

MÉTODOS DE FENOTIPAGEM EM FRUTOS DE *Capsicum* spp.:
TERMOGRAFIA E VALIDAÇÃO DA ESCALA DE SEVERIDADE
PARA INOCULAÇÃO DE *Colletotrichum* VIA ASPERSÃO

ANDERSON YUSEI SUZUKI FUKUJI

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JUNHO – 2022

MÉTODOS DE FENOTIPAGEM EM FRUTOS DE *Capsicum* spp.:
TERMOGRAFIA E VALIDAÇÃO DA ESCALA DE SEVERIDADE
PARA INOCULAÇÃO DE *Colletotrichum* VIA ASPERSÃO

ANDERSON YUSEI SUZUKI FUKUJI

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

Orientadora: Prof^a Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JUNHO – 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

F961

Fukuji, Anderson Yusei Suzuki.

Métodos de fenotipagem em frutos de *Capsicum* spp. : termografia e validação da escala de severidade para inoculação de *Colletotrichum* via aspersão / Anderson Yusei Suzuki Fukuji. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

74 f. : il.

Bibliografia: 49 - 57.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2022.
Orientadora: Rosana Rodrigues.

1. Pimentão. 2. Pimenta. 3. Antracnose. 4. Resistência a doenças. 5. Imagens Termais. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

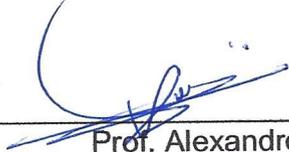
MÉTODOS DE FENOTIPAGEM EM FRUTOS DE *Capsicum* spp.:
TERMOGRAFIA E VALIDAÇÃO DA ESCALA DE SEVERIDADE
PARA INOCULAÇÃO DE *Colletotrichum* VIA ASPERSÃO

ANDERSON YUSEI SUZUKI FUKUJI

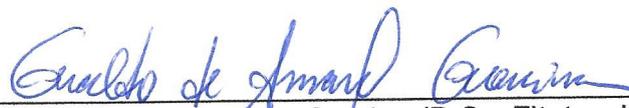
“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Genética e Melhoramento de
Plantas.”

Aprovada em 01 de junho de 2022.

Comissão Examinadora:



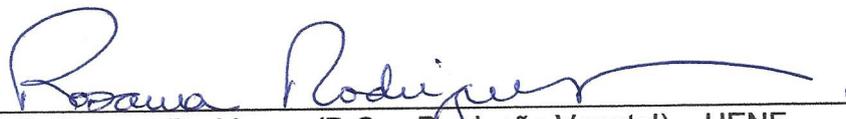
Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF



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



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



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

DEDICATÓRIA

A minha esposa Karina Kazue Nakamura Fukuji

AGRADECIMENTOS

À UENF e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos.

À Karina Kazue Nakamura Fukuji, esposa que sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis desta jornada. Sem você não teria forças para finalizá-lo. Agradeço por fazer parte da minha vida, ser minha companheira e tornar todos meus dias melhores pela sua presença. Meu grande Amor!

Agradeço à minha orientadora Rosana Rodrigues, uma mulher forte e inteligente, que nos momentos mais turbulentos da minha vida me manteve sereno e acreditou no meu potencial. Seus ensinamentos e conselhos tanto profissionais quanto pessoais me tornaram um profissional e uma pessoa ainda melhor. Gostaria de agradecê-la pela oportunidade de desenvolver este projeto, durante o qual fui guiado com tanta maestria.

Ao Leandro Simões Azeredo Gonçalves, excelente professor, que sempre esteve pronto para me ajudar, discutir e apoiar. As conversas e gargalhadas nos momentos de descontração me ajudaram a me sentir confortável.

Ao professor Geraldo de Amaral Gravina, agradeço imensamente por ter depositado sua confiança concedendo a oportunidade de ministrar algumas aulas que me fizeram compreender que a melhor forma de aprender não é realizando disciplinas nem provas, mas sim ensinando. Serei eternamente grato por ter permitido essa experiência. Também sou grato por todos seus ensinamentos, apoio e amizade.

À Cláudia Pombo Sudré, uma pessoa de coração gentil e amável, que sempre esteve de prontidão para dar suporte quando precisava.

À Maria do Socorro Bezerra de Araújo, que fez parte primordial deste trabalho.

À professora Telma Nair Santana Pereira, uma pessoa amável, pela qual tenho muito respeito, carinho e admiração.

Ao professor Alexandre Pio Viana, pelos ensinamentos compartilhados e apoio.

Ao professor Messias Gonzaga Pereira, por compartilhar de sua sabedoria e apoio.

Ao secretário José Daniel Valle de Almeida, sou grato por suas contribuições, dedicação e exemplo de profissional a ser seguido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Doutorado. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

Aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas (LMGV) UENF: André, Claudia Lougon, Cleiton, Eduardo, Elizangela, Gaspar, Maria, Marlon, Paola, Rosimara, Sabrina e Thamara. O trabalho fica mais leve quando temos uma equipe tão competente ao nosso lado. Foi uma honra conhecê-los e agradecer muito por trabalhar com esta equipe.

Aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Ecofisiologia e Biotecnologia Agrícola (LEBA) UEL: Alison, Douglas, Leonel, Nicholas e Renato. Gostaria de agradecer o esforço e a amizade de cada um nesta jornada. Foi muito gratificante estar ao lado de vocês.

Obrigado à minha família, meu pai Yuei, minha mãe Marina e minha irmã Satie. Sou muito grato por terem me dado suporte durante este momento, a distância nos uniu ainda mais, e me fez ver o quanto sou querido e amado.

SUMÁRIO

RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo geral	4
2.2. Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. Origem, domesticação e aspectos botânicos do gênero <i>Capsicum</i> spp...5	
3.2. Importância econômica e nutricional	6
3.3. Doenças em <i>Capsicum</i>	7
3.4. Interação <i>Capsicum</i> – <i>Colletotrichum</i>	8
3.5. Termografia infravermelha.....	9
3.6. Termografia na detecção de doenças de plantas.....	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1. Material Vegetal.....	11
4.2. Preparo dos frutos	11
4.3. Isolado fúngico	12
4.4. Variáveis Analisadas	13
4.5. Escalas de severidade.....	13
4.6. Análises estatísticas	14
5. RESULTADOS	16
5.1. Escala de notas	16

5.2. Análises termográficas	22
6. DISCUSSÃO	43
6.1. Escala de notas	43
6.2. Análises termográficas	46
7. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Inoculação por aspersão em frutos maduros de *Capsicum* spp. na concentração de 1×10^6 conídios por ml.12
- Figura 2.** Frutos de *Capsicum* spp. Com sintomas de *Colletotrichum scovillei* inoculados por aspersão na concentração de 1×10^6 conídios por ml.16
- Figura 3.** Correlação de Spearman para nota no último dia, área abaixo da curva de progresso da doença, período de incubação e período latente em frutos imaturos e maduros estimados por duas escalas (Montri et al. (2009) e S) e quatro avaliadores (A = avaliador experiente; B, C, D = avaliadores menos experientes).19
- Figura 4.** Frutos do genótipo UENF 2285 (Suscetível) inoculados com o fungo *Colletotrichum scovillei*. A) imagem termal (pseudo-cores) do fruto imaturo. B) imagem RGB do fruto imaturo. C) imagem termal (pseudo-cores) do fruto maduro. D) imagem RGB do fruto maduro. UENF, Campos dos Goytacazes-RJ.24
- Figura 5.** Frutos do genótipo UENF 1381 (Resistente) inoculados com *Colletotrichum scovillei*. A) imagem termal (pseudo-cores) em frutos imaturos. B) imagem de reflexão (RGB) em frutos imaturos. C) imagem termal (pseudo-cores) em frutos maduros. D) imagem de reflexão em frutos maduros.25
- Figura 6.** Diferencial de temperatura média entre 10 genótipos de *Capsicum* spp. Inoculados com *Colletotrichum scovillei* em frutos imaturos.26

Figura 7. Diferencial de temperatura média entre 10 genótipos de <i>Capsicum</i> spp. Inoculados com <i>Colletotrichum scovillei</i> em frutos maduros.	27
Figura 8. Box-plot em frutos imaturos por diferencial de temperatura entre área sintomática e assintomática.	28
Figura 9. Box-plot em frutos maduros para o diferencial de temperatura entre área sintomática e assintomática.	29
Figura 10. Box-plot em frutos imaturos com base na temperatura da área sintomática e assintomática.	30
Figura 11. Box-plot em frutos maduros com base na temperatura da área sintomática e assintomática.	31
Figura 12. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 0 e 1 dia após a inoculação.	32
Figura 13. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 2 e 3 dias após a inoculação.	33
Figura 14. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 4 e 5 dias após a inoculação.	34
Figura 15. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 6 e 7 dias após a inoculação.	35
Figura 16. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para o 8 e 9 dias após a inoculação.	36
Figura 17. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 0 e 1 dias após a inoculação.	37
Figura 18. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 2 e 3 dias após a inoculação.	38
Figura 19. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 4 e 5 dias após a inoculação.	39

Figura 20. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 6 e 7 dias após a inoculação.40

Figura 21. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 8 e 9 dias após a inoculação.41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escala de notas para avaliação da severidade da antracnose em frutos de <i>Capsicum</i> spp. (Montri et al., 2009).....	14
Tabela 2. Escala de notas proposta (S) para avaliação da severidade da antracnose em frutos de <i>Capsicum</i> spp.....	14
Tabela 3. Anova para estatística não paramétrica (ATS) para efeito de avaliadores e escalas em frutos imaturos e maduros de <i>Capsicum</i> spp. em relação à reação à antracnose (<i>Colletotrichum scovillei</i>).....	17
Tabela 4. Confiabilidade e concordância entre o avaliador A (experiente) com os avaliadores B, C e D (menos experientes) estimados pelo kappa ponderado para nota no último dia, área abaixo da curva de progresso da doença, período de incubação, período latente em frutos imaturos usando a escala de Montri et. al., (2009) e escala S.....	20
Tabela 5. Confiabilidade e concordância entre o avaliador A (experiente) com os avaliadores B, C e D (menos experientes) estimados pelo kappa ponderado para nota no último dia, área abaixo da curva de progresso da doença, período de incubação, período latente em frutos maduros usando a escala de Montri et. al., (2009) e escala S.....	21

Tabela 6. Teste de Kruskal-Wallis em genótipos de <i>Capsicum</i> spp. inoculados com <i>Colletotrichum scovillei</i> para a variável diferencial de temperatura em frutos imaturos e maduros.....	22
---	----

RESUMO

FUKUJI, Anderson Yusei Suzuki, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Junho, 2022. Métodos de fenotipagem em frutos de *Capsicum* spp.: termografia e validação da escala de severidade para inoculação de *Colletotrichum* via aspersão. Orientadora: D.Sc. Rosana Rodrigues; Conselheiros: D.Sc. Alexandre Pio Viana, D.Sc. Valdirene Moreira Gomes e D.Sc. Vanildo Silveira.

A antracnose causada por *Colletotrichum* é uma das principais doenças fúngicas em plantas cultivadas. Em plantas do gênero *Capsicum* spp. uma das principais espécies é *Colletotrichum scovillei* que causa perdas tanto em pré como em pós-colheita. Diferentes escalas de severidade e métodos de inoculação são empregadas nos estudos relacionados à identificação de fontes de resistência e obtenção de cultivares resistentes à antracnose. Além disso, novas abordagens como as imagens térmicas que auxiliam os melhoristas na identificação e seleção dos melhores genótipos são fundamentais. Na primeira parte do trabalho, duas escalas de severidade foram comparadas, ambas com a participação de um avaliador experiente e três com pouca experiência no patossistema. Frutos de 11 genótipos foram utilizados em dois estádios de maturação para avaliar a severidade da antracnose, bem como a confiabilidade e concordância do desempenho do avaliador experiente com os menos experientes. As variáveis analisadas foram: nota no último dia de avaliação (Nota9), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), período de incubação (PI) e período latente (PL). Na segunda parte do trabalho 11 genótipos foram inoculados com *Colletotrichum scovillei* por

aspersão e foram fenotipados com auxílio de uma câmera termográfica, ao longo de nove dias, com base no diferencial entre a temperatura da área sintomática e assintomática. Para o primeiro experimento concluiu-se que ambas as escalas são adequadas para avaliar frutos imaturos e maduros inoculados com antracnose via aspersão. Para o segundo experimento verificou-se que a termografia é uma metodologia robusta para a avaliação de frutos inoculados com *Colletotrichum scovillei* via aspersão.

Palavras-chave: Pimentão; Pimenta; Antracnose; Resistência a doenças; Imagens Termais.

ABSTRACT

FUKUJI, Anderson Yusei Suzuki, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; June, 2022. Phenotyping methods in *Capsicum* spp. fruits: thermography and validation of the severity scale for inoculation of *Colletotrichum* via spray. Advisor: D.Sc. Rosana Rodrigues; Committee members: D.Sc. Alexandre Pio Viana, D.Sc. Valdirene Moreira Gomes and D.Sc. Vanildo Silveira.

Anthrachnose caused by *Colletotrichum* is one of the main fungal diseases in cultivated plants. In plants of the genus *Capsicum* spp. one of the main species is *Colletotrichum scovillei* that causes losses in both pre- and post-harvest. Different severity scales and inoculation methods are used in studies related to the identification of sources of resistance and obtaining cultivars resistant to anthracnose. In addition, new approaches such as thermal images that help breeders in the identification and selection of the best genotypes are essential. In the first chapter of the work, two severity scales were compared, both with the participation of an experienced evaluator and three with little experience in the pathosystem. Fruits of 11 genotypes were used in two stages of maturation to evaluate the severity of anthracnose as well as the reliability and agreement of the performance of the experienced evaluators with the less experienced ones. The variables analyzed were: score on the last assessment day (Score9), area under the disease progress curve (AACPD), incubation period (IP) and latent period (LP). In the second chapter, 11 genotypes were inoculated with *Colletotrichum scovillei* by spraying and were evaluated with the aid of a thermographic camera over 9 days

based on the differential between the temperature of the symptomatic and asymptomatic areas. For the first experiment, it was concluded that both scales are suitable for evaluating immature and mature fruits inoculated with anthracnose via spray. For the second experiment it was verified that thermography is a robust methodology for the evaluation of fruits inoculated with *Colletotrichum scovillei* by spraying.

Keywords: Sweet pepper; chili pepper; anthracnose; disease resistance; Thermal Images.

1. INTRODUÇÃO

A cultura dos pimentões sempre está entre os vegetais com maior concentração de resíduos de defensivos acima do limite máximo permitido, além de serem encontrados resíduos de defensivos não permitidos para o gênero *Capsicum* spp. (Machado; Santos, 2017; ANVISA, 2018).

A antracnose, causada por diversas espécies do fungo *Colletotrichum* spp., é considerada uma das principais doenças em diversas culturas de importância agrícola (Dean et al., 2012; Mongkolporn & Taylor, 2018). Em *Capsicum*, essa doença é considerada de etiologia complexa, causada por uma ampla gama de espécies, sendo descritas 24 espécies que infectam pimentas e pimentões (Mongkolporn e Taylor, 2018). Na América do Sul três espécies são consideradas mais destrutivas: *C. truncatum* (syn. *C. capsici*; (Damm et al., 2012), *C. siamense* e *C. scovillei* (Mongkolporn & Taylor, 2018). É uma doença altamente agressiva que deprecia o aspecto visual do fruto e pode causar perdas de até 100% em condições favoráveis do patógeno (Park et al., 2012).

A rotação de culturas com plantas não hospedeiras e os controles químicos e biológicos estão entre as principais medidas de controle da antracnose em *Capsicum* spp. (Ali et al., 2016; Saxena et al., 2016; Giacomini et al., 2020). No entanto, a melhor estratégia que promove maiores benefícios econômicos e sustentáveis é o uso de cultivares resistentes (Lamichhane et al., 2016).

Até o momento não há cultivares resistentes de pimentão (*Capsicum annuum*) a *Colletotrichum* sp.. Entretanto, o Programa de Melhoramento da

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro identificou um acesso resistente à antracnose, UENF 1381 (Bento et al., 2017). A partir desse resultado, diversos estudos vêm sendo realizados visando estimar a herança, identificar os genes e metabólitos envolvidos na resistência da antracnose, bem como na definição de cruzamentos e avanço de gerações para o desenvolvimento de cultivares resistentes (Bento et al., 2017; Alencar, 2018; Cardoso et al., 2018; Geronimo, 2018; Baba et al., 2020; Giacomini et al., 2020; De Almeida et al., 2020; Araújo, 2020).

A avaliação do grau de severidade em frutos imaturos e maduros em *Capsicum* é realizada por meio da escala de notas, em especial a proposta por Montri et al. (2009). Essa escala foi desenvolvida para ser utilizada quando as inoculações nos frutos são realizadas por microinjeções, e usa notas correspondendo aos valores zero (Altamente Resistente, Sem sintomas) até nove (Altamente Suscetível, >25% da área do fruto com lesão necrótica, lesão ao redor do fruto com a presença de acérvulos em abundância). No entanto, o uso dessa escala tem alto grau de subjetividade, principalmente pela dificuldade em se observar o período latente e a quantificação da severidade ser determinada pela proporção da área lesionada, que pode ser influenciada pela área total do fruto. Devido a essas dificuldades, Araújo et al. (2022) propuseram uma escala que se baseia no período latente, além de mensurar o grau de severidade em relação ao diâmetro da lesão em milímetros, e propor os escores de severidade igualmente espaçados, o que aumenta o poder dos testes e reduz o erro tipo I (Singer et al., 2004), além de ter mais chances de atender os pressupostos da análise de variância.

A utilização da inoculação por microinjeções tem como ponto negativo não levar em consideração os mecanismos de defesa constitutivos que são a primeira linha de defesa das plantas. No caso do *Colletotrichum*, o fungo inicia o processo de infecção quando libera o apressório para aderir ao tecido do hospedeiro (Menezes, 2013). Entretanto, o hospedeiro pode ter diferentes mecanismos de defesas constitutivas ou pré-formadas (Van Loon et al., 2006) que dificultam a penetração e conseqüentemente a infecção, e esses mecanismos são negligenciados quando se pratica a inoculação por microinjeção. Por sua vez, a inoculação via aspersão possibilita que os genótipos que possuam essas defesas

constitutivas possam expressar a resistência devido a esses fatores e demonstrem assim um menor grau de severidade ao patógeno.

A termografia infravermelha vem sendo utilizada em diversas áreas como na indústria bélica, saúde humana e animal, construção civil, processos industriais e elétricos (Gowen et al., 2010). É uma metodologia que visa identificar problemas ligados à temperatura de forma invisível ao olho humano.

No melhoramento de plantas é de suma importância desenvolver cultivares que sejam resistentes a fatores bióticos e abióticos no menor tempo possível, e os métodos tradicionais de avaliação de doenças são trabalhosos, demorados e cansativos. Grande parte do tempo gasto deve-se ao treinamento de pessoal capacitado na condução e avaliação do experimento. Inúmeras tecnologias vêm sendo empregadas para facilitar e detectar precocemente as doenças em plantas, dentre elas destaca-se as imagens termográficas que consistem em um método não destrutivo e não invasivo (Mahlein et al., 2016).

