p}\varepsilon$$

$$E(M^2) = \frac{1}{4}h^2 + \frac{p-1}{p^2}\varepsilon$$

$$E(QMR) = \varepsilon$$

Com base nos estimadores e omitindo-se as médias de \hat{V}_i e \hat{W}_i , observam-se a disposição de $2p + 4$ equações e $p + 5$ parâmetros a serem estimados (\tilde{D} , \tilde{H}_1 , \tilde{H}_2 , \tilde{h}_2 , $\tilde{\varepsilon}$, e \tilde{F}_i para $i = 1, 2, \dots, p$). Estes parâmetros foram estimados pelo método dos mínimos quadrados, ponderando-se as equações \hat{V}_M , \hat{M}^2 e $\hat{\varepsilon}$ por \sqrt{p} , visto estas dependerem das p^2 observações da tabela dialélica, diferentemente das demais (Cruz *et al.* 2004).

A solução do sistema $X'X\tilde{\beta} = X'Y$ provê os seguintes estimadores:

$$\tilde{\varepsilon} = QMR$$

$$\tilde{D} = \hat{V}_p - \tilde{\varepsilon}$$

$$\tilde{F} = 2\hat{V}_p - 4\bar{\hat{W}} - \left[\frac{2(p-2)}{p} \right] \tilde{\varepsilon}$$

$$\tilde{H}_1 = \hat{V}_p - 4\bar{\hat{W}} + 4\bar{\hat{V}} - \left[\frac{(3p-2)}{p} \right] \tilde{\varepsilon}$$

$$\tilde{H}_2 = 4\bar{\hat{V}} - 4\hat{V}_M - 2\tilde{\varepsilon}$$

$$\tilde{h}^2 = 4\hat{M}^2 - \left[\frac{4(p-1)}{p^2} \right] \tilde{\varepsilon}$$

$$\tilde{F}_i = 2(\hat{V}_p - \bar{\hat{W}} + \bar{\hat{V}} - \hat{W}_i - \hat{V}_i) - \left[\frac{2(p-2)}{p} \right] \tilde{\varepsilon}$$

Segundo (Cruz *et al.*, 2004), apenas F_i não possui solução única. Portanto, a diferença de Y e \tilde{Y} , em que $\tilde{Y} = X\tilde{\beta}$, com relação a \tilde{W}_i e \tilde{V}_i , proporciona a falta de ajustamento do modelo. Deste modo, a soma de quadrados para a falta de ajustamento, associada a $p - 1$ graus de liberdade, foi dada por:

$$\tilde{\delta}'\tilde{\delta} = (Y - \tilde{Y})'(Y - \tilde{Y}) = \sum_i \left[(\hat{W}_i - \tilde{W}_i)^2 + (\hat{V}_i - \tilde{V}_i)^2 \right]$$

Pela substituição dos valores de \tilde{W}_i e \tilde{V}_i , obteve-se a expressão:

$$\hat{\sigma}_d^2 = \frac{1}{p-1} \tilde{\delta}'\tilde{\delta} = \frac{1}{2} \hat{V}(\hat{W}_i - \hat{V}_i)$$

Deste modo, a matriz de covariância dos efeitos estimados foi obtida a partir da matriz $(X'X)^{-1} \hat{\sigma}_d^2$ (Cruz *et al.*, 2004).

O método proposto por Hayman (1954) necessita da aplicação de teste de suficiência para ser aceito, porque pressupõe segregação diploide, progenitores homozigotos, ausência de efeito materno, ausência de alelismo múltiplo, distribuição independente dos genes entre os genitores e a ausência de epistasia. Portanto, foram utilizados dois tipos de testes, descritos conforme (Cruz *et al.*, 2004).

a) Avaliação da suficiência do modelo aditivo-dominante, inicialmente feita pelo coeficiente de regressão linear \hat{W} em função de \hat{V} . Neste caso, a expectativa

$$\text{para equação de regressão é } \hat{W}_i = \frac{(\hat{D} - \hat{H}_1)}{4} + \hat{V}_i$$

Considerando $\hat{W}_i = \hat{a} + \hat{b}\hat{V}_i$, obtém-se

$$\hat{b} = \frac{C\hat{O}V(\hat{W}, \hat{V})}{\hat{V}(\hat{V})}; \text{ e } \hat{a} = \overline{\hat{W}} - \hat{b}\overline{\hat{V}}.$$

Assim:

$$SQ(\text{regressão}) = (p - 1) \hat{V}(\hat{W})$$

$$SQ(\text{desvio}) = SQ(\text{total}) - SQ(\text{regressão})$$

$$QM(\text{desvio}) = \left[\frac{SQ(\text{desvio})}{(p - 2)} \right]$$

Deste modo, a hipótese $H_0: b=1$ versus $H_a: b \neq 1$ é testada, fazendo-se:

$$t = \frac{(\hat{b} - 1)}{\sqrt{\hat{V}(\hat{b})}},$$

Em que:

$$\hat{V}(\hat{b}) = \frac{QM(\text{desvio})}{\sum_i (\hat{V}_i - \overline{\hat{V}})^2}.$$

A validade das pressuposições evidencia-se pela não rejeição da hipótese $H_0: b=1$.

b) No segundo teste, os eixos \hat{W}_i e \hat{V}_i foram ponderados, por meio de uma rotação de 45° (Cruz et al. 2004). A suficiência do modelo foi avaliada pela estatística $F(=t^2)$, associada a 1 e $p - 2$ de liberdade, expressa por r:

$$F = \frac{(p - 2)}{4} \frac{[\hat{V}(\hat{V}) - \hat{V}(\hat{W})]^2}{\hat{V}(\hat{V})\hat{V}(\hat{W}) - C\hat{O}V^2(\hat{W}, \hat{V})}$$

Informações Genéticas

a) Distribuição dos alelos entre os progenitores

Avalia a proporção de progenitores que se encontram em homozigose dominante ou recessiva, segundo a expressão:

$$S = \frac{\tilde{H}_2}{4\tilde{H}_1} = \frac{\sum_i h_i^2 (1 - \hat{W}_i^2)^2}{4 \sum_i h_i^2 (1 - \hat{W}_i^2)}$$

b) Grau médio de dominância

Define a posição ocupada pelo heterozigoto em relação aos homozigotos.

Obtida por meio da seguinte expressão:
$$\sqrt{\frac{\tilde{H}_1}{\tilde{D}}} = \sqrt{\frac{\sum_t h_t^2 (1 - W_t^2)}{\sum_t d_t^2 (1 - W_t^2)}}$$

Em que, o estimador $\sqrt{\frac{\tilde{H}_1}{\tilde{D}}}$ é ponderado em favor de genes que têm os alelos representados igualmente nos genitores (distribuição simétrica) e de genes com grandes efeitos ou expressões.

c) Concentração de alelos dominantes e recessivos nos progenitores

Estima a distribuição dos genes dominantes e recessivos entre os genitores. Basicamente, seu princípio é que os genitores com maior número de genes dominantes produzirão progênes com mínima variância entre si (\hat{V}_i mínimo) e mínima covariância progenitor-progênie (\hat{W}_i mínimo), enquanto genitores com alto número de alelos recessivos produzirão progênes com elevados valores \hat{W}_i e \hat{V}_i . Portanto, utiliza-se a soma $\hat{W}_i + \hat{V}_i$ como indicador da concentração relativa dos alelos recessivos e dominantes nos progenitores.

