

IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE  
EM ACESSOS DE *Capsicum* spp.

**SORAIA DE ASSUNÇÃO MONTEIRO DA SILVA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2012

IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE  
EM ACESSOS DE *Capsicum* spp.

**SORAIA DE ASSUNÇÃO MONTEIRO DA SILVA**

“Dissertação 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 Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO - 2012

IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE  
EM ACESSOS DE *Capsicum* spp.

**SORAIA DE ASSUNÇÃO MONTEIRO DA SILVA**

“Dissertação 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 Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”

Aprovada em 30 de março de 2012

Comissão Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Margarida Goréte Ferreira do Carmo (D. Sc. – Fitopatologia) - UFRRJ

---

Prof. Alexandre Pio Viana (D. Sc. – Produção Vegetal) - UENF

---

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D. Sc. - Melhoramento Vegetal) - UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Rosana Rodrigues (D. SC. - Produção Vegetal) - UENF  
Orientadora

Aos meus pais, Edson e Nelcina.  
À minha irmã, Luana.  
Às minhas Tias, Brasilina e Dulcinea.  
À minha irmã de coração, Noemia.  
E a todos os meus verdadeiros amigos.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, a Oxalá e a todos os Santos e anjos, pela vida e pela proteção em todos os momentos.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade concedida para realização do curso de pós-graduação em nível de mestrado.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) por conceder a bolsa de estudo, auxílio financeiro fundamental para a realização dessa pós-graduação.

À professora Rosana Rodrigues, pela orientação, pela paciência e pelos conselhos, palavras essenciais ao meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Aos professores Alexandre Pio Viana e Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pelos conselhos e pela ajuda em meu trabalho e convívio em sala de aula.

À Dra. Christiane C. Aparecido, curadora da Micoteca “Mário Barreto Figueiredo”, do Instituto Biológico de São Paulo (IB/SP), por ceder inóculos de *Colletotrichum* spp. para a realização do meu trabalho.

A Vicente Mussi Dias, Técnico de Nível Superior da UENF/CCTA/LEF, pelo auxílio no meu trabalho e paciência e amizade cultivada com o tempo.

A Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves, pelo auxílio na parte estatística e pela atenção e paciência com todas as minhas dúvidas.

A todos os professores que acrescentaram ao meu conhecimento, pessoas fundamentais no crescimento da minha vida acadêmica.

À minha mãe, Nelcina, guerreira e amiga, por sempre estar a meu lado, apoiando minhas decisões, dando conselhos e broncas. Meu porto seguro, conforto nos momentos difíceis e companheira nos momentos de felicidade.

Ao meu pai, Edson, por todo amor e apoio dados durante minha vida e pelos conselhos fundamentais à minha vida acadêmica e pessoal.

À minha irmã, Luana, pelo amor incondicional, por sempre estar disposta a me ajudar, pelo amor, pelo carinho e pelos conselhos de irmã mais velha, minha companheira desde o meu nascimento e por toda a vida.

À minha irmã “de alma”, Noemia Sato, por todo amor, apoio, companheirismo, fofocas, etc. Amor que nasceu na UFRRJ e vai durar por toda a vida.

Aos meus amigos “ruralinos” (UFRRJ), companheiros de graduação e de profissão, que, mesmo de longe, apoiam-me e torcem, sempre, por mim, especialmente minha turma Biologia 2005-II.

Aos amigos cariocas Bruno e Thalita, por todo carinho e pelo apoio nesta jornada.

A Cláudia Pombo Sudré, que foi uma 2ª mãe nesses dois anos, na UENF, companheira de laboratório, sempre atenciosa nas minhas dúvidas e carinhosa nos conselhos relativos à minha vida acadêmica e pessoal.

A Artur e Roberto Jr., grandes amigos (irmãos), nos dois anos de convivência no laboratório, sempre com palavras de carinho e afeto, amizade por toda vida.

A Cíntia, Marilene, Hérica, Ozias, Márcio, Marcilene, Monique, Camila e Vinicius pelo auxílio na condução do meu experimento, pela disposição para ajudar e pelo bom convívio nesses dois anos.

Ao meu grande amigo Janeo, pela amizade, pelo companheirismo, pelos dias compartilhados, pelos conselhos, pelas palavras de incentivos, e pela ajuda nas disciplinas durante o mestrado.

Aos amigos cultivados durante a pós-graduação, amigos do curso de pós-graduação de Genética e Melhoramento de Plantas e conhecidos pelos corredores da UENF.

A José Daniel Valle de Almeida (“Daniel”), por ter dado a notícia da minha seleção ao programa da GMP, pela ajuda em todos os sentidos, pela paciência durante dois anos e pela amizade adquirida neste período de mestrado.

Agradeço às companheiras de república, Simone, Nayara, Priscilla e Jéssica, pela amizade, pelas risadas e pelas fofocas neste período em que convivemos e compartilhamos o mesmo lar.

## SUMÁRIO

Resumo.....	xiii
Abstract.....	xvi
1. Introdução .....	1
2. Revisão de Literatura .....	4
2.1. Importância econômica e nutricional.....	4
2.2. Centro de origem e dispersão geográfica.....	6
2.3. Aspectos botânicos e reprodutivos.....	7
2.4. Principais doenças em <i>Capsicum</i> spp. ....	8
2.5. Gênero <i>Colletotrichum</i> e sua associação com <i>Capsicum</i> .....	9
2.5.1. Resistência ao <i>Colletotrichum</i> em <i>Capsicum</i> .....	10
2.6. O uso de testes não paramétricos na análise de doenças em plantas.....	12
3. Material e Métodos .....	13
3.1. Manutenção e preparo do inóculo .....	13
3.2. Germoplasma.....	14
3.3. Locais dos experimentos e condições experimentais.....	14
3.4. Inoculações e avaliação dos resultados.....	18
3.5. Análise de Dados.....	21
4. Resultados e Discussão.....	22
5. Resumo e Conclusão .....	36

Referências bibliográficas.....	39
Apêndice.....	49

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Dados de passaporte dos 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp. que foram avaliados quanto à resistência à antracnose em folhas e frutos. Campos dos Goytacazes, UENF, 2012.....	15
Tabela 2. Escala de avaliação para descrição dos sintomas de antracnose em folhas e frutos de <i>Capsicum</i> spp.....	20
Tabela 3. Período de incubação e valores médios para AACPD (Área abaixo da curva de progresso da doença) observados em frutos dos 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp. do banco de germoplasma da UENF, avaliados na planta e no laboratório até o sétimo dia após inoculação de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	23
Tabela 4. Análise de variância não paramétrica para os efeitos da inoculação com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em frutos de 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp., em diferentes estádios, inseridos na planta ou destacados e avaliados no laboratório: teste de Kruskal-Wallis para os postos atribuídos à área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD) e notas dadas aos sintomas de antracnose.....	29

Tabela 5. Correlação de Spearman entre dois componentes de resistência (valores de área abaixo da curva de progresso da doença – AACPD e notas) atribuídos aos sintomas de antracnose em frutos de 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp. em diferentes estádios, inseridos na planta ou destacados e avaliados no laboratório.....	31
---	----

## LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1: (A) Crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio de BDA; (B) Câmara de Neubauer (contagem de esporos); (C) Inoculação no fruto imaturo na planta; (D) Inoculação no fruto maduro na planta; (E) Inoculação no fruto imaturo no laboratório; (F) Inoculação do fruto maduro no laboratório..... 19
- Figura 2: (A) Frutos inoculados na planta: UENF 1797, sem sintomas no estágio imaturo (resistente); (B) UENF 1622 com sintomas no estágio imaturo (suscetível)..... 25
- Figura 3 Ausência de sintomas de antracnose em folha inoculada do acesso UENF 1751 (A). Inoculação em frutos maduros na planta com expressão de sintomas de antracnose no acesso UENF 1627 (seta branca) (B)..... 25
- Figura 4: Frutos maduros e imaturos com sintomas de antracnose quando inoculados destacados da planta nas condições do laboratório. Acessos UENF 1627 (A), UENF 1622 (B), UENF 1750 (C) e UENF 1623 (D)..... 26
- Figura 5: Identificação de resistência à antracnose em frutos imaturos e maduros destacados da planta e avaliados em laboratório. Frutos de diferentes plantas do acesso UENF 1718 (*C. baccatum* var. *pendulum*)..... 26

Figura 6: Frutos do acesso UENF 1797 ( <i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> .) sem sintomas de antracnose após a inoculação com o fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	27
Figura 7: Frutos dos acessos resistente UENF 1797 ( <i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> ) (A) e UENF 1627 ( <i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i> ) (B) suscetível a <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , agente causal da antracnose.....	27
Figura 8: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos imaturos inoculados na planta de 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . (*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).....	32
Figura 9: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos imaturos destacados da planta e avaliados no laboratório de 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . (*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).....	33
Figura 10: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos maduros inoculados na planta de 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . (*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel)...	33
Figura 11: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos maduros destacados da planta e avaliados no laboratório de 37 acessos de <i>Capsicum</i> spp inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . (*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).....	34
Figura 12: Temperatura média observada em casa de vegetação durante a condução do experimento de avaliação da resistência à antracnose em acessos de <i>Capsicum</i> spp. (A) Umidade relativa durante inoculação e avaliação dos frutos no estágio imaturo; (B) durante o estágio maduro.....	50

Figura 13: Umidade relativa do ar média observada em casa de vegetação durante a condução do experimento de avaliação da resistência à antracnose em acessos de *Capsicum* spp (A) Umidade relativa durante inoculação e avaliação dos frutos no estágio imaturo; (B) durante o estágio maduro..... 50

## RESUMO

SILVA, Soraia de Assunção Monteiro da. M. Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2012. Identificação de fontes de resistência à antracnose em acessos de *Capsicum* spp. Orientadora: Rosana Rodrigues; Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Antônio Teixeira do Amaral Júnior.

Em 2010, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) detectou várias amostras de frutos de pimentão contaminados pelo uso abusivo de agrotóxicos. Isso ocorre devido ao grande número de pulverizações para o controle de doenças, causadas por fungos e bactérias. Entre as doenças fúngicas que ocorrem na cultura de pimentão, a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, é uma das mais importantes, pois o controle químico é ineficiente e o uso de agrotóxicos, de forma inadequada, resulta em contaminações nos frutos. O melhoramento para resistência à antracnose é uma questão vital nos países em que o cultivo de pimenta e pimentão tem papel importante no agronegócio e é uma forma mais eficiente de controle dessa patologia, visto que não agride o meio ambiente e nem a saúde de trabalhadores e consumidores. Este trabalho teve como objetivos: investigar a reação de 37 acessos de *Capsicum* spp. da UENF em relação à *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) em diferentes órgãos da planta (folha jovem, fruto imaturo e fruto maduro); avaliar a reação dos acessos em diferentes condições ambientais: fruto na planta em casa de vegetação, e fruto destacado mantido em condições de laboratório; comparar os resultados e

identificar a forma mais eficiente de avaliação na discriminação entre genótipos resistentes e suscetíveis. Foram avaliados 37 acessos de *Capsicum* spp. da coleção de germoplasma do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do CCTA/UENF. O trabalho foi conduzido em três etapas para avaliação da resistência: em folhas (primeira etapa), em frutos na planta (segunda etapa) e em frutos destacados (terceira etapa). A primeira etapa foi conduzida em câmara de crescimento com temperatura, fotoperíodo e umidade controlados. As plantas foram mantidas a uma temperatura de  $27 \pm 2$  °C, fotoperíodo de 16h luz/8h de escuro e umidade relativa de 80%. Na câmara de crescimento, o experimento foi conduzido em blocos ao acaso, com cinco repetições e uma planta por parcela. Plântulas com um par de folhas definitivas foram transferidas para potes com capacidade para 500 mL de substrato. Trinta e cinco dias após o transplante foi feita a inoculação com isolado de *C. gloeosporioides* cedido pelo Instituto Biológico de São Paulo. O inóculo foi preparado cultivando-se o isolado em BDA (Batata-Dextrose-Ágar) por sete dias, a 25°C, no escuro. Após esse período, uma suspensão na concentração de  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL foi preparada e as folhas inoculadas. A avaliação foi feita a partir do 3º dia após a inoculação (DAI) e, em seguida, as plantas foram transferidas para vasos de 5L e levadas para casa de vegetação, onde se procedeu a inoculação de frutos nos estádios imaturo e maduro. Nos frutos inoculados, a avaliação foi feita a cada 24 horas, durante sete dias, para observação do período de incubação. Foram utilizadas escalas de notas para os sintomas aparentes no intervalo entre o 3º e 7º dia após a inoculação (DAI). As variáveis das observações periódicas foram utilizadas para o cálculo da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). As variáveis fenotípicas com base em escala de notas para os frutos ainda na planta e frutos destacados foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, utilizando-se o programa R. A correlação de Spearman foi calculada para os dados de AACPD e notas atribuídas para os frutos imaturos e maduros, quando inoculados na planta e no laboratório. As médias obtidas pelos acessos para as variáveis foram classificadas pelo teste de Steel. Dois acessos de *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, UENF 1797 e UENF 1718, foram identificados como resistentes à antracnose. Houve diferenças entre as reações observadas nos frutos imaturos e maduros quando inoculados na

planta ou foram destacados e avaliados em condições de laboratório. O mais indicado para programas de melhoramento é que avaliações possam ser feitas em todas as fases para permitir a identificação de diferentes genes de resistência que se expressam em diferentes estádios de desenvolvimento do fruto.

## ABSTRACT

SILVA, Soraia de Assunção Monteiro da. M. Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March; 2012; Identification of sources of resistance to anthracnose in *Capsicum* spp. Advisor: Rosana Rodrigues; Committee Members: Alexandre Pio Viana and Antonio Teixeira do Amaral Junior.