Com o uso de uma câmera termográfica é possível capturar as imagens térmicas (pseudo-cores) para ser utilizada no diagnóstico de estresses e na fenotipagem de inúmeras culturas (Mahlein et al., 2019). A mensuração é realizada observando a diferença de temperatura entre as áreas saudas e doentes baseado na temperatura do tecido vegetal, que está ligada ao teor de água dentro das células perdido pela transpiração ou por injúrias (Costa et al., 2013). Abordagens como a termografia que identificam a doença antes dos sintomas aparentes têm por consequência a redução do tempo gasto na avaliação além do menor uso de defensivos agrícolas devido a menor fonte de inóculo na lavoura, tornando a tomada de decisão mais rápida e precisa (Barón; Pineda e Pérez-Bueno, 2016). Inúmeros trabalhos verificaram a viabilidade do uso da termografia em diversos patossistemas e em tecidos vegetais como folha e frutos (Wang et al., 2012; Jafari et al., 2017; Zhu et al., 2018; Mahlein et al., 2019; Wen et al., 2019; Fukuji, 2020). No patossistema *Botrytis Cinerea-C. annuum* concluiu-se que a termografia identificou o aparecimento da doença antes dos sintomas visíveis (Andrade, 2020). Entretanto, para o patossistema *Capsicum-Colletotrichum* não foram encontradas na literatura resultados sobre a aplicação de imagens infravermelhas.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a eficiência e a confiabilidade das escalas de Montri et al. (2009) e Araújo et al. (2022) na avaliação de genótipos de *Capsicum* quando inoculados com *Colletotrichum scovillei* via aspersão, e a aplicação da termografia como ferramenta de fenotipagem no patossistema *Capsicum-Colletotrichum*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Comparar métodos de inoculação de *C. scovillei* quanto à eficiência e confiabilidade para analisar a reação de frutos de *Capsicum* spp. inoculados por aspersão, e verificar a eficiência das análises térmicas na fenotipagem de frutos de *Capsicum* spp inoculados por aspersão.

2.2. Objetivos específicos

Verificar a concordância e a confiabilidade entre as escalas de Montri et al., (2009) e Araújo et al., (2022) e entre avaliadores na avaliação de genótipos de *Capsicum* quando inoculados com *Colletotrichum scovillei* via aspersão.

Verificar a eficiência da termografia na fenotipagem da antracnose em genótipos de *Capsicum* spp.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Origem, domesticação e aspectos botânicos do gênero *Capsicum* spp.

As pimentas são pertencentes à família Solanaceae, gênero *Capsicum* (Eshbaugh, 1980), tendo a sua origem na América Central e América do Sul (Kraft et al., 2014). As pimenteiras estão entre as primeiras espécies a serem domesticadas, cultivadas e utilizadas na culinária dos povos nativos da América (Menichini et al., 2009). Registros arqueológicos comprovam esta teoria. Em Tehuacán, no México, foram encontrados fragmentos de frutos que datam de 9000 a.C. referente ao consumo do gênero *Capsicum* (Rufino e Penteado, 2006).

Ao longo da evolução do gênero *Capsicum*, seleções tanto naturais como conduzidas pelo homem, além das várias recombinações genéticas e mutações, refletem a atual diversidade dos mais variados formatos, tamanhos, cores, sabores, aromas, pungências e composição nutricional dos frutos. Existe uma diversidade de locais onde as plantas são cultivadas e de etnias que cultivam este gênero, cujos frutos podem ser consumidos *in natura* ou como condimento, fornecendo uma experiência única de pungência, aroma e cor na culinária (Bosland et al., 2015; Ali et al., 2016).

Os centros de distribuição do gênero são descritos por Moscone et al. (2007) como: 1) Sul dos Estados Unidos da América e México até o oeste da América do Sul; 2) Nordeste do Brasil e a costa da Venezuela; 3) Costa leste do Brasil e 4) Centro da Bolívia, Norte do Paraguai e Centro da Argentina.

O gênero *Capsicum* é composto por uma grande variabilidade sendo que no site “The Plant List” em 2019 estão descritas 197 espécies, porém apenas 40 são classificadas como aceitas. Segundo Carvalho e Bianchetti (2008), esse gênero pode ser separado em três categorias de acordo com a domesticação (domesticadas, semidomesticadas e silvestres):

- 1) Domesticadas: *C. annuum* var. *annuum* L., *C. baccatum* var. *pendulum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. e *C. pubescens* Ruiz et Pavon;
- 2) Semi-domesticadas: *C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. baccatum* var. *baccatum*, *C. baccatum* var. *praetermissum*, *C. cardenasii*, *C. eximium*, *C. tovarii*, *C. chacoense* e *C. galapagoense*;
- 3) Silvestres: *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. chacoense* var. *tomentosum*, *C. ciliatum*, *C. coccineum*, *C. cornutum*, *C. dimorphum*, *C. dusenni*, *C. flexuosum*, *C. geminifolium*, *C. hookerianum*, *C. lanceotatum*, *C. minutiflorum*, *C. mirabile*, *C. parvifolium*, *C. schottianum*, *C. scolnikianum* e *C. villosum*.

Segundo Justino et al. (2018) a espécie *C. annuum* é preferencialmente autógama facultativa, sendo encontrada uma taxa de fecundação cruzada de 1,2% a 10,8%. As espécies do gênero são diploides e apresentam o número básico de cromossomos de 12 ou 13: as espécies domesticadas possuem o mesmo número de cromossomos, $2n=2x=24$, mas algumas espécies silvestres possuem $2n=2x=26$ (Moscone et al., 2007). Em relação ao ciclo, a cultura pode ser anual, bianual e perene (IPGRI, 1995).

Para distinguir entre as várias espécies e variedades de *Capsicum* se faz necessário averiguar as características morfológicas dos frutos, folhas e principalmente as flores (Dias et al., 2013). As espécies são diferenciadas principalmente pela flor, como por meio da cor da corola e antera, pois *C. baccatum* apresenta corola branca com manchas amarelas e anteras amarelas, enquanto *C. pubescens* tem corola e anteras púrpuras; presença de constrição anelar do cálice que diferencia *C. frutescens* e *C. chinense* e número de flores por nó que diferencia variedades botânicas de *C. baccatum* (Eshbaugh, 1976).

3.2. Importância econômica e nutricional

Segundo dados da FAOSTAT em 2016 a produtividade total mundial foi de 38,5 milhões de toneladas de pimentas e pimentões. O continente asiático é o maior

produtor mundial, seguido pela América e Europa. No Brasil, o cultivo de *Capsicum* spp. gera em torno de 400 milhões de reais com uma produção de 250 mil toneladas anuais (IBGE, 2017). Segundo dados do IBGE (2017), de outubro de 2016 a setembro de 2017 os principais estados produtores de pimenta e pimentão foram Bahia, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Ceará. Entretanto, o seu cultivo ocorre em todas as regiões brasileiras voltadas para uma agricultura familiar.

Uma das características mais marcantes do gênero *Capsicum* é a pungência, isso se deve a produção de capsaicínides, alcalóides sintetizados na placenta dos frutos e também no pericarpo para aquelas pimentas extremamente pungentes. Esses alcalóides só ocorrem no gênero *Capsicum* (Bosland et al., 2015).

A versatilidade de aplicações na culinária, indústria farmacêutica e como plantas ornamentais demonstra a importância desta cultura no mercado atual e futuro. Além disso, possui uma grande variedade de produtos e subprodutos, usos e formas de consumo (Bento et al., 2007; Sudré et al., 2010).

Os frutos de *Capsicum* possuem compostos antioxidantes como vitaminas A, C, E e do complexo B, carotenóides, tocoferóis, capsaicínides e flavonóides, além de possuir altos teores de potássio, magnésio e ferro (Wahyuni et al., 2013). Segundo Reifschneider (2000) os frutos do gênero *Capsicum* são ricos em fibras que por sua vez são importantes no processo de digestão e prevenção de problemas intestinais.

A capsaicina tem sido amplamente estudada no combate a doenças como o câncer, Alzheimer e diabetes (Siddiqui et al., 2015). Além disso, também está sendo usada como agente anti-inflamatório, anti-artrose (Sarwa et al., 2015; Persson et al., 2018), e na produção de sprays de pimenta (Reilly et al., 2011).

3.3. Doenças em *Capsicum*

As perdas por doenças em plantas do gênero *Capsicum* ocorrem desde a semeadura até a pós-colheita, podendo em certos casos chegar a perda total da produção. As pimentas e pimentões são atacados por fungos, bactérias, nematóides e vírus (Azevedo et al., 2005).

As principais doenças do cultivo de *Capsicum* são mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.), nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.), vírus do mosaico

do pimentão (*Potato virus Y*) e antracnose (*Colletotrichum* spp.). A antracnose causa prejuízos tanto em pré como na pós-colheita podendo causar perdas de até 100% na lavoura (Prusky, 1966).

3.4. Interação *Capsicum* – *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* pertence ao reino fungi; filo Ascomycota; classe Sordariomycetes; ordem Hypocreomycetidae e família Glomerellaceae (Gophy, 2018). Espécies de *Colletotrichum* causam doenças em mais de 121 gêneros de plantas, desde frutíferas, hortaliças e plantas ornamentais (Farr et al., 2016). As espécies mais importantes como agentes causais de doença em *Capsicum* são *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. capsici*, *C. dematium* e *C. coccodes* (Than et al., 2008). A doença afeta diferentes partes da planta, entretanto, os maiores danos ocorrem nos frutos, fato que resulta na redução do valor de mercado ou perda total (Manandhar et al., 1995).

A condição para o desenvolvimento da doença é temperatura em torno de 27°C e umidade relativa de 80% (Roberts et al., 2001). Segundo Saxena et al. (2016) a transmissão ocorre pelo vento, respingos de água de chuva, por sementes infectadas e restos culturais contaminados. A infecção e colonização do fungo correspondem a uma fase hemibiotrófica, sendo a fase biotrófica caracterizada pela formação de apressório, hifas de penetração e quiescência, enquanto que na fase necrotrófica o fungo forma hifas secundárias e coloniza o hospedeiro resultando no aparecimento dos sintomas (O'Connell et al., 2012; Gan et al., 2013).

Os sintomas típicos da doença são lesões deprimidas e necrosadas com anéis concêntricos de acérvulo envolto por uma massa alaranjada do fungo no centro da lesão (Than et al., 2008). Geralmente, a antracnose causada por *C. coccodes* afeta as folhas e caules, já *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* causam danos nos frutos nos estádios imaturo e maduro (Kim et al., 2004).

O gene *co1* identificado a partir do cruzamento entre *C. chinense* (PBC932) e *C. annuum* (cv. Banchang), no trabalho de Pakdeevaporn et al., (2005), confere resistência em frutos maduros para *C. capsici*. Já os genes *co2* e *co3* foram identificados conferindo resistência a genótipos provenientes do cruzamento entre *C. annuum* (cv. Banchang) e *C. chinense* (PBC932) para *C. capsici* sendo *co2* para frutos maduros e *co3* para plântulas (Mahasuk et al., (2009a). Os genes *co4* e *Co5*

conferem resistência para *C. capsici* para frutos imaturos e maduros, respectivamente, e foram identificados a partir de cruzamentos entre *C. baccatum* (PBC80 resistente) e *C. baccatum* (PBC1422 suscetível) (Mahasuk et al., 2009b).

Apesar de genótipos resistentes a *Colletotrichum* em *Capsicum* já terem sido identificados até o momento, não existem cultivares resistentes de *C. annum*. O acesso UENF 1381 foi identificado como resistente à antracnose em frutos imaturos e moderadamente resistente no estágio maduro (Bento et al., 2017) e tem se destacado por também ser resistente à mancha bacteriana e ao *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV).

3.5. Termografia infravermelha

A fenotipagem de plantas tem se utilizado de inúmeras ferramentas não destrutivas tais como imagens RGB (*Red-Green-Blue*); imagens térmicas; espectrômetros; fluorescência; scanners; tomografia, e ressonância. Uma abordagem que tem se destacado são as imagens capturadas pelo infravermelho próximo que trazem informações a respeito da temperatura em uma determinada área e são fundamentais para entender o estado fisiológico do tecido saudável e doente (Viana et al., 2018).

A termografia infravermelha tem como princípio a lei de Stefan-Boltzmann que salienta que a emissão de radiação infravermelha é diretamente proporcional à maior temperatura dos corpos, o que foi provado por Max Planck em 1900 (Mcmanus et al., 2016). Essa técnica não destrutiva utiliza aparelhos eletrônicos para medir a radiação infravermelha presentes na porção invisível (0,75-100 μ m) do espectro eletromagnético de objetos acima do zero absoluto (0°K, -273°C) convertendo-as na escala do visível (*RGB-Red, Green, Blue*) (Kaplan, 2009; Costa; Grant; Chaves, 2013). A radiação não ionizante é captada por pulsos elétricos que posteriormente são amplificadas em imagens coloridas pelo sensor da câmera termográfica para o termograma (Godyń; Herbut; Walczak, 2013). O termograma é a representação em pseudo-cores contendo as informações da temperatura da superfície dos corpos, em que cada pixel da imagem representa um valor observado do objeto (Mahlein, 2016). As imagens resultantes do processo podem ser avaliadas por programas específicos, dentre o mais utilizado destaca-se o Flir Tools® para computadores e smartphones.

A termografia é um método não invasivo utilizado em diferentes áreas como, por exemplo, em processos industriais, metalurgia, sistemas elétricos, construção civil, esportes, armas militares, saúde humana e animal e nas ciências agrárias (Gowen et al., 2010; Costa; Grant; Chaves, 2013). Na agricultura a termografia é principalmente utilizada para avaliar o estresse hídrico em diversas culturas e no solo com objetivo de entender e aumentar a eficiência no uso da água, bem como no planejamento da irrigação (Saraiva et al., 2014; Costa et al., 2015; García-Tejero et al., 2017; Khanal et al., 2017; Aragão, 2019). Em condições de campo e céu limpo, o melhor horário para avaliar as imagens termográficas e identificar o estresse hídrico em dosséis de plantas é ao meio-dia (Liu et al., 2020).

3.6. Termografia na detecção de doenças de plantas

Mudanças na transpiração e no fluxo de água são provocadas pela infecção de patógenos em órgãos das plantas. Essa diferença no conteúdo de água provoca diferença de temperatura entre as regiões saudáveis e doentes, e as imagens termográficas conseguem identificar essa infecção que muitas vezes é invisível aos olhos (Viana et al., 2018; 2019). Um forte indicador do aparecimento de doenças é a diferença de temperatura entre e dentro de folhas, frutos, plantas e talhões (Mahlein, 2016).

Diversos trabalhos evidenciam a aplicabilidade da técnica da termografia em inúmeras culturas. É uma abordagem que permite monitorar o aparecimento de patógenos de forma pré-sintomaticamente, bem como no decorrer do desenvolvimento da doença (Mahlein et al., 2012). Em alguns trabalhos com a sarna da macieira foi revelado que a gravidade da doença é observada pelas imagens térmicas (Oerke; Fröhling; Steiner, 2011). Na cultura do pepino foi constatado diferenças de temperatura superiores a 5°C em folhas devido a infecção de *Pseudoperonospora cubensis* (Wen et al., 2019). No trigo foram observadas diferenças de 1,7°C em folhas atacadas pelo patógeno *Puccinia triticina* e a identificação dos sintomas apareceu antes na termografia do que a olho nu (Zhu et al., 2018).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Vegetal

Foram avaliados 11 genótipos de quatro espécies de *Capsicum* spp. do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), sendo cinco de *C. chinense* (UENF 1765, UENF 2078, UENF 2110, UENF 2111 e UENF 2112), três de *C. annuum* var. *annuum* (híbrido comercial cultivar Ikeda cascadura, UENF 1381 e UENF 2285), dois de *C. baccatum* var. *pendulum* (UENF 1732 e UENF 2124) e um de *C. frutescens* (UENF 1775), em diferentes estádios de maturação, com variabilidade em cores, formatos e tamanhos de frutos, além de diferentes graus de reação ao *C. scovillei*. Dez frutos de cada genótipo foram colhidos em plantas conduzidas em casa de vegetação na Unidade de Apoio à Pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF, sendo cinco no estágio imaturo (35 dias após a antese) e cinco no estágio maduro (50 dias após a antese).

4.2. Preparo dos frutos

Os frutos foram desinfestados em álcool 70% por um minuto, seguido de hipoclorito de sódio 0,2% durante 5 minutos, e por fim lavados triplamente em água deionizada autoclavada. Em seguida foram secos em papel toalha e colocados em bandejas de poliestireno expandido, corretamente identificados, e alocados em

condições de câmara úmida em caixas plásticas e reservatórios contendo algodão umedecido.

4.3. Isolado fúngico

Para as inoculações foi utilizado o isolado de *C. scovillei* identificado como 8.1 [GenBank accession numbers MN 121780, MN121791, MN121802, MN121811 e MN121822 (Giacomin et al., 2020)]. O isolado foi incubado em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) durante sete dias em BOD na temperatura de 28°C com 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Após esse período, a suspensão de conídios foi preparada com água deionizada e esterilizada, utilizando-se câmara de Neubauer e microscópio de luz, ajustando-se a concentração em 1×10^6 conídios por mL (Silva et al., 2014).

Os frutos foram inoculados via aspersão em toda a sua superfície, utilizando-se um borrifador manual a uma distância de 15 centímetros (Figura 1). Frutos dos genótipos também foram inoculados com água deionizada autoclavada como controle negativo. Após a inoculação, os frutos foram acomodados em condições controladas de umidade de 80%, temperatura de 28°C e fotoperíodo de 12 horas durante nove dias.



Figura 1. Inoculação por aspersão em frutos maduros de *Capsicum* spp. na concentração de 1×10^6 conídios por mL.

4.4. Variáveis Analisadas

Quatro avaliadores, de forma independente, registraram as variáveis de resistência: nota no último dia de avaliação (Nota9); área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD); período de incubação (PI), e período latente (PL). A Nota9 foi atribuída no último dia de avaliação (nono dia) com base em duas escalas, sendo uma proposta por Montri et al. (2009) e uma nova escala elaborada pela equipe do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) da UENF (Araújo et al., 2022), denominada de escala S.

A AACPD foi calculada com base nas notas diárias (Campbell; Madden, 1990): $AACPD = \sum_1^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$, em que n é o número de observações, y_i é a severidade da doença na “i”-ésima observação e t_i é o tempo em dias na “i”-ésima observação. O PI é o período em dias da inoculação até o aparecimento dos sintomas e o PL é o tempo em dias da inoculação até o surgimento dos sinais, que são as estruturas do patógeno.

O avaliador A, muito experiente na avaliação da antracnose, foi considerado como referência para os demais avaliadores, sendo estes avaliadores (B, C e D) considerados com nenhuma experiência na avaliação da doença uma vez que nunca usaram as escalas, mas receberam instruções necessárias para realizar a avaliação. Todos os avaliadores primeiramente atribuíam as notas segundo a escala de Montri et al. (2009) e depois a escala proposta pelo LMGV a todos os genótipos, diariamente e sempre no mesmo horário.

Para as análises termográficas foram avaliados o T_i (temperatura da área sintomática), T_c (temperatura da área não sintomática) e DTM (diferencial de temperatura média), obtido pela diferença entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática dado por: $\Delta T = |T_i - T_c|$ em graus celsius.

4.5. Escalas de severidade

A severidade da antracnose foi avaliada por duas escalas, a escala de Montri et al. (2009) (Tabela 1) e a escala S proposta pelo LMGV (Tabela 2). Para as análises termográficas foi utilizada a escala S.

Tabela 1. Escala de notas para avaliação da severidade da antracnose em frutos de *Capsicum* spp. (Montri et al., 2009)

Nota	Nível de resistência	Descrição dos sintomas
0	Altamente Resistente	Sem sintomas
1	Resistente	1-2% da área do fruto com lesão necrótica ou lesão encharcada em torno do local da infecção
3	Moderadamente Resistente	>2–5% da área do fruto com lesão necrótica, podendo ou não ter acérvulo ou lesão encharcada acima de 5% da superfície do fruto
5	Moderadamente Suscetível	>5–15% da área do fruto com lesão necrótica, presença de acérvulo, ou lesão encharcada acima de 25% do fruto
7	Suscetível	>15–25% da área do fruto com lesão necrótica e com acérvulo
9	Altamente Suscetível	>25% da área do fruto com lesão necrótica, lesão ao redor do fruto com a presença de acérvulos em abundância

Tabela 2. Escala de notas proposta (S) para avaliação da severidade da antracnose em frutos de *Capsicum* spp.