Sendo $V_{i(g)} = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t \theta_{ii})^2 (1 - W_t^2)$, e

$$W_{i(g)} = \frac{1}{4} \sum_t d_t (d_t - h_t \theta_{ii}) (1 - W_t^2)$$

então, os genitores em total homozigose, dominante e recessiva, terão $\theta_{ii} = 1$ e -1 , respectivamente; e V_D, V_R, W_D e W_R serão:

$$\hat{V}_D = \frac{1}{4} \sum_t (d_t - h_t)^2 (1 - W_t^2); \hat{W}_D = \frac{1}{2} \sum_t d_t (d_t - h_t) (1 - W_t^2)$$

$$\hat{V}_R = \frac{1}{4} \sum_t (d_t + h_t)^2 (1 - W_t^2); \hat{W}_R = \frac{1}{2} \sum_t d_t (d_t + h_t) (1 - W_t^2)$$

Os pontos (V_D, W_D) e (V_R, W_R) foram estimados da seguinte forma:

Sendo $D = \sum_t d_t^2 (1 - W_t^2)$; $H_1 = \sum_t h_t^2 (1 - W_t^2)$; e $\sqrt{DH_1} = \sum_t h_t^2 (1 - W_t^2)$

Então:

$$\tilde{V}_D = \frac{1}{4} (\tilde{D} + \tilde{H}_1) - \frac{1}{2} \sqrt{\tilde{D}\tilde{H}_1}; \tilde{W}_D = \frac{1}{2} \tilde{D} - \frac{1}{2} \sqrt{\tilde{D}\tilde{H}_1}$$

$$\tilde{V}_R = \frac{1}{4} (\tilde{D} + \tilde{H}_1) + \frac{1}{2} \sqrt{\tilde{D}\tilde{H}_1}; \tilde{W}_R = \frac{1}{2} \tilde{D} + \frac{1}{2} \sqrt{\tilde{D}\tilde{H}_1}$$

Consequentemente, os genitores com maior concentração de genes dominantes ficarão na extremidade inferior da reta, enquanto os genitores recessivos ficarão na extremidade superior da reta. Genitores com frequência igual de genes dominantes e recessivos se posicionarão na região mediana.

d) Limites teóricos de seleção

Referem-se ao valor médio esperado para o genitor, completamente dominante ou recessivo em relação aos genes segregantes no dialelo. O limite é estimado por meio de uma equação de predição, dada pela regressão de Y_{ii} em função de $\hat{W} + \hat{V}$, expresso a seguir (Cruz *et al.*, 2004).

$$\hat{Y}_{ii} = \hat{\alpha}_0 + \hat{\alpha}_1(\hat{W}_i + \hat{V}_i)$$

$$\hat{\alpha}_0 = \bar{Y}_p - \hat{\alpha}_1(\bar{\hat{W}} + \bar{\hat{V}})$$

$$\hat{\alpha}_1 = \frac{C\hat{\sigma}V(\hat{W} + \hat{V}, Y_{ii})}{\hat{V}(\hat{W} + \hat{V})}$$

Ao substituírem os valores esperados $\hat{W}_D, \hat{V}_D, \hat{W}_R$ e \hat{V}_R , na equação de predição, foram obtidos \hat{Y}_D e \hat{Y}_R , os quais são estimadores dos limites máximos e mínimos a serem obtidos por seleção.

e) Relação entre alelos favoráveis e dominância

O alelo que propicia acréscimo na média genotípica do caráter pode ser dominante ou recessivo, e a medida desta associação é obtida pela correlação entre o valor médio do progenitor Y_{ii} e a medida $\hat{W}_i + \hat{V}_i$, ou seja:

$$r = \frac{C\hat{\sigma}V(\hat{W} + \hat{V}, Y_{ii})}{\sqrt{\hat{V}(\hat{W} + \hat{V})V_p}}$$

Sendo r negativo, os genes dominantes proporcionam aumento na média da característica; caso contrário, r positivo, os genes recessivos, em sua maioria, é que proporcionam aumento na média da característica.

f) Número de genes que exibem dominância

Será considerado que, entre os k genes que controlam o caráter, há k_+ genes com dominância positiva e k_- genes com dominância negativa, independentemente distribuídos entre os genitores.

Se os efeitos h_i não são nulos e são diferentes em magnitude e $w_i = 0$ (ocorre quando $H_1 - H_2$ é estatisticamente nulo), uma medida do número de genes pode ser dada pela expressão:

$$\frac{\tilde{h}^2}{\tilde{H}^2} = \frac{\left[\sum_i h_i (1 - \tilde{W}_i^2)^2 \right]}{\sum_i h_i^2 (1 - \tilde{W}_i^2)^2}$$

g) Coeficiente de determinação genotípica

É definido como a proporção da variação fenotípica entre populações (genitores e híbridos), sendo de natureza genotípica. Pode-se obtê-lo por duas expressões:

$$\tilde{h}_R^2 = \frac{\tilde{D} - \tilde{F} + \tilde{H}_1 - \tilde{H}_2}{\tilde{D} - \tilde{F} + \tilde{H}_1 - \frac{1}{2}\tilde{H}_2 + 2\tilde{\mathcal{E}}}$$

$$\tilde{h}_A^2 = \frac{\tilde{D} - \tilde{F} + \tilde{H}_1 - \frac{1}{2}\tilde{H}_2}{\tilde{D} - \tilde{F} + \tilde{H}_1 - \frac{1}{2}\tilde{H}_2 + 2\tilde{\mathcal{E}}}$$

Em que:

\tilde{h}_R^2 = coeficiente de determinação no sentido amplo; e

\tilde{h}_A^2 = coeficiente de determinação no sentido restrito.

Todas as análises genético-estatísticas foram realizadas pelo programa GENES (Cruz, 2006).

3.4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os caracteres estudados, houve significância do efeito genótipos (cultivares + respectivos híbridos F_1) pelo teste F. Os coeficientes de variação experimental (%) obtidos em DF, TMS(%), COMP, TSS, ALTP, ESP, DIAM, DC, MSF, PMF, PROD e NFP foram de 2,06, 6,46, 7,86, 8,01, 9,65, 10,01, 10,29, 11,81, 13,80, 15,80, 23,90 e 24,17, respectivamente. Esses resultados refletem

uma precisão experimental, garantindo a validade das conclusões inferidas. Assim, procedeu-se à análise dialélica de cada caráter, segundo o método de análise dialélica proposto por Jinks e Hayman (1953) e Hayman (1954a, 1954b).

Para aplicação deste método, é necessária a aplicação de testes de suficiência do modelo aditivo-dominante, com base na heterogeneidade $\hat{W}_r - \hat{V}_r$. Na Tabela 2, são apresentados os resultados da aplicação de três testes, na avaliação da adequação dos dados, ao modelo aditivo-dominante dos caracteres avaliados. Os caracteres PMF, MSF e PROD tiveram ausência de significância nos três testes, indicando haver homogeneidade entre as variâncias e covariâncias e, conseqüentemente, ausência de epistasia no controle do caráter. Logo, evidenciam-se a adequação às restrições impostas e a viabilidade de utilização do modelo aditivo-dominante. Nos demais caracteres, a ocorrência de significância em pelo menos um dos testes do modelo aditivo-dominante evidenciou a existência de epistasia e não adequação do modelo. Em razão disso, os caracteres DC, ALTP, DF, NFP, TMS (%), COMP, DIAM, ESP e TSS foram excluídos da análise.

Tabela 2 – Teste de suficiência do modelo genético aditivo-dominante com base na análise de variância dos valores $\hat{W}_r - \hat{V}_r$ e na análise de regressão linear de \hat{W}_i , em função de \hat{W}_r , segundo o método de Hayman (1954a, 1954b). Campos dos Goytacazes, RJ.