In 2010, the National Health Surveillance Agency (ANVISA) has detected several samples of fruit contaminated by the overuse of pesticides. This is due to the large number of sprays to control diseases caused by fungi and bacteria. Among the fungal diseases that occur in the pepper crop the anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, is one of the most important because chemical control is inefficient and when it is used improperly results in fruits contamination. Breeding for resistance to anthracnose is crucial in countries where the cultivation of sweet and chili play an important role in agribusiness, and is a more efficient way to control this disease, since it does not harm the environment or the health of workers and consumers. This study aimed to investigate the reaction of 37 *Capsicum* spp. in relation to *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) in different plant organs (young leaf, immature fruit and ripe fruit); to evaluate the reaction of *Capsicum* accessions under different environmental conditions: the fruit on the plant in a greenhouse, and detached fruit kept under laboratory conditions; to compare these approaches and to identify the most efficient way to evaluate the discrimination between resistant and susceptible genotypes. We evaluated 37 *Capsicum* spp. Accessions from the germplasm collection of the Laboratory of

Plant Genetics (CCTA / UENF). The study was conducted in three stages for evaluation of the resistance on leaves (first stage); in fruits on the plant (second stage) and in detached fruit (third step). The first stage was carried out in a growth chamber, controlling temperature, photoperiod and humidity. The plants were maintained at temperature of  $27 \pm 2$  ° C, photoperiod of 16h luz/8h dark and relative humidity of 80%. In the growth chamber, the experiment was carried out in randomized blocks with five replications and one plant per plot. In the seedling stage, with the first pair of true leaves, plantlets were transfer to pots containing 500 mL of substrate. Thirty-five days after the transplant, plantlets were inoculated using a *C. gloeosporioides* isolate donated by the Biological Institute of Sao Paulo. The inoculum was prepared by cultivating the fungus in PDA (Potato Dextrose Agar) medium for seven days at 25 °C in the dark. After this period, a suspension at a concentration of  $1.0 \times 10^6$  spores/mL was prepared and leaves were inoculated. The evaluation was made from the 3<sup>rd</sup> day after inoculation (DAI) and then the plants were transferred to a 5L pots and grown in a greenhouse, until the next inoculation step, performed in immature fruit and later in mature fruit stages. In inoculated fruits, the evaluation was done every 24 hours for seven days to determine the incubation period. It was used rating scales for symptoms from three to seven days after inoculation (DAI). The data from periodic observations were used to calculate the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). The variables phenotypic based on rate scale for fruits kept in plants and detached were analyzed using Kruskal-Wallis non-parametric test by program R. Spearman's correlations were determined considering the variables tested in each fruit stage, either in plant or when fruit was detached. Mean values were classified with Steel's test. Two *Capsicum baccatum* accessions, UENF 1797 and UENF 1718, were identified as resistant to anthracnosis. For breeding program aiming to anthracnosis resistance is recommended to evaluate fruits in different stages and environmental conditions to identify the different genes that can be involved in controlling this disease.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, originário da América do Sul, tem seu cultivo difundido nas áreas tropicais e temperadas em todo o mundo (Ince et al., 2010). O número de espécies no gênero ainda é incerto, mas estudos publicados de forma independente, em 2006 e 2007, registram a existência de 31 espécies (Pozzobon et al., 2006; Moscone et al., 2007). Dentre as espécies desse gênero, cinco são domesticadas e reúnem os pimentões (*C. annuum*) e as pimentas (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* e *C. pubescens*).

O pimentão é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil, de grande importância socioeconômica, sendo comercializado como fruto verde, vermelho, amarelo, laranja, creme e roxo. A pigmentação do fruto influencia no seu sabor e aroma. A preferência do mercado é por frutos de pimentão verde. Contudo, tem crescido o interesse comercial pelas cultivares de frutos amarelos (Frizzone et al., 2001).

Os registros mais antigos do uso de pimenta datam de aproximadamente 8.500 anos, segundo evidências encontradas em escavações arqueológicas, no Vale de Tehuacán, no México (Clement et al., 2010). No território brasileiro, os relatos feitos ainda na época da colonização do Brasil descrevem o amplo uso da pimenta, que fazia parte da dieta indígena. Reconhecidas especialmente pelo seu ardume, as pimentas se caracterizam pela presença da capsaicina, um alcalóide que tem efeito antiinflamatório e contra-irritações, substância utilizada como base

na fabricação de produtos farmacêuticos para aliviar dores musculares (Riquelme, 2003).

Os diferentes tipos de pimenta têm várias formas de preparo e modos de consumo. Podem ser processados na forma de pó, flocos picles, escabeches, molhos líquidos, conservas de frutos inteiros, geléias, etc. As pimentas picantes são utilizadas na indústria farmacêutica, na composição de pomadas para artrose e artrite, no emplastro Sabiá e também na indústria cosmética na composição de xampus anti-queda e anti-caspa (Carvalho e Bianchetti, 2007).

Devido ao crescimento da demanda por frutos e subprodutos de *Capsicum* e ao potencial de aproveitamento e geração de renda que as espécies desse gênero possuem, é fundamental o aumento da produção de frutos de alta qualidade, livres de doenças, pragas e isentos de resíduos químicos para atender ao mercado consumidor.

Os fungos são microrganismos responsáveis pelo maior número de doenças em plantas e, normalmente, produzem esporos que são disseminados pelo vento, pela água, por máquinas e animais. Entre as diversas doenças fúngicas que causam prejuízos às culturas do pimentão e das pimentas está a antracnose, causada por fungos do gênero *Colletotrichum* (Lopes e Ávila, 2003). Nos países asiáticos, grande pólo produtor de pimentas, essa doença causa uma perda de 50% nos frutos produzidos anualmente (Pakdeevaporn et al., 2005). A doença é, particularmente, importante em frutos maduros no período pré e pós-colheita, mas pode, também, ocasionar tombamento de mudas, necrose de caule e mancha foliar. O patógeno é disseminado a longas distâncias por sementes infectadas e, durante o cultivo, por respingos de água de chuva ou de irrigação via aspersão. O desenvolvimento do fungo é favorecido pelas altas temperaturas, assim essa patologia ocorre com maior frequência em regiões quentes (Agrios, 2005).

Na tentativa de controlar as doenças durante o ciclo da cultura, muitas vezes, os produtores fazem uso excessivo de agrotóxicos que causam prejuízos ao meio ambiente, à saúde do trabalhador e do consumidor. Em 2010, o pimentão foi assunto de noticiário em jornais brasileiros e originou, inclusive, declarações polêmicas de autoridades devido à venda de frutos dessa hortaliça contaminados com agrotóxicos, constatada em testes realizados em diferentes regiões do Brasil

pela ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (O Globo, 2010; Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudas, 2010).

Este trabalho teve como objetivo geral identificar fontes de resistência à antracnose no banco de germoplasma de *Capsicum* da UENF. Como objetivos específicos listam-se: i) investigar a reação de 37 acessos de *Capsicum* spp. da coleção de germoplasma da UENF em relação ao *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) em diferentes órgãos da planta (folha jovem, fruto imaturo e fruto maduro); ii) avaliar a reação dos acessos em diferentes condições ambientais: fruto na planta em casa de vegetação, e fruto destacado mantido em condições de laboratório; iii) comparar os resultados e identificar a forma mais eficiente de avaliação na discriminação entre genótipos resistentes e suscetíveis.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Importância econômica e nutricional

Os pimentões e as pimentas pertencem ao gênero *Capsicum* e ambas as culturas têm uma importância econômica em diversos países nos mais distintos continentes. A principal região produtora, no mundo, é a Ásia, especialmente representada pela China com produção de, aproximadamente, 254 mil toneladas, e pela Índia com produção de 1,23 milhões de toneladas de pimentas e pimentões, no formato “seco”, em 2008 (FAO, 2010).

No Brasil, o cultivo do pimentão, em 2006, teve uma produção de, aproximadamente, 249 mil toneladas enquanto que, para a pimenta, foi registrada uma produção de, aproximadamente, 20 mil toneladas (IBGE, 2011). No caso do pimentão, a maior região produtora é o Sudeste. Somente em Minas Gerais, que tem uma área aproximada de 94 mil hectares ocupada por hortaliças, segundo a Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado (Seapa), foram comercializados, na Ceasa (Contagem), em 2009, quase 12,2 milhões de quilos de pimentão, volume que possibilitou uma receita da ordem de R\$ 20 milhões. No primeiro semestre de 2009, deram entrada mais de seis milhões de quilos de pimentão, procedentes de 116 municípios mineiros (Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudas, 2010). Há indicações de que, no Estado de São Paulo, a cultura ocupava área superior a 8.000 ha, com produção de 70 mil

toneladas, gerando mais de 4.000 empregos, sendo o 6º produto agrícola em demanda de força de trabalho (Frizzone et al., 2001).

O cultivo de pimentas, no Brasil, importante na agricultura familiar, um exemplo de destaque na integração pequeno agricultor-agroindústria, resulta na fixação de pequenos produtores rurais e suas famílias no campo. A contratação sazonal de mão-de-obra durante o período de colheita e o estabelecimento de novas indústrias processadoras é fundamental para geração de emprego para o cultivo dessa hortaliça (Carvalho e Bianchetti, 2007 e Rêgo et al., 2011).

As pimentas (doces e picantes), além de serem consumidas frescas, podem ser processadas e utilizadas em diversas linhas de produtos na indústria de alimentos (Carvalho e Bianchetti, 2007). Tanto para o pimentão quanto para a pimenta, a comercialização dos frutos pode ser *in natura* ou em conserva. Os frutos consumidos *in natura* são usados como ingredientes em molhos, pratos principais, saladas e condimentos. Os pimentões têm níveis baixos de sódio e colesterol e são ricos em vitamina C e A, sendo, também, uma fonte de potássio, ácido fólico e vitamina E. São comercializados para consumo *in natura*, como fruto verde, vermelho, amarelo, laranja, creme e roxo (Frizzone et al., 2001).

Já a pimenta verde contém mais vitamina C que as frutas cítricas e frutas vermelhas, e maior teor de vitamina A do que as cenouras (Mahasuk, 2009). As pimentas doces são amplamente usadas *in natura*, como corantes naturais, na forma de extratos concentrados (oleorresinas) e de pó (colorau ou páprica). No pimentão, é encontrada grande porcentagem de fibras na forma bruta, auxiliando o processo de digestão e prevenindo problemas intestinais (Hanif et al., 2006)

Outros resultados importantes em *Capsicum* dizem respeito à presença de proteínas de defesa de plantas encontradas em sementes de pimentas. Além do papel de defesa contra fitopatógenos, essas proteínas, mais precisamente “proteínas transportadores de lipídeos” (LTP), demonstraram, também, uma eficiente ação anti-fúngica em *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Schizosaccharomyces pombe*. A identificação desses peptídeos e seu caráter defensivo têm uma grande importância para o estabelecimento de técnicas adequadas para sua manipulação e utilização em geral, por meio de técnicas de melhoramento clássico ou com técnicas recentes de manipulação genética (Diz et al., 2006).

## 2.2. Centro de origem e dispersão geográfica

*Capsicum* L. (Tribo *Solaneae*, subtribo *Capsicianae*) tem 31 espécies, algumas com variedades, e dentre essas espécies, cinco são domesticadas (*C. annuum* var. *annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* variedades *pendulum* e *umbilicatum* e *C. pubescens*) (Moscone et al., 2007). Esse gênero tem seu centro de origem na Bolívia; uma combinação de provas arqueológicas, análises genéticas e distribuição moderna de cultivo levaram os pesquisadores a sugerir que *C. annuum* foi, inicialmente, domesticado no México ou no Norte da América Central, *C. chinense* (Habanero) nas planícies do norte do Amazônia, *C. baccatum* nas Várzeas Bolivianas, *C. pubescens* nas elevações meados do Sul dos Andes (Organization for Economic Co-operation and Development- OECD, 2006; Perry et al., 2010) e *C. frutescens* na Amazônia Ocidental sendo talvez o centro de origem desta espécie (OECD, 2006).

O gênero *Capsicum* tem como centros de distribuição estas regiões: 1) Sul dos EUA e México até oeste da América do Sul; 2) do Nordeste do Brasil à costa venezuelana ; 3) Costa oeste Brasileira e 4) Centro da Bolívia e Paraguai até Norte e o centro da Argentina. Um grande número de espécies (16) está concentrado no Brasil, sendo estas endêmicas de diferentes regiões do Continente Sul americano (Moscone et al., 2007).

As dispersões pré-históricas das pimentas silvestres foram, provavelmente, devidas a aves antes dos seres humanos tornaram-se importantes agentes de dispersão. As aves, junto com morcegos, tornam-se agentes ativos na formação de corredores de dispersão de sementes, uma estreita faixa interligando os limites de bordas da floresta. E, assim, a dispersão de sementes permite o fluxo genético e, conseqüentemente, mantém a dinâmica da floresta e a perpetuação do gênero *Capsicum*. A ornitocoria foi responsável pela domesticação das espécies de *Capsicum* de forma independente, em três regiões: Mesoamérica, Região dos Andes e terras tropicais baixas da América do Sul (Albuquerque et al., 2006; Clement et al., 2010).

O gênero *Capsicum* foi difundido pelas regiões temperadas devido às grandes navegações, com os viajantes europeus que se deslocaram pelas regiões do Caribe, da América Central e da América do Sul, encontrando uma

diversidade de frutos, e, em 50 anos, o gênero *Capsicum* foi distribuído para Ásia (OECD, 2006; Moscone, 2007).

### 2.3. Aspectos botânicos e reprodutivos

A altura e a forma de crescimento das plantas desse gênero variam de acordo com a espécie e os fatores bióticos e abióticos que compõem a região do cultivo. O sistema radicular é pivotante, com um número elevado de ramificações laterais e profundidades que variam entre 70 e 120 cm. Existe variabilidade foliar, em termos de coloração, formato, pilosidade e tamanho. O formato das folhas varia de ovalado e lanceolado a deltóide, com coloração verde, mas são, também, observadas folhas variegadas e violetas. Os ramos dicotômicos e a plântula atingem altura de 15 – 20 cm de altura, com uma ou várias flores na parte distal do ramo jovem (Carvalho e Bianchetti, 2007).