Nota	Nível de resistência	Descrição dos sintomas
1	Imune	Sem sintomas
2	Altamente Resistente	Sem acérvulos Necrose ≤ 1 mm
3	Resistente	Sem acérvulos $1 \text{ mm} < \text{necrose} \leq 3 \text{ mm}$
4	Moderadamente Resistente	Sem acérvulos $3 \text{ mm} < \text{necrose} \leq 5 \text{ mm}$
5	Moderadamente Suscetível	Sem acérvulos Encharcamento $\leq 5 \text{ mm}$ e/ou $5 \text{ mm} < \text{necrose} \leq 7 \text{ mm}$
6	Suscetível	Sem acérvulos Encharcamento $> 5 \text{ mm}$ e/ou necrose $> 7 \text{ mm}$
7	Altamente Suscetível	Com acérvulos Necrose ou encharcamento $\leq 5 \text{ mm}$
8	Altamente Suscetível	Com acérvulos $5 \text{ mm} < \text{necrose}$ ou encharcamento entre $< 10 \text{ mm}$
9	Altamente Suscetível	Com acérvulos Necrose ou encharcamento $> 10 \text{ mm}$

4.6. Análises estatísticas

As variáveis Nota9, AACPD, PI e PL não atenderam aos pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias, portanto, utilizou-se a

estatística tipo anova (ATS). A ATS foi usada devido a hipótese testada pela ANOVA e a ATS serem semelhantes (Shah & Madden, 2004; Erceg-Hurn & Mirosevich, 2008). Foi utilizado o pacote 'nparLD' (Noguchi et al., 2012). O pacote 'corrplot' foi utilizado para as correlações de Spearman. (Wei & Simko, 2021). As análises de confiabilidade e concordância pelo Kappa ponderado entre os avaliadores menos experientes com o experiente para as quatro variáveis foram determinadas utilizando-se o pacote 'irr' (Gamer et al., 2019). Todas análises foram realizadas pelo programa R (R Core Team, 2020).

A variável DTM em frutos imaturos e maduros também não atenderam os pressupostos da análise de variância de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias, e por isso foram realizados testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis, com o post hoc de Dunn para verificar diferenças de DTM entre os genótipos para cada dia de avaliação.

Para as variáveis Ti (temperatura da área sintomática) e Tc (temperatura da área assintomática) em frutos imaturos e maduros foram realizados testes de Mann-Whitney entre a área doente e a área sadia para cada dia de avaliação. Todas as análises foram realizadas pelo programa R (R Core Team, 2020), utilizando os pacotes ggplot2 (Wickham, 2009), ggpubr (Kassambara, 2020), patchwork (Pedersen, 2020), agricolae (Mendiburu, 2020), ExpDes.pt (Ferreira, 2021), rstatix (Kassambara, 2021), e AgroR (Shimizu, 2022).

5. RESULTADOS

5.1. Escala de notas

O isolado fúngico de *Colletotrichum scovillei* demonstrou virulência quando se utilizou o método de inoculação por aspersão superando as barreiras físicas, tanto em frutos imaturos quanto em maduros (Figura 2).



Figura 2. Frutos de *Capsicum* spp. com sintomas de *Colletotrichum scovillei* inoculados por aspersão na concentração de 1×10^6 conídios por mL.

Pela análise Anova *type-statistics* foi observado efeito significativo em frutos imaturos para fonte de variação escala para as variáveis PI e PL, e para avaliadores

em relação à variável PL. Para os frutos maduros, houve efeito significativo para avaliadores para as quatro variáveis (Nota9, AACPD, PI e PL). A escala foi significativa em frutos maduros para AACPD e PL (Tabela 3).

Tabela 3. Anova para estatística não paramétrica (ATS) para efeito de avaliadores e escalas em frutos imaturos e maduros de *Capsicum* spp. em relação à reação à antracnose (*Colletotrichum scovillei*)

Efeito	ATS	GL	P value	Efeito	ATS	GL	P value
Frutos imaturos – Nota 9º dia				Frutos maduros – Nota 9º dia			
Avaliadores (A)	2,27	2,96	0,079	Avaliadores (A)	4,35	2,84	0,005
Escala (E)	1,07	1,00	0,299	Escala (E)	3,41	1,00	0,064
A x E	5,88	2,34	<0,005	A x E	1,19	2,43	0,307
Frutos imaturos – AACPD				Frutos maduros – AACPD			
Avaliadores (A)	1,16	2,97	0,321	Avaliadores (A)	4,93	2,96	<0,005
Escala (E)	3,48	1,00	0,062	Escala (E)	19,28	1,00	<0,005
A x E	12,00	2,64	<0,005	A x E	9,77	2,80	<0,005
Frutos imaturos – PI				Frutos maduros – PI			
Avaliadores (A)	2,51	2,95	0,057	Avaliadores (A)	8,64	2,68	< 0,005
Escala (E)	6,61	1,00	0,010	Escala (E)	1,57	1,00	0,209
A x E	1,19	2,55	0,307	A x E	0,76	2,06	0,472
Frutos imaturos – PL				Frutos maduros – PL			
Avaliadores (A)	4,15	2,95	<0,005	Avaliadores (A)	6,72	2,99	< 0,005
Escala (E)	37,49	1,00	<0,005	Escala (E)	64,45	1,00	< 0,005
A x E	25,15	2,32	<0,005	A x E	31,41	2,40	< 0,005

Para frutos imaturos, pela escala de Montri et al. (2009) a correlação média entre os avaliadores foi de 0,70 (0,45-0,86), 0,76 (0,72-0,83), 0,53 (0,30-0,66) e 0,77 (0,64-0,85) para Nota9, AACPD, PI e PL, respectivamente (Figura 3). Para escala S, a correlação para a Nota9, AACPD, PI e PL foi de 0,70 (0,55-0,85), 0,84

(0,79-0,91), 0,56 (0,45-0,65) e 0,86 (0,78-0,95), respectivamente. Para frutos maduros, a correlação média entre os avaliadores para a escala de Montri et al. (2009) para as variáveis Nota9, AACPD, PI e PL foram de 0,69 (0,59-0,74), 0,59 (0,37-0,71), 0,52 (0,33-0,71) e 0,51 (0,34-0,65), respectivamente. Na escala S essas correlações foram de 0,48 (0,34-0,67), 0,53 (0,23-0,75), 0,37 (0,04-0,75) e 0,49 (0,23-0,69), respectivamente. As correlações do avaliador A entre as escalas variou de 0,93 (Nota9, AACPD) a 0,97 (PL) para frutos imaturos, enquanto para frutos maduros foi de 0,67, 0,83, 0,90 e 0,98 para as variáveis Nota9, PL, AACPD e PI, respectivamente.

Os valores de Kappa ponderado entre o avaliador A com os menos experientes (B, C e D) em frutos imaturos na escala de Montri et al. (2009) foi de 0,58 (0,51-0,67), 0,58 (0,53-0,62), 0,41 (0,31-0,47) e 0,56 (0,42-0,63) para Nota9, AACPD, PI e PL, respectivamente, enquanto para escala S foram de 0,64 (0,52-0,75), 0,62 (0,47-0,73), 0,57 (0,51-0,63) e 0,40 (0,17-0,60), respectivamente (Tabelas 4 e 5). Para frutos maduros a confiabilidade na escala de Montri et al. (2009) foi de 0,41 (0,34-0,5), 0,44 (0,36-0,5), 0,30 (0,18-0,46) e 0,32 (0,22-0,45) para Nota9, AACPD, PI e PL, respectivamente, enquanto para a escala S foi de 0,18 (0,12-0,26), 0,58 (0,44-0,68) 0,29 (0,09-0,47) e 0,32 (0,14-0,41), respectivamente.

A concordância média entre o avaliador A com os menos experientes (B, C e D) em frutos imaturos na escala de Montri et al. (2009) foram de 71,8% (64,1-82,1%), 46,2% (35,9-51,3%), 31,6% (30,8-33,3%) e 40,2% (30,8-48,7%) para Nota9, AACPD, PI e PL, respectivamente, enquanto para escala S foram de 65,8% (56,4-79,5%), 46,1% (28,2-48,7%), 46,2% (38,5-48,7%) e 23,9% (7,69-41%), respectivamente (Tabelas 4 e 5). Para frutos maduros a concordância na escala de Montri et al. (2022) foi de 74,2% (62,5-80%), 42,5% (40-45%), 30% (15-42,5%) e 23,3% (17,5-30%) para Nota9, AACPD, PI e PL, respectivamente, enquanto para escala S foi de 74% (57,5-89,5%), 60,8% (55-67,5%), 29,2% (10-50%) e 21,7% (7,5-32,5%), respectivamente.

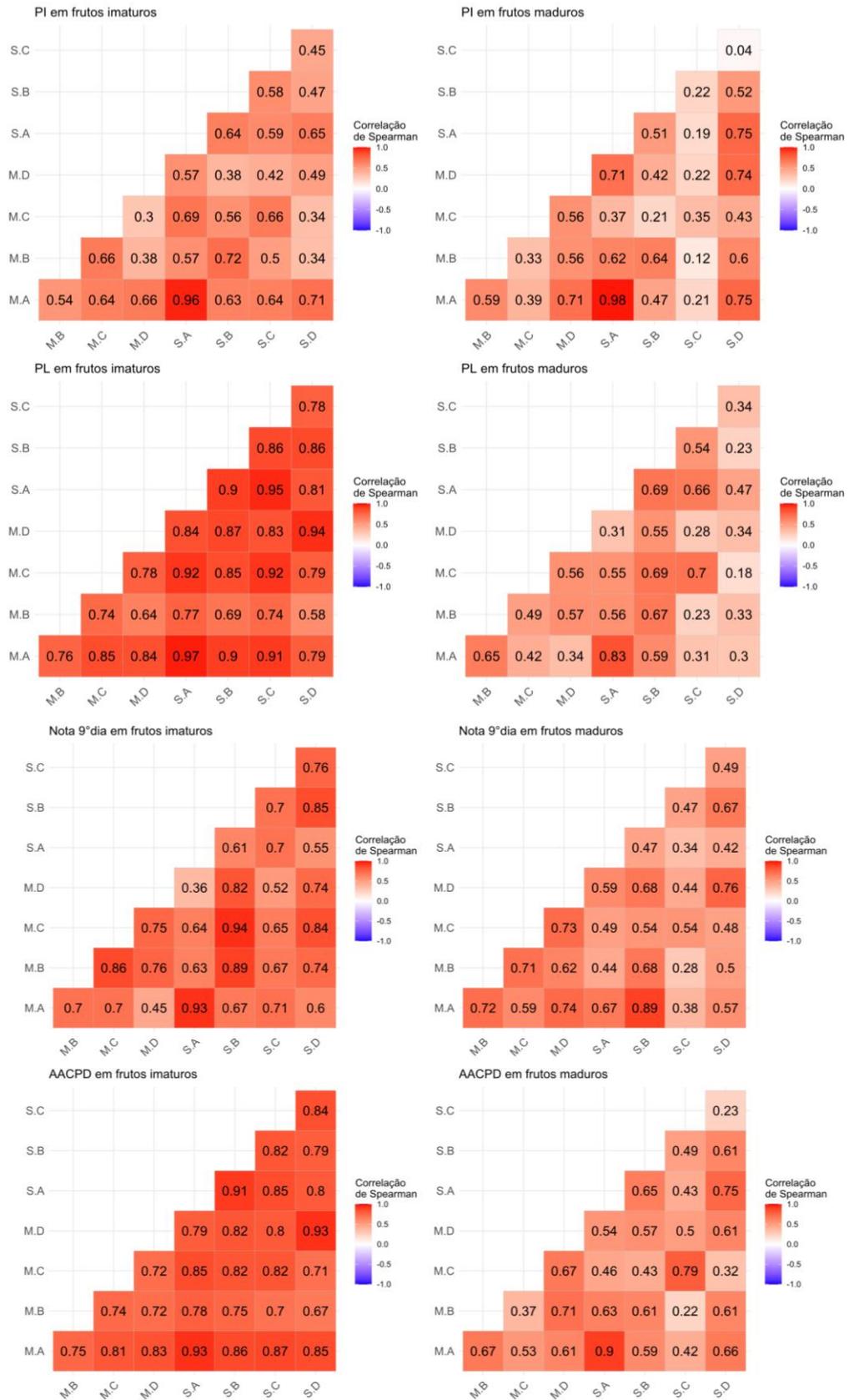


Figura 3. Correlação de Spearman para nota no último dia, área abaixo da curva de progresso da doença, período de incubação e período latente em frutos imaturos e maduros estimados por duas escalas (Montri et al. (2009) e S) e quatro avaliadores (A = avaliador experiente; B, C, D = avaliadores menos experientes).

Tabela 4. Confiabilidade e concordância entre o avaliador A (experiente) com os avaliadores B, C e D (menos experientes) estimados pelo Kappa ponderado para nota no último dia (Nota9), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), período de incubação (PI), período latente (PL) em frutos imaturos, usando a escala de Montri et al. (2009) e escala S (Araújo et al., 2022).

Frutos imaturos – Nota 9º dia – Montri				Frutos imaturos – Nota 9º dia – S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,67	0,57	0,51	K	0,66	0,75	0,52
Z	4,56	4,62	3,59	Z	4,14	7,22	3,4
p_value	<0,005	<0,005	<0,005	p_value	<0,005	<0,005	<0,005
Concordância (%)	82,1	64,1	69,2	Concordância (%)	79,5	61,5	56,4
Frutos imaturos – AACPD – Montri				Frutos imaturos – AACPD - S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,53	0,62	0,58	K	0,73	0,65	0,47
Z	6,36	8,08	9,12	Z	11,6	9,14	5,96
p_value	<0,005	<0,005	<0,005	p_value	<0,005	<0,005	<0,005
Concordância (%)	51,3	51,3	35,9	Concordância (%)	61,5	48,7	28,2
Frutos imaturos – PI – Montri				Frutos imaturos – PI - S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,45	0,47	0,31	K	0,63	0,57	0,51
Z	4,14	4,72	3,30	Z	7,07	5,32	4,66
p_value	<0,005	0,009	0,172	p_value	<0,005	<0,005	<0,005
Concordância (%)	30,8	33,3	30,8	Concordância (%)	48,7	51,3	38,5
Frutos imaturos – PL – Montri				Frutos imaturos – PL - S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,42	0,63	0,62	K	0,43	0,60	0,17
Z	4,79	9,07	8,88	Z	5,28	8,63	2,95
p_value	<0,005	<0,005	<0,005	p_value	<0,005	<0,005	<0,005
Concordância (%)	30,8	48,7	41	Concordância (%)	23,1	41	7,69

Tabela 5. Confiabilidade e concordância entre o avaliador A (experiente) com os avaliadores B, C e D (menos experientes) estimados pelo Kappa ponderado para nota no último dia (Nota9), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), período de incubação (PI), e período latente (PL) em frutos maduros usando a escala de Montri et al. (2009) e escala S (Araújo et al., 2022)

Frutos maduros – Nota 9º dia - Montri				Frutos maduros – Nota 9º dia – S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,5	0,34	0,4	K	0,26	0,12	0,16
Z	4,04	2,91	4,76	Z	2,14	1,83	1,89
p_value	<0,005	<0,005	<0,005	p_value	0,032	0,067	0,058
Concordância (%)	80	62,5	80	Concordância (%)	89,5	57,5	75
Frutos maduros – AACPD - Montri				Frutos maduros – AACPD - S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,5	0,36	0,45	K	0,61	0,44	0,68
Z	5,67	3,71	4,44	Z	6,35	3,94	8,03
p_value	<0,005	<0,005	<0,005	p_value	<0,005	<0,005	<0,005
Concordância (%)	45	42,5	40	Concordância (%)	60	55	67,5
Frutos maduros – PI – Montri				Frutos maduros – PI - S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,46	0,25	0,18	K	0,47	0,09	0,31
Z	4,63	3,22	3,76	Z	4,35	1,04	4,17
p_value	<0,005	<0,005	<0,005	p_value	<0,005	0,3	<0,005
Concordância (%)	42,5	32,5	15	Concordância (%)	50	27,5	10
Frutos maduros – PL – Montri				Frutos maduros – PL – S			
Combinações	AB	AC	AD	Combinações	AB	AC	AD
Avaliadores	2	2	2	Avaliadores	2	2	2
K	0,45	0,3	0,22	K	0,4	0,41	0,14
Z	5,11	3,34	2,44	Z	5,24	5,24	1,84
p_value	<0,005	<0,005	0,015	p_value	0,029	<0,005	0,07
Concordância (%)	30	22,5	17,5	Concordância (%)	25	32,5	7,5

5.2. Análises termográficas

Houve diferença significativa entre os genótipos pelo teste de Kruskal-Wallis em frutos imaturos pelo diferencial de temperatura a partir do terceiro dia após a inoculação. Isso mostra que houve reação diferencial entre os genótipos pelas imagens térmicas antes do aparecimento dos sintomas nos frutos, pois o período de incubação pela análise a olho nu foi a partir do quarto dia após a inoculação. Para os frutos maduros houve diferença significativa a partir do quinto dia de avaliação para o diferencial de temperatura, mesmo dia em que a maioria dos genótipos no estágio maduro também apresentaram os primeiros sintomas visíveis.

Foram observados valores de p de 0,0057; 0,1671; 0,0651; 0,0299; 0,0341; 0,0101; 0,0327; 0,0036; 0,0034 e 0,0021 entre genótipos para o dia 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, respectivamente, para o diferencial de temperatura entre a área sintomática e assintomática em frutos imaturos. Para os frutos maduros os valores de p foram de 0,4128; 0,3688; 0,1301; 0,8777; 0,4400; 0,0463; 0,0104; 0,0025; 0,0084 e 0,0009 pelo teste de Kruskal-Wallis para o dia 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 após a inoculação por aspersão de *C. scovillei*, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Teste de Kruskal-Wallis em genótipos de *Capsicum* spp. inoculados com *Colletotrichum scovillei* para a variável diferencial de temperatura em frutos imaturos e maduros

FV	GL	x ²	p-value	FV	GL	x ²	p-value
Imaturos - Dia0	9	23,21	0,0057	Maduros - Dia0	9	9,26	0,4128
Imaturos - Dia1	9	12,90	0,1671	Maduros - Dia1	9	9,77	0,3688
Imaturos - Dia2	9	16,08	0,0651	Maduros - Dia2	9	13,78	0,1301
Imaturos - Dia3	9	18,48	0,0299	Maduros - Dia3	9	4,47	0,8777
Imaturos - Dia4	9	18,09	0,0341	Maduros - Dia4	9	8,86	0,4400
Imaturos - Dia5	9	21,63	0,0101	Maduros - Dia5	9	16,54	0,0463
Imaturos - Dia6	9	18,22	0,0327	Maduros - Dia6	9	21,53	0,0104
Imaturos - Dia7	9	24,42	0,0036	Maduros - Dia7	9	25,38	0,0025
Imaturos - Dia8	9	24,62	0,0034	Maduros - Dia8	9	22,12	0,0084
Imaturos - Dia9	9	25,92	0,0021	Maduros - Dia9	9	28,09	0,0009

O genótipo UENF 2285 considerado suscetível à antracnose demonstrou sintomas tanto em frutos imaturos como frutos maduros indicando virulência do isolado fúngico. A diferença de temperatura entre o tecido sintomático e assintomático foi de 0,36, 0,13, 0,56, 1,86 e 2,46°C para os dias 1, 3, 5, 7 e 9 após a inoculação em frutos imaturos, respectivamente. Em frutos maduros a diferença de temperatura foi de 0,55, 0,63, 2,15, 3,65 e 3°C entre o tecido sintomático e assintomático para os mesmos dias (Figura 4). Esse genótipo apresentou tanto em frutos imaturos quanto em frutos maduros um aumento gradativo no diferencial de temperatura do primeiro até o nono dia de avaliação. Comparando as duas imagens térmicas verifica-se que, em frutos maduros, esse diferencial que chegou a 3,65°C no sétimo dia, foi mais contrastante.

O genótipo UENF 1381 não apresentou sintomas visíveis em frutos imaturos pela imagem RGB e pela imagem termal. As diferenças entre a área mais quente e a mais fria do fruto foram de 0,175, 0,025, 0,05, 0,1 e 0,075 para os dias 1, 3, 5, 7 e 9, respectivamente. Em frutos maduros as diferenças foram de 0,05, 0,1, 0,125, 0,475 e 0,125°C para os dias 1, 3, 5, 7 e 9, respectivamente (Figura 5).