Caráter ^{1/}	Anova $\hat{W}_r - \hat{V}_r$	Regressão [$\hat{W}_r = 1/4(\hat{D} - \hat{H}_I) + b\hat{V}_r$]		
	QM Linhas	b ± Variância	t (H ₀ : b = 1)	F = t ² (H ₀ : b' = 0) ^{2/}
DC	8290,9769**	0,9577 ± 0,0116	- 0,6460 ^{N.S}	- 0,3167 ^{N.S}
ALTP	4564,5830**	0,9775 ± 0,0108	-5,4265**	2,1975 ^{N.S}
DF	25,9645 ^{N.S}	0,5597 ± 0,0098	-4,4356**	2,8140*
NFP	286735,91 ^{N.S}	0,4107 ± 0,0285	-4,8357**	2,0859 ^{N.S}
PMF	69,7798 ^{N.S}	0,8090 ± 0,0603	-0,7778 ^{N.S}	-0,8922 ^{N.S}
MSF	0,0257 ^{N.S}	0,8965 ± 0,0347	-0,5554 ^{N.S}	-0,6840 ^{N.S}
TMS(%)	0,9383 ^{N.S}	0,1824 ± 0,0442	-5,6233**	0,9317 ^{N.S}
COMP	5763,3389*	0,8254 ± 0,0118	-1,6043 ^{N.S}	0,7568 ^{N.S}
DIAM	609,8747*	0,6964 ± 0,0109	-2,9111*	1,7913 ^{N.S}
ESP	0,0036 ^{N.S}	0,4493 ± 0,0135	-4,7340**	2,6742*
TSS	0,1548*	0,7752 ± 0,0257	-1,4015 ^{N.S}	0,2015 ^{N.S}
PROD	0,0011 ^{N.S}	0,6156 ± 0,0597	-1,5735 ^{N.S}	-0,3168 ^{N.S}

^{1/} DC = diâmetro da copa (cm); ALTP = altura da planta (cm); DF = dias para frutificação; NFP = número de frutos por planta; PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); TMS = teor de matéria seca (%); COMP = comprimento do fruto (mm); DIAM = diâmetro do fruto (mm); ESP = espessura da polpa (mm); TSS = teor de sólidos solúveis totais (%); e PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹). ^{2/}Teste F, ponderando os valores médios de $\hat{W}_r - \hat{V}_r$, por meio de sua rotação de 45°. ^{N.S}Não-significativo * e ** significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F e pelo teste t.

Peso médio do fruto (PMF)

Na tabela 3, estão dispostas as correlações entre o valor genotípico do *i*-ésimo genitor (\bar{Y}_{ii}) e a soma da covariância e variância entre médias da *i*-ésima linha (\hat{W}_i e \hat{V}_i), bem como os valores esperados das coordenadas (V_R, W_R, \hat{W}_D e \hat{V}_D) e da soma delas. Ao se avaliar a característica PMF, observa-se que houve correlação negativa entre (\bar{Y}_{ii}) e (\hat{W}_i e \hat{V}_i) de -0,6632, evidenciando que os alelos dominantes, em sua maioria, são responsáveis pelo aumento médio do peso do fruto. A ordem dos genitores, em relação à concentração de alelos dominantes, é UENF 1616; UENF 1629; UENF UENF 1732; UENF 1639; e UENF 1624 (Tabela 4, Figura 1).

Tabela 3 – Estimativas das correlações entre o valor genotípico do *i*-ésimo genitor (\bar{Y}_{ii}) e a soma da covariância com a variância entre médias da *i*-ésima linha ($\hat{W}_i + \hat{V}_i$), assim como os valores esperados das coordenadas V_R, W_R, \hat{W}_D e \hat{V}_D e da soma destas para três características avaliadas em cinco genitores de *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, segundo a metodologia de Hayman (1954).

Caráter	Estimativas dos parâmetros						
	$r(\bar{Y}_{ii}, \hat{W}_i \text{ e } \hat{V}_i)$	\hat{W}_R	\hat{V}_R	$\hat{W}_R + \hat{V}_R$	\hat{W}_D	\hat{V}_D	$\hat{W}_D + \hat{V}_D$
PMF	-0,6632	75,3238	64,4967	139,8205	7,6969	0,6734	8,3703
MSF	-0,7909	2,1120	1,7392	3,8512	0,3405	0,0452	0,3857
PROD	-0,9813	0,2380	0,3882	0,6262	-0,0537	0,0197	-0,034

^{1/}PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); e PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹).

Tabela 4 – Valores da soma da covariância entre média dos genitores e médias da *i*-ésima linha (\hat{W}_R) e da variância entre médias da *r*-ésima linha (\hat{V}_R) para três características avaliadas em cinco genitores de *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, segundo a metodologia de Hayman (1954).

Genótipos	Características Agronômicas ^{1/}					
	PMF		MSF		PROD	
	$\hat{W}_R + \hat{V}_R$	Média (g/planta)	$\hat{W}_R + \hat{V}_R$	Média (g/planta)	$\hat{W}_R + \hat{V}_R$	Média (Kg./planta)
UENF 1616	30,4602	24,2480	1,3599	3,9607	0,0929	1,2333
UENF 1624	74,2405	9,3578	2,0673	1,4400	0,3268	0,554
UENF 1629	46,4977	28,0560	1,5417	4,7920	0,1284	1,0563
UENF 1732	72,1824	12,6413	1,8081	2,0927	0,1620	0,9440
UENF 1639	72,7051	23,5413	1,8354	3,8307	0,1309	1,1883

^{1/}PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); e PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹).

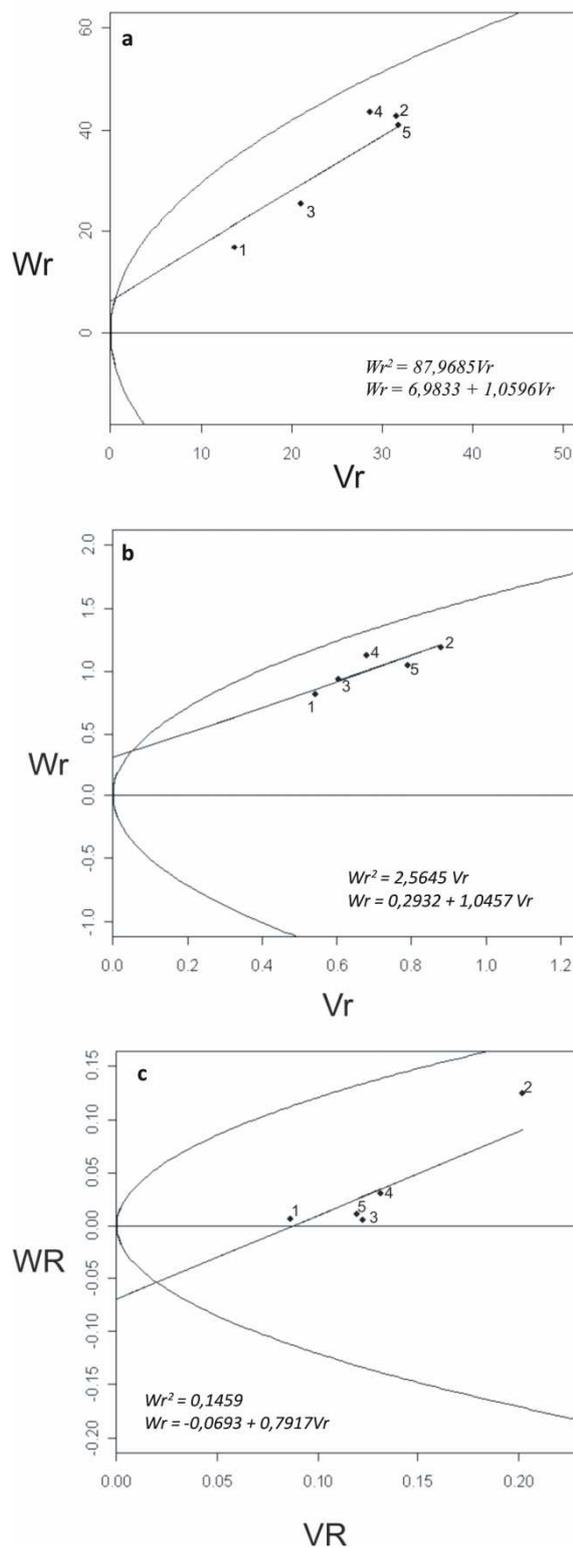


Figura 1 – Regressões de \hat{W}_R em \hat{V}_R das características: (a) Peso médio do fruto (g), (b) massa seca do fruto (g) e (c) produtividade (Kg.planta^{-1}). 1 = UENF 1616, 2 = UENF 1624, 3 = UENF 1629, 4 = UENF 1732 e 5 = UENF 1639.