As flores são hermafroditas, ou seja, a mesma flor possui sistema reprodutor masculino e feminino. O cálice é composto de cinco sépalas (podendo ter variação entre seis e oito) e a corola com cinco pétalas (podendo variar entre seis e oito). A flor é o órgão essencial para taxonomia das espécies que compõem o gênero *Capsicum*, que é separado em dois grandes grupos de acordo com a cor de sua corola. *C. baccatum* possui corola branca e anteras amarelas e *C. pubescens* corola e anteras púrpuras ou violeta. Já *C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens* possuem corola que varia entre a cor branca a amarelo esverdeado e anteras púrpuras a violeta, diferenciando-se, taxonomicamente, pelo número de flores por nó e a constrição anular do cálice (Guerra, 2001).

As plantas do gênero *Capsicum* são autógamas, ou seja, os gametas masculinos e femininos, quando fecundados, são originados na mesma flor, facilitando a reprodução. Entretanto, é possível que ocorra fecundação cruzada, com uma taxa que pode variar entre 0,5 a 70%, resultante de modificações na morfologia da flor, da atuação de insetos polinizadores, das práticas de cultivo, entre outros fatores. Especificamente em *C. chinense*, a taxa de fecundação cruzada pode chegar a 68% (Carvalho e Bianchetti, 2007; Costa et al., 2008).

O fruto é uma baga, de estrutura oca e com forma similar a uma cápsula. A grande variabilidade morfológica característica dos frutos é destacada pelas múltiplas formas, tamanhos, colorações e grau de pungência. Essa característica é exclusiva do gênero *Capsicum* e é atribuída a um alcalóide denominado capsaicina, encontrada na superfície da placenta e liberada com o rompimento do fruto. O conteúdo de capsaicina na placenta corresponde a, aproximadamente, 2,5% da massa seca. Essa substância é medida em Unidades de Calor Scoville (*Scoville Heat Units* - SHU) por meio de diluições seriadas. O valor SHU pode variar de zero (pimentas doces) a 300.000 (pimentas muito pungentes), podendo, até, ultrapassar esse valor, como ocorre com a pimenta Habanero que varia de 150000 – 325000 SHU (Riquelme, 2003). A coloração dos frutos maduros varia entre amarelo-leitoso, amarelo-forte, alaranjado, salmão, vermelho, roxo, marrom, e até preto. Existe variação no formato dentro e entre espécies, existindo frutos alongados, arredondados, triangulares ou cônicos, campanulados, quadrados ou retangulares (Carvalho e Bianchetti, 2007).

#### 2.4. Principais doenças em *Capsicum* spp.

Nos locais de cultivo, nas espécies vegetais que foram selecionadas para um maior potencial de rendimento, com o passar do tempo, o nível de resistência a estresses bióticos e abióticos foi se esgotando, e a maior parte das plantas ficou vulnerável a pragas e doenças. Com isso, as perdas ocasionadas por doenças causadas por fungos, bactérias, micoplasmas, vírus e viroses aumentaram (Plantegenest et al., 2007). A ocorrência de doenças está relacionada com a existência do agente patogênico e de hospedeiro suscetível em um ambiente favorável (Dodd et al., 2008).

No gênero *Capsicum*, podem-se observar diversas doenças causadas por fungos, vírus e bactérias em locais protegidos ou campos abertos. Entre as mais importantes doenças no cultivo de pimentas e pimentões no Brasil, podem ser relacionadas: o mosaico amarelo do pimentão, a mancha-bacteriana, o talo-oco ou podridão-mole, a mancha-de-cercospora e a antracnose (Carvalho e Bianchetti, 2007).

A antracnose (*Colletotrichum* spp.) ocorre em condições de alta umidade e se caracteriza por sintomas típicos, que consistem em lesões depressivas e concêntricas no fruto, surgindo no campo de produção ou no período pós-colheita, de formato circular com diâmetro variável e formação de uma massa alaranjada de esporo no centro do acérvulo (Tozze Júnior et al., 2005). A utilização de fungicida tem mostrado pouca eficiência no controle da doença, e testes *in vitro* demonstraram que o uso do produto Benomyl não inibiu o crescimento micelial dos isolados em meio de cultura BDA (Batata- Dextrose-Ágar) (Fernandes et al., 2001). O melhoramento visando resistência à antracnose é uma questão vital no cultivo de pimenta e pimentão nos países produtores, que têm, nesse cultivo, um papel importante no agronegócio, sendo uma forma de controle eficiente a utilização de cultivares resistentes, como a PBC 932 (*Capsicum chinense* Jacq), resistente a *Colletotrichum capsici* (Pakdeevaporn et al., 2005; Montri et al., 2009).

## 2.5. Gênero *Colletotrichum* e sua associação com *Capsicum*

O gênero *Colletotrichum* que causa antracnose em pimentão e pimentas faz parte da Divisão artificial, Deuteromycota, classe Coleomycetes, ordem Melaconiales e família Melanconiaceae. Este gênero inclui diversas espécies, de saprófitas a fitopatógenos, sendo considerado um dos principais patógenos mundiais. Tem como espécies representativas *C. capsici* (Syd.) Butler and Bisby; *C. acutatum* (Simmonds); *C. dematium* e *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes (Pakdeevaporn et al., 2005; Than et al., 2008). Os fungos desse gênero têm como característica a frutificação constituída de um estroma subepidérmico sobre o qual se desenvolvem conidióforos e conídios. Essa massa de coloração salmão é delimitada pela epiderme do hospedeiro rompida, estrutura chamada de acérvulo, e se constitui num dos principais sintomas e sinais da presença desse fungo em uma planta.

O fungo isolado da planta pode ser mantido em meios de cultura de BDA em temperaturas na faixa de 28 a 30 °C, em placas de Petri armazenadas em BOD, com ausência de luz, por até sete dias (Than et al., 2008). Pode ser,

também, armazenado pelo método Castellani, que consiste na manutenção da viabilidade, capacidade de esporulação e patogenicidade do *Colletotrichum* armazenado em frascos com água destilada e vedados com tampa. Esse método já apresentou períodos de um a 33 anos de preservação de culturas fúngicas, sendo um método vantajoso na manutenção em laboratório com diferentes gêneros de fungos (Aparecido et al., 2007).

O gênero *Colletotrichum* está presente por todo o mundo, com maior representatividade nas regiões tropicais e subtropicais, por causa de fatores ambientais que propiciam seu desenvolvimento e crescimento. Como fitopatógeno, causa graves perdas de rendimento e qualidade em diferentes culturas. Os danos são sérios em países asiáticos como Coréia do Sul, Taiwan (Kim et al., 2007), China, Índia, Vietnã e Tailândia (Temiyakul et al., 2009).

No Brasil, a maioria de casos de antracnose tem *C. gloeosporioides* (Penz. and Sacc.) como agente causal, em eventos pré ou pós-colheita, em vários frutos de diversas culturas, tais como, morango, manga, caju, banana, goiaba, maçã, mamão, dentre outros (Freeman et al., 1998). O patógeno sobrevive em ramos secos, frutos velhos, na área de cultivo, em hospedeiros silvestres ou em outras culturas (ambos como hospedeiros intermediários) (Michereff e Barros, 2001). *C. gloeosporioides* tem como características morfológicas específicas conídios retos, cilíndricos de ápice arredondados, com comprimento entre 12 e 17 µm e largura entre 3,5 e 6 µm (Tozze Júnior et al., 2005).

Segundo Reis et al. (2009), a antracnose ocorre, principalmente, na estação quente e chuvosa do ano em regiões tropicais e subtropicais. Os prejuízos mais importantes resultam dos sintomas de podridão em frutos, sendo os danos em folhas e ramos de menor importância. No Brasil, perdas de, até, 100% têm sido relatadas em cultivares altamente suscetíveis de pimentão e pimentas em condições de campo.

#### 2.5.1. Resistência ao *Colletotrichum* em *Capsicum*

Na natureza, encontra-se resistência à maioria das doenças recorrentes nas culturas. Encontram-se diferentes tipos de resistência: resistência temporária, para a qual o patógeno, aparentemente, adapta-se muito facilmente; resistência

durável, que permanece efetiva por muito tempo, e a maior parte da resistência explorada pelos melhoristas, que envolve genes maiores ou principais (Ribeiro do Vale et al. 2001).

A busca por cultivares resistentes a doenças é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento. Para isso, primeiramente, deve-se identificar fontes de resistência e determinar seu controle genético, e, assim, nortear as etapas para obtenção de uma planta resistente e que tenha atributos agronômicos compatíveis com as exigências do mercado consumidor.

Segundo Reis et al. (2009), a alta variabilidade inter e intra-específicas, associada ao amplo perfil patogênico e a gama de hospedeiros das espécies de *Colletotrichum* dificultam o melhoramento genético e requerem o desenvolvimento de cultivares com resistência estável e de amplo espectro. Por essa razão, são relativamente poucas as cultivares disponíveis com resistência a esse grupo de patógenos, tais como o acesso PBC 932, pertencente à espécie *C. chinense* Jacq., resistente ao *Colletotrichum capsici* (Pakdeevaporn et al., 2005).

A resistência de *Capsicum* spp. ao *Colletotrichum capsici* está relacionada a três diferentes genes (*co1*, *co2* e *co3*), todos recessivos, identificados a partir de *Capsicum chinense* acesso PBC932, que resultam em reação de hipersensibilidade (RH), mas sendo expressos em diferentes estádios de crescimento da planta (plântulas; frutos verdes e maduros; fruto vermelhos maduros). Especificamente no estágio de fruto vermelho do pimentão, o gene *PepEST* teve uma alta expressão, inibindo a formação de apressórios pelo fungo. A identificação de genes diferentes, atuando em diferentes estádios de crescimento, é importante para os melhoristas de pimentão, e reforça a necessidade de desenvolvimento de marcadores moleculares para esses genes (*co1*, *co2*, *co3*), possibilitando a seleção assistida por marcadores (Mahasuk et al., 2009).

Frutos de plantas resistentes à antracnose produzem altas concentrações de capsaicinóides e ácido ascórbico e baixas concentrações de açúcares em comparações às plantas suscetíveis (Pereira et al., 2005). Já as plantas suscetíveis, por sua vez, têm inibição de ácido ascórbico, resultando no acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e aceleração da morte celular (Do, 2003).

## 2.6. O uso de testes não paramétricos na análise de doenças em plantas

Os testes estatísticos são utilizados em pesquisas para comparação de condições experimentais e permitem estabelecer uma confiabilidade nos dados obtidos no experimento, gerando, assim, a aceitabilidade desses dados no meio científico. Os testes são classificados em paramétricos ou não paramétricos. Nos testes paramétricos, os erros experimentais possuem distribuição aproximadamente normal. Na falta de normalidade dos dados, utilizam-se os testes não paramétricos, que dispensam o conhecimento da forma e dos parâmetros da função de distribuição da variável aleatória. Um dos testes não paramétricos, talvez o de uso mais comum, é o do qui-quadrado, o qual se aplica quando se analisam dados de frequências. Outros exemplos de testes não-paramétricos são os de Wilcoxon, de Friedman, de Kolmogorov-Smirnov, de Kruskal-Wallis, entre outros. Entre esses testes, o de Kruskal-Wallis é um método de análise não paramétrico que emprega estatística de ordem, em ensaios inteiramente casualizados, para três ou mais tratamentos (Pimentel-Gomes, 2009)

Na análise de doenças em plantas, muitas vezes, utiliza-se uma medida de intensidade de doença avaliada por uma escala ordinal, organizada de acordo com a disposição de uma ordem pré-estabelecida como, por exemplo, uma escala que representa a ausência de sintomas, sintomas moderados, sintomas expressivos e planta morta. Esse tipo de padrão de análise produz dados discretos e a variável é considerada do tipo ordinal. Nesses casos, quando o número de observações é pequeno, uma alternativa é o uso de análise não paramétrica (Shah e Madden, 2003; Garrett et al., 2004; Pimentel-Gomes, 2009). Na literatura, existem vários trabalhos sobre doenças em plantas que utilizam testes não-paramétricos para análise de dados. Camp et al.(2008) utilizaram o teste de Kruskal-Wallis para analisar os dados observados na eficiência de biofumigação para o controle de *Phytophthora capsici*, causador de podridão em raízes, em *Capsicum annuum*. Vasconcelos et. al (2008) também se utilizaram desse mesmo teste para analisar os dados observados para a sanidade de sementes de soja. Ainda, a chamada ANOVA de Kruskal-Wallis foi o teste usado para analisar os dados obtidos para avaliação da resistência à mancha foliar de glomerella em genótipos de macieira (Furlan et al., 2010).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Manutenção e preparo do inóculo

O isolado de *Colletotrichum gloeosporioides*, obtido a partir de pimentão (isolado em 1984 e identificado pelo código MMBF 04/84), foi cedido pela Micoteca “Mário Barreto Figueiredo”, do Instituto Biológico de São Paulo (IB/SP), pela Dra. Christiane C. Aparecido e foi, previamente, testado em frutos do acesso UENF 1616 (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*), para confirmação da virulência do inóculo de *Colletotrichum*.

O isolado foi mantido sob duas formas distintas, seguindo-se as orientações da Micoteca do IB/SP: em tubos de ensaio, contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) e armazenados à temperatura de 16 °C; e, utilizando-se o método Castellani, que consiste no armazenamento do fungo em forma de colônias puras, colocadas em um pequeno frasco, contendo água destilada esterilizada ou solução salina, sendo, posteriormente, selado e armazenado em temperatura de 5 °C, com o objetivo de manter a viabilidade, capacidade de esporulação e patogenicidade desse microrganismo (Aparecido et al, 2007).

No preparo do inóculo, o isolado foi cultivado em meio BDA (Figura 1), pH 7,0, até à formação de colônias, ou seja, num período que variou entre sete a dez dias, incubados no escuro, a 25 °C (Araújo et al., 2010).

### 3.2. Germoplasma

Trinta e sete acessos de *Capsicum* spp. da coleção de germoplasma do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do CCTA/UENF foram avaliados quanto à reação à antracnose. Esses acessos já foram caracterizados quanto aos descritores morfológicos e agronômicos por Sudré et al. (2005) e Bento et al. (2007) e para o vírus do mosaico amarelo por Bento et al (2009) (Tabela 1).

