

MINISTERIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense*
Jacq.) À ANTRACNOSE (*Colletotrichum brevisporum*)

LEONOR CRISTINA SILVA SOUZA

MANAUS, AMAZONAS
MARÇO, 2018

LEONOR CRISTINA SILVA SOUZA

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense*
Jacq.) À ANTRACNOSE (*Colletotrichum brevisporum*)

ORIENTADOR: ROGÉRIO EIJI HANADA, Dr.

COORIENTADOR: CÉSAR AUGUSTO TICONA BENAVENTE, Dr.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agricultura no Trópico Úmido.

MANAUS, AMAZONAS
MARÇO, 2018

Folha de aprovação

A Banca Julgadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

TÍTULO: "RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense*) À ANTRACNOSE (*Colletotrichum brevisporum*)".

AUTOR(A):

LEONOR CRISTINA SILVA SOUZA

BANCA JULGADORA:

Aricleia de M. Catarino

Dr (a) **ARICLEIA MORAES CATARINO** (INPA)
(Membro)

Jânia Lilia de Silva Bentes Lima

Dr (a) **JÂNIA LILIA BENTES** (UFAM)
(Membro)

Solange de Melo Veras

Dr (a) **SOLANGE DE MELO VERAS** (UFAM)
(Membro)

Manaus, 15 de Março de 2018

S719 Souza, Leonor Cristina Silva

Resistência de genótipos de pimenta-de-cheiro (*capsicum chinense jacq.*) à Antracnose (*colletotrichum brevisporum*) / Leonor Cristina Silva Souza . --- Manaus: [s.n.], 2018.
89 f.: il.

Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2018.
Orientador: Rogério Eiji Hanada.
Coorientador: César Augusto Ticona Benavente.
Área de concentração: Agricultura no Trópico úmido.

1. Pimenta-de-cheiro. 2. Caracterização morfoagronômica. 3. Controle genético. I. Título.

CDD 583.952

Lembrem-se: aquele que semeia pouco, também colherá pouco, e aquele que semeia com fartura, também colherá fartamente. Cada um dê conforme determinou em seu coração, não com pesar ou por obrigação, pois Deus ama quem dá com alegria.

Coríntios 9, 6-11.

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-graduação em Agricultura no Trópico Úmido, aos professores pela dedicação ao ensino e a pesquisa, pela doação do conhecimento, apoio e incentivo.

Aos pesquisadores Dr. Elliot W. Kitajima, da Esalq - USP, Dr. Jorge A. M. Rezende e Dra Viviane M. Camelo-Garcia do Departamento de Fitopatologia da Esalq, que realizaram os trabalhos de identificação molecular dos vírus, Dr. Valdir A. Yuki, virologista do Instituto Agronômico de Campinas, que identificou o vetor dos vírus.

Ao meu orientador Dr. Rogério Hanada, pela orientação e credibilidade à minha pessoa e ao meu trabalho.

Ao meu coorientador Dr. César Ticona pela orientação nos dados estatísticos.

Aos técnicos Luiz e Marilene pelos ensinamentos e apoio nos trabalhos de laboratório e campo.

Aos amigos de turma que estiveram presentes do início ao fim dessa trajetória, em especial Ana, Ligia, Laysa, Maísa e Matheus.

Aos amigos e colegas de trabalho Afonso, Glaudecir, Arlete, Nelson, Alexandre, Leon e Digão que me deram suporte para conclusão desse trabalho e todos aqueles que me foram solidários nesta fase de formação.

Aos meus pais Maria e José, minha irmã Isabel pelo conforto da família, pelo apoio e incentivo.

Ao meu esposo Fabiano pelo companheirismo, dedicação e paciência.

RESUMO

A antracnose é a enfermidade mais importante da pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*), podendo ocasionar perdas de mais de 50% da produção. A espécie *Capsicum chinense* é amplamente cultivada em áreas de terra firme no Amazonas e apresenta bastante relevância para o comércio de hortaliças do Estado. Apresenta alta diversidade genética e por isso, elevado potencial para uso no melhoramento genético. Frutos maduros de pimenta-de-cheiro foram obtidos das propriedades produtoras da cultura nos municípios de Iranduba, Manacapuru, Rio Preto da Eva e Presidente Figueiredo. Foram realizados experimentos em plântulas (Fase I) e em frutos destacados (Fase II). O primeiro foi conduzido em casa-de-vegetação em delineamento inteiramente casualizado com 102 genótipos e quatro repetições. As plântulas foram pulverizadas com o inóculo do isolado INPA 2787 (*Colletotrichum brevisporum*) na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} . Aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação foram realizadas avaliações de severidade da doença utilizando escala de notas (1=resistente a 6=altamente suscetível), e foram selecionados genótipos com resistência, os quais foram levados a campo. Os frutos de 28 genótipos foram colhidos para proceder-se ao segundo experimento, que foi conduzido para dois estádios de frutificação (imaturo e maduro), com 15 frutos cada. Os frutos foram inoculados com o patógeno e tiveram as suas áreas lesionadas pela antracnose mensuradas após 7 e 14 dias. Os resultados mostraram que as áreas lesionadas nos frutos imaturos variaram de 0,3 a 9,7 cm^2 e nos maduros as áreas variaram de 0,2 a 9,9 cm^2 . Os genótipos RPE41 e MPU29 indicaram resistência à antracnose, em ambos estádios. Também foi realizada a caracterização morfoagronômica dos frutos. Houve variabilidade para massa (5,58 a 13,74 g), comprimento [C] (4,08 a 8,16 cm), diâmetro [D] (1,74 a 2,54 cm), e relação C/D (1,88 a 4,70) do fruto. Adicionalmente foram identificadas nas folhas das pimenteiras a infecção natural por vírus, por microscopia eletrônica de transmissão e teste molecular, que confirmaram a presença dos vírus *Cucumber mosaic virus* e *Pepper mottle virus*, com transmissão por meio do vetor afídeo da espécie *Aphis gossypii*.

Palavras-chave: Controle genético, diversidade genética, caracterização morfoagronômica, vírus.

ABSTRACT

Anthracnose is the most important disease of the “pimenta-de-cheiro” (*Capsicum chinense*), which can cause losses of more than 50 % of the production. The species *C. chinense* is widely cultivated by farmers in the Amazon and it is relevant in the State’s vegetable trade. It presents high genetic diversity and therefore, high potential for use in crop breeding. Ripe red fruits were obtained from fields the crop produced of peppers in the districts of Iranduba, Manacapuru, Rio Preto da Eva and Presidente Figueiredo. Experiments were carried out on seedlings (step I) and on detached fruits (step II). The first was conducted in greenhouse in a completely randomized design with 102 genotypes and four replicates. Seedlings were inoculated with INPA 2787 isolate (*Colletotrichum brevisporum*) at the concentration of 10^6 spores mL⁻¹. At 7, 14 and 21 days after inoculation, disease severity evaluations were performed using scale of notes (1 = resistant to 6 = highly susceptible), and resistance genotypes were selected, which were taken to field. The fruits of 28 genotypes were harvested to proceed to the second experiment, which was conducted for two stage fruiting (immature and mature), with 15 replicates. The fruits were inoculated with the virulent pathotype and had their lesion size measured after 7 and 14 days. The results showed that lesion size in the immature fruits ranged from 0.3 to 9.7 cm² and size in the mature fruits ranged from 0.2 to 9.9 cm². The genotypes RPE41 and MPU 29 indicated resistance to anthracnose in both stages. Morphoagronomic characterization of fruits was also performed. There was variability for mass (5.58 to 13.74 g), length [C] (4.08 to 8.16 cm), diameter [D] (1.74 to 2.54 cm), and C/D ratio (1.88 to 4.70) of the fruit. In addition, a natural virus infection, transmission electron microscopy and molecular tests were identified in the peppermint leaves, confirming the presence of *Cucumber mosaic virus* and *Pepper mottle virus*, with transmission through the aphid vector of the species *Aphis gossypii*.