A Figura 1a evidencia a possibilidade de obtenção de segregantes ainda mais dominantes, o que pode ser constatado pelo fato que o genitor UENF 1616,

embora seja o de maior concentração de alelos dominantes, cujo o valor de $\hat{W}_R + \hat{V}_R = 30,4602$ (Tabela 4), ainda é inferior ao que pode se alcançar, ou seja, 8,3703 (Tabela 4).

Com relação às estimativas dos componentes genéticos (Tabela 5), constata-se que há predomínio dos componentes associados aos efeitos aditivos (\tilde{D}) em relação aos componentes associados aos efeitos não-aditivos (\tilde{H}_1, \tilde{H}_2 e \tilde{h}^2), denotando potencial de ganhos pela obtenção de segregantes superiores. A oportunidade de obtenção desses segregantes torna-se mais concreta, em virtude do valor do coeficiente de determinação no sentido restrito (\tilde{h}_R^2) de 0,6862 (Tabela 6), por ser de uma magnitude suficiente para concluir pela fidedignidade da transmissão dos alelos desejáveis a futuras gerações.

O valor 0,3251 de grau médio de dominância ($\sqrt{\frac{\tilde{H}_1}{\tilde{D}}}$) indica a existência de dominância parcial entre os alelos que atuam no controle gênico dessa característica (Tabela 6), o que é verificado também pelo fato de a reta da regressão de \hat{W}_R em \hat{V}_R interceptar a ordenada acima da origem (Figura 1).

Tabela 5 – Estimativas dos componentes genéticos e não-genéticos de quatro características agrônômicas, segundo o método de Hayman (1954a, 1954b). Campos dos Goytacazes, RJ

Caráter ^{1/}	Componente ^{2/}						
	\tilde{E}	\tilde{D}	\tilde{H}_1	\tilde{H}_2	\tilde{h}^2	\tilde{F}	$\tilde{D} - \tilde{H}_1$
PMF	10,9152	77,0532	8,1455	4,7917	9,2034	27,4147	68,9077
MSF	0,2486	2,3159	0,2195	0,0814	0,0690	0,7353	2,0963
PROD	0,0873	0,0586	0,1668	0,1548	0,2280	0,0446	-0,1082

^{1/}PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); TSS = teor de sólidos solúveis totais (%); e PROD = produtividade (Kg,planta⁻¹). ^{2/} \tilde{E} = componente de variância ambiental; \tilde{D} = componente de variância associado aos efeitos aditivos; \tilde{H}_1 e \tilde{H}_2 = componentes de variância associados aos desvios de dominância; \tilde{h}^2 = componente quadrático determinado pela diferença de média entre os híbridos e país; \tilde{F} = componente associado à covariância entre efeitos aditivos e não-aditivos; e $\tilde{D} - \tilde{H}_1$ = componente que expressa à diferença entre efeitos gênicos aditivos e dominantes.

Tabela 6 - Estimativas dos parâmetros genéticos e não-genéticos de quatro características agrônômicas, segundo o método de Hayman (1954a, 1954b). Campos dos Goytacazes, RJ.

Caráter ^{1/}	Estimativas dos parâmetros ^{2/}					
	$\sqrt{\frac{\tilde{H}_1}{\tilde{D}}}$	$\frac{\tilde{H}_2}{4\tilde{H}_1}$	$\frac{\tilde{K}_D}{\tilde{K}_R}$	$\frac{\tilde{h}^2}{\tilde{H}^2}$	\tilde{h}_R^2	\tilde{h}_A^2
PMF	0,3251	0,1470	3,4163	1,9207	0,6862	0,7173
MSF	0,3079	0,0923	3,1291	0,8475	0,7616	0,7796
PROD	1,6875	0,2320	1,5819	1,4518	0,3976	0,5719

^{1/}PMF = peso médio do fruto (g); MSF = massa seca do fruto (g); e PROD = produtividade (Kg.planta⁻¹).

^{2/} $\sqrt{\frac{\tilde{H}_1}{\tilde{D}}}$ = grau médio de dominância, $\frac{\tilde{H}_2}{4\tilde{H}_1}$ = distância dos alelos - simetria, $\frac{\tilde{K}_D}{\tilde{K}_R}$ = relação

dominante/recessivo, $\frac{\tilde{h}^2}{\tilde{H}^2}$ = número de genes com dominância, \tilde{h}_R^2 = coeficiente de determinação no sentido restrito, e \tilde{h}_A^2 = coeficiente de determinação no sentido amplo.

A simetria alélica pode ser confirmada quando o produto da frequência dos alelos favoráveis e desfavoráveis (u_t , v_t) assume valores próximos a 0,25, com $w_t = 0$, bem como a estimativa $\frac{\tilde{K}_D}{\tilde{K}_R}$ apresentar magnitudes próximas à unidade.

Considerando-se que a relação $\frac{\tilde{H}_2}{4\tilde{H}_1}$ expressou valor equivalente a 58,8% de 0,25 e que $\frac{\tilde{K}_D}{\tilde{K}_R}$ revelou estimativas superiores à unidade, não se pode inferir sobre a ocorrência de simetria alélica absoluta entre os genitores.

Massa seca do Fruto (MSF)

Os resultados obtidos para essa característica foram semelhantes aos obtidos para PMF, tendo uma correlação negativa entre (\bar{Y}_{ii}) e $(\hat{W}_i$ e $\hat{V}_i)$, com magnitude de -0,7909, evidenciando que os alelos dominantes, em sua maioria, são responsáveis pelo aumento da massa seca do fruto, e que o genitor UENF 1616 apresentou a maior concentração de alelos dominantes, seguido pelos genitores UENF 1629; UENF 1732; UENF 1639; e UENF 1624 (Tabela 4).

Os efeitos aditivos também foram preponderantes sobre os de dominância, em razão do valor 2,0963 na relação $\tilde{D} - \tilde{H}_1$ (Tabela 5). A dominância parcial é a interação prevalecente, em decorrência do valor 0,3079 registrado pelo estimador $\sqrt{\frac{\tilde{H}_1}{\tilde{D}}}$, o que também pode ser constatado pela Figura 1b, no qual a linha de regressão corta o eixo \hat{W}_R , acima da origem. A distribuição dos alelos entre os genitores não é simétrica, dado o valor obtido de $\frac{\tilde{H}_2}{4\tilde{H}_1}$ ser igual a 0,0923, evidenciando, também, pela relação média do número de genes dominantes e recessivos de 3,1291, sendo os alelos dominantes predominantes entre os genitores (Tabela 6).

Os coeficientes de determinação genotípica restritos e amplos foram 0,7616 e 0,7796, respectivamente (Tabela 6). Essas estimativas foram inferiores às obtidas por Rêgo (2001) que observou, para massa seca do fruto em sete genótipos de *C. baccatum*, valores de 0,84 e 0,98 para determinação genotípica restrita e ampla, respectivamente. Entretanto, o mesmo autor verificou, para determinada característica, dominância parcial e efeitos aditivos preponderantes, de acordo com presente trabalho.

Produtividade (PROD)

A elevada correlação entre \bar{Y}_{ii} e $\hat{W}_i + \hat{V}_i$, com valor estimado de -0,9813 (Tabela 3), demonstra que os genes dominantes contribuem, em sua maioria, para aumentos na característica. A ordem dos genitores, em relação à concentração de alelos dominantes, é UENF 1616; UENF 1629; UENF 1639; UENF 1732; e UENF 1624 (Tabela 4), com destaque para o genitor UENF 1616, cujo valor de $\hat{W}_R + \hat{V}_R$ foi de 0,0929. Contudo, esse valor ainda é inferior ao extremo dominante da regressão de \hat{W}_i sobre \hat{V}_i (Figura 1c), com limite de seleção de -0,0929 (Tabela 4).