### 3.3. Locais dos experimentos e condições experimentais

O trabalho foi conduzido em três etapas para avaliação da resistência em folhas (primeira etapa), em frutos na planta (segunda etapa) e em frutos destacados (terceira etapa). A primeira etapa foi conduzida em câmara de crescimento com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados, localizada no térreo do P4/CCTA. As plantas foram mantidas a uma temperatura de  $27 \pm 2$  °C, fotoperíodo de 16h luz/8h de escuro e umidade relativa de 80%. Na câmara de crescimento, o experimento foi conduzido em blocos ao acaso, com cinco repetições e uma planta por parcela.

Tabela 1. Dados de passaporte dos 37 acessos de *Capsicum* spp. avaliados quanto à resistência à antracnose em folhas e frutos. Campos dos Goytacazes, UENF, 2012.

Nº.UENF	Espécie	Pungência	Procedência	Reação às doenças <sup>1</sup>	Fonte
1490	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Presente	Campos dos Goytacazes - RJ	-	Bento et al. (2009)
1554	<i>C. chinense</i>	Presente	Goiânia-GO	-	-
1622	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Presente	EUA	-	-
1623	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Presente	EUA	-	-
1624	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Presente	Campos dos Goytacazes - RJ	Resistente ao PepYMV	Bento et al. (2009)
1626	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Presente	EUA	-	-
1627	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Presente	EUA	-	-
1628	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Presente	EUA	-	-
1635	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Presente	Miranda - MS	-	-
1703	<i>C. chinense</i>	Ausente	Viçosa - MG	Resistente ao PepYMV	Bento et al. (2009)
1706	<i>C. chinense</i>	Presente	Belém-PA	-	Moura et al. (2009)
1714	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Presente	Peru	-	Moura et al. (2009)
1717	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Ausente	Renascença - PR	-	Moura et al. (2009)
1718	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Ausente	Renascença - PR	-	Moura et al. (2009)
1731	<i>C. frutescens</i>	Ausente	Petrolina - PE	-	Moura et al. (2009)
1732	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Ausente	Campos dos Goytacazes - RJ	Resistente ao PepYMV	Bento et al. (2009)
1733	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Ausente	Campos dos Goytacazes - RJ	-	Moura et al. (2009)
1737	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Ausente	Conceição de Macacu - RJ	-	Moura et al. (2009)

Tabela 1. Cont.

Nº.UENF	Espécie	Pungência	Procedência	Reação às doenças <sup>1</sup>	Fonte
1740	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Presente	Conceição de Macacu - RJ	-	Moura et al. (2009)
1741	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i>	Ausente	Bequimás - MA	-	Moura et al. (2009)
1747	<i>C. frutescens</i>	Presente	Marajó-Souré - PA	Resistente à MB	Moura et al. (2009)
1750	<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>	Ausente	Campos dos Goytacazes - RJ	-	Moura et al. (2009)
1751	<i>C. chinense</i>	Ausente	Parintins - AM	Resistente ao PepYMV	Bento et al. (2009)
1764	<i>C. chinense</i>	Presente	Belém - PA	Resistente ao PepYMV	Bento et al. (2009)
1765	<i>C. chinense</i>	Presente	Belém - PA	-	Moura et al. (2009)
1766	<i>C. frutescens</i>	Presente	Belém - PA	-	Moura et al. (2009)
1770	<i>C. chinense</i>	Ausente	Belém - PA	Resistente ao PepYMV	Bento et al. (2009)
1772	<i>C. chinense</i>	Ausente	Bequimão - MA	-	Moura et al. (2009)
1775	<i>C. frutescens</i>	Presente	Bequimás - MA	-	Moura et al. (2009)
1776	<i>C. frutescens</i>	Presente	Rosário - MA	-	Moura et al. (2009)
1779	<i>C. frutescens</i>	Presente	Bequimás - MA	-	Moura et al. (2009)
1780	<i>C. chinense</i>	Ausente	Bequimão - MA	-	Moura et al. (2009)
1790	<i>C. frutescens</i>	Presente	São Luis - MA	-	Moura et al. (2009)
1792	<i>C. chinense</i>	Presente	São Luís - MA	-	Moura et al. (2009)
1797	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Presente	Viçosa - MG	-	Moura et al. (2009)
1798	<i>C. chinense</i>	Presente	Campos dos Goytacazes - RJ	-	Moura et al. (2009)
1800	<i>C. frutescens</i>	Presente	Bequimás - MA	-	Moura et al. (2009)

<sup>1</sup>MB – Mancha-bacteriana; PepYMV – Vírus do mosaico amarelo do pimentão.

As sementes dos 37 acessos foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido com 128 células, contendo substrato comercial Vivatto<sup>®</sup> e, após o primeiro par de folhas definitivas, foram transferidas para vasos com capacidade para 500 mL de solo. Aos 35 dias após o transplante (Halasi, 2008), três folhas por planta foram inoculadas e, posteriormente, avaliadas a cada 24 horas, durante sete dias, utilizando-se escala de notas (Mahasuk et al., 2009). Após essa etapa, todas as plantas foram transferidas para vasos com capacidade para 5 L e cultivadas na casa de vegetação para avaliação da resistência em frutos, pois, como em outros patossistemas, pode haver genes diferentes, controlando resistência em folhas e frutos.

Na casa de vegetação, as plantas foram conduzidas, seguindo-se os tratos culturais recomendados para a cultura (Filgueira, 2005) e dispostas em delineamento em blocos ao acaso, com cinco repetições. Na fase de florescimento, os botões florais foram identificados com etiquetas, ainda na antese e, posteriormente, os frutos produzidos por autofecundação tiveram suas sementes armazenadas no Banco de Germoplasma de *Capsicum* da UENF. Três frutos por planta foram inoculados.

Na terceira etapa, frutos oriundos de todas as plantas produzidas na casa de vegetação (também etiquetados) foram colhidos, levados ao laboratório, desinfestados em solução de 1% de NaOCl, lavados, triplamente, em água deionizada estéril e inoculados com suspensão de  $1 \times 10^6$  conídios/mL e mantidos à temperatura de, aproximadamente, 28 °C. Para se evitar a perda excessiva de água dos frutos destacados, foi colocado, próximo ao fruto, chumaço de algodão hidrofílico embebido em água deionizada.

Nessa etapa, foram avaliados os frutos Imaturos na planta (FIP); frutos Imaturos destacados da planta e levados ao laboratório (FIL); frutos maduros na planta (FMP); e frutos maduros destacados da planta e levados ao laboratório (FML).

### 3.4. Inoculações e avaliação dos resultados

As inoculações foram feitas nas folhas e nos frutos. Em ambos os casos, os procedimentos de preparo de inóculo para inoculação foram os mesmos. A suspensão de esporos foi preparada minutos antes de cada inoculação, na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL, com auxílio de um pincel fino, promovendo a liberação de conídios em água. A concentração foi ajustada através de contagem em câmara de Neubauer (Figura 1) (Carvalho et al., 1997).

Nas folhas, foi realizada a quebra da tensão superficial das folhas com álcool 70% e, em seguida, estas foram lavadas, por três vezes, com água destilada. A inoculação foi realizada em três folhas por plântula, onde, em cada folha, foram inseridas 4 gotas com 5  $\mu$ L de suspensão. A inoculação, nas plântulas, ocorreu a partir da formação de três pares de folhas definitivas e expandidas.

Os frutos foram inoculados em estádios diferentes, frutos imaturos e maduros foram colhidos, respectivamente, aos 35 e 45 dias após o florescimento (Figura 1). Esses frutos foram esterilizados com 1% (volume/água) de hipoclorito de sódio, depois lavados, por três vezes, em água destilada. A inoculação foi realizada com auxílio de micropipetas de 20  $\mu$ L, no pericarpo, na parte central do fruto (Mahasuk et al., 2009).



Figura 1: (A) Crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio de BDA; (B) Câmara de Neubauer (contagem de esporos); (C) Inoculação no fruto imaturo na planta; (D) Inoculação no fruto maduro na planta; (E) Inoculação no fruto imaturo no laboratório; (F) Inoculação do fruto maduro no laboratório.

A avaliação foi feita a cada 24 horas após a inoculação, verificando-se o período de incubação. Entre o 3<sup>o</sup> e o 7<sup>o</sup> dias após a inoculação (DAI), foram avaliados os sintomas nos frutos e folhas pela escala de descrição dos sintomas (Mahasuk *et al.*, 2009) (Tabela 2).

Tabela 2. Escala de avaliação para descrição dos sintomas de antracnose em folhas e frutos de *Capsicum* spp.

Descrição dos Sintomas		
Escala	Frutos	Folhas
1	Não Infectado	-
3	1-2% da superfície do fruto com lesão necrótica ou uma lesão aquosa em torno local da infecção.	Morte celular localizada, lesões (<1 mm) com margem definida - reação de hipersensibilidade
4	> 2-5% da superfície do fruto com lesão necrótica, apresentando acérvulo, ou até 5 % do fruto com lesão aquosa.	Pequenas lesões necróticas isoladas, abrangendo cerca de 1% da área foliar
6	> 5-15 % da superfície do fruto com lesão necrótica, apresentando acérvulo, ou até 25 % do fruto com lesão aquosa	Aumento discreto nas lesões necróticas, abrangendo cerca de 5% da área foliar.
8	>15-25 % da superfície do fruto com lesão necrótica e acérvulo	Lesões que cobrem, aproximadamente, 10% da área foliar e com presença do acérvulo
10	>25 % da superfície do fruto mostra lesão necrótica com acérvulo	Lesões que cobrem, aproximadamente, 25% da área foliar e com presença abundante de acérvulos

Fonte: Mahasuk *et al.* (2009)

Os dados das observações periódicas foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de acordo com Jeger e Viljanen-Rollinson (2001)

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

Sendo:

$n$  = é o número de observações.

$Y_i$  = é a severidade da doença na “i”-ésima observação;

$T_i$  = é o tempo em dias na “i”-ésima observação.

### 3.5. Análise de dados

Os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, uma análise da variância que emprega posições (soma de filas). Na sequência do teste, converte-se cada observação em posições crescentes em uma única fila, observando e contabilizando a soma de filas de cada amostra. Para o cálculo da estatística H, utiliza-se a expressão:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{(R_j)^2}{n_j} - 3(N+1)$$

Onde:

N = Número total de observações;

K = Número de amostras;

$N_j$  = Número de observações na j-ésima amostra;

$R_j$  = Soma dos postos da j-ésima amostra.

Foi determinada, ainda, a correlação de Spearman entre os valores obtidos para AACPD e as notas atribuídas às partes inoculadas dos frutos. As médias foram classificadas pelo teste de Steel. Todas as análises foram efetuadas com o auxílio do Programa R (2006).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observados sintomas decorrentes das inoculações feitas nas folhas das plantas, nos sete dias de análise, razão pela qual todos os acessos, e não apenas os resistentes na folha, conforme inicialmente previsto, foram transplantados e transferidos para casa de vegetação. A inoculação em frutos imaturos e maduros, tanto na casa de vegetação quanto no laboratório, foi eficiente em promover a expressão inequívoca de sintomas de antracnose em frutos de pimenta por afundamento dos tecidos necróticos, com a formação de anéis concêntricos em torno do corpo de frutificação - acérvulo (Manandhar et al., 1995).

Os resultados observados para período de Incubação variaram entre os acessos (Tabela 3). O período de incubação foi influenciado tanto pelo estágio de desenvolvimento do fruto quanto pelas condições de avaliação (na planta ou no laboratório). Alguns acessos não mostraram sintomas da doença mesmo após sete dias de inoculação, nem na planta e nem no laboratório, quando os frutos foram avaliados no estágio imaturo, como ocorreu com os acessos UENF 1624, UENF 1628, UENF 1714, UENF 1718, UENF 1732, UENF 1733, UENF 1764, UENF 1772, UENF 1775 e UENF 1797 (Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7).

Alguns acessos que tiveram ausência de sintomas e sinais no fruto imaturo inoculado na planta mostraram sintomas após dois dias de inoculação, quando foram destacados da planta e avaliados no laboratório. Nesse caso, estão os acessos UENF 1626, UENF 1627, UENF 1717, UENF 1740 e UENF 1799.

Tabela 3: Período de Incubação e valores médios para AACPD (Área abaixo da curva de progresso da doença) observados em frutos dos 37 acessos de *Capsicum* spp. do banco de germoplasma da UENF, avaliados na planta e no laboratório até o sétimo dia após inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Acessos	Período de Incubação (dias)				AACPD			
	Imaturo		Maduro		Imaturo		Maduro	
	Planta	Lab.	Planta	Lab.	Planta	Lab.	Planta	Lab.
UENF 1490	AS	5	4	4	08,00	10,66	12,33	13,75
UENF 1554	6	AS	AS	AS	10,06	08,00	08,00	08,58
UENF 1622	2	6	3	5	31,08	11,50	14,83	14,56
UENF 1623	4	2	5	3	25,22	33,16	10,67	26,67
UENF 1624	AS	AS	AS	6	08,00	08,00	08,50	13,08
UENF 1626	AS	2	5	4	08,00	32,54	15,75	29,00
UENF 1627	AS	2	3	4	21,18	18,25	17,41	30,58
UENF 1628	AS	AS	3	4	08,00	08,00	16,83	13,66
UENF 1635	7	AS	AS	5	09,08	08,00	09,58	13,41
UENF 1703	5	5	AS	AS	18,50	19,66	08,00	08,00
UENF 1706	5	6	AS	AS	13,83	08,83	08,00	08,00
UENF 1714	AS	AS	5	6	08,00	08,00	09,92	10,83
UENF 1717	AS	2	3	5	08,68	30,73	13,16	10,42
UENF 1718	AS	AS	AS	AS	08,00	08,00	08,00	08,00
UENF 1731	AS	5	4	3	08,00	19,33	24,89	30,00
UENF 1732	AS	AS	AS	4	08,00	08,00	08,00	12,50
UENF 1733	AS	AS	2	4	08,00	08,00	20,08	22,33
UENF 1737	AS	7	6	5	08,00	08,00	08,50	09,74
UENF 1740	AS	2	3	3	08,00	14,50	25,00	26,00
UENF 1741	4	4	5	4	21,13	23,25	16,83	18,75
UENF 1747	AS	5	2	4	08,56	21,04	24,50	24,94
UENF 1750	2	2	2	2	37,75	41,91	50,16	62,67
UENF 1751	4	AS	AS	AS	10,08	08,56	08,00	08,00
UENF 1764	AS	AS	2	1	08,00	08,00	21,58	17,92
UENF 1765	5	AS	AS	3	10,65	08,00	08,00	16,11
UENF 1766	6	2	3	6	18,33	28,46	29,21	33,08
UENF 1770	7	AS	AS	1	08,00	08,00	10,08	23,25
UENF 1772	AS	AS	AS	3	10,67	09,79	11,80	11,83
UENF 1775	AS	AS	3	2	08,00	09,00	26,41	25,75

Tabela 3. Cont.