Key words: Genetic control, genetic diversity, morphoagronomic characterization, viruses.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Sintomas de antracnose (*Colletotrichum brevisporum* - isolado INPA 2787) no caule; a - aspecto do caule e ramos de pimenta-de-cheiro com sintomas de antracnose; b - visão microscópica das regiões necrosadas do caule com presença de acérvulos; c - visão microscópica da formação de setas e produção de conídios no tecido vegetal. 36
- Figura 2** - Sintomas iniciais da antracnose em folhas e pecíolo de plântulas de pimenta-de-cheiro. a - sintomas aos 7 DAI; b - sintomas aos 21 DAI do *Colletotrichum brevisporum* - isolado INPA 2787. Experimento em casa-de-vegetação. 36
- Figura 3** - Boxplot da severidade da antracnose em pimenta-de-cheiro aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação. 42
- Figura 4** - Frutos de pimenta-de-cheiro após sete dias de inoculação com (*Colletotrichum brevisporum*) a - fruto maduro resistente; b - fruto imaturo resistente, (I) inoculado com o patógeno; (C) controle, inoculado com água destilada. 44
- Figura 5** - [A - E] Sintomas de antracnose (*Colletotrichum brevisporum*) aos 14 DAI, em frutos de pimenta-de-cheiro após 14 dias de inoculação. 44
- Figura 6** - Características cultural e morfológica de *Colletotrichum brevisporum* isolados de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*). a - visão superior da colônia; b - visão reversa da colônia; c - apressórios dos tipos: oval (OV), irregular (IR) e clavado (CL); d - setas (S); e - conidióforos (CN) e células conidiogênicas (CO) e Hifa (H); f - conídios (C). Barra de escala=50 μ m. 54
- Figura 7** - [A-J] Caracterização morfológica dos frutos de pimenta-de-cheiro. a - PF25; b - RPE02; c - RPE33; d - IRA03; e - PF09; f - RPE41; g - IRA02; h - MPU29; i - IRA06; j - IRA01. 58
- Figura 8** - (A) - Micrografia eletrônica de transmissão de extrato foliar de *Capsicum chinense* com sintomas de infecção por vírus mostrando dois tipos de partículas, onde: a - partícula viral isométrica do CMV e b - partícula viral alongada-flexuosa do PepYMV. Barra de escala=100 nm. (B - D) - micrografia eletrônica de transmissão de corte ultrafino de folhas de *C. chinense* infectadas por vírus, apresentando inclusões citoplasmáticas cilíndricas: túbulos seccionados transversalmente (TT), 0,5 μ m, túbulos seccionados longitudinalmente (TL), 100 nm, e catavento (CV), 200 nm. 60
- Figura 9** - Detecção do *Cucumber mosaic virus* e *Potyvirus* mediante RT-PCR (MP), marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA (Invitrogen). (1 - 8) amostras de pimenta-de cheiro; (9) controle positivo: espinafre infectado com CMV e pimenta infectada com *Pepper yellow mosaic virus*; (10) controle negativo: água..... 61
- Figura 10** - Plantas cultivadas em campo na região de Manaus – AM, apresentando sintomas de viroses. a - bolhosidade; b – redução do limbo foliar; c – definhamento da planta; d - distorção foliar e mosaico amarelo. 62
- Figura 11** - Afídeos em diferentes estádios de desenvolvimento nas pimenteiras cultivadas à campo na região de Manaus-AM. Foto: Luiz Alberto 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Escala de avaliação de severidade da antracnose em folhas de pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i>).....	30
Tabela 2 - Oligonucleotídeos usados na RT-PCR.....	34
Tabela 3 - Análises de variâncias da severidade da antracnose, causada por <i>Colletotrichum brevisporum</i> , em genótipos de pimenta-de-cheiro avaliados aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação.....	38
Tabela 4 - Severidade da antracnose em escala de notas em plântulas de <i>Capsicum chinense</i> inoculadas com <i>Colletotrichum brevisporum</i> (isolado INPA 2787).....	39
Tabela 5 – Severidade da antracnose em área da lesão/cm ² de frutos imaturos de <i>Capsicum chinense</i> inoculados com <i>Colletotrichum brevisporum</i> (isolado INPA 2787).....	48
Tabela 6 - Severidade da antracnose em área da lesão/cm ² de frutos maduros de <i>Capsicum chinense</i> inoculados com <i>Colletotrichum brevisporum</i> (isolado INPA 2787).....	49
Tabela 7 - Avaliação de dois estádios de maturação de frutos sobre suas áreas lesionadas avaliadas aos 7 e 14 dias após a inoculação do <i>Colletotrichum brevisporum</i> em pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i>).....	50
Tabela 8 - Esporulação de <i>Colletotrichum brevisporum</i> (isolado INPA 2787) após 14 dias da inoculação) sob frutos de pimenta-de-cheiro, <i>Capsicum chinense</i>	52
Tabela 9 – Caracterização morfoagronômica de 28 genótipos de pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i>).	56
Tabela 10 - Características descritivas do formato e cor do fruto, hábito de crescimento da planta de 28 genótipos de pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i>).....	57

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Levantamento das áreas de coleta.....	80
Anexo 2 - Descritor do gênero <i>Capsicum</i> spp.	82
Anexo 3 - Metodologia para medição de áreas lesionadas.	83
Anexo 4 - Metodologia para contagem de conídios.....	84

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Centro de origem e domesticação de <i>Capsicum</i> spp.	12
2.2. <i>Capsicum chinense</i>	13
2.3 Importância econômica e produtividade de <i>Capsicum</i> spp.	16
2.4 <i>Colletotrichum</i> spp. associados a <i>Capsicum chinense</i>	19
2.5 Seleção de material genético do gênero <i>Capsicum</i> com resistência à antracnose.....	22
2.6 Vírus em <i>Capsicum</i> spp.....	24
3. OBJETIVO.....	27
3.1 Objetivo Geral.....	27
3.2 Objetivo Específicos	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Coleta dos genótipos de pimenta-de-cheiro	28
4.2 Reativação da patogenicidade do <i>Colletotrichum brevisporum</i> e obtenção da cultura monospórica e inóculos	28
4.3 Avaliação de resistência das plântulas de pimenta-de-cheiro à antracnose	29
4.4 Avaliação da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro.....	30
4.5 Caracterização cultural e morfológica do fungo	32
4.6 Caracterização dos genótipos de pimenta-de-cheiro	32
4.7 Identificação de vírus	33
4.7.1 Microscopia eletrônica de transmissão.....	33
4.7.2 Detecção de vírus por RT-PCR	34
5. RESULTADOS.....	35
5.1 Seleção de genótipos de pimenta-de-cheiro em propriedades produtoras da cultura.....	35
5.2 Confirmação da patogenicidade do isolado INPA 2787 (<i>Colletotrichum brevisporum</i>) ..	35
5.3 Severidade da antracnose em plântulas de pimenta-de-cheiro	36
5.4 Severidade da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro	44
5.5 Caracterização cultural e morfológica do isolado INPA 2787	53
5.6 Caracterização morfoagronômica dos frutos de <i>Capsicum chinense</i>	55
5.7 Identificação de vírus	59
5.7.1 Microscopia eletrônica de transmissão.....	59
5.7.2 Detecção de vírus por RT-PCR	61
6. CONCLUSÃO	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS.....	79