Para o genótipo UENF 1381 o diferencial de temperatura não oscilou ao longo dos dias de avaliação para os dois estádios de maturação. Verifica-se nas imagens termais o mesmo padrão de cor nos frutos oscilando pouco nos tons avermelhados. Trabalhos como o de Fukuji (2020) e Andrade (2020) em folhas de feijão mostraram que genótipos considerados resistentes têm uma menor mudança no diferencial de temperatura comparado com os genótipos suscetíveis. Andrade (2020) trabalhando com o patossistema *C. annuum-Botrytis cinerea* encontrou 1,73°C de diferencial de temperatura em genótipo suscetível já no primeiro dia após a inoculação.

Verificou-se que existe um aumento significativo em frutos imaturos e maduros para o diferencial de temperatura a partir do quarto dia após a inoculação do patógeno. Esse aumento do diferencial de temperatura é devido principalmente ao conteúdo de água no tecido (Andrade, 2020; Fukuji, 2020). O maior valor de diferencial de temperatura foi de 6,1°C encontrado no sétimo dia para frutos imaturos e de 4,9°C em frutos maduros, indicando variação no conteúdo de água. No patossistema *Phaseolus – Xanthomonas* a maior amplitude de temperatura ocorreu no terceiro dia de avaliação com o valor de 6.02°C em folhas de feijoeiro

demonstrando a importância do conteúdo de água na folha e sua influência direta na temperatura (Fukuji, 2020).

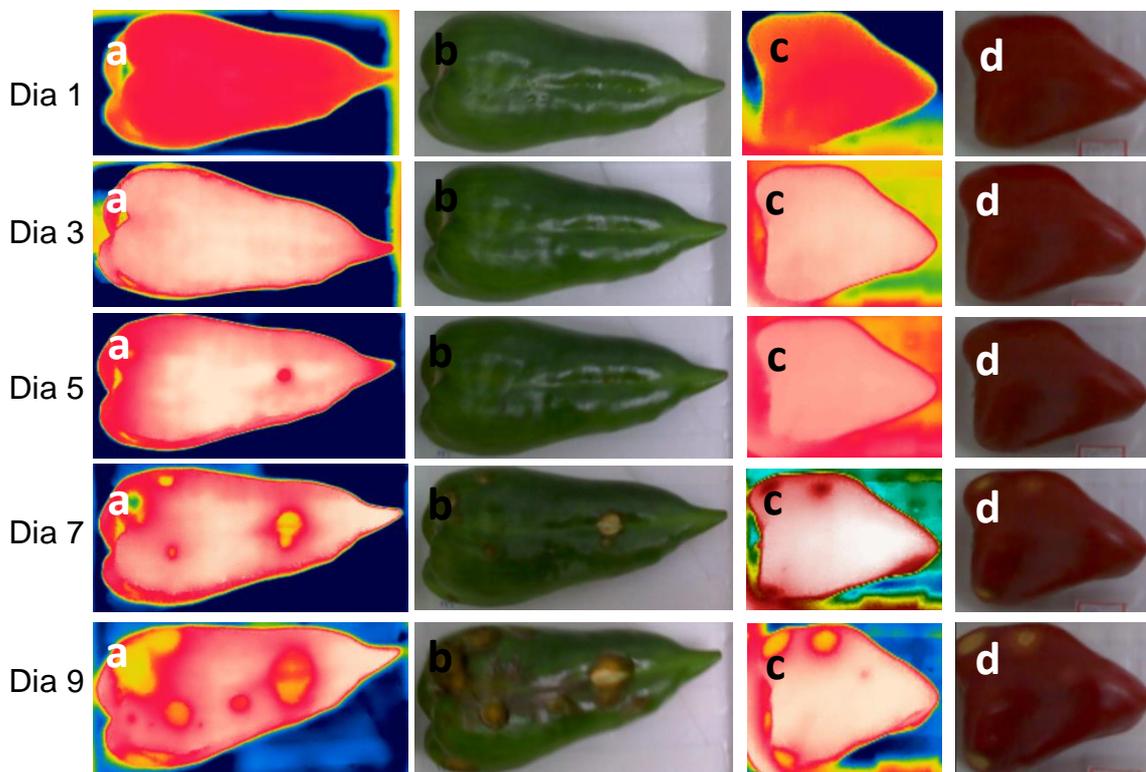


Figura 4. Frutos do genótipo UENF 2285 (Suscetível) inoculados com o fungo *Colletotrichum scovillei*. a) imagem termal (pseudo-cores) do fruto imaturo. b) imagem RGB do fruto imaturo. c) imagem termal (pseudo-cores) do fruto maduro. d) imagem RGB do fruto maduro. UENF, Campos dos Goytacazes-RJ.

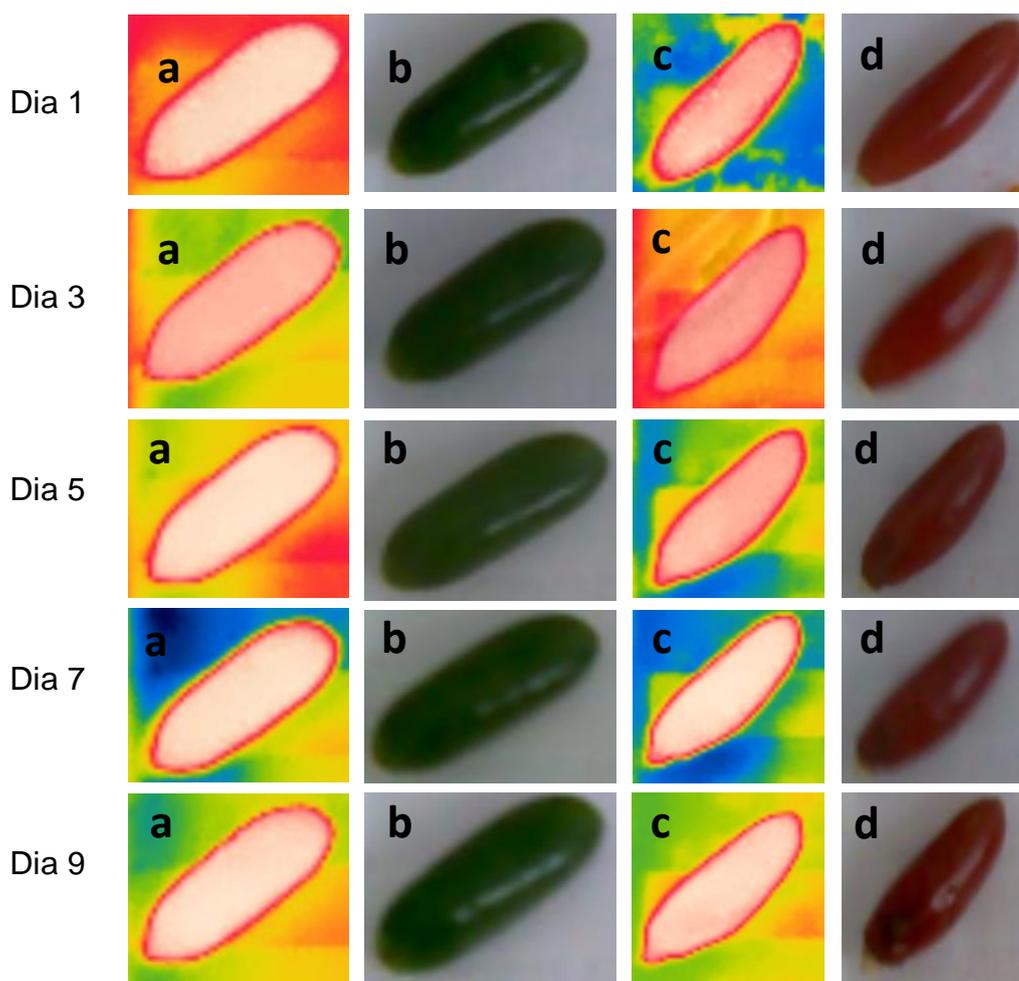


Figura 5. Frutos do genótipo UENF 1381 (Resistente) inoculados com *Colletotrichum scovillei*. a) imagem termal (pseudo-cores) em frutos imaturos. b) imagem de reflexão (RGB) em frutos imaturos. c) imagem termal (pseudo-cores) em frutos maduros. d) imagem de reflexão em frutos maduros.

Até o quarto dia após a inoculação, o diferencial de temperatura sempre ficou abaixo de 1°C para todos os genótipos imaturos. Os maiores valores de diferencial de temperatura ocorreram no sétimo dia de $4,3^{\circ}\text{C}$ para o genótipo UENF 2110, no oitavo dia de $4,23^{\circ}\text{C}$ para o genótipo UENF 2078 e no nono dia de $3,47$ para o genótipo UENF 2078 (Figura 6). O genótipo UENF 1381 teve valores de diferenciais de temperatura variando de $0,025$ no dia 3 a $0,175^{\circ}\text{C}$ no dia 1.

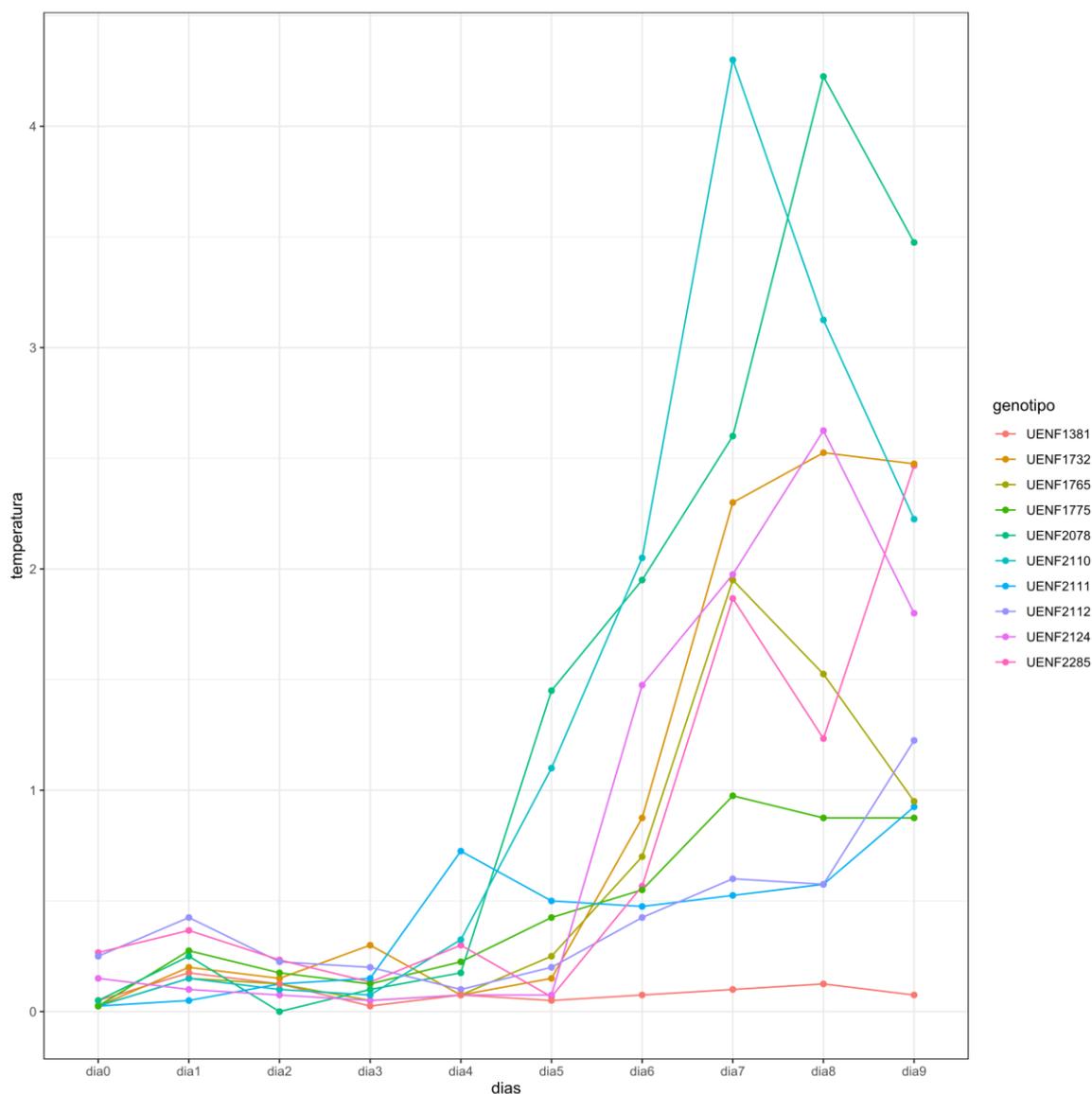


Figura 6. Diferencial de temperatura média entre 10 genótipos de *Capsicum* spp. inoculados com *Colletotrichum scovillei* em frutos imaturos.

Em frutos maduros o genótipo UENF 2285 obteve os maiores valores de diferencial de temperatura para os dias 2, 3, 4, 5, 6 e 7 com 0,63, 0,63, 0,75, 2,15, 2,5, 3,65°C, respectivamente (Figura 7). O genótipo UENF 1381 obteve valores de diferencial de temperatura de 0,025, 0,05, 0,05, 0,1, 0,05, 0,125, 0,075, 0,475, 0,1 e 0,125 do primeiro ao nono dia após a inoculação, respectivamente.

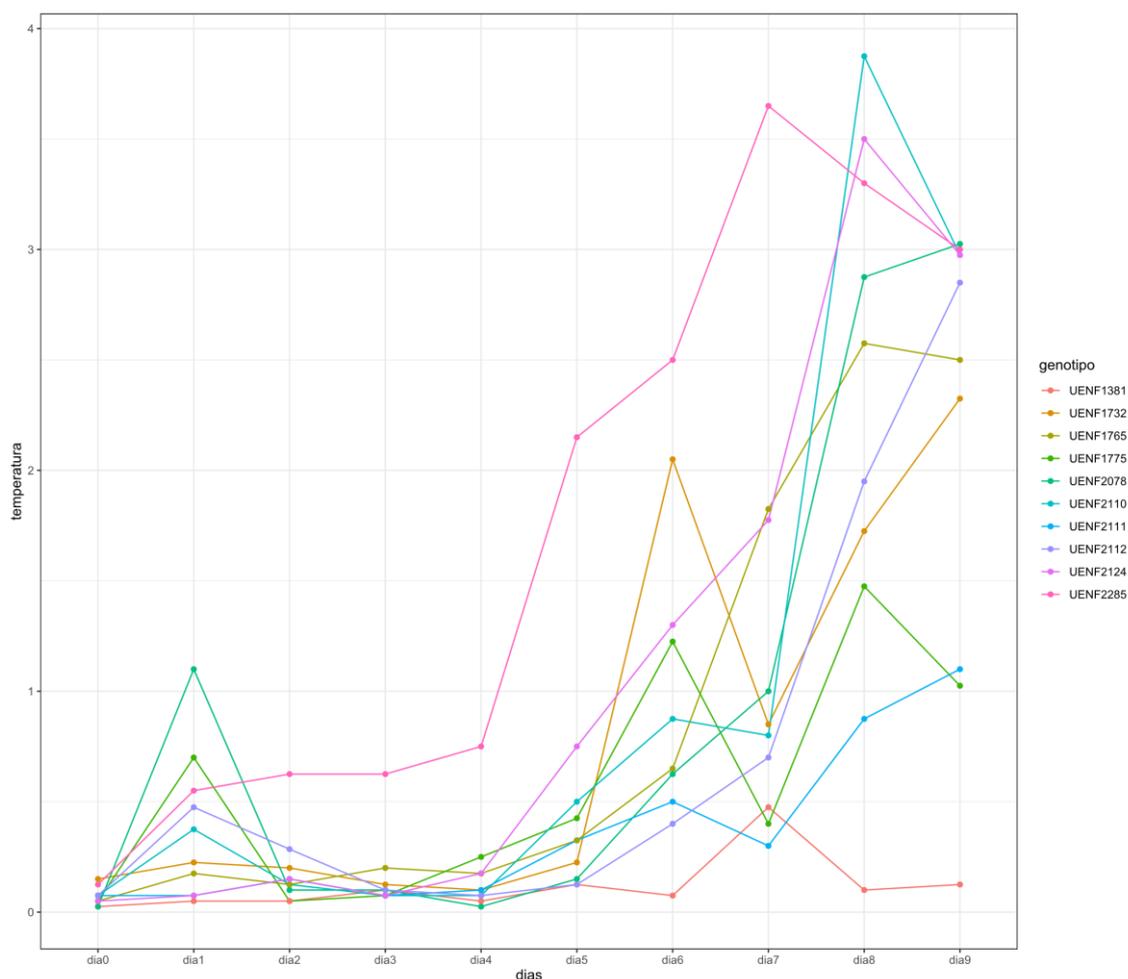


Figura 7. Diferencial de temperatura média entre 10 genótipos de *Capsicum* spp. inoculados com *Colletotrichum scovillei* em frutos maduros.

Valores de diferenciais de temperatura em frutos imaturos sempre foram menores que 1°C até o terceiro dia após a inoculação. No quarto, quinto, sexto, sétimo, oitavo e nono dia o maior diferencial de temperatura foi de 1,8, 3,3, 3,5, 6,1, 5,0 e 3,9°C, respectivamente (Figura 8). Os valores de mediana para o diferencial de temperatura foram de 0, 0, 0,1, 0,1, 0,2, 0,6, 1, 1 e 1,5 para o dia zero até o nono dia após a inoculação.

Em frutos maduros os maiores valores de diferencial de temperatura foram de 0,3; 2; 1,6; 2,3; 2,8; 2,6; 3,6; 4,9; 4,9 e 3,9 do dia zero até o nono dia após a inoculação, respectivamente (Figura 9). Para os valores de mediana de diferencial de temperatura em função dos dias obteve-se 0,1; 0,1; 0,1; 0,1; 0,1; 0,2; 0,7; 0,85; 2,35 e 2,5°C do dia 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, respectivamente.

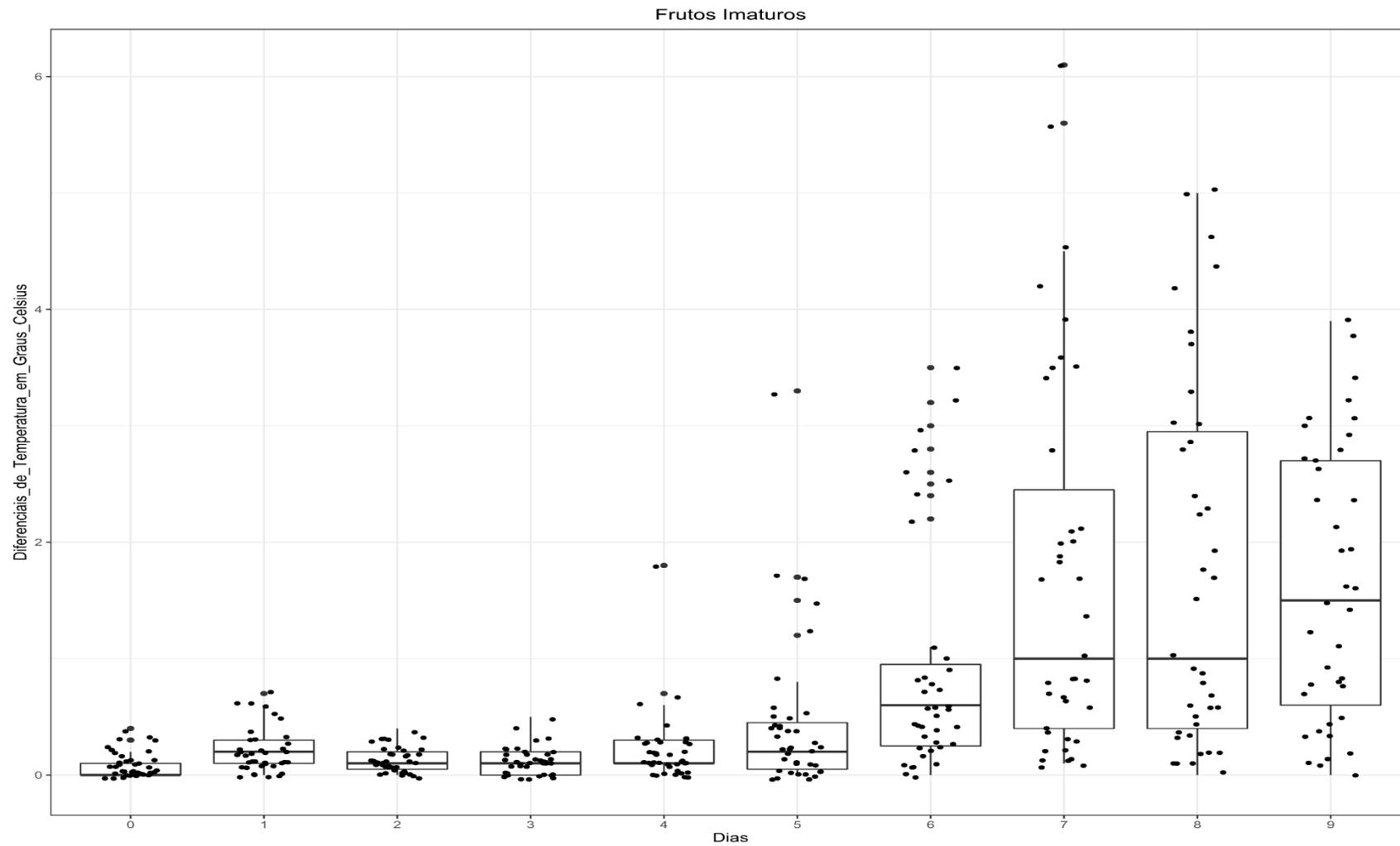


Figura 8. Box-plot em frutos imaturos por diferencial de temperatura entre área sintomática e assintomática.