Acessos	Período de Incubação (dias)				AACPD			
	Imaturo		Maduro		Imaturo		Maduro	
	Planta	Lab.	Planta	Lab.	Planta	Lab.	Planta	Lab.
<b>UENF 1776</b>	4	4	3	2	09,83	31,67	21,75	33,83
<b>UENF 1779</b>	5	5	3	3	10,83	18,12	15,75	26,79
<b>UENF 1780</b>	2	4	5	5	17,33	23,00	10,00	11,67
<b>UENF 1790</b>	5	4	4	3	11,00	08,50	22,11	22,66
<b>UENF 1792</b>	4	5	3	3	18,65	12,54	13,16	15,68
<b>UENF 1797</b>	AS	AS	AS	AS	08,00	08,00	08,00	08,00
<b>UENF 1799</b>	AS	2	2	3	08,00	33,98	50,41	50,11
<b>UENF 1798</b>	3	4	6	3	14,16	16,33	19,21	11,74
<b>UENF 1800</b>	5	2	5	2	13,33	25,00	46,00	54,55

“AS” = Frutos com “ausência de sintomas” durante o período de avaliação, até o 7<sup>o</sup> dia após inoculação; Lab. = Laboratório.

Situação oposta, também, foi observada, ou seja, houve casos em que os frutos imaturos inoculados na planta tiveram menor período de incubação que aqueles avaliados no laboratório, como foi o caso para UENF 1622, UENF 1780 e UENF 1798.

Os resultados observados para o período de incubação demonstram a importância do ambiente na expressão dos sintomas e na interação *Capsicum* – *Colletotrichum*, fazendo supor uma provável herança governada por mais de um gene de resistência para esse caráter. O período de incubação é o tempo compreendido entre a deposição do patógeno sobre o hospedeiro e o aparecimento dos sintomas (Amorim e Bergamin Filho, 2006).

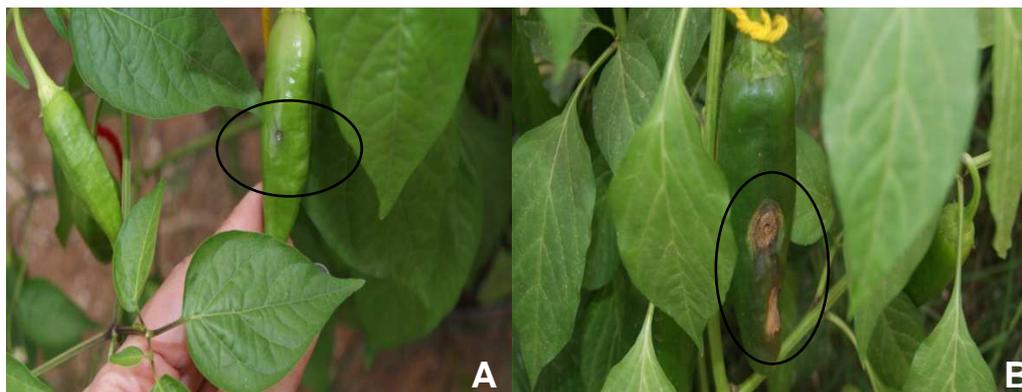


Figura 2: (A) Frutos inoculados na planta: UENF 1797, sem sintomas no estágio imaturo (resistente); (B) UENF 1622 com sintomas no estágio imaturo (suscetível).



Figura 3: Ausência de sintomas de antracnose em folha inoculada do acesso UENF 1751 (A). Inoculação em frutos maduros na planta com expressão de sintomas de antracnose no acesso UENF 1627 (seta branca) (B).

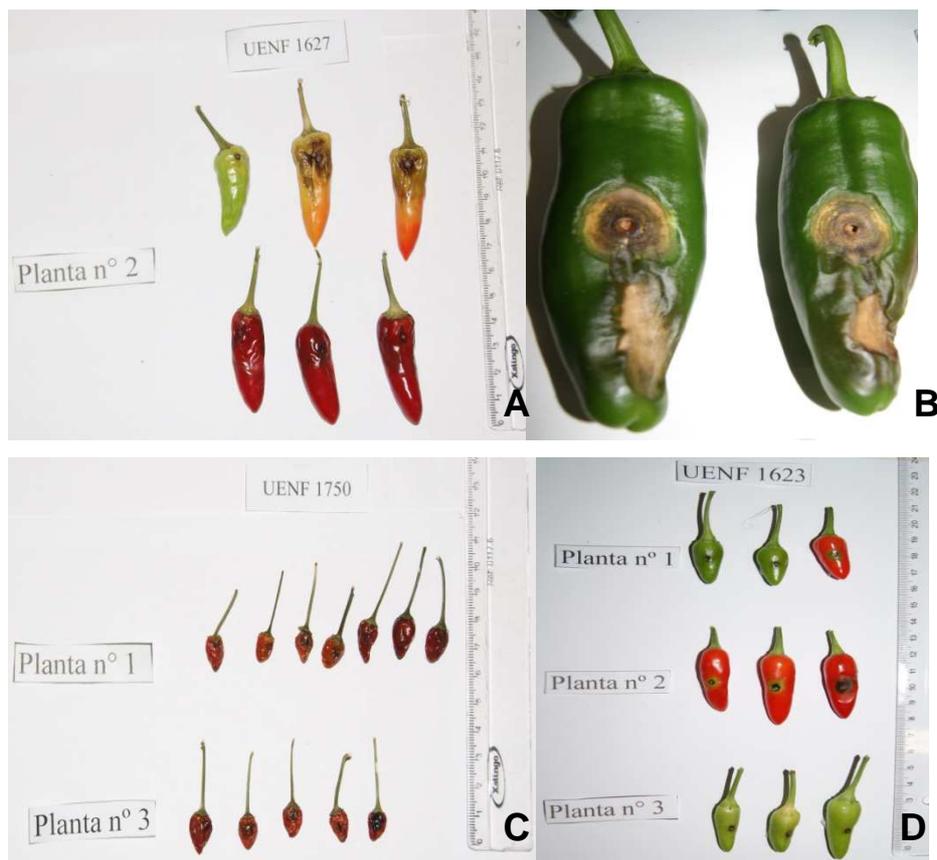


Figura 4: Frutos maduros e imaturos com sintomas de antracnose quando inoculados destacados da planta nas condições do laboratório. Acessos UENF 1627 (A), UENF 1622 (B), UENF 1750 (C) e UENF 1623 (D).

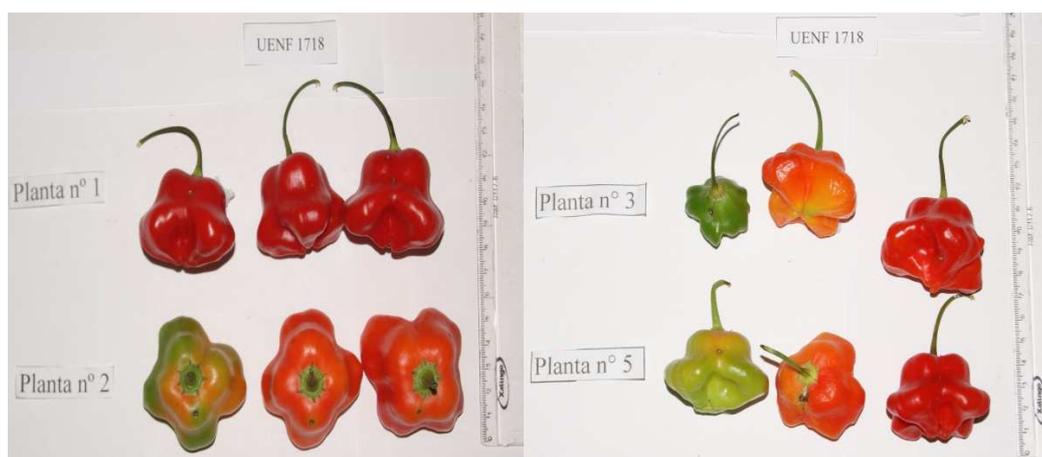


Figura 5: Identificação de resistência à antracnose em frutos imaturos e maduros destacados da planta e avaliados em laboratório. Frutos de diferentes plantas do acesso UENF 1718 (*C. baccatum* var. *pendulum*).



Figura 6: Frutos do acesso UENF 1797 (*C. baccatum* var. *pendulum*) sem sintomas de antracnose após a inoculação com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.



Figura 7: Frutos dos acessos resistente UENF 1797 (*C. baccatum* var. *pendulum*) (A) e UENF 1627 (*C. annuum* var. *annuum*) (B) suscetível a *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose.

O número de acessos que não expressaram sintomas em frutos maduros, na planta ou no laboratório, foi menor quando comparado com o observado para frutos imaturos. Enquanto nos frutos imaturos 10 acessos não mostraram sintomas, nos frutos maduros, apenas seis se mantiveram sem sinais do patógeno. Somente dois acessos, UENF 1718 e UENF 1797, demonstraram ausência de sintomas durante o período de avaliação do experimento, sendo promissores em termos de resistência.

O valor mínimo observado para AACPD nas quatro combinações testadas foi 8,00 e o valor máximo registrado foi de 62,67 para o acesso UENF 1750 quando se fez a inoculação de seus frutos no laboratório.

Para análise dos dados, aplicou-se, primeiramente, o teste de normalidade Shapiro-wilk, o qual mostrou que os dados observados para AACPD não seguiram uma distribuição normal, recomendando-se, portanto, o uso de testes não paramétricos. Dentre os métodos utilizados, na literatura, optou-se pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Houve diferença altamente significativa para valores de AACPD e para as notas atribuídas aos sintomas para os frutos imaturos avaliados na planta e no laboratório e, também, para frutos maduros avaliados na planta e no laboratório. Isso indica que há variação para AACPD e nas notas atribuídas aos sintomas e nos estádios de avaliação dos frutos (imaturo e maduro) e no ambiente de teste (fruto na planta em casa de vegetação ou fruto destacado da planta e inoculado no laboratório), indicando que é possível selecionar acessos resistentes em diferentes condições de inoculação (Tabela 4).

Kanchana-Udomkan et al. (2004) verificaram que frutos verdes de *Capsicum chinense* foram mais suscetíveis à antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* que os frutos maduros e que o tamanho do fruto não afeta o desenvolvimento da doença. Estudos prévios, publicados por Pakdeevaporn et al. (2005) e por Mahasuk et al. (2009a e 2009b), mostraram que genes distintos controlam a resistência à antracnose em 30 frutos imaturos e maduros, o que tem um importante significado para o melhoramento de *Capsicum* visando à resistência à antracnose. Reações diferenciais influenciadas pelo estágio de desenvolvimento dos frutos de *Capsicum* spp inoculados com diferentes espécies de *Colletotrichum* também foram observados por Mongkolporn et al. (2011).

Tabela 4: Análise de variância não paramétrica para os efeitos da inoculação com *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de 37 acessos de *Capsicum* spp., em diferentes estádios, inseridos na planta ou destacados e avaliados no laboratório: teste de Kruskal-Wallis para os postos atribuídos à área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD) e notas dadas aos sintomas de antracnose.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Qui-quadrado	
		Postos de AACPD	Postos de Notas
<b>Frutos Imaturos – planta (FIP)</b>	36	95,64 (P < 0,001)	92,44 (P < 0,001)
<b>Frutos Imaturos – laboratório (FIL)</b>	36	95,89 (P < 0,001)	97,31 (P < 0,001)
<b>Frutos maduros – planta (FMP)</b>	36	84,44 (P < 0,001)	86,52 (P < 0,001)
<b>Frutos maduros – laboratório (FML)</b>	36	88,82 (P < 0,001)	93,58 (P < 0,001)
<b>FIP x FIL</b>	1	04,49 (P < 0,034)	08,07 (P < 0,004)
<b>FMP x FML</b>	1	05,47 (P < 0,019)	11,41 (P < 0,001)
<b>FIP x FMP</b>	1	07,29 (P < 0,007)	05,37 (P < 0,021)
<b>FIL x FML</b>	1	06,68 (P < 0,009)	04,06 (P < 0,044)

<sup>1</sup>FIP = fruto imaturo inoculado na planta; FIL = fruto imaturo inoculado no laboratório; FMP = fruto maduro inoculado na planta; FML = fruto maduro inoculado no laboratório.

Houve diferença significativa para AACPD e altamente significativa para a variável notas, quando se considerou o efeito conjunto da expressão dos sintomas nos frutos imaturos, quer tenham sido avaliados na planta ou no laboratório, mostrando que há uma interação entre o estágio de desenvolvimento do fruto e o ambiente no qual a avaliação da resistência foi feita. O mesmo padrão de resultado foi observado para os frutos avaliados no estágio maduro. Porém, diferença altamente significativa para AACPD e diferença significativa para a variável notas foram observadas, quando se considerou a comparação entre os frutos, imaturos ou maduros, avaliados na planta e, também, no caso dos frutos serem avaliados no laboratório.

Detectou-se uma alta correlação entre valores de AACPD e notas atribuídas aos sete dias após a inoculação, nas quatro condições em que os frutos foram analisados, com valores que variaram entre 0,87 (correlação entre a AACPD para os frutos maduros avaliados no laboratório e as notas atribuídas aos sintomas nos frutos maduros avaliados no laboratório) a 0,98 (para a correlação entre AACPD calculada para os frutos imaturos na planta e para notas observadas nos mesmos frutos). Esse resultado já era esperado, visto que os dados obtidos para notas são utilizados para o cálculo da AACPD (Tabela 5). O

valor 1,00 representa a correlação máxima na comparação entre variáveis AACPD e Notas de sintomas em frutos imaturos e maduros, tanto na planta quanto no laboratório.