1. INTRODUÇÃO

A ‘pimenta-de-cheiro’ (*Capsicum chinense*) possui importância principalmente para os agricultores familiares do Amazonas, que obtêm sua renda com a venda dos frutos. Essas pimentas representam mais de 13% do valor de comercialização das hortaliças produzidas no Estado (IBGE 2006). Sendo tradicionalmente cultivada na região (Moreira *et al.* 2010), seja como mono ou policultura. No entanto, a produtividade é limitada com a perda de frutos devido à doença antracnose. Além da redução da produção, há depreciação no valor comercial e redução drástica no tempo de armazenagem podendo ocasionar perdas de até 50% (Hanada *et al.* 2011).

A disseminação do patógeno pode ocorrer, principalmente, por sementes infectadas e por respingos de água da chuva ou de irrigação (Correia 1984). O fungo sobrevive nos restos da cultura no campo, em plantas voluntárias e em outros hospedeiros (Gasparotto *et al.* 2014). A propagação do fungo é favorecida por condições de alta umidade e temperatura e, também, pela presença de ferimentos em órgãos suculentos (Bedendo *et al.* 1995).

A sintomatologia ocorre principalmente nos frutos, em qualquer estágio de maturação, com lesões concêntricas, marrom-escura, que evoluem para o necrosamento do tecido. Em algumas situações, pode-se observar necrose em botões florais, flores e a seca de frutos recém-formados (Töfoli *et al.* 2015). A principal forma de controlar a antracnose em plantios de pimenta-de-cheiro tem sido através do uso de fungicidas (AVRDC – The World Vegetable Center 2004).

Seleção de plantas com genes de resistência é uma importante ferramenta em busca de solucionar problemas fitossanitários causados pela antracnose em plantios de pimenta-de-cheiro. Para Lee *et al.* (2010) a introgressão de resistência pode ser a melhor maneira de controlar a antracnose, devido à possibilidade de selecionar genótipos com características de importância comercial.

No Amazonas muitos produtores desistem da cultura devido às perdas de produção e aos altos custos com insumos agrícolas para controlar a antracnose. Sendo assim, a busca por genótipos de pimenta-de-cheiro resistentes a doença é importante para

a sustentabilidade de sistemas de pequenos agricultores. Além disso, a dificuldade por parte dos produtores em identificar sintomas em mudas, aliada à carência de cultivares com um bom nível de resistência são fatores que favorecem a introdução da doença em novas áreas (Kososki *et al.* 2001).

É sabido na literatura que as pimentas (*Capsicum* spp.) são suscetíveis a um complexo de espécies de *Colletotrichum*, pelo menos onze espécies vêm sendo citadas por causar danos a cultivos de pimenta no mundo: *Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum fructicola*, *Colletotrichum siamense*, *Colletotrichum dematium*, *Colletotrichum boninense*, *Colletotrichum brevisporum*, *Colletotrichum cliviae* e *Colletotrichum scovillei* (Liu *et al.* 2016). No Estado do Amazonas já foram relatadas sete espécies de *Colletotrichum* causando antracnose em cultivos de pimenta-de-cheiro conforme mencionado por Almeida (2015). Mais recentemente, em 2017 a espécie *C. brevisporum* foi relatada como agente causal da antracnose em pimenta-de-cheiro, até então não havia sido referida no Estado do Amazonas nessa cultura (Almeida *et al.* 2017).

Os primeiros registros da antracnose causada por *C. brevisporum* foram em bromeliáceas do gênero *Neoregalia* sp. e *Pandanus pygmaeus* Thouars, na Tailândia (Noireung *et al.* 2012), de forma endofítica em *Lycium chinense* Miller, na Coreia (Paul *et al.* 2014), em mamão, *Carica papaya* L., (Vieira *et al.* 2013) e chuchu, *Sechium edule* Jacq. (Bezerra *et al.* 2016), ambos no Brasil. Em pimentas, até então, a antracnose havia sido descrita por Liu *et al.* (2016) e Silva *et al.* (2017) em pimentões, *Capsicum annum* L..

Segundo Silva *et al.* (2014) o primeiro passo para obtenção de cultivares resistentes a doenças é a identificação correta do patógeno e o entendimento dos seus mecanismos de colonização na planta, posteriormente, a identificação de fontes de resistência e a determinação do seu controle genético. A espécie *C. chinense* é uma espécie peculiar (Montri *et al.* 2009) porque conserva genes importantes (Fonseca *et al.* 2008) para obtenção de variedades resistentes à antracnose e também para a conservação da espécie, além de apresentar diversidade fenotípica visível na variedade de formatos, tamanhos, cores e pungências dos frutos (Nascimento Filho 2007).

Os programas de melhoramento de *Capsicum* spp. já identificaram genes de resistência à antracnose em *C. chinense* (Lee *et al.* 2010). Acessos como o ‘PBC 932’ da espécie *C. chinense* é resistente ao fungo *C. capsici* devido à expressão dos genes *co1* e *co2* (Pakdeevaporn *et al.* 2005; Mahasuk *et al.* 2009a). Além disso, esses genes podem atuar em diferentes estádios do fruto de pimentas, uma vez que *C. capsici* promove sintomas em maior grau em frutos maduros e *C. gloeosporioides* infecta tanto frutos verdes quanto maduros (Kim *et al.* 2008; Lee *et al.* 2010).

No entanto, ainda não está claro se todas as espécies de *Colletotrichum* são igualmente patogênicas a todos *Capsicum* spp. ou específicas de uma espécie (Liu *et al.* 2016). Isto devido à grande variabilidade inter e intra-específicas associada ao amplo perfil patogênico de *Colletotrichum* spp. (Reis *et al.* 2009). Este comportamento interfere em medidas de controle da doença. Por outro lado, o grande desafio têm sido selecionar cultivares com alta produção, protegidos contra estresses bióticos e abióticos e com melhores características de qualidade do fruto, de acordo com a finalidade para a indústria ou para o consumo *in natura* (Rêgo *et al.* 2011). Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo selecionar genótipos de pimenta-de-cheiro resistentes ao *C. brevisporum* e caracterizá-los morfológicamente, além de relatar infecções causadas por vírus.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Centro de origem e domesticação de *Capsicum* spp.

No gênero *Capsicum* são conhecidos 32 táxons, dentre os quais, cinco são domesticados: *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. chinense* Jacq., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* Ruiz et Pav. Três complexos são considerados: a) *annuum* com *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. galapagoense*; b) *baccatum* com *C. baccatum*, *C. praetermissum* e *C. tovarii* e c) *pubescens* com *C. pubescens*, *C. eximium* e *C. cardenasii* (Bosland e Votava 2012).