Na Tabela 5, evidencia-se a predominância dos efeitos de dominância, visto a superioridade das estimativas \tilde{H}_1 , \tilde{H}_2 e \tilde{h}^2 em comparação à estimativa associada a efeitos aditivos (\tilde{D}). Do mesmo modo, a magnitude negativa para \tilde{D} -

\tilde{H}_1 (-0,1082) revela que os efeitos de dominância são mais importantes na expressão da característica. O valor de 1,6875, para estimativa do grau médio de dominância, denota que a interação intra-alélica é sobredominante, o que é verificado também pelo fato de a reta de regressão \hat{W}_R em \hat{V}_R interceptar a ordenada abaixo da origem (Figura 1c).

A distribuição dos alelos entre os genitores é simétrica, dado o valor obtido de simetria igual a 0,2320, e evidenciando também pela relação média do número de genes dominantes e recessivos ($\frac{\tilde{K}_D}{\tilde{K}_R}=1,5819$), embora haja uma ligeira predominância de alelos dominantes. A reduzida magnitude da herdabilidade no sentido restrito denota pouca confiabilidade dos genótipos em transmitir o fenótipo desejável aos descendentes, indicando que os métodos de melhoramento mais sofisticados são necessários para a obtenção de ganhos satisfatórios em gerações futuras.

3.4.6. CONCLUSÕES

1. Apenas as características peso médio do fruto (PMF), massa seca do fruto (MSF) e produção por plantatividade (PROD) se adequaram às restrições impostas e à viabilidade de utilização do modelo aditivo-dominante, proposto por Hayman.

2. A variação de natureza aditiva contribui para o controle gênico nas características PMF e MSF, enquanto, para produção de plantas, os efeitos gênicos de dominância são os mais importantes.

3. Detectou-se dominância parcial para PMF e MSF; e sobredominância para PROD.

4. UENF 1616 e UENF 1629 tiveram maior concentração de alelos favoráveis para as três características em estudo.

3.4.7. LITERATURA CITADA

Amaral Júnior, A.T., Casali, V.W.D., Cruz, C.D., Finger, F.L. (1999). Inferências genéticas na produção e qualidade de tomateiro sob cruzamento dialélico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34: 1407-1416.

Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2004) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, v.1, 480.

Cruz, C.D.; Regazzi, A.J. (2001) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. UFV: *Imprensa Universitária*, 390p.

El-Bramawy, M.A.S., Shaban, W.I. (2008). Inheritance of yield, yield components and resistance to major diseases in *Sesamum indicum* L.. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6: 623-628.

Gardner, C.O., Ebehart, S.A. (1966) Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, v.22, n.18, 439-452.

Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, v.9, 463-493.

Hayman, B. I. (1954) The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, 10: 235-244.

Hayman, B.I. (1954) The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39: 789-809.

Hazra, P.; Ansary, H. (2008). Genetics of heat tolerance for floral and fruit set to high temperature stress in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Sabrao Journal of Breeding and Genetics*, 40: 117-125.

Jinks, J.L.; Hayman, B.I. (1953). The analysis of diallel crosses. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 27: 48-54.

Khan, N.U.; Hassan, G.; Marwat, K.B.; Farhatullah.; Kumbhar, M.B.; Parveen, A.; Umm-E-Aiman.; Khan, M.Z.; Soomro, Z.A. (2009). Diallel analysis of some quantitative traits in *Gossypium hirsutum* L. *Pakistan Journal of Botany*, 41: 3009-3022.

Lédo, F.J.S.; Casali, V.W.D.; Cruz, C.D.; Lédo, C.A.S. (2001). Análise genética em um dialelo de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36: 493-499.

Maluf, W.R.; Miranda, J.E.C.; Campos J.P. (1982) Análise genética de um cruzamento dialélico de cultivares de tomate. I Características referentes a produção de frutos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17: 633-641.

Miranda, J.E.C.; Maluf, W.R.; Campos J.P. (1982). Análise genética de um cruzamento dialélico de cultivares de tomate. II Características vegetativas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17: 767-773.

Patil, S.S.A.; Salimath, P.M. (2008). Estimation of gene effects for fruit yield and its components in chili (*Capsicum annum* L.). *Karnataka Journal of Agricultural Science*, 21: 181-183.

Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B.; Zimmermann, M.J.O. (1993) Genética Quantitativa em Plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia - GO, 271p.

Rêgo, E.R. (2001). Diversidade, herança e cabacidade combinatória em pimenta (*Capsicum baccatum*). Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG. 117p.

Schuelter, A.R., Casali, V.W.D., Silva, D.J.H., Cruz, C.D., Finger, F.L. (2000). Genetic analysis of tomato accessions with pleiotropic genes affecting postharvest attributes. *Acta Scientiarum*, 22: 861-868.

Schuelter, A.R.; Pereira, G.M.; Amaral Júnior, A.T.; Casali, V.W.D.; Scapim, C.A.; Barros, W.S.; Finger, F.L. (2010) Genetic control of agronomically important traits of pepper fruits analyzed by Hayman's partial diallel cross scheme. *Genetics and Molecular Research*, 9: 113-127.

Silva, M.P.; Amaral Júnior, A.T.; Rodrigues, R.; Pereira, M.G.P.; Viana, A.P. (2004) Genetic control on morphoagronomic traits in snap bean. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47: 855-862.

Silva, V.Q.R.; Amaral Júnior, A.T.; Freitas Júnior, S.P.; Scapim, C.A.; Gonçalves, L.S.A. (2010). Inheritance for economically important traits in popcorn from distinct heterotic groups by Hayman's diallel. *Cereal Research Communications*, 38: 272-284.

Souza, J.A., Maluf, W.R. (2003). Diallel analyses and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Scientia Agricola*, 60: 105-113.

Xue-xiao Z., Wen-chao, C.; Zhu-qing, Z., Xiong-ze, D.; Yan-qing, M.; Xue-feng, L. (2007). Hayman genetic analysis of yield and quality characters in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Horticulturae Sinica*, 34: 623-628.

4. RESUMO E CONCLUSÃO

Um dos principais entraves no cultivo da pimenta é a ocorrência de doenças, que representam um fator limitante da produção. Entre as doenças, o mosaico amarelo causado pelo *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) é considerado uma das mais importantes para a cultura da pimenta, e obter cultivares resistentes é prioridade nos programas de melhoramento no Brasil. O objetivo geral do presente trabalho foi iniciar um programa de melhoramento de *C. baccatum* var. *pendulum* visando à resistência a doenças e à alta produtividade. Pela análise dialélica houve predominância de efeitos aditivos para as características altura de planta, peso médio do fruto, massa seca do fruto, teor de massa seca, espessura da polpa e teor de sólidos solúveis totais. Para resistência ao PepYMV houve efeito significativo de capacidade geral e específica de combinação revelando variabilidade resultante dos efeitos aditivos e de dominância no controle da expressão gênica. As combinações híbridas UENF 1629 x UENF 1732; UENF 1616 x UENF 1732; e UENF 1624 x UENF 1639 são promissoras para dar início a um programa de melhoramento de *C. baccatum*, visto reunirem características agrônomicas favoráveis e de resistência ao PepYMV. Os acessos UENF 1624 e UENF 1732 resistentes ao PepYMV revelaram a presença do gene *Pvr4*. Em relação à atividade de proteínas relacionadas a patogênese, a peroxidase pode ser um dos fatores envolvidos na resistência de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* – UENF 1624 ao PepYMV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alzate-Marin, A.L.; Cervigni, G.D.L.; Moreira, M.A.; Barros, E.G. (2005). Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. *Fitopatologia Brasileira*, 30: 333-342.

Amaral Júnior, A.T., Casali, V.W.D., Cruz, C.D., Finger, F.L. (1999). Inferências genéticas na produção e qualidade de tomateiro sob cruzamento dialélico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34: 1407-1416.