A correlação entre frutos imaturos e maduros, na planta e no laboratório, apresentou, respectivamente, os valores 0,11 e 0,18, e esses baixos valores demonstram a influência dos frutos destacados da planta na expressão dos sintomas de antracnose, assim não sendo confiável estimar a reação dos frutos de *Capsicum* testados, apenas, pelos resultados observados na planta ou no laboratório (Tabela 5).

Considerando frutos em estádios diferentes, mas submetidos às mesmas condições de inoculação e avaliação no laboratório, observou-se valor mediano de correlação para AACPD (0,53). Correlação mediana foi, também, observada para AACPD em frutos imaturos avaliados no laboratório e frutos maduros na planta (0,52). Boa correlação (0,77) foi obtida para AACPD entre frutos maduros inoculados na planta e no laboratório. As mesmas observações são válidas para o componente de resistência notas que teve como maior coeficiente de correlação (0,79) aquele verificado para fruto maduro na planta e no laboratório (Tabela 5).

Considerando-se o fruto imaturo na planta, os mais baixos valores de correlação foram obtidos quando se associou a AACPD para os frutos imaturos na planta com as notas dos frutos maduros na planta (0,22) e no laboratório (0,11). Os valores mais baixos de correlação foram observados para notas em frutos imaturos na planta e AACPD nos frutos maduros na planta (0,06). Isso demonstra a dificuldade de se associar os resultados observados em frutos imaturos e maduros, já que a expressão dos sintomas poderá ser distinta em função do estágio de desenvolvimento do fruto.

Tabela 5: Correlação de Spearman entre dois componentes de resistência (valores de área abaixo da curva de progresso da doença – AACPD e notas) atribuídos aos sintomas de antracnose em frutos de 37 acessos de *Capsicum* spp. em diferentes estádios, inseridos na planta ou destacados e avaliados no laboratório.

Componentes de Resistência		FIP		FIL		FMP		FML	
		AACPD	Nota	AACPD	Nota	AACPD	Nota	AACPD	Nota
FIP	AACPD	1,00							
	Nota	0,98	1,00						
FIL	AACPD	0,62	0,59	1,00					
	Nota	0,60	0,59	0,93	1,00				
FMP	AACPD	0,11	0,06	0,52	0,45	1,00			
	Nota	0,22	0,20	0,55	0,60	0,89	1,00		
FML	AACPD	0,18	0,13	0,53	0,53	0,77	0,77	1,00	
	Nota	0,33	0,30	0,63	0,70	0,66	0,79	0,87	1,00

A média observada para os acessos em termos de AACPD nos frutos imaturos avaliados na planta foi de 13,01 (Figura 8). Acessos que obtiveram os menores valores médios (8,00) para essa variável foram classificados como resistentes à antracnose, considerando a reação ao *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos imaturos inoculados e avaliados na planta. Um total de 15 acessos se classificou nessa categoria: UENF 1490, UENF 1624, UENF 1626, UENF 1628, UENF 1714, UENF 1718, UENF 1731, UENF 1732, UENF 1733, UENF 1737, UENF 1740, UENF 1764, UENF 1770 UENF 1755 e UENF 1797.

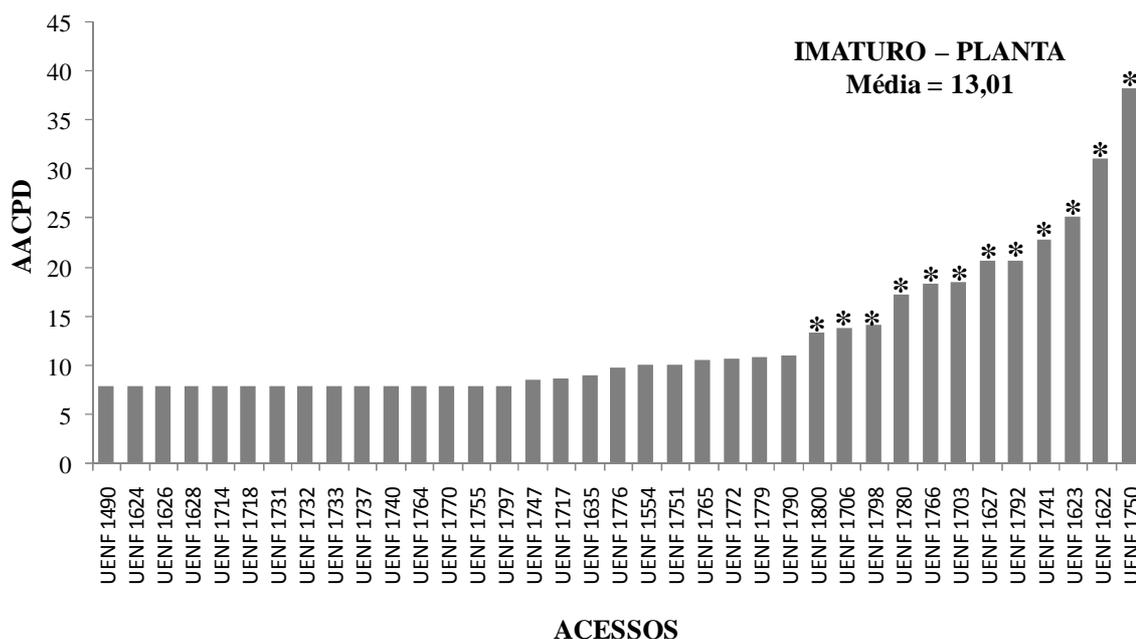


Figura 8: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos imaturos inoculados na planta de 37 acessos de *Capsicum* spp inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*. (\*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).

Por sua vez, o número de acessos que podem ser classificados como resistentes, considerando as médias obtidas para AACPD em termos de frutos imaturos avaliados no laboratório (Figura 9), foi ligeiramente menor (15 acessos) que o observado para os frutos imaturos avaliados na planta. A média geral para essa característica (15,80) foi um pouco superior àquela observada para o fruto imaturo inoculado na planta. Em relação aos frutos maduros inoculados e avaliados na planta (Figura 10), a média observada para AACPD (16,59) foi superior àquela observada para frutos imaturos inoculados na planta (13,01). Foi possível visualizar uma maior gradação em termos de resposta dos diferentes acessos quanto aos sintomas da doença nos frutos, podendo-se propor a seguinte classificação para os acessos: resistentes (oito acessos – UENF 1554, UENF 1703, UENF 1706, UENF 1718, UENF 1732, UENF 1751, UENF 1765 e UENF 1797); moderadamente resistentes (sete acessos – UENF 1624, UENF 1737, UENF 1635, UENF 1714, UENF 1780, UENF 1770 e UENF 1623); resistência intermediária (quatro acessos – UENF 1490, UENF 1772, UENF 1717 e UENF 1792); suscetíveis (dezesseis acessos) e altamente suscetíveis (dois acessos – UENF 1800 e UENF 1750). A maior média de AACPD (19,97) foi observada para os frutos maduros destacados da planta e avaliada no laboratório. Apenas seis acessos tiveram média de AACPD abaixo de 10,00 (Figura 11).

Segundo Than et al. (2008), a antracnose é uma doença relacionada à maturidade dos frutos, causando severas perdas pela podridão na pré e na pós colheita dos frutos.

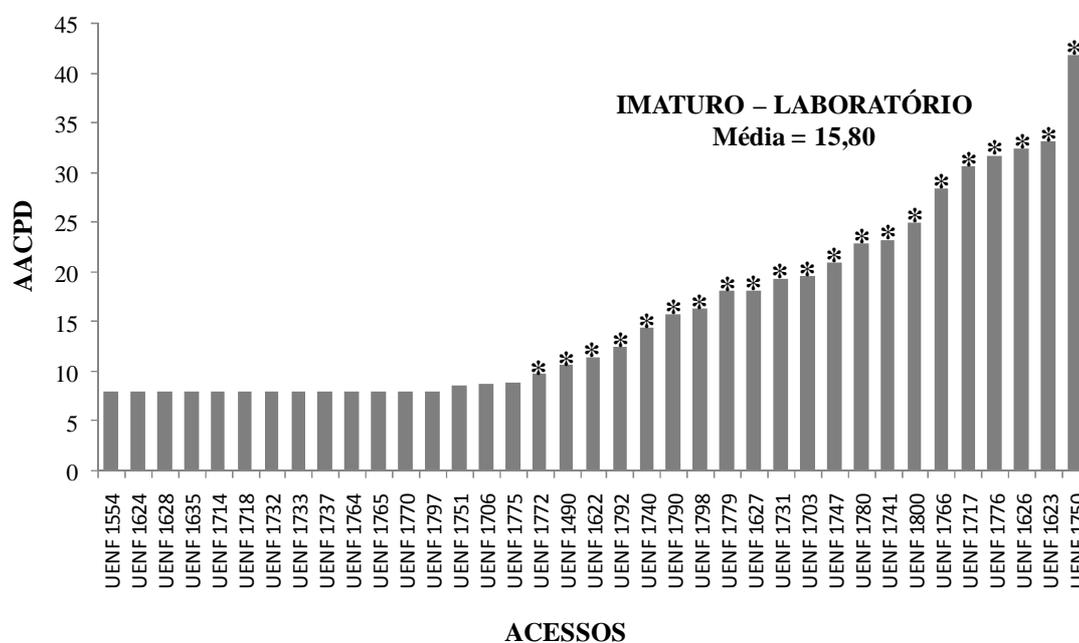


Figura 9: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos imaturos destacados da planta e avaliados no laboratório de 37 acessos de *Capsicum* spp inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*. (\*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).

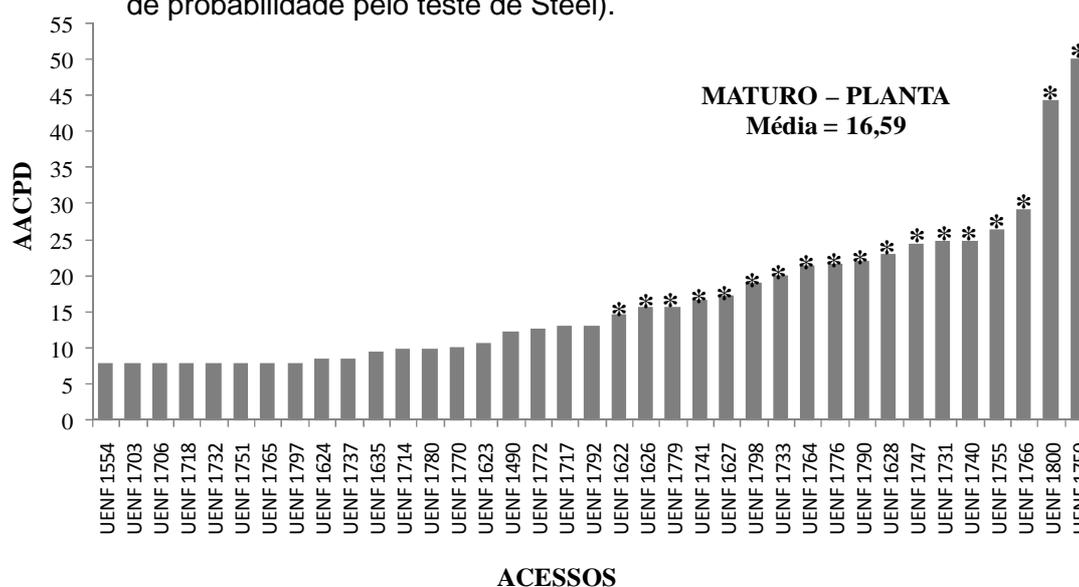


Figura 10: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos maduros inoculados na planta de 37 acessos de *Capsicum* spp inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*. (\*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).

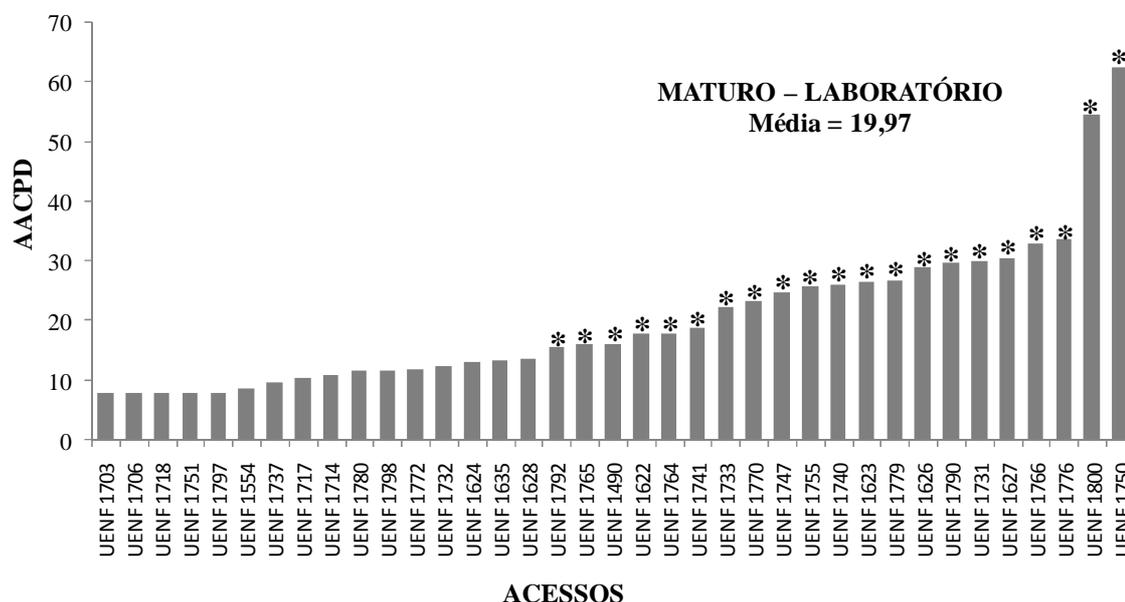


Figura 11: Média de valores observados para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos maduros destacados da planta e avaliados no laboratório de 37 acessos de *Capsicum* spp inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*. (\*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Steel).