Com base em evidência de seu cultivo, em 7.000 a 5.000 aC., ou, pelo menos, sete mil anos atrás, as espécies de *Capsicum* já eram utilizadas, sendo, portanto, um dos mais antigos temperos usados pela humanidade (Andrews 1999). Seu centro de origem é apontado como sendo o Novo Mundo ou América (Pickersgill 1997). Admite-se, inicialmente que as sementes foram dispersas por meios naturais e transportadas pelo homem durante a migração pelo Estreito de Bering para a América e posteriormente para a Mesoamérica tornando-se pantrópica (Andrews 1999).

Uma combinação de provas arqueológicas, análises genéticas e distribuição moderna de cultivo levaram os pesquisadores a sugerir que *C. annuum* foi, inicialmente, domesticado no México ou no Norte da América Central, *C. chinense*, nas planícies do Norte da Amazônia, *C. baccatum*, nas Várzeas Bolivianas, *C. pubescens*, nas elevações dos meados do Sul dos Andes e *C. frutescens*, na Amazônia Ocidental, possivelmente, o centro de origem desta espécie (OECD 2006).

Para Clement (1999) a domesticação é um processo coevolutivo, sendo assim, podem encontrar populações de plantas da mesma espécie que exibem vários graus de domesticação. Os povos indígenas contribuíram intensamente no processo de domesticação de *Capsicum* spp., dando origem a novos morfotipos. Sem dúvida, *C. chinense* é a mais importante espécie cultivada ao leste dos Andes e de maior variabilidade de morfotipos na região Amazônica, Roraima (Nascimento Filho 2007).

2.2. *Capsicum chinense*

As espécies de *Capsicum* pertencem à classe Magnoliopsida, ordem Solanales, família Solanaceae (Bosland e Votava 2012). A espécie *C. chinense* apresenta morfotipos conhecidos popularmente como, pimenta-de-cheiro, pimenta-de-bode, cumari-do-Pará, murupi, habanero, biquinho e olho-de-peixe (EMBRAPA 2002). A pimenta-de-cheiro apresenta ainda tipos que se distinguem por suas formas, cores e tamanhos.

A morfologia de *C. chinense* apresenta duas a cinco flores por nó e, o pedicelo, se encontra geralmente na forma pendente (Smith e Heiser 1957), possui uma constrição anelar na junção do cálice com o pedicelo. O cálice apresenta-se com frequência com forte constrição na base, a corola é verde-amarela ou raramente esbranquiçada, as anteras são azuis, púrpuras ou amarelas (Casali e Couto 1984). A forma de crescimento predominante é como arbusto perene, embora manifeste o crescimento herbáceo bienal (Martins *et al.* 2010). O sistema radicular é pivotante, com um número elevado de ramificações laterais, podendo atingir profundidades de 70-120 cm. O sistema de ramificação segue um único modelo de dicotomia e, inicia-se quando a planta atinge 15 a 20 cm de altura (Carvalho e Bianchetti 2005). As folhas podem ter formato ovalado, lanceolado à deltoide; a coloração é tipicamente verde. As hastes podem apresentar antocianina ao longo de seu comprimento e/ou nós, bem como presença ou ausência de pêlos. A flor é tipicamente pentâmera, hermafrodita e hipógina. A corola é rotada e, na maioria das espécies, apresenta de cinco a sete pétalas, com 10 a 20 mm de comprimento (Reifshneider 2000).

O fruto é uma baga, de estrutura oca, que lembra uma cápsula. Eles apresentam-se de múltiplas formas, tamanhos, colorações e pungências (Buso *et al.* 2001), com comprimento de 1,0 a 12,0 cm. Essas formas podem ser: esféricas a alongadas, pouco ou muito enrugados, de cores salmão, laranja, amarela, vermelha ou marrom (Carvalho e Bianchetti 2005). Ribeiro *et al.* (2008) acrescenta que os frutos maduros são geralmente vermelhos, podendo apresentar coloração amarelo-leitoso, amarelo-forte, alaranjada, salmão, vermelha, roxa, até preta. Podem ter aspecto brilhante ou opaco. O formato do fruto pode ser alongado, arredondado, triangular ou cônico, campanulado, quadrado ou

retangular. As sementes são reniformes, aplanadas, escuras ou claras, "testa" geralmente foveolada e embrião curvo.

Uma característica única do gênero *Capsicum* é o teor de pungência existente devido à presença do princípio ativo alcalóide capsaicina na placenta, e, em menor quantidade, nas sementes e no pericarpo do fruto (Reifschneider 2000). Para o morfotipo "de cheiro", essa pungência é classificada como média e baixa (Barbosa *et al.* 2002).

As formas de fecundação de acordo com Diaz Rodrigues (1990) são distintas podendo ser autógama, alógama ou parcialmente alógama. Pickersgill (1997) encontrou cerca de 2 a 90% de taxa de cruzamento natural. As espécies domesticadas geralmente são autógamas, ou seja, autopolinizadas, o que facilita a sua reprodução (Ribeiro *et al.* 2008). Para Casali e Couto (1984), os níveis de polinização cruzada variam entre e dentro das espécies (0,5 a 70%), o que possibilita colocá-las no grupo intermediário entre alógamas e autógamas. O elevado grau de polinizações cruzadas pode ser explicado devido à presença de insetos polinizadores (Breese 1989). Especificamente em *C. chinense* a taxa de fecundação cruzada pode chegar a 68% (Costa *et al.* 2008).

Geneticamente, estudos citológicos demonstram que o gênero *Capsicum* tem um número cromossômico básico $n = 12$ (Ohta 1962; Pickersgill 1991), porém trabalhos recentes têm registrado um número cromossômico básico $n = 13$, para muitas espécies silvestres, distribuídas em vários países da América do Sul (Moscone *et al.* 1993). Dados publicados por Pozzobon *et al.* (2006) confirmam $2n = 24$ em *C. chinense*.

Capsicum chinense possui destaque por apresentar maior diversidade na Bacia Amazônica (Casali e Couto 1984), no entanto, tem sido sub-representada em coleções de germoplasma (Moses e Umaharan 2012). Além disso, tem sido relativamente pouco estudada, com um número limitado de estudos sobre a estrutura genética e diversidade de *C. chinense* (Toquica *et al.* 2003; Baral e Bosland 2004). Somente a partir do final do século passado, esforços de países caribenhos e latinos foram iniciados no sentido de resguardar a diversidade genética em *Capsicum*, ainda encontrada com populações tradicionais, como ribeirinhos, indígenas e pequenos agricultores (Hernandez 2002; Adams 2004; Carvalho e Bianchetti 2005).

A espécie *C. chinense* possui um grande apelo de interesse ecológico e científico por sua diversidade na Bacia Amazônica. Sua manipulação tardia conservou características silvestres de alta variabilidade, fontes de genes com características de interesse agrônomo, com morfotipos de diferentes cores, tamanhos e pungência, características essas que devem ser resguardadas em bancos de germoplasma para fins de estudo conforme Barbosa *et al.* (2002) e Nascimento Filho (2007).