Alcazar, M.D.; Edea, C.; Espina, A.; Candela, M.E. (1995). Peroxidase isoenzymes in the defense response of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum*, 94: 736-742.

Anindya, R.; Joseph, J.; Gowri, T.D.S.; Savithri, H.S. (2004). Complete genomic sequence of Pepper vein banding virus (PVBV): a distinct member of the genus *Potyvirus*. *Archives of Virology*, 149: 625–632.

Andrews, J. (1995). Peppers, The Domesticated Capsicums, University of Texas Press, Austin.

Arnedo-Andrés, M.S.; Gil-Ortega, R.; Luis-Arteaga, M.; Hormaza, J.J. (2002). Development of RAPD and SCAR markers linked to the *pvr4* loco for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 1067-1074.

Ávila, A.C.; Inoue-Nagata, A.K.; Costa, H.; Boiteux, L.S.; Neves, L.O.Q.; Prates, R.S.; Bertini, L.A. (2004). Ocorrência de viroses em tomate e pimentão na região serrana do estado do Espírito Santo. *Horticultura Brasileira*, 22: 655-658.

Bento, C. dos S.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R.; Riva, E.M.; Pereira, M.G. (2007). Descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas. *Scientia Agraria*, 8: 149-156.

Bento, C.S.; Rodrigues, R.; Zerbini Júnior, F.M.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R. (2009). Sources of resistance against the *Pepper yellow mosaic virus* in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 27: 196-201.

Berger, P.H.; Adams, M.J.; Barnett, O.W.; Brunt, A.A.; Hammond, J.; Hill, J.H.; Jordan, R.L.; Kashiwazaki, S.; Rybicki, E.P.; Spence, N.; Stenger, D.C.; Ohki, S.T.; Uyeda, I.; Van Zaayen, A.; Valkonen, J.P.; Vetter, H.J. (2005). Family Potyviridae. In: Fauquet, C.M.; Mayo, M.A.; Maniloff, J.; Desselberger, U.; Ball, L.A. (eds) *Virus Taxonomy*. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, San Diego: Elsevier Academic Press, p. 819-841.

Bianchetti, L.B. (1996). Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrentes no Brasil, Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília (UNB) – Brasília – DF, 174p.

Boiteux, L.S.; Cupertino, F.P.; Silva, C.; Dusi, A.N.; Monte-Neshich, D.C.; Vlugt, R.A.A.; Fonseca, M.E.N. (1996). Resistance to potato vírus Y (pathotype 1-2) in *Capsicum annuum* and *Capsicum chinense* is controlled by two independent major genes. *Euphytica*, 87: 53-58.

Bordallo, P.N.; Pereira, M.G.; Amaral Júnior, A.T.; Gabriel, A.P.C. (2005). Análise dialéctica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agrônômicos e proteína total. *Horticultura Brasileira*, 23: 123-127.

Borém A.; Miranda, G.V. (2005). Melhoramento de Plantas. Ed. UFV. 525p.

Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Janes, R.L. (2000). Biochemistry and molecular biology of plants. *American Society of plant physiologists*, 1130-1140.

Caranta, C.; Thabuis, A.; Palloix, A. (1999). Development of a CAPS marker for the Pvr4 locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. *Genome*, 42: 1111-1116.

Carmo, M.G.F.; Zerbini-Júnior, F.M.; Maffia, L.A. (2006). Principais doenças da cultura da pimenta. *Informe Agropecuário*, 108: 87-98.

Carvalho, S.I.C.; Bianchetti, L.B.; Bustamante, P.G.; Silva, D.B. (2003). Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças. Embrapa Hortaliças. Documentos, 49, 49p,

CEASA (2008). Centrais de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro, Versão eletrônica. Disponível em: <http://www.ceasa.rj.gov.br> em 03/01/2007. Acesso em: Janeiro de 2008.

Chester, K.S. (1933). The problem of acquired physiological immunity in plants. *Quarterly Review of Biology*, 8: 275-324.

Choi, H.S.; Kim, M.K.; Park, J.W.; Lee, S.H.; Kim, K.H.; Kim, J.S.; Were, H.K.; Choi, J.K.; Takanami, Y. (2006). First report of the peanut stripe strain of *Bean common mosaic virus* (BCMV-Pst) infecting mungbean in Korea, *Plant Pathology Journal*, 22: 46–50.

Choi, H.S.; Ko, S.J.; Kim, M.K.; Park, J.W.; Lee, S.H.; Kim, K.H.; Were, H.K.; Choi, J.K.; Takanami, Y. (2005). Characteristics of Potato virus Y isolated from paprika in Korea, *Plant Pathology Journal*, 21: 349–354.

Costa, A.S.; Alves, S. (1950). Mosaico do pimentão. *Bragantia*, 10: 95-96.

Costa, R.A.; Rodrigues, R. (2003). Genetic analysis of resistance to bacterial spot in sweet pepper genotypes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2: 11-16.

Costa, R.A.; Rodrigues, R.; Sudré, C.P. (2002). Resistência genética à mancha bacteriana em genótipos de pimentão. *Horticultura Brasileira*, 2: 86-89.

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.S. (2004). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 480p.

Cruz, C.D.; Vencovsky, R. (1989). Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, 12: 425-438.

Cunha, L.C.V.; Resende, R.O.; Nagata, T.; Inoue-Nagata, A.K. (2004). Distinct features of Pepper yellow mosaic virus isolates from tomato and sweet pepper. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 663-667.

Dasgupta, P.; Fowler, C.J. (1997). Chillies: from antiquity to urology. *British Journal of Urology*, 80: 845-852.

Dogimont, C.; Palloix, A.; Daubeze, A.M.; Marchoux, G.; Gebre-Selassie K.; Pochard, E. (1996). Genetic analysis of broad spectrum resistance to potyviruses in haplodiploid progenies of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 88: 231-239.

Doyle, J.J.; Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. *Phytochemistry*, 19: 11-15.

Echer, M.M.; Costa, C.P. (2002). Reaction of sweet pepper to the *potato virus Y* (PVYM) *Scientia Agricola*, 59: 309-314.

El-Bramawy, M.A.S., Shaban, W.I. (2008). Inheritance of yield, yield components and resistance to major diseases in *Sesamum indicum* L.. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6: 623-628.

Eshbaugh, W.H. (1970). A Biosystematic and Evolutionary Study of *Capsicum baccatum* (Solanaceae). *Brittonia*, 22: 31-43.

Eshbaugh, W.H.; Guttman, S.I.; Mcleod, M.J. (1983). The origin and evolution of domesticated *Capsicum* species. *J. Ethnobiol.* 3: 49-54.

Eshbaugh, W.H. (1993). Peppers: history and exploitation of a serendipitous new crop discovery. *New Crops*, 132-139.

FAO (2008) Food and Agriculture Organization of The United Nations, Versão eletrônica, Disponível em: <http://www.faostat.fao.org>, Acesso em: Janeiro de 2008.

Feldman, J.M.; Garcia, O. (1977). Pepper severe mosaic virus: a new potyvirus from pepper in Argentina. *Phytopathol Z*, 73: 115–122.

Feys, B.J.; Parker J.E. (2000). Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. *Trends Genet.*, 16: 449-455.

Filgueira, F.A.R. (2000). Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças, Viçosa: UFV, 402p.

Filgueira, F.A. (2005). Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2 ed. Viçosa: Editora UFV. 412.

Flor, H.H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 9: 275-296.

Garcia-Arenal, F.; Mcdonald, B.A. (2003). An analysis of the durability of resistance to plant viruses. *The American Phytopathological Society*, 93: 941-952.

Gardener, C.O.; Eberhart, S.A. (1966). Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, 22: 439-456.

Gebre-Selassie, K.E.; Marchoux, G.; Delecolle, B.; Pochard, E. (1985). Variabilité naturelle des sources du virus Y de la pomme de terre dans cultures de piment du sud-est de la France. Caractérisation et classification en pathotypes, *Agronomic*, 5: 621-630.

Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, v.9, 463-493.