Os acessos que tiveram altos valores de AACPD em todos os estádios e locais de inoculação e, portanto, mostraram-se suscetíveis à antracnose foram: UENF 1800 (*Capsicum frutescens*), UENF 1627 (*C. annum*), UENF 1792 (*C. chinense*), UENF 1741 (*C. annum*), UENF 1623 (*C. annum*), UENF 1622 (*C. annum*), UENF 1750 (*C. annum* var. *glabriusculum*). No acesso UENF 1750, a observação dos primeiros sintomas se deu 48 horas após a inoculação, e, em todas as análises, esse acesso obteve valores altos de AACPD, sendo considerado altamente suscetível à antracnose. Os valores de AACPD para os demais acessos variaram quanto ao estádio, local de inoculação e período de incubação. Os acessos UENF 1733 (*C. baccatum* var. *pendulum*), UENF 1764 (*C. chinense*), UENF 1776 (*C. frutescens*), UENF 1790 (*C. frutescens*), UENF 1731 (*C. frutescens*), UENF 1740 (*C. annum*) e UENF 1766 (*C. frutescens*) tiveram resultados contrastantes para avaliação dos frutos em diferentes estádios, demonstrando resistência em frutos imaturos, porém, suscetibilidade em estágio maduro.

Acessos que tiveram respostas tardias em relação ao período de incubação e valores intermediários de ACCPD, como UENF 1751 (*C. chinense*), foram considerados moderadamente resistentes em frutos imaturos. No caso desse acesso, essa classificação se aplica tanto para os frutos avaliados na casa de vegetação quanto no laboratório. Frutos maduros dos acessos UENF 1624 (*C. baccatum*), UENF 1737 (*C. baccatum*), UENF 1635 (*C. baccatum*), UENF 1714 (*C. baccatum* var. *pendulum*), UENF 1780 (*C. chinense*), UENF 1772 (*C. chinense*), UENF 1717 (*C. annuum* var. *annuum*) e UENF 1792 (*C. chinense*), tanto inseridos na planta quanto destacados e avaliados no laboratório, tiveram valores intermediários de AACPD, sendo, por essa razão, considerados moderadamente resistentes.

Os acessos UENF 1797 e UENF 1718, ambos representantes de *C. baccatum* var. *pendulum*, não tiveram sintomas em nenhum dos quatro diferentes ambientes e estádios, no decorrer do período de avaliação do experimento, mantendo valores mínimos de AACPD (8,00), sendo, assim, considerados resistentes à antracnose. Resistência à antracnose em acessos de *C. baccatum* já foram reportadas por Yoon et al. (2006) e Than et al. (2008). Os acessos, previamente identificados como resistentes ao vírus do mosaico amarelo (Bento et al., 2009), UENF 1624 (*C. baccatum*), UENF 1732 (*C. baccatum*) e UENF 1751 (*C. chinense*), foram classificados entre moderadamente resistente e resistente à antracnose, variando de acordo com o estágio do fruto inoculado. Esses dados serão importantes no desenvolvimento de cultivares de *Capsicum* resistentes a mais de uma patologia.

## 5. RESUMO E CONCLUSÃO

Entre as doenças fúngicas que ocorrem na cultura de pimentão, a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, é uma das mais importantes, pois o controle químico é ineficiente e o uso de agrotóxicos de forma inadequada resulta em contaminações nos frutos. Foi investigada a reação de 37 acessos de *Capsicum* spp. da coleção de germoplasma da UENF em relação à *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) em diferentes órgãos da planta (folha jovem, fruto imaturo e fruto maduro). O trabalho foi conduzido em três etapas para avaliação da resistência em folhas (primeira etapa), em frutos na planta (segunda etapa) e em frutos destacados (terceira etapa). A primeira etapa foi conduzida em câmara de crescimento com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados, localizada no térreo do P4/CCTA. As plantas foram mantidas a uma temperatura de  $27 \pm 2$  °C, fotoperíodo de 16h luz/8h de escuro e umidade relativa de 80%. Na câmara de crescimento, o experimento foi conduzido em blocos ao acaso, com cinco repetições e uma planta por parcela. Aos 35 dias após o transplante, três folhas por planta foram inoculadas e, posteriormente, avaliadas a cada 24 horas, durante sete dias, utilizando-se escala de notas. Após essa etapa, todas as plantas foram transferidas para vasos com capacidade para 5 L e cultivadas na casa de vegetação para avaliação da resistência em frutos. Na casa de vegetação, as plantas foram conduzidas, seguindo-se os tratamentos culturais recomendados para a cultura e dispostas em delineamento em blocos ao acaso com cinco repetições. Na fase de florescimento, os botões florais foram identificados com etiquetas,

ainda na antese, sendo inoculados três frutos por planta. Na terceira etapa, frutos oriundos de todas as plantas produzidas na casa de vegetação (também etiquetados) foram colhidos, levados ao laboratório, desinfestados em solução de 1% de NaOCl, lavados, triplamente, em água deionizada estéril e inoculados com suspensão de  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL e mantidos à temperatura de, aproximadamente, 28 °C. Nessa etapa, foram avaliados frutos imaturos na planta (FIP); frutos imaturos destacados da planta e levados ao laboratório (FIL); frutos maduros na planta (FMP); e frutos maduros destacados da planta e levados ao laboratório (FML). As inoculações foram feitas nas folhas e nos frutos. Em ambos os casos, os procedimentos de preparo de inóculo para inoculação foram os mesmos. As suspensões de esporos foram ajustadas para  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL. Nas folhas, foi realizada a quebra da tensão superficial das folhas com álcool 70% e, em seguida, estas foram lavadas, por três vezes, com água destilada. A inoculação foi realizada em três folhas por plântula, sendo que, em cada folha, foram inseridas quatro gotas com 5 µL de suspensão. A inoculação nas plântulas ocorreu a partir da formação de três pares de folhas definitivas e expandidas. Os frutos foram inoculados em estádios diferentes: frutos imaturos e maduros foram colhidos, respectivamente, aos 35 e 45 dias após o florescimento. Esses frutos foram esterilizados com 1% (volume/água) de hipoclorito de sódio, depois lavados, por três vezes, em água destilada. A inoculação foi realizada com auxílio de micropipetas de 20 µL, no pericarpo, na parte central do fruto. A avaliação foi feita a cada 24 horas após a inoculação, verificando-se o período de incubação. Entre o 3º e o 7º dias após a inoculação (DAI), foram avaliados os sintomas nos frutos e folhas pela escala de descrição dos sintomas. Os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi determinada a correlação de Spearman entre os valores obtidos para AACPD e as notas atribuídas às partes inoculadas dos frutos. As médias foram classificadas pelo teste de Steel. Todas as análises foram efetuadas com o auxílio do Programa R.

Não foram observados sintomas decorrentes das inoculações feitas nas folhas das plantas. Os resultados observados para período de incubação variaram entre os acessos. O período de incubação foi influenciado tanto pelo estágio de desenvolvimento do fruto quanto pelas condições de avaliação (na planta ou no laboratório). Houve diferença altamente significativa para valores de AACPD e para as notas atribuídas aos sintomas para os frutos imaturos avaliados na planta

e no laboratório e, também, para frutos maduros avaliados na planta e no laboratório. Isso indica que há variação entre valores de AACPD e notas entre os estádios de avaliação dos frutos (imaturo e maduro) e no ambiente de teste (fruto na planta em casa de vegetação ou fruto destacado da planta e inoculado no laboratório), indicando que é possível selecionar acessos resistentes em diferentes condições de inoculação

Os acessos UENF 1797(*C. baccatum* var. *pendulum*) e UENF 1718 (*C. baccatum* var. *pendulum*) não expressaram sintomas de antracnose nos frutos imaturos e maduros, inoculados na planta e no laboratório e foram considerados resistentes à doença.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. N. (2005) *Plant Pathology*, Academic Press, 5ª Ed., 635p.

Albuquerque, L. B.; Velázquez, A.; Mayorga-Saucedo, R. (2006) Solanaceae composition, pollination and seed dispersal syndromes in Mexican Mountain Cloud Forest. *Acta Botanica Brasilica*; vol. 20, n. 3, 599-613 p.

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*, n.30, 333-342 p.

Amorim L. (1995) Colonização e reprodução. in: Bergamini Filho A; Kimati H ; Amorim L (eds). *Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos*. 3. ed São Paulo: Editora Agronômica Ceres, V. 2, p. 308-309.

Amorim L.; Bergamin Filho, A. (2006) Conceitos básicos de manejo de doenças quiescentes em frutas, *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, Recife, vol. 3, 119-138 p.

Aparecido, C. C.; Huang, C. T. M.; Passador, M. M.; Finatti, D. e Figueiredo, M. B. (2007) Avaliação da viabilidade de culturas fúngicas preservadas pelos

Métodos de Castellani (Água destilada) e liofilização. *Biológico*, São Paulo, vol.69, n.1, jan./jun.; 5-8 p.

Araujo, L. ; Valdebenito-Sanhueza, R.M. ; Stadnik, M.I.J. (2007). Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides in vitro* e no controle pós-infeccional da mancha foliar de *Glomerella* em macieira. *Tropical plant pathology*. vol.35, n.1, 54-59 p.

Associação Brasileira de Comércio de Mudas e Sementes (2010). Investimento na produção de pimentão garante vendas. <<http://www.abcsem.com.br/noticia.php?cod=389>>. Consulta em 03/02/2011.

Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudas (2010). Pimentões vendidos pelo Ceasa SC são reprovados em análise com agrotóxicos. <<http://www.abcsem.com.br/noticia.php?cod=1988>>. Consulta em 03/02/2011.

Barbosa, R. I.; Luz, F. J. F.; Nascimento Filho, H. R. e Maduro, C. B. (2002) Pimenta do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia Brasileira. I. espécies domesticadas. *Acta Amazonica*; vol. 32, n.2. 177-192 p.

Bento, C. S.; Rodrigues, R.; Riva, E. M.; Pereira, M. G. (2007) Descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas. *Scientia Agraria (UFPR)*, vol. 8, 147-154 p.

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

Bianchetti, L. B. (2006) Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrente no Brasil. Tese (Mestrado em Botânica) - Curso de Pós-graduação em Botânica, Universidade de Brasília. 174 p.

- Carvalho, S. I. C.; Bianchetti, L.B. Sistema de produção de pimentas (*Capsicum* spp.): Botânica, Embrapa Hortaliças, Sistemas de produção, 2 ISSN 1678-880x Versão Eletrônica Novembro/2007. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta\\_capsicum\\_spp/botanica.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/botanica.html) >. Consulta em 09 de fevereiro de 2011 .
- Carvalho, S. I. C.; Bianchetti, L. B. - Sistema de produção de pimentas (*Capsicum* spp). Consumo: Embrapa Hortaliças, Sistemas de produção, 2 ISSN 1678-880x Versão Eletrônica Novembro/2007. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta\\_capsicum\\_spp/consumo.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/consumo.html) >. Consulta em 09 de fevereiro de 2011.
- Carvalho, S. I. C. - Bianchetti, L.B - Sistema de produção de pimentas (*Capsicum* spp.): Doenças, Embrapa Hortaliças, Sistemas de produção, 2 ISSN1678-880x - Versão Eletrônica, Novembro/2007. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta\\_capsicum\\_spp/doencas.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/doencas.html) >. Consulta em 09 de fevereiro de 2011.
- Carvalho, D.; Carvalho, M. G. G. E; Machado, J. C. (1997) Uso de isoenzima para diferenciação de *Colletotrichum gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* isolados de sementes de algodão. Revista Brasileira de Sementes, vol. 19, n. 2, 315-319 p.
- Cavalcanti, F. R.; Resende, M. L. V.; Zacaroni, A. B.; Ribeiro Júnior, P. M.; Costa, J. C. B.; Souza. R. M. (2006) Acibenzolar-S-metil e Ecolife na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). Fitopatologia Brasileira, n.31, 372-380 p.
- Clement, C. R.; Cristo-Araújo, M.; D'eeckenbrugge, G. C.; Pereira; A. A. e Picanço-Rodrigues; D. (2010) Origin and Domestication of Native Amazonian Crops. Diversity; n. 2 72-106 p.
- Costa L. V.; Lopes M. T. G.; Lopes R., Alves S. R. M. (2008) Polinização e fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq. Acta Amazonica;vol. 38(2) 361 – 364 p.

- Costa, R. A.; Rodrigues, R.; Sudré, C. P. (2002) Resistência genética à mancha bacteriana em genótipos de pimentão. *Horticultura Brasileira*; vol. 20, n. 1, 86-89 p.
- Díaz, J; Silvar, C.; Varela, M.M.; Bernal, A ; Merino, F. (2005) *Fusarium* confers protection against several mycelia pathogens of pepper plants *Plant Pathology*, 54, 773–780 p.
- Diz, M. S. S.; Carvalho, A.O. ; Rodrigues, R., Neves-Ferreira, Cunha M.; Alves, E. W; Okorokova-Façanha, A. L.; Oliveira, M. A.; Perales, J.; Machado, O. L. T. e Gomes, V.M. (2006) Antimicrobial peptides from chilli pepper seeds causes yeast plasma membrane permeabilization and inhibits the acidification of the medium by yeast cells. *BBA* , vol. 1760, Issue 9, 1323-1332 p.
- Do, H. M.; Hong, J. K. Jung, H. W.; Kim, S. H.; Ham, J. H. e Hwang, B. K. (2003) Expression of peroxidase-like genes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, and peroxidase activity during the hypersensitive response to *xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in *Capsicum annuum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. Vol. 16; n. 3; 196–205 p.
- .
- Dodd, R. S. Hüberli, D., Mayer, W. Harnik, T. Y., Afzal-Rafii, Z. e Garbelotto, M. (2008) Evidence for the role of synchronicity between host phenology and pathogen activity in the distribution of sudden oak death canker disease. *New Phytologist* , n. 179, 505–514 p.
- Faostat, 2010: Agricultural production data. Available at: <<http://www.faostat.fao.org/>>. Acesso em 14/05/2012.
- Fernandes, M. C. A. ; Santos, A. S. , Ribeiro, R. L. D. (2001) Sensibilidade ao fungicida Benomyl *in vitro* de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de pimentão, jiló e berinjela. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, vol.68, n.2, 89-95 p.