Um estudo recente com base em marcadores RAPD – *Random Amplified Polymorphic DNA* (Moses e Umaharan 2012) revelaram a presença de três grupos genéticos de *C. chinense* tipos correspondentes a regiões do Alto Amazonas, Peru, Equador e Bolívia; região do Baixo Amazonas, Brasil e Guianas e a região do Caribe. O Alto e Baixo Amazonas são as duas regiões geográficas com maior diversidade seguida pelas Guianas, América Central, Grandes Antilhas, Trinidad e Pequenas Antilhas. O grupo filogeográfico mais diversificado no que diz respeito aos índices de diversidade foram às adesões do Baixo Amazonas, seguido pelas adesões, Alto Amazonas que foi o grupo mais geograficamente diversificado e predominante, que se estende desde a América Central, no Norte às Guianas, Venezuela, Trinidad e Pequenas Antilhas para o leste, nessa ordem.

Moses *et al.* (2014) realizaram um trabalho inédito na investigação da diversidade genética e estrutura de *C. chinense* a partir de uma ampla região geográfica. Este estudo mostrou que a espécie está estruturada em três *pools* genéticos distintos; um específico para a região do Alto Amazonas, um específico para a região do Baixo Amazonas e outro *pool* gene mais onipresente. Em conclusão, o Alto Amazonas e as populações do Baixo Amazonas foram as mais diversas, com pouca ou nenhuma sobreposição considerável sugerindo divergência genética sobre sua história evolutiva.

Publicações nacionais sobre o gênero destacam principalmente características morfológicas e aspectos etnobotânicos. Fonseca *et al.* (2008) avaliou 38 acessos de *C. chinense* nativos da região do Alto Rio Negro, Amazonas, que estavam representados em seis morfotipos, distribuídos em: três pimentas de olho-de-peixe (7,9%), três de passarinho (7,9%), quatro dedo-de-moça (10,5%), quatro curabiá (10,5%), nove murupi (10,5%) e quinze de pimenta-de-cheiro (39,5%). Essas variedades foram caracterizadas morfológicamente utilizando-se 51 descritores. Apenas oito desses descritores não apresentaram variação morfológica, eles foram: a cor vermelha escuro de fruta madura

(42%), frutos alongados (36,8%) e frutas triangulares (42,1%), comprimento do fruto entre 2,0 e 4,0 cm (39,5%) e 4,0 e 8,0 cm (39,5%), largura de frutas entre 1,0 e 2,5 cm (44,7%), peso do fruto com mais de 27,0 e menos de 81,0 g (89,4%), superfície enrugada (42,1%), permanência do pedicelo (73,7%) e posição pendente dos frutos (68,4%).

Barbosa *et al.* (2010) mencionam em seus estudos que os acessos de *C. chinense* são os mais frequentemente encontrados, possuem maior variabilidade genética, e, representam mais de 70% das subamostras. Barbosa *et al.* (2002) descreve que dos 180 acessos de pimentas (163 de espécies domesticadas) coletados em Roraima, 78 morfotipos foram distinguidos pela forma, cor e pungência. Desses, 23 morfotipos foram observados especificamente para etnias indígenas: Wapixana (10), Macuxi (9), Patamona (1), Yanomami (1) e Yekuana (1). Nestas comunidades, os morfotipos predominantes foram: malagueta (*C. frutescens*), murupi (*C. chinense*) e olho-de-peixe (*C. chinense*) (Nascimento Filho *et al.* 2007).

Os frutos de menor peso e alta pungência das espécies *C. chinense* e *C. frutescens* são os preferidos dos usuários indígenas e não indígenas para produção de molhos e *jiquitaia* (pó de pimenta) (Barbosa *et al.* 2010). Dos morfotipos encontrados em Roraima, os de maior distribuição são, sem dúvida, as pimentas "murupi" (com alta a média pungência), "de cheiro" (média a baixa pungência), "olho-de-peixe" (alta pungência), "murici" (alta pungência) e "doce" (baixa pungência) (Barbosa *et al.* 2002). Diferente dos indígenas, as cultivares mais adotadas são popularmente conhecidas como pimenta-de-cheiro, que possuem mercado cativo tanto em Boa Vista (capital de Roraima) como em Manaus (capital do Amazonas) (Nascimento Filho *et al.* 2007).

2.3 Importância econômica e produtividade de *Capsicum* spp.

A pimenta (*Capsicum* spp.) tornou-se, depois do sal, o produto mais frequentemente utilizado como tempero e condimento no mundo e um importante vegetal fresco ao longo das zonas temperadas (Andrews 1999). Seu cultivo constitui um segmento muito importante no mercado mundial (Pereira e Crisóstomo 2011). A importância econômica, nutritiva e farmacológica deste gênero é responsável pela sua alta demanda. É ricamente nutritivo em vitaminas (A, B e C), minerais (molibdênio, manganês, ácido fólico, potássio e tiamina) (Simonne *et al.* 1997; Rodriguez-Burruezo *et al.* 2010), apresenta em sua composição capsaicinóides, sendo a capsaicina um princípio

ativo com funções antioxidantes, anticarcinogênicas, termogênicas e antiinflamatória (Reyes-Escogido *et al.* 2011).

Estão entre os dez maiores produtores de pimenta *Capsicum*, os países: Índia, China, Etiópia, Myanmar, México, Vietnã, Peru, Paquistão, Gana e Bangladesh, contribuindo com mais de 85% da produção mundial em 2009 (Karpate e Saxena 2010). De acordo com estimativas da Divisão de Estatística da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - FAOSTAT, durante os últimos cinco anos, a produção mundial de pimentas e pimentões aumentou de 28 milhões de toneladas para mais de 32 milhões de toneladas. A Índia é atualmente o maior exportador, consumidor e produtor de pimentas e pimentões, apenas o Estado de Andhra Pradesh contribui com 70% das exportações do país (Mongkolporn *et al.* 2010).

Os produtos e subprodutos das pimentas representaram para a economia mundial um movimento de cerca de US\$ 4,3 bilhões referentes à produtos frescos e US\$ 1,3 bilhões de produtos secos, nos anos de 2000 a 2012 (FAOSTAT, 2016). No Brasil, as pimentas (*Capsicum spp.*) tem relevância no mercado interno com a comercialização in natura, processada e também com o cultivo ornamental da planta em todos os estados brasileiros (Ribeiro *et al.* 2008). As pimentas vermelhas tipo dedo de moça (*C. baccatum*), representam a 3ª posição na produção e no consumo de vegetais para tempero no país, perdendo apenas para o alho e a cebola (Reifschneider 2000; Dias *et al.* 2012). Cerca de 13 mil hectares de pimentas e pimentões anuais geraram uma produção de 18.682 mil toneladas (IBGE 2006). Nos últimos anos 2006 a 2016 a safra de pimentas não tem sido citada entre os 63 produtos oriundos de lavouras temporárias e permanentes da agricultura nacional (PAM 2016).

Segundo o último censo agropecuário do IBGE publicado em 2006, a região Norte apresentou produção de 4.231 mil toneladas, sendo 1.482 mil toneladas de pimentas produzidas no Amazonas. Dados de produção de lavouras temporárias no Amazonas, no ano de 2013 citam que em uma área plantada de 204 hectares foram produzidas 3 mil toneladas somente do cultivo de pimenta-de-cheiro (Almudi e Pinheiro 2015). De acordo com IDAM - Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal do Sustentável do Amazonas (2016) a estimativa de produção de pimenta doce subiu de 6.202,92 toneladas em 501,05 hectare, no ano de 2015 para 7.228,66 toneladas em 516,40 hectare em 2016.