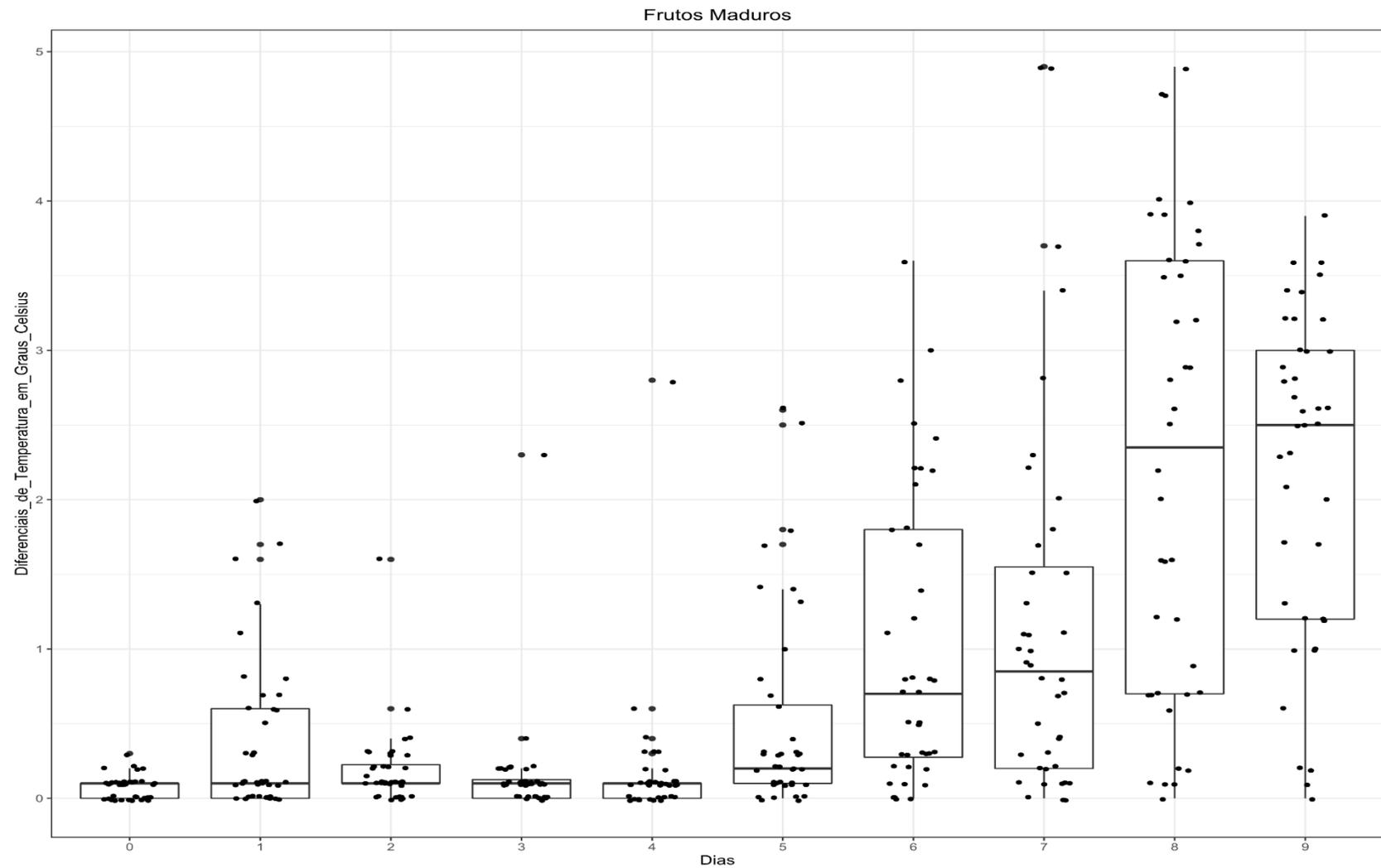


Figura 9. Box-plot em frutos maduros para o diferencial de temperatura entre área sintomática e assintomática.

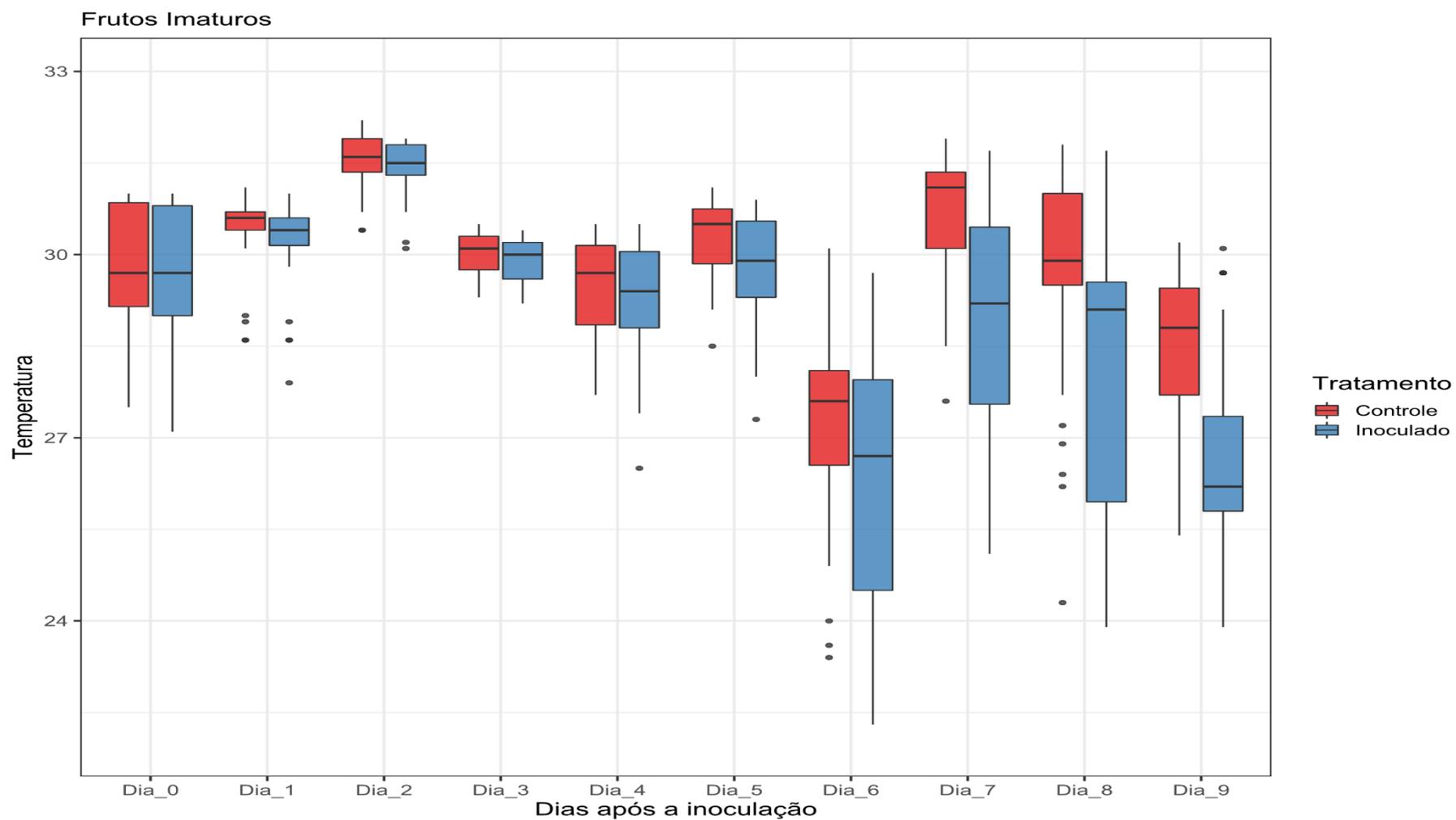


Figura 10. Box-plot em frutos imaturos com base na temperatura da área sintomática e assintomática.

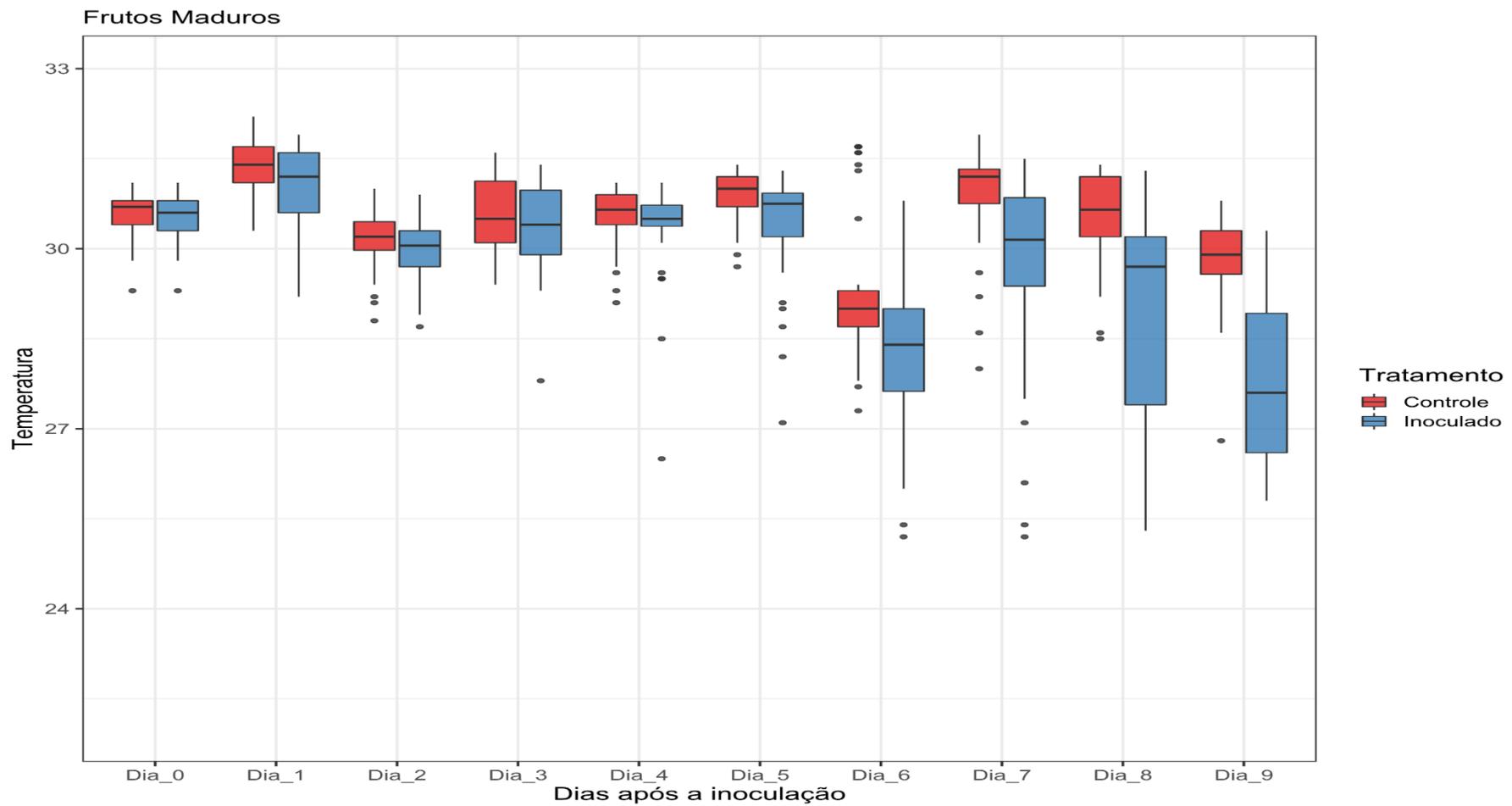


Figura 11. Box-plot em frutos maduros com base na temperatura da área sintomática e assintomática

Observa-se os valores do teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área assintomática com a área sadia de $p=0,54$, $0,019$, $0,26$, $0,1$, $0,31$, $0,01$, $0,039$, $5,1 E^{-5}$, $0,0004$ e $2,4 E^{-5}$ para os dias zero ao nono dia após a inoculação em frutos imaturos (Figura 12, 13, 14, 15 e 16).

Para o teste de Mann-Whitney em frutos maduros entre área assintomática e sintomática os valores de p foram $0,36$, $0,027$, $0,077$, $0,33$, $0,21$, $0,0016$, $0,00076$, $7,2 E^{-6}$, $1,7 E^{-6}$ e $4,5 E^{-9}$ para os dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 após a inoculação por aspersão (Figura 17, 18 19, 20 e 21).

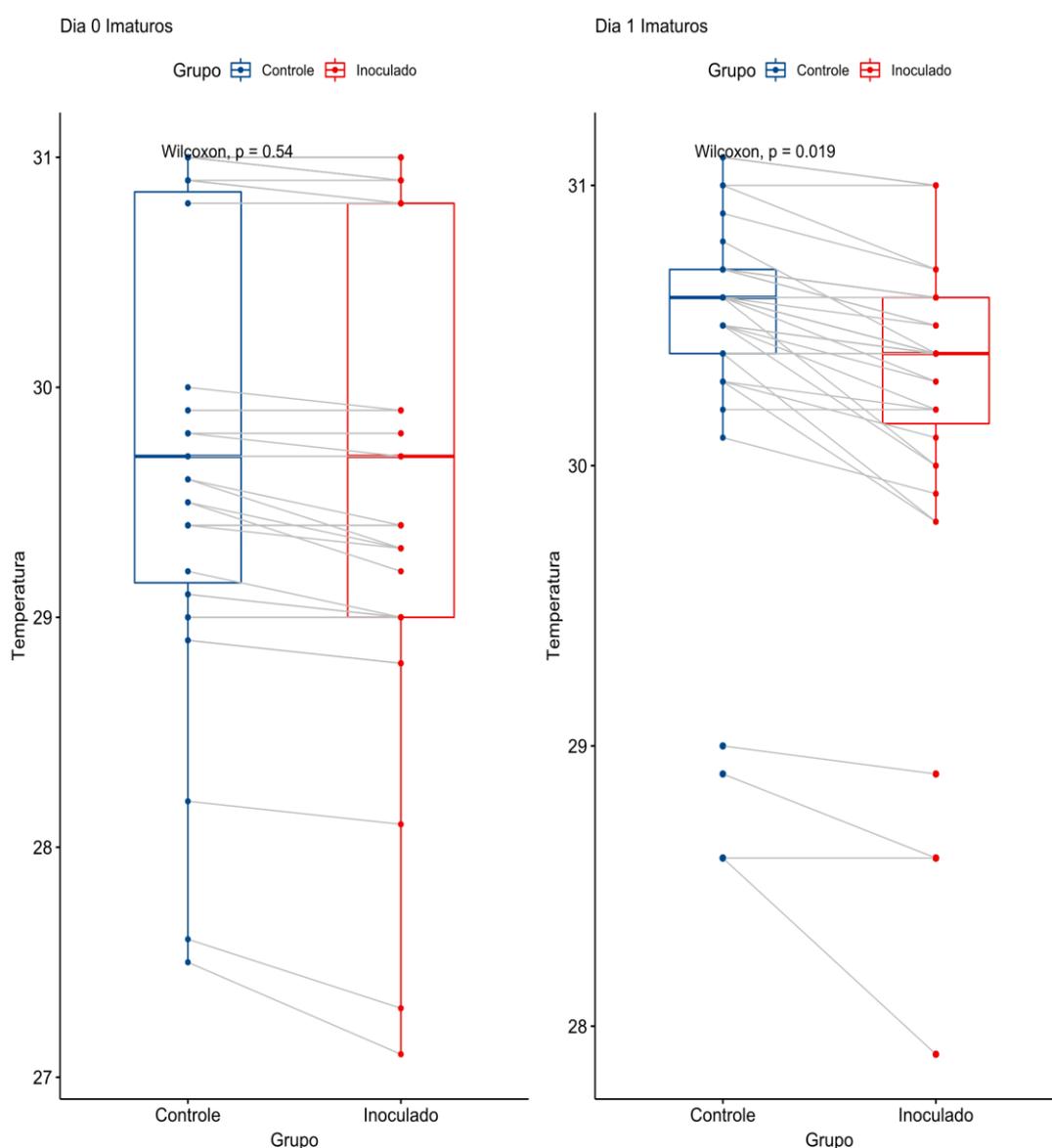


Figura 12. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 0 e 1 dia após a inoculação.

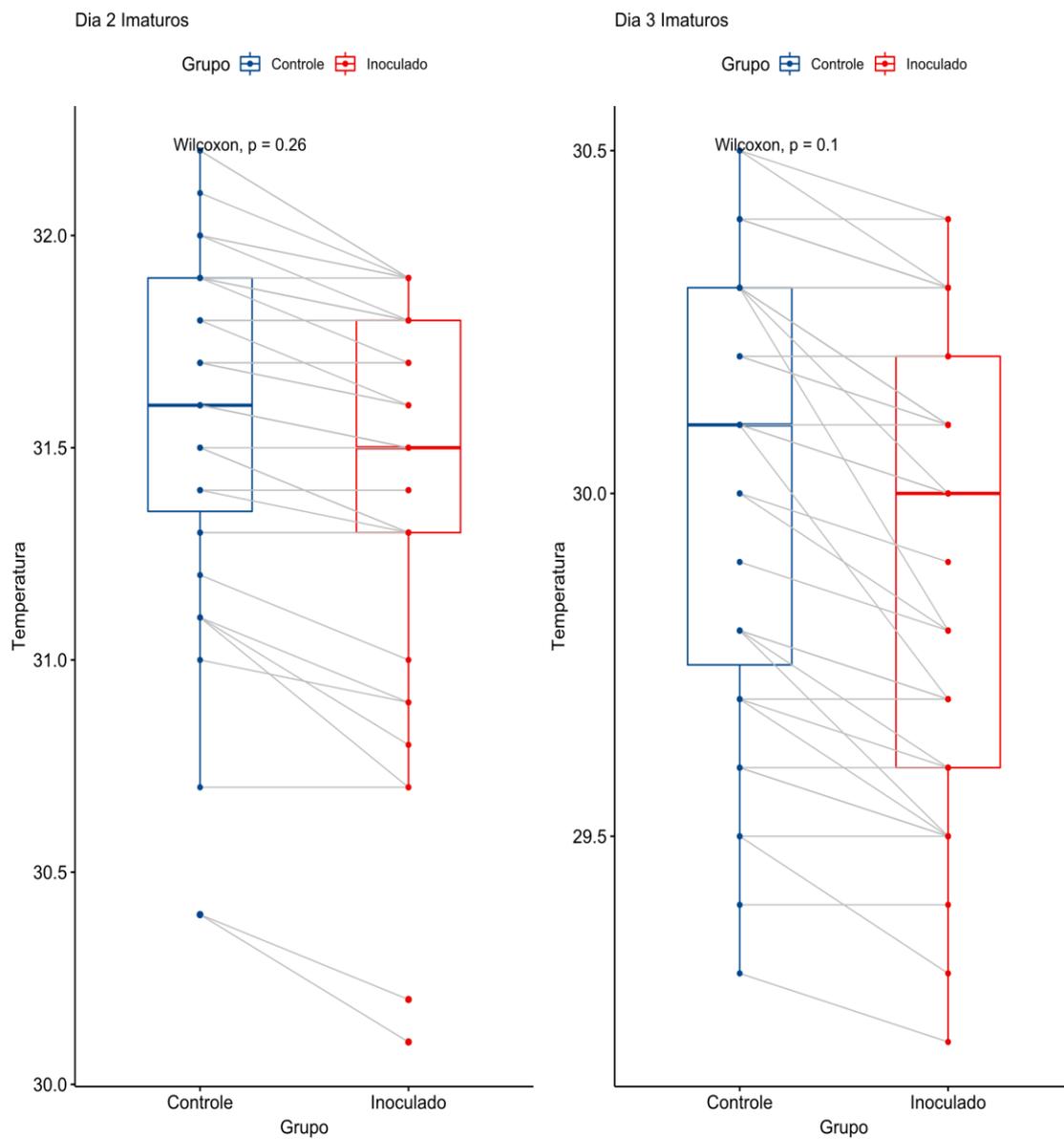


Figura 13. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 2 e 3 dias após a inoculação.