Grube, R.C.; Blauth, J.R.; Arnedo-Andrés, M.S.; Caranta, C.; Jahn, M. (2000) Identification and comparative mapping of dominant potyvirus resistance gene cluster in capsicum. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 852-859.

Hayman, B.I. (1954). The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39: 789-809.

Hayman, B. I. (1954). The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, 10: 235-244.

Hazra, P.; Ansary, H. (2008). Genetics of heat tolerance for floral and fruit set to high temperature stress in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Sabrao Journal of Breeding and Genetics*, 40: 117-125.

Henz, G.P.; Ribeiro, C.S.C. (2008). Mercado e comercialização. In: Ribeiro, C.S.C (Ed) Pimentas Capsicum. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 15-24.

Howard, L.R.; Talcott, S.T.; Brenes, C.H.; Villalan, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1713-1720.

Hinrichs-Berger, J.; Berger, M.H.; Buchenauer, H. (1999). Cytological responses of susceptible and extremely resistant potato plants to inoculation with potato virus Y. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55: 143-150.

IBPGR. (1983). Genetics resources of *Capsicum*, Roma: IBPGR Secretariat, P, 1-13.

Inoue-Nagata, A.K.; Fonseca, M.E.N.; Resende, R.O.; Boiteux, L.S.; Monte, D.C.; Dusi, A.N.; Ávila, A.C.; Van Der Vlugt, R.A.A. (2002). Pepper yellow mosaic virus, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. *Archives of Virology*, 147: 849-855.

Janzac, B.; Fabre, M.F.; Palloix, A.; Moury, B. (2009). Phenotype and spectrum of action on the Pvr4 resistance in pepper against potyviruses, and selection for virulent variants. *Plant Pathology*, 58: 443-449.

Jinks, J.L.; Hayman, B.I. (1953). The analysis of diallel crosses. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 27: 48-54.

Khan, N.U.; Hassan, G.; Marwat, K.B.; Farhatullah.; Kumbhar, M.B.; Parveen, A.; Umm-E-Aiman.; Khan, M.Z.; Soomro, Z.A. (2009). Diallel analysis of some quantitative traits in *Gossypium hirsutum* L. *Pakistan Journal of Botany*, 41: 3009-3022.

Kim, Y.J.; Hwang, B.K. (2000). Pepper gene encoding a basic pathogenesis-related 1 protein is pathogen and ethylene inducible. *Physiologia Plantarum*, 108: 51-60.

Kurozawa, C.; PAVAN, M.A.; Krause-Sakate, R. (2005). Doenças das solanáceas (beringela, jiló, pimentão e pimenta), In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (eds) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas, 4 ed, São Paulo: Agronômica Ceres, p, 589-596.

Kyle, M.M.; Palloix, A. (1997). Proposed revision of nomenclature for potyvirus resistance genes in *Capsicum*. *Euphytica*, 97: 183-188.

Lannes, S.D.; Finger, F.L.; Schuelter, A.R.; Casali, V.W.D. (2007). Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. *Scientia Horticulturae*, 112: 266-270.

Lédo, F.J.S.; Casali, V.W.D.; Cruz, C.D.; Lédo, C.A.S. (2001). Análise genética em um dialelo de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36: 493-499.

Léonard S.; Chisholm, J.; Laliberté, J.; Sanfaçon, H. (2002). Interaction in vitro between the proteinase of tomato ringspot virus (genus nepovirus) and the eukaryotic translation initiation factor iso 4E from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of General Virology*, 83: 2085-2089.

Linguanotto Neto, N. (2006). Mercado Mundial para pimentas e derivados, In: II Encontro Nacional do Agronegócio pimentas. II Mostra Nacional de Pimentas e Produtos Derivados. CD-ROM.

Lopes, C.A.; Ávila, A.C. (2003). Doenças do pimentão: diagnose e controle. Brasília: Embrapa Hortaliças. 96p.

Luis-Arteaga, M.; Arnedo-Andrés, M.; Gil-Ortega, R. (1997). New potyvirus Y pathotype in pepper. *Capsicum Eggplant News-Letters*, 16: 85-86.

Maciel-Zambolim, E.; Capucho, H.C.A.S.; Avia, A.C.; Inoue-Nagata, A.K.; Kitajima, E.W. (2004). Surto epidemiológico de *Pepper yellow mosaic virus* em tomateiro na região Serrana do Estado do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 325-327.

Maluf, W.R.; Miranda, J.E.C.; Campos J.P. (1982) Análise genética de um cruzamento dialélico de cultivares de tomate. I Características referentes a produção de frutos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17: 633-641.

McLeod, M.J.; Guttman, S.I.; Eshbaugh, W.H. (1982). Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany*, 36: 361-368.

Melgarejo, T.A.; Alminante, A.; Fribourg, C.; Spetz, C.; Valkonen, J.P.T. (2004). Strains of Peru tomato virus infecting cocona (*Solanum sessiliflorum*), tomato and pepper in Peru with reference to genome evolution in genus Potyvirus. *Archives of Virology*, 149: 2025–2034.

Menten, J.O.M. (1990). Evitação: forma de defesa das plantas contra patógenos que deve ser melhor compreendida e explorada. *Summa Phytopathologica*, 16: 77-82.

Miranda, J.E.C.; Maluf, W.R.; Campos J.P. (1982). Análise genética de um cruzamento dialélico de cultivares de tomate. II Características vegetativas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17: 767-773.

Moreira, G.R.; Caliman, F.R.B.; Silva, D.J.H.; Ribeiro, C.S.C. (2006). Espécies e variedades de pimentas. *Informe Agropecuário*, 108: 16-29.

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.

Moura, M.C.C.L.; Gonçalves, L.S.A.; Sudré, C.P.; Rodrigues, R.; Amaral Júnior, A.T.; Pereira, T.N.S. (2010). Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta (*Capsicum chinense*) por meio da análise conjunta de variáveis quantitativas e qualitativas. *Horticultura Brasileira*, 28: 155-161.

Moury, B.; Palloix, A.; Caranta, C.; Gognalons, P.; Souche, S.; Gebre Selassie, K.; Marchoux, G. (2005). Serological, molecular, and pathotype diversity of *Pepper veinal mottle virus* and *Chili veinal mottle virus*. *Phytopathology*, 95: 227–232.

Nagai, H. (1993). Pimentão, pimenta-doce e pimentas. In: Furlani, A.M.C.; Viégas, G.P. (Ed.). *O melhoramento de plantas no Instituto Agrônômico*, 1: 276-294.

Nascimento, I.R. (2005) Heterose e capacidade combinatória de linhagens de pimentão resistentes ao mosaico amarelo causado por PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*), Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), Lavras, UFLA, p.101.

Nascimento, I.R.; Valle, L.A.C.; Maluf, W.R.; Gonçalves, L.D.; Gomes, L.A.A.; Moreto, P.; Lopes, E.A.G.L. (2007) Reação de híbridos, linhagens e progênies de pimentão à requeima causada por *Phytophthora capsici* e ao mosaico amarelo causado por *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV). *Ciência Agrotecnologia*, 31: 121-128.

Nascimento, W.M.; Dias, D.C.F.S.; Freitas, R.A. (2006). Produção de sementes de pimentas. *Informe Agropecuário*, 108: 30-39.

Nelson, M.R.; Wheeler, R.E.; Zitter, T.A. (1982). *Pepper mottle virus*. CMI/AAB, Kew, England.

Parrella, G.; Ruffel, S.; Moretti, A.; Morel, C.; Palloix, A.; Caranta, A. (2002). Recessive resistance genes against potyviruses are localized in collinear genomic regions of the tomato (*Lycopersicon* spp.) and pepper (*Capsicum* spp.) genomes. *Theoretical Applied Genetic*, 105: 855-861.

Patil, S.S.A.; Salimath, P.M. (2008). Estimation of gene effects for fruit yield and its components in chili (*Capsicum annuum* L.). *Karnataka Journal of Agricultural Science*, 21: 181-183.