Os frutos de pimenta-de-cheiro produzidos no estado do Amazonas são provenientes de pequenos produtores, que cultivam em quintais agroflorestais ou em áreas menor que 1 hectare a aproximadamente 5 hectares (observação própria), com pólos produtivos nos municípios das calhas dos rios Rio Negro, Solimões e Médio Amazonas, segundo os dados do IDAM (2016). Dados da quantificação das áreas de cultivo e produção por hectare dessas localidades muitas vezes não é mensurada, alguns dos motivos é a falta de um registro formal ou vínculo com associações, outro fator que dificulta a estatística é que se trata de um mercado de oportunidade: quando o preço está atrativo, se cultiva e quando está baixo, deixa-se de produzir (Spigariol 2015).

Os produtores de pimenta-de-cheiro têm tido outro incentivo desde que a alimentação servida nas escolas passou a incluir produtos regionais, no ano de 2012. O fruto da pimenta-de-cheiro foi inserido no cardápio da merenda escolar de escolas estaduais. No ano de 2017 o Estado comprou dos produtores 22,824 kg de pimenta-de-cheiro ao preço de R\$5,40, injetando na economia local R\$123.249,60, de acordo com os dados do PREME/SEDUC (Programa de Regionalização da Merenda Escolar/Secretaria de Educação do Estado do Amazonas).

O Amazonas apresenta médias de produtividade que apontam bastante variação nos anos. No entanto, Oliveira *et al.* (2011) demonstraram que a cultura da pimenta-de-cheiro tem potencial para a produtividade superiores a 507 toneladas por hectare com estande de 10.000 a 12.500 plantas por hectare. Berni e Cardoso (2013) realizaram estimativas da renda familiar em várzea do Amazonas no ano de 2011 e levantaram as receitas líquidas obtidas com o cultivo de pimenta-de-cheiro. Em um cultivo de 1 hectare, usando espaçamento de 1 x 1, durante ciclo de 7 meses a produção acumulada pode chegar a 20 toneladas, ao preço de R\$ 3,00, a receita pode atingir R\$ 60.000,00. Constatando-se que a cultura é economicamente vantajosa.

Dados de produtividade da pimenta-de-cheiro apresentam valores de massa que podem variar 0,1 a 22,7 g (Jarret e Berke 2008). Acessos provenientes dos Estados do Amazonas, Pará e Rondônia foram caracterizados morfoagronomicamente e apresentaram valores para o peso médio de frutos (PMF) de 11,17 a 5,41 gramas e para a produção total de frutos por planta (PTF) de 7,46 a 42,18 kilos (Oliveira *et al.* 2011).

2.4 *Colletotrichum* spp. associados a *Capsicum chinense*

O gênero *Colletotrichum* está entre os dez gêneros fitopatogênicos mundialmente mais comuns e importantes (Dean *et al.* 2012) por serem causadores de danos nos mais diversos cultivos, especialmente em culturas tropicais e subtropicais (Sutton 1992).

Colletotrichum spp., causador da antracnose, provoca grandes perdas de pré e pós-colheita. Os países produtores apontam essa doença como sendo a principal restrição à produção de pimentas em todo o mundo, resultando em perdas de alto rendimento (Than *et al.* 2008) e que podem atingir reduções comerciais em torno de 10% a 80% da produção de colheita (Sahitya *et al.* 2014).

No Amazonas, Noda *et al.* (2007) relataram a ocorrência da antracnose em uma variedade de hospedeiros sendo, as pimentas, a cultura mais afetada pela doença em regiões produtoras da Calha do Rio Solimões, Amazonas. Hanada *et al.* (2011), identificou morfologicamente a antracnose em pimenta-de-cheiro na região metropolitana de Manaus, Amazonas. Segundo o autor, a doença afeta toda parte aérea da planta com maior severidade nos frutos, reduzindo pela metade a produção de frutos. Segundo Almeida (2015), as espécies de fungo, *C. scovilleii*, *C. siamense*, *C. truncatum* e *C. brevisporum* são responsáveis pela alta incidência da antracnose em plantios de pimentas dos municípios de Presidente Figueiredo, Iranduba, Manacapuru e Rio Preto da Eva, no Amazonas.

Tradicionalmente *Colletotrichum* spp. (Snowdon 1991) é classificado como pertencente ao gênero *Glomerella* (*Sordariomycetes*; *Hypocreomycetidae*; *Glomerellaceae*; *Glomeralles*), único membro da família *Glomerellaceae*, uma das três famílias que coletivamente compõem a ordem *Glomerellales* (Réblová *et al.* 2011). Existem diferentes complexos do *Colletotrichum* que afetam as pimentas (*Capsicum* spp.) (Töfoli *et al.* 2015). Seis espécies são apontadas como os principais agentes patogênicos: *Colletotrichum acutatum* (Simmonds), teleomorfo *Glomerella acutata* (Guerber & J.C. Correl); *C. capsici* (Syd.) Butler e Bisby, sinônimo de *C. dematium*; *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. e Sacc, teleomorfo *Glomerella cingulata* (Stoneman); *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes e *C. graminicola* (Simmonds 1965; Johnston e Jones 1997; Jones 2004; Kim *et al.* 1999; Nirenberg *et al.* 2002; Voorrips *et al.* 2004; Sharma *et al.* 2005; Pakdeevaporn *et al.* 2005). Sendo, *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* as mais destrutivas (Park *et al.* 2009).

A antracnose afeta o caule, raízes, frutos verdes e maduros, entretanto, a capacidade do patógeno em causar infecções latentes dificulta a visualização de sintomas (Tanaka *et al.* 1996). As graves perdas pós-colheita são devido ao início tardio dos sintomas da doença (Prusky e Plumbley 1992). Muitas doenças de pós-colheita de frutas apresentam o fenômeno da imobilidade em que os sintomas não se desenvolvem até que o fruto amadureça (Than *et al.* 2008).

A manifestação da antracnose ocorre em fases distintas. *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum* atacam os frutos em todas as fases de desenvolvimento, mas geralmente não atacam as folhas e hastes, essas, são em sua maioria danificadas por *C. coccoides* e *C. dematium* (Kim *et al.* 2004). *Colletotrichum capsici* geralmente infecta frutos vermelhos maduros, enquanto *C. gloeosporioides* infecta tanto os frutos verdes quanto os maduros (Kim *et al.* 1989).

Espécies de *Colletotrichum* utilizam duas principais estratégias de infecção: colonização intracelular ou colonização intramural subcuticular (Bailey *et al.* 1992). As estratégias estão associadas ao “estilo de vida” dos fungos, isto é, a forma com que eles irão interagir com os seus hospedeiros. Os fungos fitopatogênicos, que colonizam os tecidos vegetais, são reconhecidos pelo sistema imune da planta manifestando respostas de hipersensibilidade na superfície celular da planta (Libera *et al.* 2015).

A disseminação do patógeno de uma planta para outra pode ocorrer por meio de agentes do ambiente favorecendo o início de uma infecção. A presença de água livre ou em elevada umidade relativa (>90%) contribui para a sobrevivência de estruturas reprodutivas do fungo. As sementes infectadas também podem disseminar o patógeno de uma área para outra e, quando semeadas, poderão transmiti-lo para plântulas (Menezes 2006).