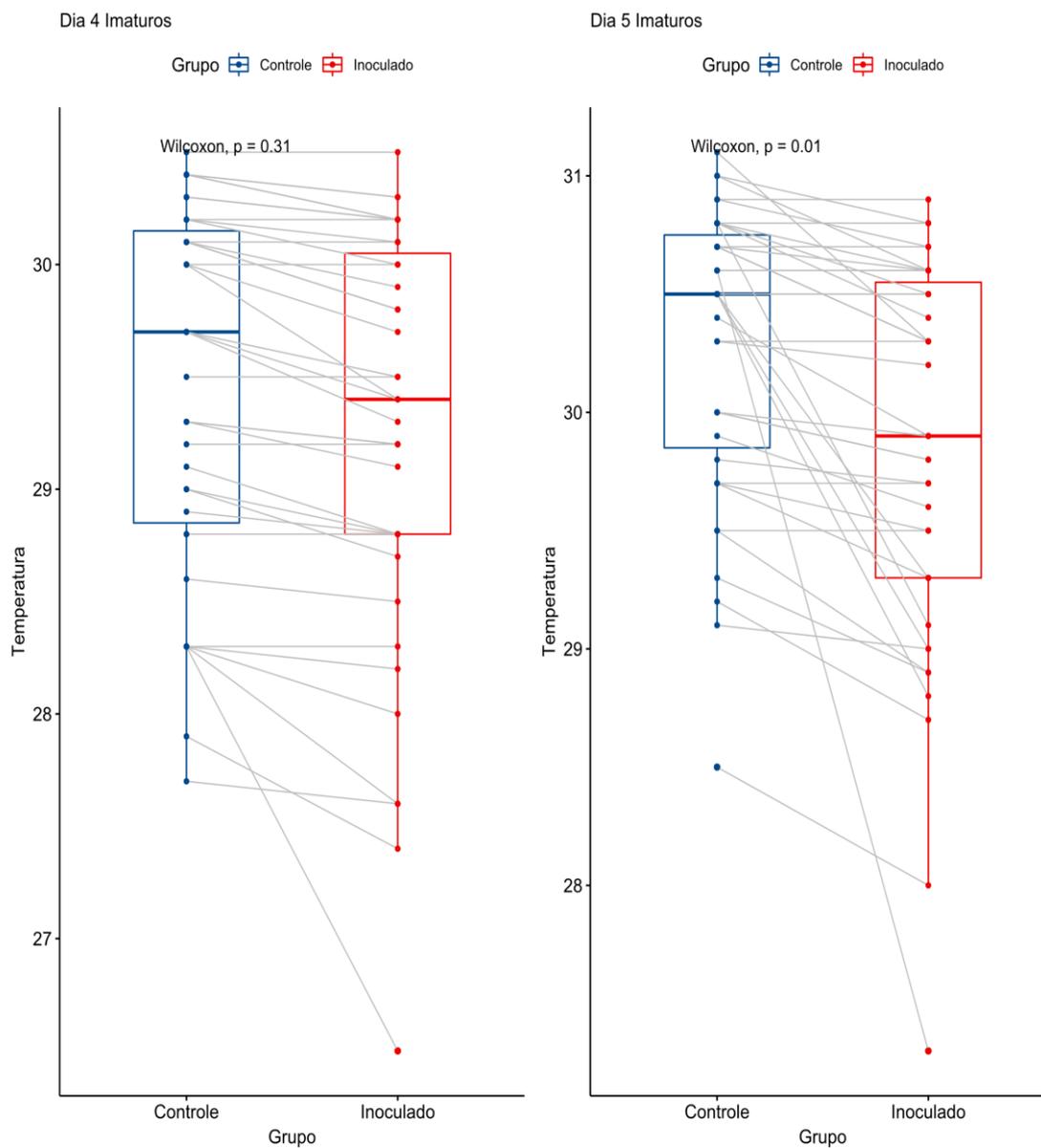


Figura 14. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 4 e 5 dias após a inoculação.

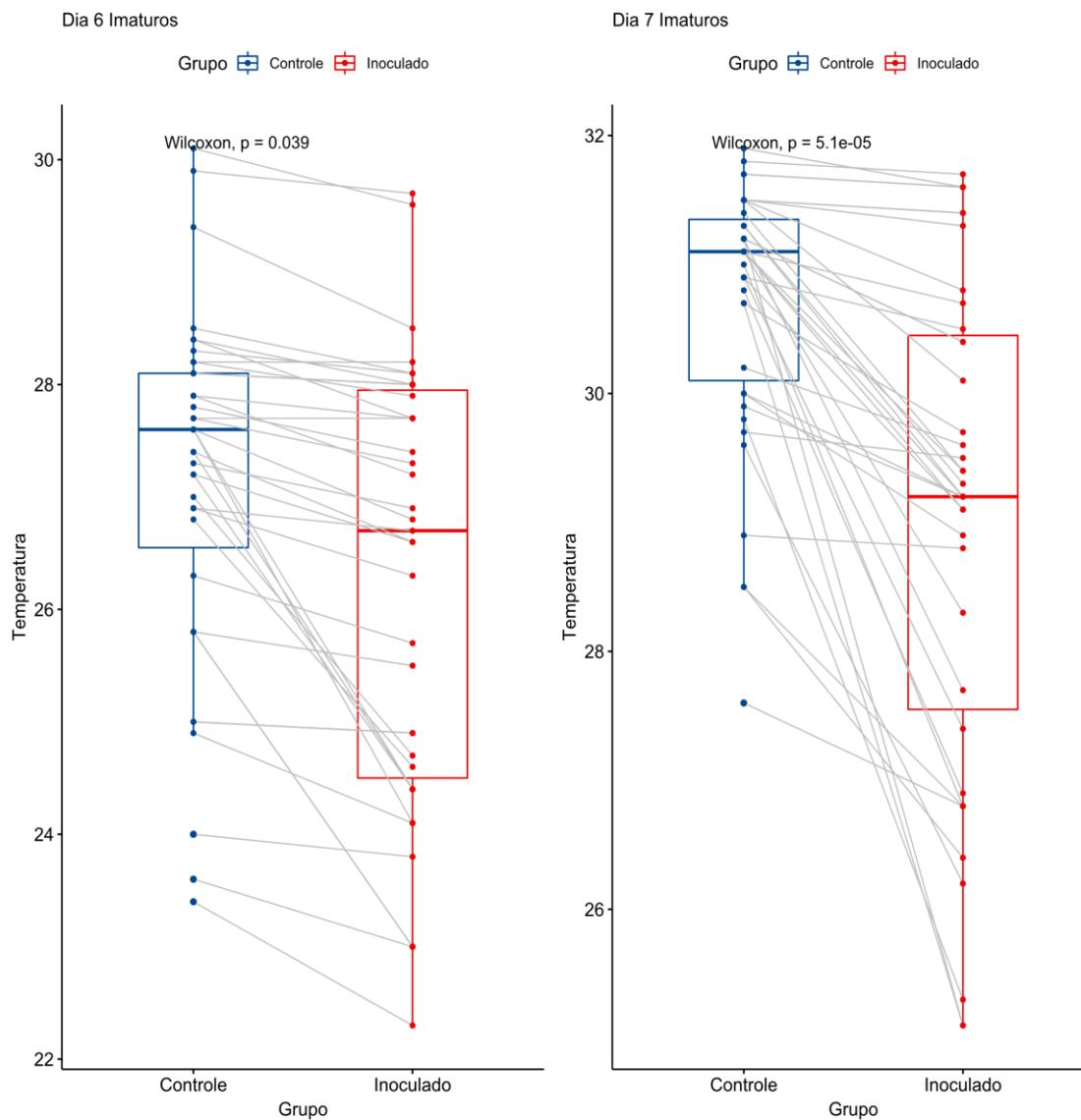


Figura 15. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para 6 e 7 dias após a inoculação.

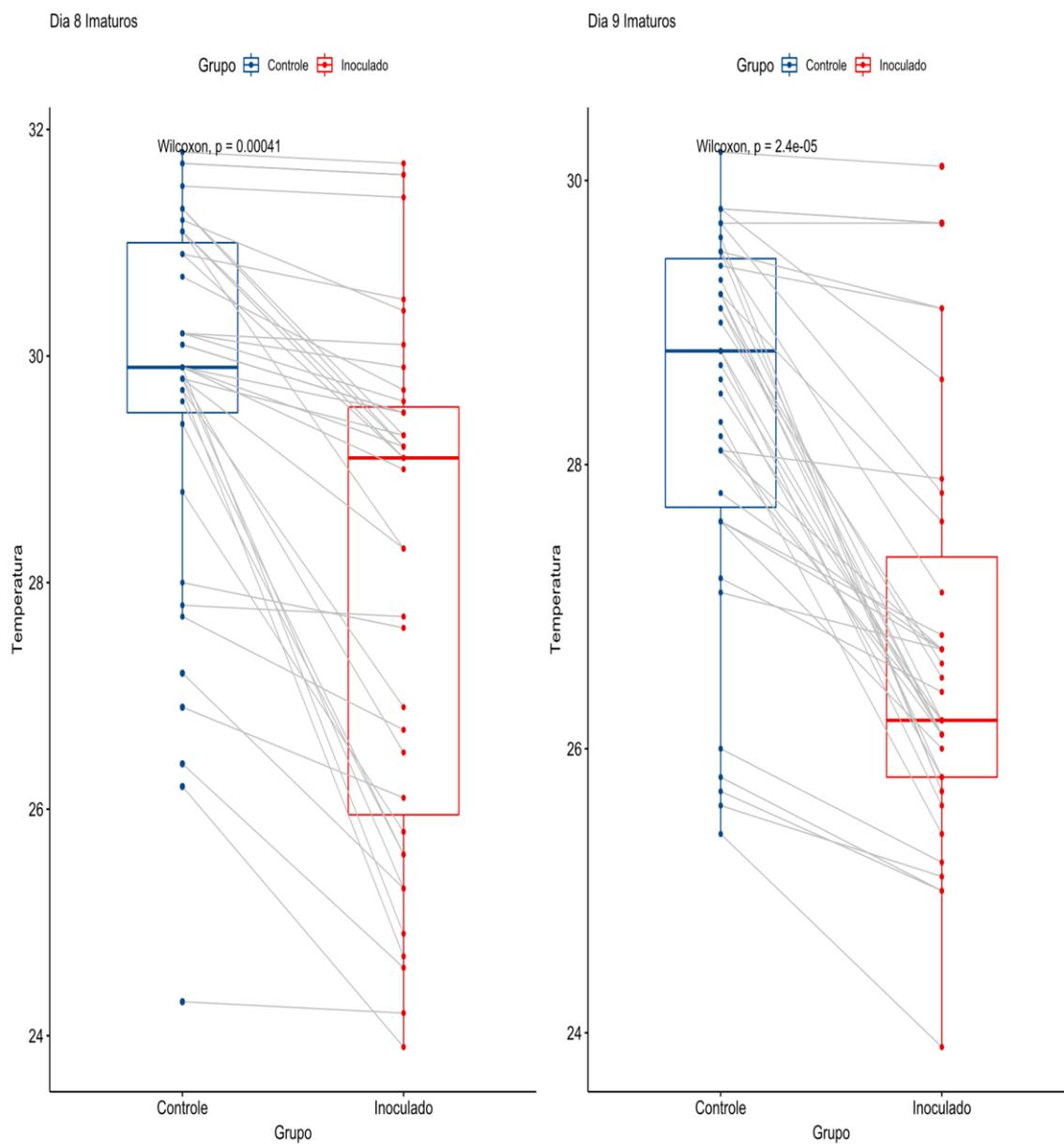


Figura 16. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos imaturos para o 8 e 9 dias após a inoculação.

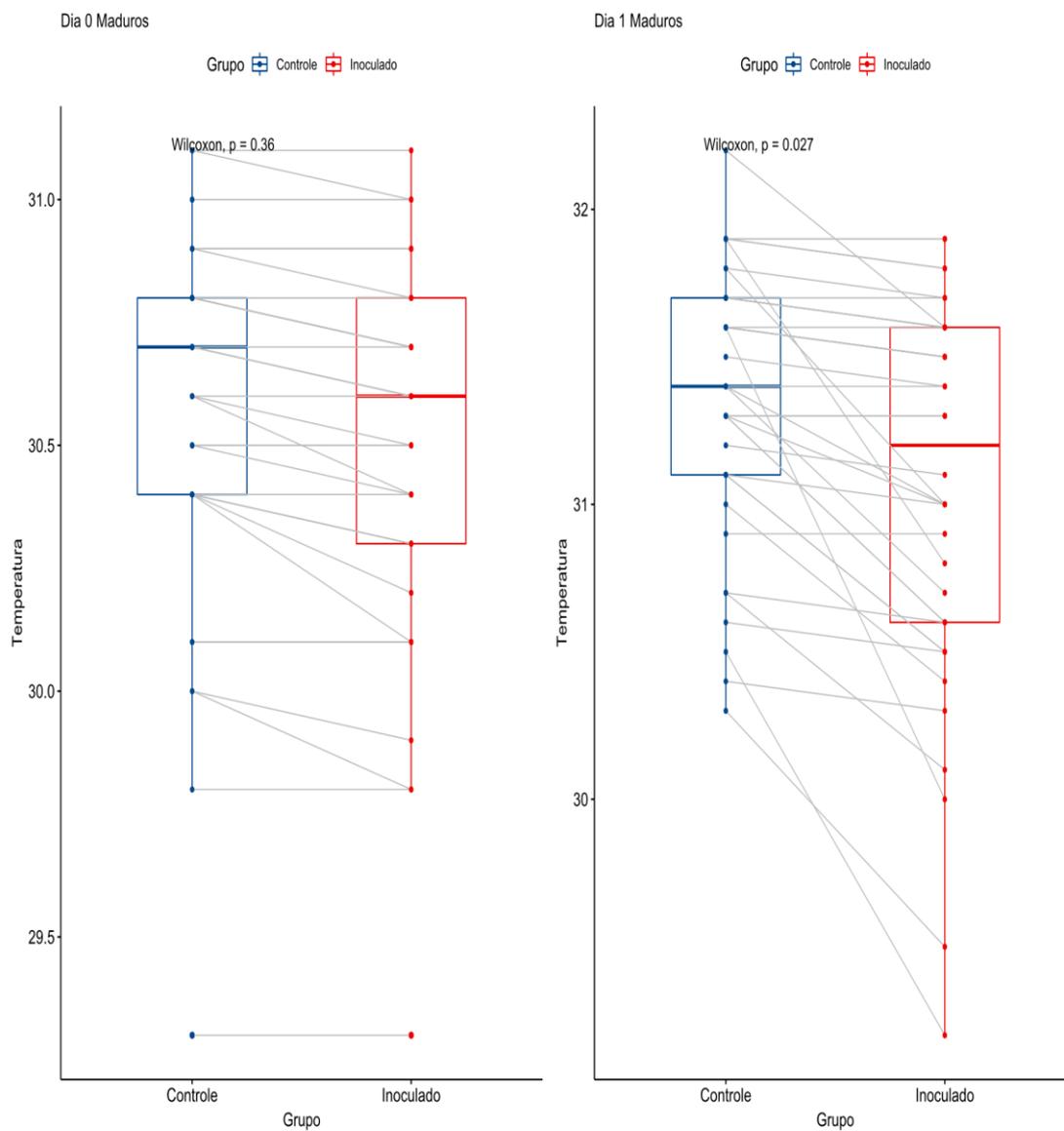


Figura 17. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 0 e 1 dias após a inoculação.