Pereira, T.N.S.; Rodrigues, R. (2006). Recursos genéticos em *Capsicum*: Situação atual e perspectivas, In: Lima, M.C. (org.) Recursos genéticos de hortaliças: riquezas naturais. São Luís: Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura, 190p.

Pickersgill, B. (1971). Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution*, 25: 683-691.

Pinheiro, M.M.; Sandroni, M.; Lummerzhein, M.; Oliveira, D.E. (1999). A defesa das plantas contra a doença. *Ciência Hoje*, 147p.

Pozzobon, M.T.; Schifino-Wittman; 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.

Purcifull, D.E.; Hiebert, E. (1982). Tobacco etch virus, CMI/AAB, Kew, England.

Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B.; Zimmermann, M.J.O. (1993) Genética Quantitativa em Plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia - GO, 271p.

Rêgo, E.R. (2001). Diversidade, herança e capacidade combinatória em pimenta (*Capsicum baccatum*). Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG. 117p.

Rêgo, E.R.; Rêgo, M.M.; Finger, F.L.; Cruz, C.D.; Casali, V.W.D. (2009). A diallel study of yield components and fruit quality in chilli pepper (*Capsicum baccatum*) *Euphytica*, 168: 275-287.

Reifshneider, F.J.B.; Ribeiro, C.S.C. (2008). Cultivo. In: Ribeiro, C.S.C (Ed) Pimentas *Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 11-14.

Ribeiro, S.F.F.; Carvalho, A.O.; Da Cunha, M.; Rodrigues, R.; Cruz, L.P.; Melo, V.M.M.; Vasconcelos, I.M.; Melo, E.J.T.; Gomes, V.M. (2007). Insolation and characterization of novel peptides from chilli pepper seeds: Antimicrobial activities against pathogenic yeasts. *Toxicon*, 50: 600-611.

Riva, E.M.; Rodrigues, R.; Pereira, M.G.; Sudré, C.P.; Karasawa, M.; Amaral Júnior, A.T. (2004). Inheritance of bacterial spot disease in *Capsicum annuum* L.. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4: 490-494.

Riva-Souza, E.M.; Rodrigues, R.; Sudré, C.P.; Pereira, M.G.; Viana, A.P.; Amaral Júnior, A.T. (2007). Obtaining pepper F_{2:3} lines with resistance to the bacterial spot using the pedigree method. *Horticultura Brasileira*, 25: 567-571.

Riva-Souza, E.M.; Rodrigues, R.; Sudré, C.P.; Pereira, M.G.; Bento, C.S.; Matta, F.P (2009). Genetics parameters and selection for resistance to bacterial spot in recombinant F₆ lines of *Capsicum annuum*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9: 108-115.

Rodrigues, F.; Von Pinho, R.G.; Albuquerque, C.J.B.; Faria Filho, E.M.; Goulart, J.C. (2009). Capacidade de combinação entre linhagens de milho visando à produção de milho verde. *Bragantia*, 68: 75-84.

Romero, A.; Blanco-Urgoiti, B.; Soto, M.J.; Fereres, A.; Ponz. (2001). Characterization of typical pepper-isolates of PVY reveals multiple pathotypes within a single genetic strain. *Virus Research*, 79: 71-80.

Rossi, F.A. (1961). Systemic acquired resistance induced by localized virus infection in plants. *Virology*, 14: 340-358.

Rufino, J.L.S.; Penteadó, D.C.S. (2006). Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. *Informe Agropecuário*, 108: 07-15.

Sacchi, H.; Melo, A.M.T.; Colariccio, A. (2003). Reação de progênies de pimentão ao *Potato virus Y*. *Bragantia*, 62: 53-60.

Schuelter, A.R., Casali, V.W.D., Silva, D.J.H., Cruz, C.D., Finger, F.L. (2000). Genetic analysis of tomato accessions with pleiotropic genes affecting postharvest attributes. *Acta Scientiarum*, 22: 861-868.

Schuelter, A.R.; Pereira, G.M.; Amaral Júnior, A.T.; Casali, V.W.D.; Scapim, C.A.; Barros, W.S.; Finger, F.L. (2010). Genetic control of agronomically important traits of pepper fruits analyzed by Hayman's partial diallel cross scheme. *Genetics and Molecular Research*, 9: 113-127.

Scott, A.J.; Knott, M.A. (1974). Cluster analysis methods for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30: 507-512.

Shin, R.; Lee, G.J.; Park, C.J.; Kim, T.Y.; You, J.S.; Nam, Y.W.; Paek, K.H. (2001). Isolation of pepper mRNAs differentially expressed during the hypersensitive response to tobacco mosaic virus and characterization of a proteinase inhibitor gene. *Plant Science*, 161: 727-737.

Shukla, D.D.; Ward, C.W.; Brunt, A.A. (1994). The potyviridae, Wallingford, UK: CAB International, 516p.

Shull, G.H. (1948). What is "Heterosis". *Genetics*, 33: 439-446.

Silva, M.P.; Amaral Júnior, A.T.; Rodrigues, R.; Pereira, M.G.P.; Viana, A.P. (2004) Genetic control on morphoagronomic traits in snap bean. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47: 855-862.

Silva, V.Q.R.; Amaral Júnior, A.T.; Freitas Júnior, S.P.; Scapim, C.A.; Gonçalves, L.S.A. (2010). Inheritance for economically important traits in popcorn from distinct heterotic groups by Hayman's diallel. *Cereal Research Communications*, 38: 272-284.

Spetz, C.; Taboada, A.M.; Darwich, S.; Ramsell, J.; Salazar, L.F.; Valkonen, J.P.T, (2003). Molecular resolution of a complex of potyviruses infecting solanaceous crops at the center of origin in Peru. *Journal of General Virology*, 84: 2565-2578.

Souza, J.A.; Maluf, W.R. (1999), Estimaco de Heterose em pimenta (*Capsicum chinense* Jacq). *Ciência agrotecnologia*, 24: 623-631.

Souza, J.A.; Maluf, W.R. (2003). Diallel analyses and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq). *Scientia Agricola*, 60: 105-113.

Sdre, C.P.; Gonçalves, L.S.A.; Rodrigues, R.; Amaral Júnior, A.T.; Riva-Souza, E.M.; Bento, C. dos S. (2010). Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and Molecular Research*, 9: 283-294.

Truta, A.A.C.; Souza, A.R.R.; Nascimento, A.V.S.; Pereira, R.C.; Pinto, C.M.F.; Brommonschenkel, S.H.; Carvalho, M.G.; Zerbini, F.M. (2004). Identidade propeidades de isolados de potyvírus provenientes de *Capsicum* spp, *Fitopatologia Brasileira*, 29: 160-168.

Vallad, G.E.; Goodman, R.M. (2004). Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science*, 44: 1920-1934.

Van Loon, L.C.; Van Strien, E.A. (1999). The familias of patognesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55: 85-97.

Vinals, F.N.; Ortega, R.G.; Garcia, J.C. (1996). El cultivo de pimientos, chiles y ajies, Madrid: Mundi-Prensa. 607p.

Xue-xiao Z., Wen-chao, C.; Zhu-qing, Z., Xiong-ze, D.; Yan-qing, M.; Xue-feng, L. (2007). Hayman genetic analysis of yield and quality characters in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Horticulturae Sinica*, 34: 623-628.

Zerbini, F.M.; Maciel-Zambolim, E. (1999). A família Potyviridae – Parte I, In: Luiz, W.C., Fernandes, J.M.C., Prestes, A.M., Picinini, E.C. *Revisão Anual de patologia de Plantas*, 7: 1-66.

Wagner, C.M. (2003). Variabilidade e base genética da pungência e de caracteres do fruto. Implicações no melhoramento de uma população de *Capsicum annuum* L. Tese (Doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP) – Piracicaba – SP, 104p.

Walling, L.L. (2000). The myriad plant responses to herbivores. *J Plant Growth Regul*, 19: 195-216.