Com o processo de colonização do patógeno, nos tecidos da planta afetada, surgem os sintomas de antracnose, que podem ser reconhecidos macroscopicamente por lesões visíveis de manchas circulares. À medida que a fruta amadurece as manchas aumentam de 2 a 3 cm de diâmetro e sua porção central torna-se mais escura e ligeiramente rugosa, devido ao desenvolvimento de um acérvulo, apresentando massas mucilaginosas de conídios cor de salmão, muitas vezes cor-de-rosa (Agrios 2005). Microscopicamente são caracterizados por acérvulo que frequentemente produzem cerdas

marrons escuras e conídios asseptados que germinam para produzir apressório (Mueller *et al.* 2004).

A colonização intracelular ou intramural subcuticular do *Colletotrichum* spp. (Bailey *et al.* 1992) tem início com a aderência à cutícula, essencial para a iniciação da doença, o crescimento de tubos germinais sobre a superfície da planta e a diferenciação de estruturas de infecção apressório ou hifopódios, no caso de fungos fitopatogênicos. (O'Connell *et al.* 2006; Rich *et al.* 2014).

O apressório é uma estrutura de infecção especializada na invasão do hospedeiro. Essa estrutura possui parede melanizada desenvolvida a partir de tubos germinativos de conídios (Pérez-Martín e Di Pietro 2012). Já os conídios são produzidos no acérvulo e incorporados em uma mucilagem de glicoproteínas, essa mucilagem contém inibidores de germinação, bem como uma variedade de enzimas, que podem funcionar como proteção para os conídios contra a dessecação e também, metabolitos tóxicos da planta (Nicholson 1992).

O gênero *Colletotrichum* é hemibiotrófico, combina uma fase biotrófica com uma necrotrófica (Libera *et al.* 2015). Inicialmente desenvolvem hifas abauladas invasivas biotrófica que, mais tarde se transformam em hifas finas necrotróficas (O'Connell *et al.* 2006). O comportamento hemibiotrófico estabelece uma fase inicial biotrófica curta, durante o qual a célula hospedeira permanece viva, seguido de um desenvolvimento necrotrófico altamente destrutivo caracterizado por áreas alargadas de tecido do hospedeiro morto (Munich *et al.* 2008) expressando efetores fúngicos (Libera *et al.* 2015). A planta hospedeira responde imunologicamente acionando padrões moleculares associados de agentes patogênicos moleculares (PAMPs) e padrões moleculares invariantes expostos pelo micróbio (MAMPs), secundariamente produzindo proteínas de resistência (proteína R), rico em leucina (Libera *et al.* 2015).

Medidas de controle de fungos fitopatogênicos visam impedir o desenvolvimento da doença. Um conjunto de ações preconizam: o uso criterioso de fungicidas, a exploração do “pool” genético da planta e seus descendentes em programas de melhoramento, a compreensão e o combate a mecanismos de virulência do patógeno, o controle biológico, a proteção pós-colheita e o melhor desempenho da planta por meio da biotecnologia (Strange 2005).

De acordo com Maffia e Mizubuti (2005) o agricultor pode adotar medidas de exclusão, adquirindo material comprovadamente sadio, de fornecedores idôneos, evitando a introdução de material vegetal, principalmente de mudas, dos quais não se conhece o estado fitossanitário. E, medidas de imunização, utilizando variedades resistentes, que são eficazes, pois a intensidade de doença será menor e muitas vezes abaixo do limite de dano econômico.

A erradicação da antracnose em plantios no estado do Amazonas tem sido desenvolvida a partir de recomendações como: evitar o plantio em áreas com histórico da doença, realização da rotação de culturas com espécies não hospedeiras do patógeno, como o feijão-caupi, abacaxi e mandioca, eliminação dos frutos com sintomas da doença e a realização correta de adubação nitrogenada, pois o excesso do nitrogênio favorece o aumento da doença (Hanada *et al.* 2011).

2.5 Seleção de material genético do gênero *Capsicum* com resistência à antracnose

Diferentes técnicas são utilizadas para isolar genes de alta herdabilidade, como a resistência. O pioneiro e mais comum método de melhoramento usado no desenvolvimento de cultivares é a seleção massal e a seleção individual de plantas, a partir de uma população original (Borém 1998). Marcadores moleculares têm sido nos últimos anos extensivamente utilizados para esse fim, como os polimorfismos de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) (Vos *et al.* 1995).

O estudo da resistência a uma dada doença de plantas tem a sua base na composição genética da planta hospedeira, mas a expressão dos genes pode ser modificada por fatores nutricionais e ambientais (Barnett 1959). A resistência pode ser compreendida como a habilidade da planta em suprimir, retardar ou prevenir a entrada ou a subsequente atividade do patógeno (crescimento e desenvolvimento) em seus tecidos (Parlevliet 1997).

Na natureza há resistência nas culturas à maioria das doenças e ela envolve genes maiores ou de efeito principal, apresentando uma resistência temporária e invariavelmente monogênica para a qual patógenos especializados, do tipo hipersensível, aparentemente, adaptam-se muito facilmente, e, genes menores ou de efeito secundário, apresentando uma resistência durável do tipo poligênica, na qual o patógeno permanece efetivo por muito mais tempo (Ribeiro do Vale *et al.* 2001).

Fontes de resistência genética e herança da resistência têm sido encontradas para antracnose em programas de melhoramento de espécies de *Capsicum* (Lee *et al.* 2010). A identificação da resistência em *C. chinense* e *C. baccatum* foi descoberta em 1998 pelo AVRDC - Research Vegetal Asiático (Mahasuk *et al.* 2009a; Mahasuk *et al.* 2009b) e desde então essas espécies vêm sendo frequentemente utilizadas devido à elevada resistência presente. (Pakdeevaporn *et al.* 2005; Kim *et al.* 2007; Kim *et al.* 2008).

Em *C. chinense* PBC 932, foram encontrados dois genes recessivos, *co1* e *co2*, que conferem resistência à antracnose. (Pakdeevaporn *et al.* 2005; Mahasuk *et al.* 2009a). Esses genes têm sido utilizados para a introgressão de resistência em cultivares elite de *C. annuum*. É frequente que cultivares de *C. annuum*, tenham ausência de resistência a *Colletotrichum* spp., mas Kim *et al.* (2008) descobriram uma variedade coreana local *C. annuum* 'Daepoong-cgo' resistente ao *C. capsici*. Essa resistência foi conferida a partir do cruzamento com AR, uma linhagem resistente à antracnose derivada de *C. chinense*.

Lee *et al.* (2010) revisaram os modos de herança de resistência à antracnose (*C. acutatum* e *C. capsici*) e mostraram que a resistência ao *C. acutatum* em *C. baccatum* PBC 80 é herdada dominante e quantitativamente (Yoon e Park 2005). Enquanto que a resistência em *C. annuum* (linhagem AR resistente à antracnose derivada de *C. chinense* PBC932) é controlada por um gene recessivo (Kim *et al.* 2008). Park *et al.* (1990) relataram que a resistência ao *C. capsici* seria explicada pela dominância parcial. Lin *et al.* (2002) descobriram que um gene dominante era responsável pela resistência em *C. annuum* 83-168. Além disso, Voorrips *et al.* (2004) constataram que a resistência em *C. chinense* PRI 95030 é explicada por efeito poligênico.