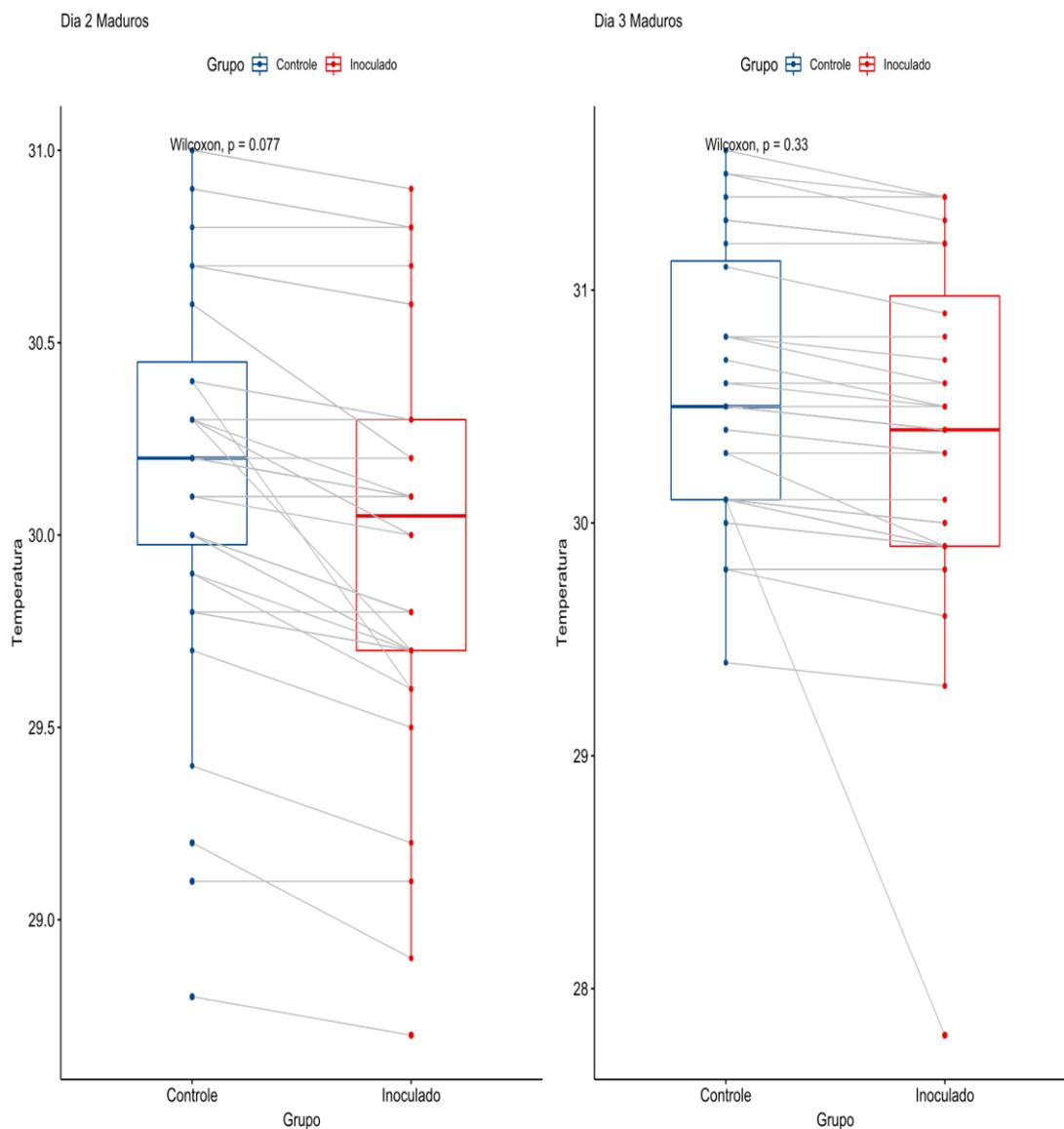
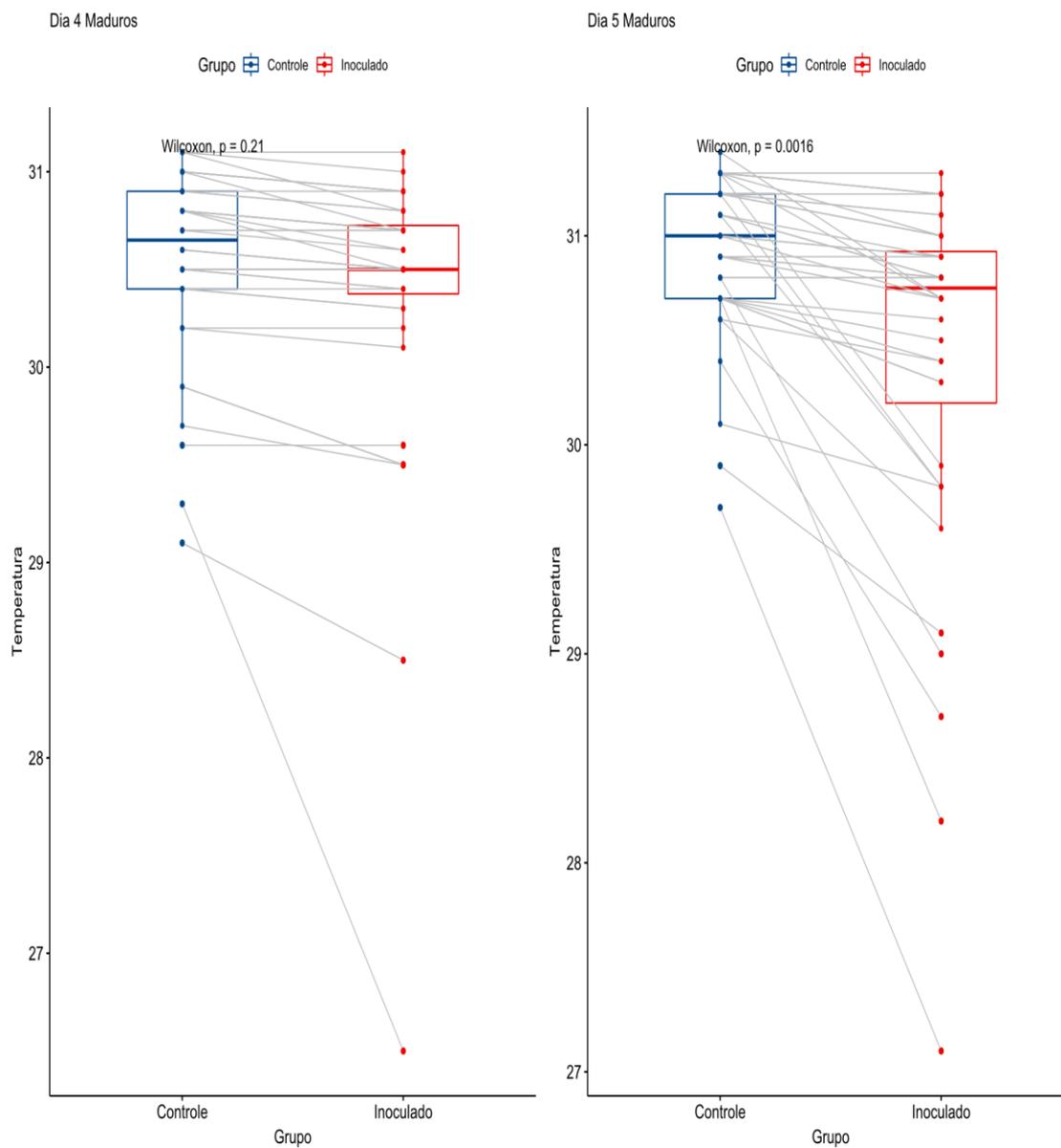


Figura 18. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 2 e 3 dias após a inoculação.



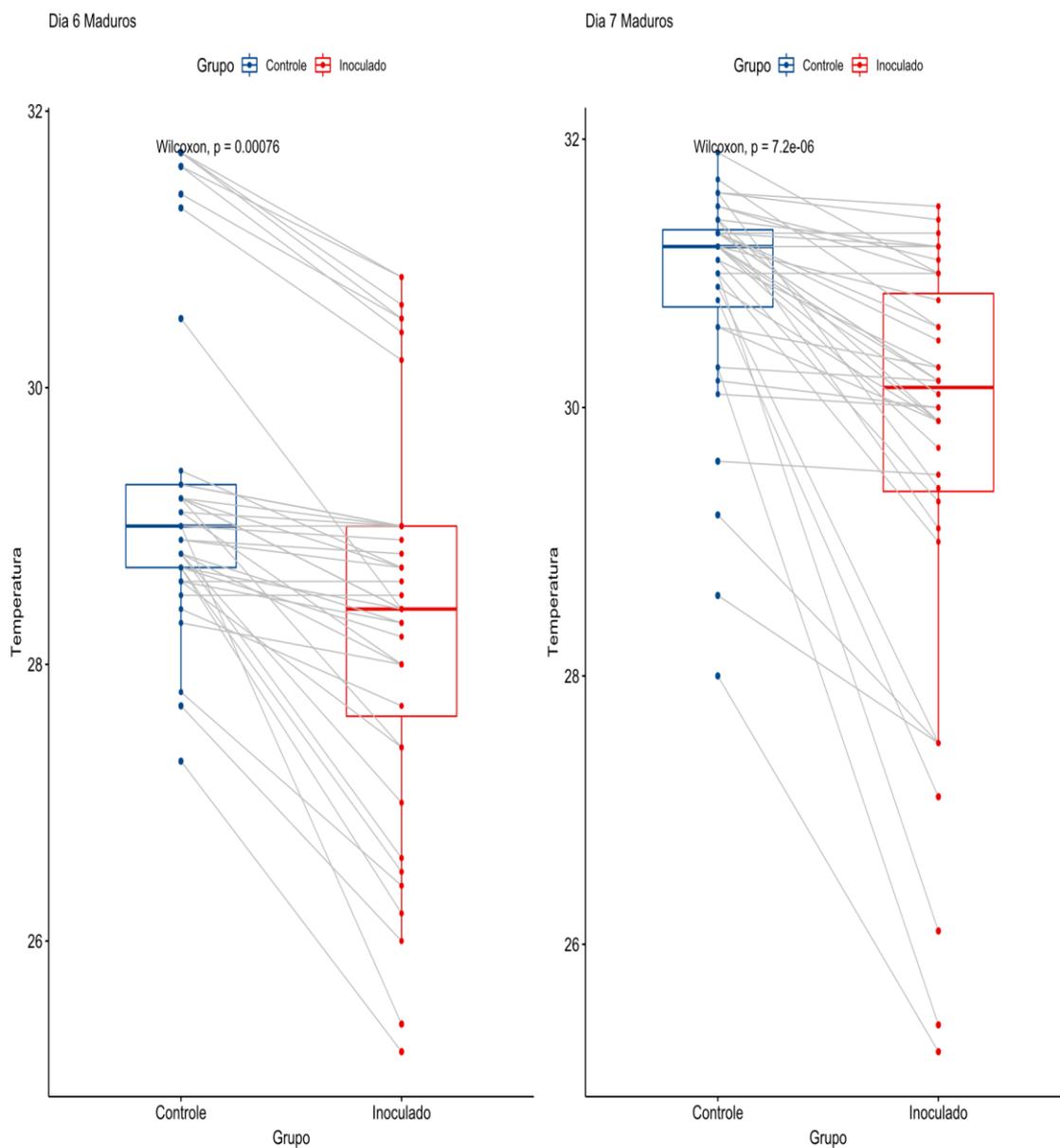


Figura 20. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 6 e 7 dias após a inoculação.

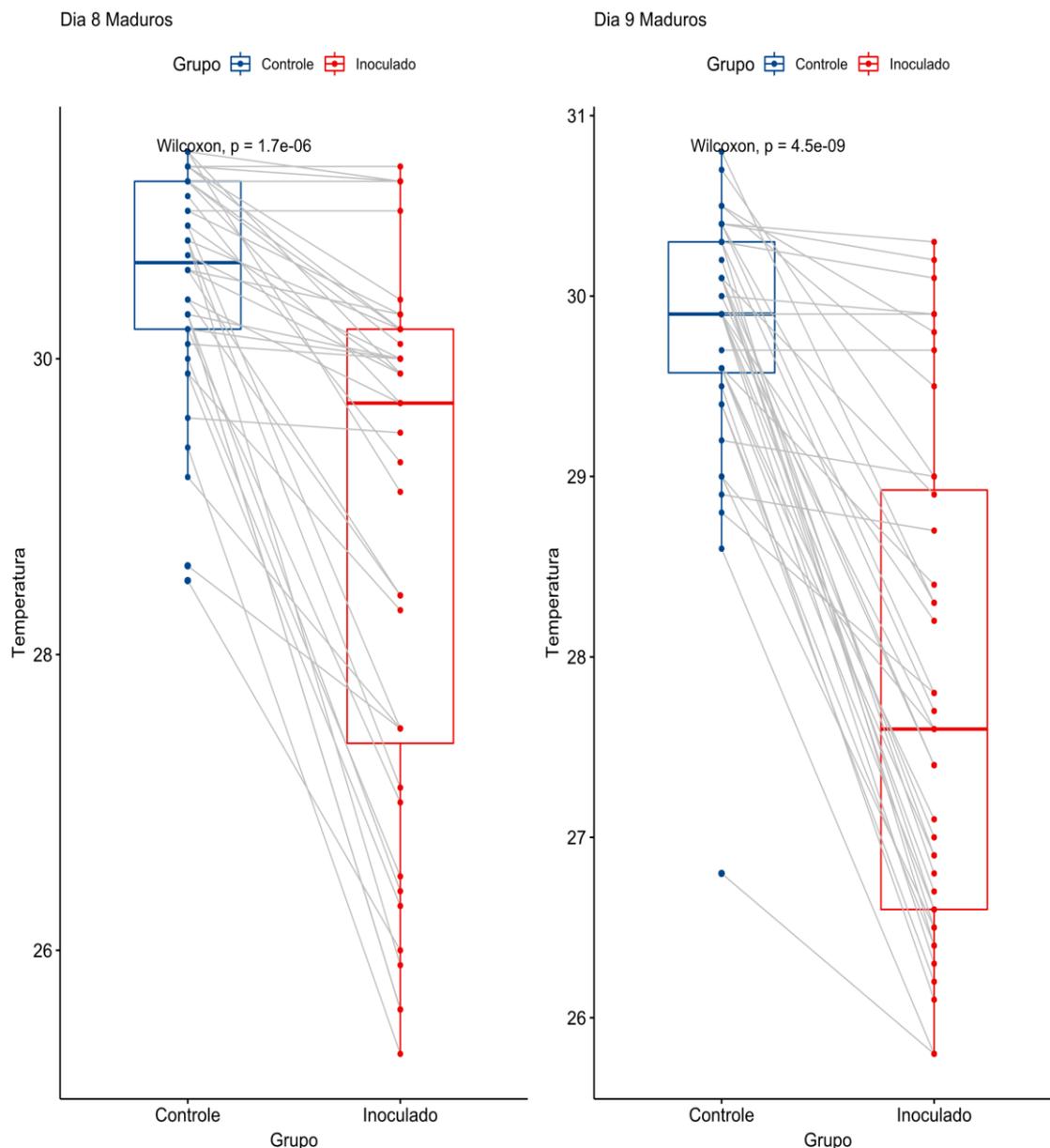


Figura 21. Teste de Mann-Whitney entre a temperatura da área sintomática com a área assintomática em frutos maduros 8 e 9 dias após a inoculação.

Os genótipos de *Capsicum* UENF 1765, UENF 2078, UENF 2110, UENF 2111 e UENF 2112 foram estudados por Alencar (2018) sendo considerados suscetíveis à antracnose nos dois estádios de maturação. Os genótipos UENF 2078 e UENF 1775 foram considerados suscetíveis e UENF 1381 resistente à antracnose (Alencar, 2018; Geronimo, 2018). É importante observar que o genótipo UENF 2111 considerado suscetível finalizaram o nono dia com o diferencial de temperatura de

0,93°C e 1,1°C em frutos imaturos e maduros, respectivamente. Isso demonstra que valores de diferenciais de temperatura próximos a 1°C em *Capsicum* spp. denotam acessos suscetíveis. O acesso UENF 1381 obteve os menores valores de diferencial de temperatura nos nove dias de avaliação tanto em estágio imaturo quanto maduro, o que concorda com os menores valores de AACPD registrados a olho nu pela escala proposta por Araújo et al. (2022).

Trabalhando com feijão, Andrade (2020) verificou que o diferencial de temperatura diminuiu do dia zero até o segundo dia, posteriormente subiu até o sétimo dia e posteriormente caiu novamente até o décimo terceiro dia. No presente trabalho, verificou-se que também houve uma oscilação no diferencial de temperatura, possivelmente causada por fatores ambientais e pela presença de peptídeos antimicrobianos tais como o IIFFCa na qual demonstrou atividade antifúngica no combate à antracnose em pimentão (Maracahipes et al., 2019).

Comparando a área sintomática com a área assintomática de todos os genótipos observou-se que a região sintomática sempre é menor e estatisticamente significativa pelo teste Mann-Whitney a partir do quinto dia após a inoculação em frutos imaturos e maduros. Comparando individualmente cada acesso nota-se que todos os genótipos obtiveram diferenças significativas de temperatura entre a área sintomática e assintomática.

6. DISCUSSÃO

6.1. Escala de notas

A discrepância na concordância observada entre os avaliadores para as variáveis Nota9, AACPD e PI em frutos imaturos (sem significância) e frutos maduros (significância) possivelmente está relacionada com um controle genético distinto para a resistência em frutos imaturos e maduros (Giacomin et al., 2020). Genes diferentes controlando resposta de resistência/suscetibilidade em órgãos distintos da planta já foram observados em outros patossistemas, como, por exemplo, em feijoeiro (Rodrigues et al., 1999; Santos et al., 2003). Em *Capsicum* pesquisas vêm demonstrando a expressão diferencial em diferentes estádios de maturação dos frutos verificados em estudos de herança e via transcriptoma (Almeida et al., 2020; Baba et al., 2020; Giacomin et al., 2020).

Para PL houve efeito significativo entre avaliadores e entre escalas para frutos imaturos e maduros. Na escala de Montri et al. (2009) o aparecimento de acérvulos pode ser representado pela nota 3 e é obrigatória na nota 5. Pela escala S, a definição de avaliação para o surgimento dos sinais é mais precisa, sendo atribuído a partir da nota 7, em função da presença de estruturas de reprodução do patógeno devido ao estágio avançado da doença. O período latente constitui um importante parâmetro epidemiológico entre a inoculação e a esporulação do patógeno, sendo quanto maior valor, menor será o grau de infecção na planta (Jeger, 2004; Marquez et al., 2007; Amorim et al., 2011). No melhoramento de

plantas o período latente tem o papel de classificar os genótipos quanto ao nível de resistência uma vez que maiores valores de PL resultarão em menores graus de infecção do patógeno.

Independente da escala, não foi observada uma alta concordância dos avaliadores pouco experientes com o avaliador experiente tanto para frutos imaturos quanto maduros. A alta correlação observada entre o avaliador A e as duas escalas testadas demonstrou a importância da experiência desse avaliador com o patossistema para frutos imaturos e maduros. Isso mostra a relevância do papel do avaliador no processo de identificação de plantas resistentes, seja na busca por fontes de resistência ou durante as etapas de desenvolvimento de um programa de melhoramento. A escolha de mais de um avaliador, dependendo das variáveis analisadas, pode comprometer a seleção de plantas. Porém, em muitos programas de melhoramento que lidam com grande número de plantas e muitas gerações a indicação e participação de vários avaliadores é uma etapa muito importante para viabilizar múltiplas avaliações. Destaca-se, portanto, a necessidade de treinamento de equipes multidisciplinares que possam atuar no programa de melhoramento para resistência à antracnose em pimentões e pimentas que estejam aptos a reconhecer as diferentes fases da doença manifestada nos frutos imaturos e maduros. Adicionalmente, o uso de algoritmos e sistemas de seleção baseados em inteligência computacional e análise de imagens poderão ter um papel importante na automação da identificação de resistência em plantas.

Nota-se que pela escala de Montri et al. (2009) e pela escala S o PI tem correspondência quando as escalas recebem nota 1 e 2, respectivamente. O período de incubação é uma das etapas mais difíceis de identificar, pois muitas vezes é necessário inserir uma leve pressão no fruto para verificar se existe ou não lesão decorrente da antracnose. Nota-se que os valores de confiabilidade e concordância para o período de incubação foram baixos em frutos imaturos e maduros quando comparado o avaliador experiente com os menos experientes. Como a inoculação foi realizada por aspersão, o fungo teve de passar pela etapa de infecção, colonizar o tecido do hospedeiro, caracterizado pelo encharcamento e realizar o processo de reprodução, definido pela presença dos acérvulos para, posteriormente, com auxílio do vento ou chuva disseminar para outra planta saudável. A grande parte dos trabalhos visando identificar genótipos resistentes em

programas de melhoramento de *Capsicum* spp. focam na metodologia por microinjeção (Bento et al., 2017; Alencar 2018; Baba et al., 2020; De Almeida et. al., 2020; Araújo 2020). No entanto, genótipos que possuam mais defesas constitutivas podem ser retirados de programas de melhoramento devido à quebra da primeira linha de defesa das plantas. A doença em condições de campo é propagada pela disseminação do inóculo naturalmente por meio do vento e da chuva, e é beneficiada pela ocorrência de ferimentos nos frutos. A inoculação por aspersão simula de modo mais próximo ao que ocorre na natureza em termos de infecção pelo patógeno.

A escala S possui sete níveis de severidade com notas que vão do 1 ao 9, contra seis níveis de severidade e notas que vão do 0 ao 9 da escala de Montri et al. (2009). Por isso a escala S torna-se mais escalonada e com maior possibilidade de atender os pressupostos da ANOVA, além de ser mais precisa na avaliação da severidade da doença. Entretanto, ambas as escalas para avaliar frutos inoculados com antracnose obtiveram resultados similares de concordância para Nota9 e AACPD em frutos imaturos e maduros. Isso demonstra que ambas as escalas, apesar de serem desenvolvidas para a fenotipagem de frutos inoculados por microinjeção, podem ser usadas para fenotipar frutos inoculados pela metodologia de aspersão.

Os valores de Kappa variando de 0 a 0,20 indicam nenhuma confiabilidade, de 0,21 a 0,39 indicam uma mínima confiabilidade, de 0,40 a 0,59 uma fraca confiabilidade, de 0,60 a 0,79 uma moderada confiabilidade, de 0,80 a 0,90 uma forte confiabilidade, e acima de 0,90 uma confiabilidade quase perfeita (Mchugh, 2012). Nota-se que com base nos valores de concordância entre avaliadores para as duas escalas não se justifica colocar avaliadores pouco experientes para avaliar a antracnose considerando as variáveis período de incubação e período latente. Entretanto, para as variáveis AACPD e nota9 a concordância de avaliadores pouco experientes com o avaliador experiente foi forte, demonstrando que as duas escalas e avaliadores mesmo sem experiência podem contribuir na avaliação de um grande número de genótipos, considerando a avaliação por aspersão em frutos imaturos e maduros. É importante salientar que em programas de melhoramento genético de plantas ranquear genótipos com melhor desempenho da maneira mais fidedigna possível é muito importante. No caso da fenotipagem de doenças, geralmente um grande número de plantas precisam ser avaliadas e o trabalho de

dois, três ou mais avaliadores não é incomum. Entretanto, é preciso que as avaliações feitas pelos diferentes participantes estejam concordantes de modo a permitir uma correta estimativa dos parâmetros genéticos e seja possível direcionar corretamente os cruzamentos ou métodos de melhoramento a serem utilizados.