- Filgueira, F. A. R. (2005) Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças. 2.ed. Viçosa: UFV,
- Freeman, S.; Katan, T.; Shabi, E. (1998) Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. Plant Disease, vol. 82, n.6; 596-605 p.
- Frizzone, J. A.; Gonçalves, A. C. A.; Rezende, R. (2001) Produtividade do pimentão amarelo, *Capsicum annuum* L., cultivado em ambiente protegido, em função do potencial mátrico de água no solo. Acta Scientiarum, vol. 23, n. 5, 1111 – 1116 p.
- Furlan; C. R. C.; Dantas, A. C. M.; Denardi, F. Becker; W. F.; Mantovani; A. (2010) Resistência genética dos acessos do banco de germoplasma de macieira da epagri à mancha foliar de glomerella (*Colletotrichum gloeosporioides*). Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal - SP, Vol. 32, n. 2,507-514 p.
- Garrett, K. A.; Madden, L. V.; Hughes, G.; Pfender; W. F. (2004) New Applications of Statistical Tools in Plant Pathology. 4 The American Phytopathological Society, vol. 94, n. 9, 999-1003 p.
- Gomes, A. M. A.; Silveira, E. B.; Mariano, R. L. R. (2005) Tratamento pós-colheita com cálcio e microrganismos para controle da podridão-mole em tomate. Horticultura Brasileira, Brasília, vol.23, n.1, 108-111 p.
- Gomes-Pimentel, F.; (2009) Curso de Estatística Experimental. 15. ed. Piracicaba. FEALQ, 451p.
- Guerra, N. A. (2001) Estudios cromosômicos de cuatro selecciones de *Capsicum chinense* Jacq. Revista UDO Agrícola, v. 1; n. 1; 34-41 p.
- Halasi, T. J; Halasi, R.J.; Pajkert, A. A.; Dokic, L. R. S. (2008) Fungal diseases of some vegetables grown in greenhouse and garden. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke / Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad 114, 123—134 p.

- Hanif, R.; Iqbal, Z.; Iqbal, M.; Hanif, S.; Rasheed, M. (2006) Use of vegetables as nutritional food: role in human health. *Journal of Agricultural and Biological Science*, vol.1, n.1, 18-22p.
- Ince, A. G.; Karaca, M; Onus, A. N. (2010) Genetic relationships within and between *Capsicum* species. *Biochem. Genet.* Vol. 48; 83–95 p.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011): <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/horti/default.asp?t=2&z=t&o=19&u1=1&u2=1&u3=1>>. Página consultada em 04/02/2011.
- Jeger, M. J.; Viljanen-Rollinson, S. L. H. (2001) The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 102; 32–40 p.
- Kanchana-Udomkan, C.; Taylor, P. W. J. e Mongkolporn, O. (2004) Development of a Bioassay to Study Anthracnose Infection of *Capsicum chinense* Jacq. Fruit Caused by *Colletotrichum capsici*. *Thai Journal of Agricultural Science*; Vol. 37; n.4; 293 – 297 p.
- Kim, S. H.; Yoon, J. B.; Do, J. B e Park, H. G. (2007) Resistance to Anthracnose Caused by *Colletotrichum acutatum* in Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) *J. Crop Sci. Biotech.* Vol.10; n. 4, 277 – 280 p.
- Lira, S. A. & Chaves Neto, A. (2006) Coeficientes de correlação para variáveis ordinais e dicotômicas derivados do coeficiente linear de Pearson *RECIE*, Vol. 15, n. 1/2, p. 45-53 p.
- Lopes, C. A.; De Ávila, A.C. (2003) Doenças do pimentão: diagnose e controle. Brasília: Embrapa Hortaliças; 96p.
- Mahasuk, P.; Khumpeng, N.; Wasee, S.; Taylor, P. W. J.; Mongkolporn, O. (2009) Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum capsici*) at seedling

and fruiting stages in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Breeding*, Vol.128, 701—706 p.

Mahasuk, P.; Taylor, P. W. J. e O. Mongkolporn, O. (2009) Identification of Two New Genes Conferring Resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Capsicum baccatum*. *Phytopathology* n.99,1100-1104 p.

Manandhar, J. B., Hartman, G. L., Wang, T. C., (1995). Anthracnose development on pepper fruits inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease*, n. 79: 380-383 p.

Marques Júnior, O. G.; Ramalho, M. A. P.; Ferreira, D. F.; Santos, J. B. (1997). Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ceres*, v.44, p.411-420,.

Michereff, S.; Barros, R. (ed.) (2001) Proteção de plantas na agricultura sustentável. UFRPE, Imprensa Universitária, 368 p.

Montri, P.; Taylor, P.W.J.; Mongkolporn, O (2009). Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the Causal Agent of Chili Anthracnose, in Thailand. *Plant Disease*, n. 93, 17-20 p.

Mongkolporn, O; Taylor, P.W.J (2011) *Capsicum*. In Kole C. (Ed.) *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resouces, Vegetables*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 43-57.

Moscone, E.A.; Scaldaferrro, M.A.; Grabiele, M.; Cecchini, N.M.; Garcia, 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*, n. 745, 137- 169 p.

Moura, M. C. C. L.; Pereira, T. N. S.; Sudré, C. P.; Araújo, J. R. G.; Gonçalves, L. S. A.; Rodrigues, R.; Poltronieri, M. (2009) Pimentas (*Capsicum* sp.)

Diversidade genética e potencial de uso, no Maranhão. 1.ed. São Luís. CCA/UEMA, 37p.

O Globo. Pimentão, uva e pepino estão entre os alimentos com mais agrotóxico.<<http://oglobo.globo.com/vivermelhor/mat/2010/06/23/pimentao-uva-pepino-estao-entre-os-alimentos-com-mais-agrotoxicos-916959325.asp>>. 3 Publicada em 23/06/2010.

OECD - Organization for Economic Co-operation and Development (2006) Consensus Document on the Biology of the *Capsicum annuum* Complex (Chili peppers, Hot peppers and Sweet peppers). Paris, 48 p.

Oliveira, J. T. A. Mecanismos de defesa do feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] CONTRA PATÓGENOS. Disponível: <http://www.cpamn.embrapa.br/anaisconac2006/Palestras/PalestraJTAOLIVEIRA.pdf> >. Acesso em 30/10/2010.

Pakdeeveraporn P., Wasee, S., Taylor, P.W.J., Mongkolporn, O. (2005) Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. *Plant Breeding*; n. 124, n.2, 206-208 p.

Pereira, M. J. Z. (2005) Reação de acessos de *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp. agente causal da antracnose das solanáceas. Tese (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, 88 p.

Plantegenest, M. , Le May, C.; Fabre, F. (2007) Landscape epidemiology of plant diseases. *Journal of The Royal society Interface*, 963–972 p.

Pozzobon; M. T.; Schifino-Wittmann; M. T.; Bianchetti, L. B. (2006) Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species: do  $x = 12$  and  $x = 13$  represent two evolutionary lines? *Botanical Journal of the Linnean Society*, vol. 151, Issue 2, 259–269 p.

- R Development Core Team. (2006) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Rêgo, E. R.; Finger, F. L.; Rêgo, M. M. (2009) Produção, genética e melhoramento de pimentas (*Capsicum* spp.) Ed. UFV, p.223
- Reis, A.; Boiteux, L. S.; Henz, G. P. (2009) Antracnose em Hortaliças da Família Solanaceae. Embrapa Hortaliças, Circular Técnica (79), 9p.
- Ribeiro do Vale, F. X. , Parlevliet, J. E. ; Zambolim, L. (2001) Concepts in plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira* 26: 577-589 p .
- Riquelme, G. O. L. (2003) Chilli: La especia Del Nuevo Mundo. *Ciencias* nº 69, Janeiro/Março, 10 p.
- Sudré, C. P.; Gonçalves, L. S. A.; Rodrigues, R.; Amaral Júnior, A. T.; Riva-Souza; E. M.; Bento, C. S. (2001) Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and Molecular Research*, vol. 9; n.1, 283-294 p.
- Sudré, C. P.; Rodrigues, R.; Riva, E. M.; Karasawa, M.; Amaral Júnior, A. T. (2005) Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, vol.23, n.1, 22-27 p.
- Temiyakul, P.; Taylor, P. W. J.; Mongkolporn, O. (2009) Development of a Double-inoculation Method to Assess Resistance to Anthracnose in Trispecies *Capsicum* Hybrid. *Journal of Phytopathology*, doi: 10.1111/j.1439-0434.2009.01667.x, 5p
- Than, P. P.; Jeewon, R.; Hyde, K. D.; Pongsupasamit, S.; Mongkolporn, O.; e Taylor, P. W. J. (2008) Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli ( *Capsicum* spp.) in Thailand *Plant Pathology*; n..57 ; 562–572 p.

- Than, P. P.; Prihastuti, H.; Phoulivong, S.; Taylor, P. W. J.; Hyde, K. D. (2008) Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. Journal of Zhejiang University SCIENCE B; vol. 9; n.10, 764-778 p.
- Tozze Júnior, H. J., Mello, M. B. A.; Massola Júnior, N. S. (2006) Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. Summa Phytopathologica, vol. 32, n. 1, 71-79 p.
- Truta, A. A. C., Souza, A. R. R., Nascimento, A. V. S., Pereira, R. C., Pinto, C. M. F.; Rommonschenkel, S. H.; Carvalho, M. G.; Zerbini, F. M. (2004) Identidade e propriedades de isolados de potyvírus provenientes de *Capsicum* spp. Fitopatologia Brasileira, n. 29: 160-168 p.
- Vasconcelos; E. S; Reis, M. S.; Sedyiama; T.; Cruz; C. D. (2008) Análise não-paramétrica da sanidade de sementes e índices de eliminação e classificação de genótipos de soja Pesq. agropec. bras., Brasília, Vol.43, n.3, 341-348 p.
- Yoon, J. B.; Yang, D. C.; Do, J. W.; Park, H.G. (2006) Overcoming Two Post-fertilização Genetic Barriers in Interspecific Hybridization between *Capsicum annum* and *C. baccatum* for Introgression of Anthracnose. Breeding Science n.56, 31-36 p.

## APÊNDICE

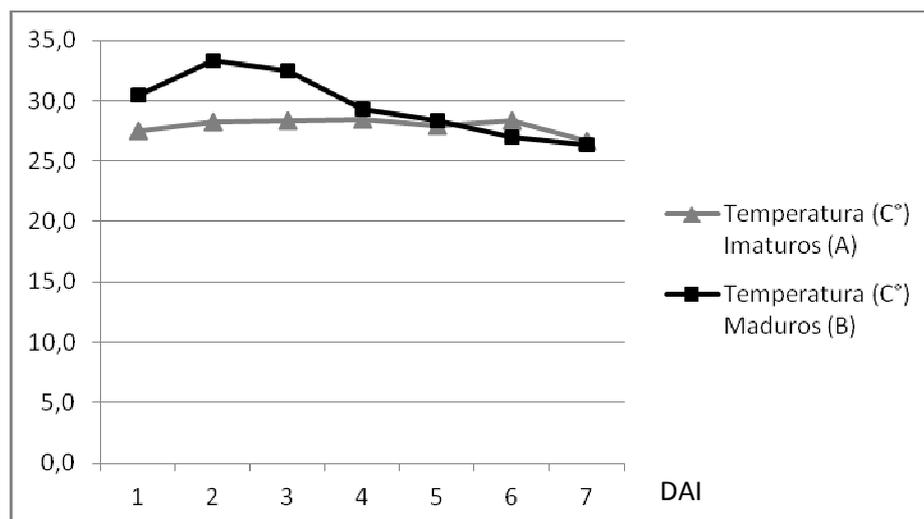


Figura 12: Temperatura média observada em casa de vegetação durante a condução do experimento de avaliação da resistência à antracnose em acessos de *Capsicum* spp. (A) Umidade relativa durante inoculação e avaliação dos frutos no estágio imaturo; (B) durante o estágio maduro.

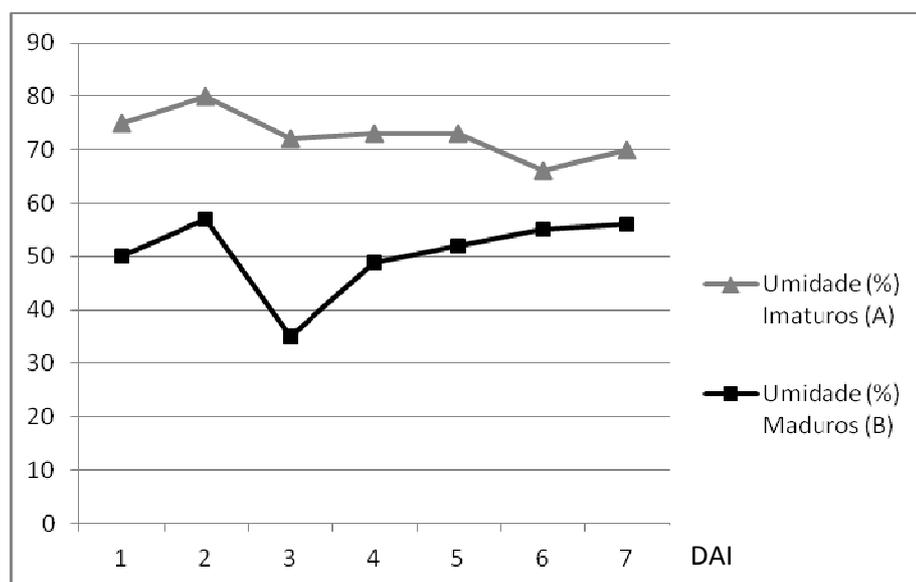


Figura 13: Umidade relativa do ar média observada em casa de vegetação, durante a condução do experimento de avaliação da resistência à antracnose em acessos de *Capsicum* spp (A) Umidade relativa durante inoculação e avaliação dos frutos no estágio imaturo; (B) durante o estágio maduro.