6.2. Análises termográficas

Os sintomas da antracnose em frutos de *Capsicum* são lesões necróticas, arredondadas, deprimidas, de cor marrom a preta, geralmente úmidas e com presença de conídios podendo em muitos casos gerar podridão do fruto (Montri et al., 2009; Liu et al., 2016; Saxena et al., 2016). Esses sintomas se devem ao fato do patógeno possuir estruturas como o apressório para penetrar no tecido do hospedeiro, colonizar o tecido celular de onde absorve nutrientes liberando toda a água presente na célula e conseqüentemente colapsando toda a epiderme do fruto (Jeffries et al., 1990). Por aumentar o conteúdo de água no tecido vegetal de áreas sintomáticas a temperatura diminui consideravelmente a ponto de chegar próximo a 6°C a diferença de temperatura comparando com áreas assintomáticas no mesmo fruto. Zhu et al. (2018) trabalhando com trigo e utilizando o fungo *Puccinia triticina* mostraram que os diferenciais de temperatura variaram de 0,4 a 2°C. Em um estudo com a cultura da uva Zia-Khan et al. (2022) encontraram um aumento de 3,2°C na temperatura do dossel de folhas indicando a presença de míldio antes dos sintomas visíveis.

A forma ambientalmente mais segura, econômica e ecológica para a redução do uso de defensivos é o uso de cultivares resistentes à antracnose, entretanto até o momento não há cultivares resistentes. Considerando os genótipos utilizados no estudo suscetíveis à antracnose em frutos imaturos e maduros e os diferenciais de temperatura sendo maiores que 1°C entre a área sintomática e assintomática indicam que está ocorrendo extravasamento celular, muitas vezes com presença de água na epiderme do tecido. Apenas o genótipo UENF 1381, identificado no trabalho de Bento et al. (2017) como resistente em frutos imaturos e moderadamente resistente em frutos maduros, manteve níveis de diferencial de temperatura baixos até o último dia de avaliação indicando ser uma referência para uso na avaliação de resistência utilizando imagens térmicas com *C. scovillei*.

O uso da termografia por infravermelho também tem potencial de possibilitar a identificação de lotes ou frutos com problemas fitossanitários dos frutos de pimentas e pimentões colhidos e levados às distribuidoras, supermercados e feiras. No presente trabalho foi identificado que em frutos imaturos houve diferença para o diferencial de temperatura um dia antes dos sintomas visíveis aparecerem demonstrando a eficiência no diagnóstico precoce da doença principalmente por ser um produto perecível. Outro fato importante é o aumento progressivo do diferencial de temperatura ao longo dos dias nos dois estádios de maturação devido ao avanço do patógeno no tecido do hospedeiro levando conseqüentemente ao crescimento da área lesionada.

Em programas de melhoramento de pimentas e pimentões o processo de avaliação de frutos à reação ao *C. scovillei* é laborioso e caro. A fenotipagem de um grande número de plantas em condições de campo ou laboratório é sempre exaustivo e demanda muita mão de obra. Contudo, com o auxílio de imagens termográficas é possível avaliar centenas de frutos ou folhas de forma mais acurada, precisa e rápida. Pode-se selecionar os melhores genótipos ou excluir os piores e diminuir a quantidade de material a se avaliar, bem como utilizar a termografia como suporte na avaliação da antracnose.

Diferentes métodos de fenotipagem em plantas estão surgindo, cada vez mais rápidos, precisos e disponíveis aos melhoristas, fitopatologistas e também aos produtores. O uso da termografia possui vantagens por não ser destrutivo a planta e de rápida visualização e tomada de decisão. Portanto, o presente trabalho encoraja a utilização desta metodologia na avaliação do patossistema *Capsicum* – *Colletotrichum* com objetivo de auxiliar na detecção precoce e na triagem da doença através de diferenciais de temperatura.

7. CONCLUSÕES

Ambas as escalas podem ser empregadas para a avaliação da antracnose em frutos maduros e imaturos de *Capsicum* spp. inoculados via aspersão.

A análise termográfica é uma ferramenta robusta na identificação de sintomas em frutos do patossistema *Capsicum-Colletotrichum* inoculados por aspersão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alencar, A. A. da S. (2018). *Identificação de fontes de resistência à antracnose causada por Colletotrichum gloeosporioides em acessos de Capsicum chinense*. Dissertação, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Ali, A., Bordoh, P., Singh, A., Siddiqui, Y., & Droby, S. (2016). Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Protection*, 90, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.026>
- Almeida, L. B. de. (2015). *Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido*.
- Amorim, L., Rezende, J. A. M., & Bergamin Filho, A. (2011). *Manual de fitopatologia. Volume 1 - princípios e conceitos* (4th ed.). Editora Agronômica Ceres Ltda.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2018). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). <https://www.gov.br/anvisa/ptbr/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-emalimentos/arquivos/3770json-file-1>>. Acesso: 24/04/2022.
- Andrade, E. knoublauch vieiga. (2020). *Interação de Plantas com Patógeno e Praga: Métodos de Análises da resistência em Feijão-Comum, Tomate E Pimentão*. Tese, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

- Aragão, M. facundo. (2019). *Utilização de imagens termométricas na estimativa do estado hídrico do meloeiro cultivado em solo com e sem cobertura vegetal*. Dissertação, Universidade Federal do Ceará.
- Araújo, M. do S. B. de. (2020). *Associação do método genealógico e modelagem mista no melhoramento de Capsicum annuum var. annuum para resistência à antracnose e atributos produtivos e mapeamento de novos genes de resistência à mancha bacteriana*. Tese, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Araújo, M. do S. B., Sudré, C. P., Graça, G. A. da, Alencar, A. A. da S., Geronimo, I. G. da C., & Rodrigues, R. (2022). A new approach to quantify anthracnose symptoms in inoculated *Capsicum* spp. fruits. *Tropical Plant Pathology*.
- Baba, V. Y., Powell, A. F., Ivamoto-Suzuki, S. T., Pereira, L. F. P., Vanzela, A. L. L., Giacomini, R. M., Strickler, S. R., Mueller, L. A., Rodrigues, R., & Gonçalves, L. S. A. (2020). Capsidiol-related genes are highly expressed in response to *Colletotrichum scovillei* during *Capsicum annuum* fruit development stages. *Scientific Reports*, 10(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68949-5>
- Barón, M., Pineda, M., & Pérez-Bueno, M. L. (2016). Picturing pathogen infection in plants. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 71(9–10), 355–368. <https://doi.org/10.1515/znc-2016-0134>
- Bento, C. S., de Souza, A. G., Sudré, C. P., Pimenta, S., & Rodrigues, R. (2017). Multiple genetic resistances in *Capsicum* spp. *Genetics and Molecular Research*, 16(3). <https://doi.org/10.4238/gmr16039789>
- Campbell, C. L., & Madden, L. V. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley Sons.
- Cardoso, R., Ruas, C. F., Giacomini, R. M., Ruas, P. M., Ruas, E. A., Barbieri, R. L., Rodrigues, R., & Gonçalves, L. S. A. (2018). Genetic variability in Brazilian *Capsicum baccatum* germplasm collection assessed by morphological fruit traits and AFLP markers. *PLoS ONE*, 13(5), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196468>

- Costa, J. M., García-Tejero, I. F., & Chaves, M. (2015). O uso da termografia na agricultura moderna. *Revista Da APH (Associação Portuguesa de Horticultura)* Nº 113, December, 30–34. <https://www.researchgate.net/publication/282943605>
- Costa, J. Miguel, Grant, O. M., & Chaves, M. M. (2013). Thermography to explore plant-environment interactions. *Journal of Experimental Botany*, 64(13), 3937–3949. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert029>
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., & Crous, P. W. (2012). The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 37–113. <https://doi.org/10.3114/sim0010>
- De Almeida, C. L. P., dos Santos Bento, C., Sudré, C. P., Pimenta, S., Gonçalves, L. S. A., & Rodrigues, R. (2020). Genotype-Ideotype distance index and multivariate analysis to select sources of anthracnose resistance in *Capsicum* spp. *European Journal of Plant Pathology*, 156(1), 223–236. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01879-9>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Erceg-Hurn, D. M., & Mirosevich, V. M. (2008). Modern Robust Statistical Methods: An Easy Way to Maximize the Accuracy and Power of Your Research. *American Psychologist*, 63(7), 591–601. <https://doi.org/10.1037/0003-066X.63.7.591>
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., & Nogueira, D. A. (2021). *Package ‘ExpDes.pt.’* <https://doi.org/10.4236/am.2014.519280>.Encoding
- Fukuji, K. K. N. (2020). *Termografia e espectrometria na fenotipagem de variedades locais de feijoeiro quanto a reação ao cretamento bacteriano comum*. Dissertação, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Gamer, M., Lemon, J., & Singh, I. F. P. (2019). *irr: Various Coefficients of Interrater Reliability and Agreement* (0.84.1). <https://cran.r-project.org/package=irr>

- García-Tejero, I. F., Hernández, A., Padilla-Díaz, C. M., Diaz-Espejo, A., & Fernández, J. E. (2017). Assessing plant water status in a hedgerow olive orchard from thermography at plant level. *Agricultural Water Management*, *188*, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.04.004>
- Geronimo, I. G. da C. (2018). *Melhoramento de Capsicum annuum visando resistência à antracnose: caracterização de isolados de Colletotrichum spp., herança da resistência e proposta de série diferenciadora*. Tese, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Giacomin, R. M., Ruas, C. de F., Moreira, A. F. P., Guidone, G. H. M., Baba, V. Y., Rodrigues, R., & Gonçalves, L. S. A. (2020). Inheritance of anthracnose resistance (*Colletotrichum scovillei*) in ripe and unripe *Capsicum annuum* fruits. *Journal of Phytopathology*, *168*(3), 184–192. <https://doi.org/10.1111/jph.12880>
- Godyń, D., Herbut, E., & Walczak, J. (2013). Infrared thermography as a method for evaluating the welfare of animals subjected to invasive procedures - A review. *Annals of Animal Science*, *13*(3), 423–434. <https://doi.org/10.2478/aoas-2013-0027>
- Gowen, A. A., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., McDonnell, K., & O'Donnell, C. P. (2010). Applications of thermal imaging in food quality and safety assessment. *Trends in Food Science and Technology*, *21*(4), 190–200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.12.002>
- <https://www.r-project.org/>. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. <https://www.r-project.org/>
- Jafari, M., Minaei, S., & Safaie, N. (2017). Detection of pre-symptomatic rose powdery-mildew and gray-mold diseases based on thermal vision. *Infrared Physics and Technology*, *85*, 170–183. <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2017.04.023>
- Jeger, M. J. (2004). Analysis of disease progress as a basis for evaluating disease management practices. *Annual Review of Phytopathology*, *42*(51), 61–82. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140427>

- Kaplan, H. (2009). Practical Applications of Infrared Thermal Sensing and Imaging Equipment, Third Edition. In *Practical Applications of Infrared Thermal Sensing and Imaging Equipment, Third Edition*. <https://doi.org/10.1117/3.725072>
- Kassambara, A. (2020). *Ggpubr: "Ggplot2" Based Publication Ready Plots*. (0.4.0). <https://cran.r-project.org/package=ggpubr>
- Kassambara, A. (2021). *rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests* (0.7.0).
- Khanal, S., Fulton, J., & Shearer, S. (2017). An overview of current and potential applications of thermal remote sensing in precision agriculture. *Computers and Electronics in Agriculture*, 139, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.05.001>
- Lamichhane, J. R., Dachbrodt-Saaydeh, S., Kudsk, P., & Messéan, A. (2016). Conventional Pesticides in Agriculture: Benefits Versus Risks. *Plant Disease*, 100(1), 10–24. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS-05-15-0574-FE>
- Liu, N., Deng, Z., Wang, H., Luo, Z., Gutiérrez-Jurado, H. A., He, X., & Guan, H. (2020). Thermal remote sensing of plant water stress in natural ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 476(April), 118433. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118433>
- Machado, E. L., & Santos, P. C. dos. (2017). Food contaminated by pesticides : a brazilian situation overview Contaminação de Alimentos por Pesticidas : Uma Análise do Caso Brasileiro. *Organizações Rurais & Agroindustriais*, 19(2), 75–83.
- Mahlein, A.-K. (2016). Present and Future Trends in Plant Disease Detection. In *Plant Disease* (Vol. 100, Issue 2).
- Mahlein, A. K., Alisaac, E., Al Masri, A., Behmann, J., Dehne, H. W., & Oerke, E. C. (2019). Comparison and combination of thermal, fluorescence, and hyperspectral imaging for monitoring fusarium head blight of wheat on spikelet scale. *Sensors (Switzerland)*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/s19102281>

- Mahlein, A. K., Steiner, U., Hillnhütter, C., Dehne, H. W., & Oerke, E. C. (2012). Hyperspectral imaging for small-scale analysis of symptoms caused by different sugar beet diseases. *Plant Methods*, 8(1), 1–13.
- Maracahipes, Á.C., Taveira, G.B., Sousa-Machado, L.Y., Machado, O.L.T., Rodrigues, R., Carvalho, A.O., Gomes, V.M. (2019) Characterization and antifungal activity of a plant peptide expressed in the interaction between *Capsicum annuum* fruits and the anthracnose fungus. *Bioscience Reports*, 39, 1-12.
- Marquez, M. L., Terán, H., & Singh, S. P. (2007). Selecting common bean with genes of different evolutionary origins for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. *Crop Science*, 47(4), 1367–1374. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.12.0769>
- McHugh, M. L. (2012). Lessons in biostatistics interrater reliability: the kappa statistic. *Biochemica Medica*, 22(3), 276–282. <https://hrcak.srce.hr/89395>
- McManus, C., Tanure, C. B., Peripolli, V., Seixas, L., Fischer, V., Gabbi, A. M., Menegassi, S. R. O., Stumpf, M. T., Kolling, G. J., Dias, E., & Costa, J. B. G. (2016). Infrared thermography in animal production: An overview. *Computers and Electronics in Agriculture*, 123, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.01.027>
- Mendiburu, F. De. (2020). *Package 'agricolae' Statistical Procedures for Agricultural Research*.
- Menezes, M. (2013). Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. *Anais Da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, 3(0), 170–179.
- Mongkolporn, O., & Taylor, P. W. J. (2018). Chili anthracnose: *Colletotrichum* taxonomy and pathogenicity. *Plant Pathology*, 67(6), 1255–1263. <https://doi.org/10.1111/ppa.12850>
- Noguchi, K., Gel, Y. R., Brunner, E., & Konietzschke, F. (2012). nparLD: An R Software Package for the Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in

Factorial Experiments . *Journal of Statistical Software*, 50(12).
<https://doi.org/10.18637/jss.v050.i12>

Oerke, E. C., Fröhling, P., & Steiner, U. (2011). Thermographic assessment of scab disease on apple leaves. *Precision Agriculture*, 12(5), 699–715.
<https://doi.org/10.1007/s11119-010-9212-3>

Park, S., Jeong, W. Y., Lee, J. H., Kim, Y. H., Jeong, S. W., Kim, G. S., Bae, D. W., Lim, C. S., Jin, J. S., Lee, S. J., & Shin, S. C. (2012). Determination of polyphenol levels variation in *Capsicum annuum* L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 130(4), 981–985.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.026>

Pedersen, T. L. (2020). *patchwork: The Composer of Plots* (1.1.1). <https://cran.r-project.org/package=patchwork>

Rodrigues, R., Leal, N. R., Pereira, M. G., & Lam-Sánchez, A. (1999). Combining ability of *Phaseolus vulgaris* L. for resistance to common bacterial blight. *Genetics and Molecular Biology*, 22(4), 571–575. <https://doi.org/10.1590/S1415-47571999000400018>

Santos, A. S., Bressan-Smith, R. E., Pereira, M. G., Rodrigues, R., & Ferreira, C. F. (2003). Genetic linkage map of *Phaseolus vulgaris* and identification of QTLs responsible for resistance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira*, 28(1), 5–10. <https://doi.org/10.1590/s0100-41582003000100001>

Saraiva, G. F. R., Andrade, R. da S., & Souza, G. M. (2014). Termografia por infravermelho como ferramenta de diagnóstico precoce de estresse hídrico severo em soja. *Agraria Academy*, 1(69), 14.

Saxena, A., Raghuwanshi, R., Gupta, V. K., & Singh, H. B. (2016). Chilli anthracnose: The epidemiology and management. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01527>

- Shah, D. a, & Madden, L. V. (2004). Nonparametric analysis of ordinal data. *Phytopathology*, *94*(1), 33–43.
- Shimizu, G. D., Marubayashi, R. Y. P., & Gonçalves, L. S. A. (2022). *Package ‘ AgroR ’* (Vol. 2, Issue 1). <https://doi.org/10.14393/ufu.te.2019.1244>
- Silva, S. A. M., Rodrigues, R., Gonçalves, L. S. A., Sudré, C. P., Bento, C. S., Carmo, M. G. F., & Medeiros, A. M. (2014). Resistance in *Capsicum* spp. to anthracnose affected by different stages of fruit development during pre- and postharvest. *Tropical Plant Pathology*, *39*(4), 335–341. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000400009>
- Singer, J. M., Poletto, F. Z., & Rosa, P. (2004). Parametric and nonparametric analyses of repeated ordinal categorical data. *Biometrical Journal*, *46*(4), 460–473. <https://doi.org/10.1002/bimj.200310045>
- Van Loon, L. C., Rep, M., & Pieterse, C. M. J. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, *44*, 135–162. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425>
- Viana, L. A., Zambolim, L., Sousa, T. V., & Tomaz, D. C. (2018). Potencial uso de câmera termal acoplada a vant para monitoramento de culturas. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, *7*(5), 1–2. <http://content.ebscohost.com/ContentServer.asp?EbscoContent=dGJyMNL80Sep7Q4y9f3OLCmr1Gep7JSsKy4Sa6WxWXS&ContentCustomer=dGJyMPGptk%2B3rLJNuePfgexy43zx1%2B6B&T=P&P=AN&S=R&D=buh&K=134748798%0Ahttp://amg.um.dk/~media/amg/Documents/Policies and Strategies/S>
- Viana, L. D. A., Tomaz, D. C., Martins, R. N., Rosas, J. T. F., Santos, F. F. L. dos, & Portes, M. F. (2019). Optical Sensors for Precision Agriculture: An Outlook. *Journal of Experimental Agriculture International*, *35*(2), 1–9. <https://doi.org/10.9734/jeai/2019/v35i230203>
- Wang, M., Ling, N., Dong, X., Zhu, Y., Shen, Q., & Guo, S. (2012). Thermographic visualization of leaf response in cucumber plants infected with the soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *61*, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.09.015>

- Wei, T., & Simko, V. (2021). *R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix* (0.92). <https://github.com/taiyun/corrplot>
- Wen, D. M., Chen, M. X., Zhao, L., Ji, T., Li, M., & Yang, X. T. (2019). Use of thermal imaging and Fourier transform infrared spectroscopy for the pre-symptomatic detection of cucumber downy mildew. *European Journal of Plant Pathology*, *155*(2), 405–416. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01775-2>
- Wickham, H. (2009). Elegant Graphics for Data Analysis: ggplot2. In *Applied Spatial Data Analysis with R*.
- Zhu, W., Chen, H., Ciechanowska, I., & Spaner, D. (2018). Application of infrared thermal imaging for the rapid diagnosis of crop disease. *IFAC-PapersOnLine*, *51*(17), 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2018.08.184>.