Programas de melhoramento genético estão identificando germoplasmas resistentes em parentes silvestres de espécies domesticadas e utilizando esses para benefício agrícola (Kosack e Jones 1997). O germoplasma pode ser caracterizado com base em descritores morfológicos, características agrônômicas, e marcadores moleculares (Gonçalves *et al.* 2008).

Segundo Rêgo *et al.* (2011) o melhoramento de pimenteiras tem sido feito por meio de seleção massal em raças criolas e, nos últimos tempos, alguns melhoristas têm dado ênfase ao uso de hibridação em programas de melhoramento. De acordo com Rêgo

o sucesso da seleção é devido a continuação da seleção. Não se sabe quais alelos serão úteis em futuras variedades comerciais, até que a necessidade surja.

Para Fonseca *et al.* (2008) o germoplasma de *Capsicum* spp. da região do Alto Rio Negro é uma fonte potencial de genes com características agrônômicas importantes, tais como resistência a doenças, cor, tipo de fruto e produtividade, o que justifica a caracterização e avaliação da diversidade genética.

2.6 Vírus em *Capsicum* spp.

As pimenteiras (*Capsicum* spp.) são hospedeiras de diferentes vírus, dentre eles, os do gênero *Potyvirus*: *Potato vírus* - PVY (Nagai 1983) e *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV (Inoue-Nagata *et al.* 2001) e, do gênero *Cucumovirus*: *Cucumber mosaic virus* - CMV (Palukaitis 1992; Boari *et al.* 2000).

De acordo com Rêgo *et al.* (2011) os sintomas causados por viroses são muito variáveis, dependendo da espécie e da variedade de pimenta, da espécie do vírus, do grau de virulência da estirpe do vírus, da época em que a planta foi infectada e das condições ambientais, principalmente de temperatura.

O clima da Amazônia tropical úmido favorece o cultivo das pimentas ao longo do ano, assim como a incidência de doenças e pragas nesta espécie. A infecção viral, geralmente, causa sintomas visíveis, com várias formas de mosaico e distorções nas folhas, com consequentes reduções no crescimento e rendimento da cultura, e, embora a redução no tamanho da planta seja um sintoma comum, provavelmente há um atraso no desenvolvimento da planta mesmo com infecções “mascaradas” ou “latentes”, em que a planta não apresenta sinais óbvios da doença (Brunt *et al.* 1978).

A transmissão das doenças em condições de campo depende essencialmente da presença de vetores dos vírus, insetos da família Aphididae, e da presença de plantas infectadas, vegetação espontânea ou plantas cultivadas, que são reservatórios de vírus e hospedeiros naturais dos insetos vetores (Palukaitis *et al.* 1992).

Segundo Mauk *et al.* (2012), os insetos estão entre os vetores mais importantes de doenças causadas por vírus nos vegetais. De acordo com Venzon *et al.* (2006) as espécies

transmissoras de viroses em pimentas são *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae* e *Aphis gossypii*.

Para Arogundade *et al.* (2010), a alta incidência de viroses no campo pode ser devido a inúmeras espécies de plantas hospedeiras alternativas que podem ser encontradas em torno dos plantios. Os autores relataram que as espécies de ervas daninhas: *Solanum nigrum*, *S. gracil*, *Physalis angulata*, *Vigna rosea*, *V. sinensis*, *Commelina nudiflora*, *Petunia hybrida*, *Physalis floridana*, *P. micrantha* e *S. incanum* contribuem grandemente com a propagação de doenças virais da pimenta.

O acometimento de doenças causadas pelos vírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) e *Cucumber mosaic virus* (CMV) vêm sendo observado em campos de pimentão e pimenta no Brasil devido ao aumento significativo da incidência de mosaico. O PepYMV anteriormente considerado uma estirpe severa do *Potato virus* (PVY^M) já causava prejuízos desde a década de 60 (Inoue-Nagata *et al.* 2002) e o CMV já havia sido relatado causando doenças em mais de mil espécies de plantas (Brunt *et al.* 1990) com relatos de perdas de produção de até 80 % em plantios de pimenta (Bergmann *et al.* 2003).

O PepYMV, de ocorrência no Brasil, é caracterizado por apresentar uma sequência de 9745 nucleotídeos. O genoma contém um “open reading frame” (ORF) codificando uma poliproteína de 3085 aminoácidos, com uma região adicional P3-PIPO como diferencial a outros membros do gênero *Potyvirus* (Lucinda *et al.* 2012). Os membros do gênero *Potyvirus* apresentam partículas filamentosas flexuosas, encapsidando um genoma monopartido de RNA de fita simples de sentido positivo (Fauquet *et al.* 2005). A formação de inclusões citoplásmicas cilíndricas, conhecidas como cata-vento, são efeitos característicos de infecções por membros deste gênero (Dougherty e Hiebert 1980; Edwardson 1966).

O CMV é caracterizado por apresentar RNAs genômicos, codificam as proteínas não estruturais envolvidas na replicação viral e RNA sub-genômico, implicado na gravidade dos sintomas, contém um “open reading frame” que codifica a proteína capsidial. Alguns isolados têm a presença de RNA satélite. As estirpes desse vírus apresentam alta variabilidade patogênica podendo ser classificado em dois subgrupos CMV-I e CMV-II. Apresenta RNA de sentido positivo com um genoma tripartido, composto de três partículas isométricas com cerca de 30 nanômetros, contendo

subunidades protéicas idênticas que formam o capsídeo (Roossinck *et al.* 1999; Palukaitis *et al.* 1992; Boari *et al.* 2002; Eiras *et al.* 2002).

Plantas do gênero *Capsicum* são suscetíveis a diferentes espécies de vírus com sintomas muito semelhantes, por isso, métodos para detecção de vírus em plantas e vetores transmitindo o vírus desempenham um papel crítico no gerenciamento de doenças de vírus (Shetti *et al.* 2012). Devido a diferenças de especificidade a identificação do vírus deve ser realizada com diferentes técnicas em conjunto que podem definir com maior precisão qual ou quais espécies de vírus estão afetando o plantio.

Os vírus podem ser caracterizados com auxílio de hospedeiros diferenciais e por meio de técnicas de identificação sorológica, a exemplo do teste ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay); molecular, pela reação de polimerase em cadeia (PCR) e transcrição reversa associada à PCR (RT-PCR); sequenciamento de nucleotídeos, que apontam o grau de identidade (acima de 95 %) com outras sequências nucleotídicas depositadas em banco de dados (GenBank) e microscopia eletrônica (Dias 2004).

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Selecionar e identificar genótipos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) com potencial resistência à antracnose (*Colletotrichum brevisporum*).

3.2 Objetivo Específicos

- Selecionar produtores de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) e obter genótipos promissores.
- Avaliar a severidade da antracnose em plântulas e frutos de pimenta-de-cheiro.
- Caracterizar morfoagronomicamente os genótipos resistentes e suscetíveis em fase de fruto maduro.
- Caracterizar cultural e morfológicamente o isolado INPA 2787.
- Identificar viroses da pimenta-de-cheiro.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta dos genótipos de pimenta-de-cheiro

Nos meses de julho e agosto de 2016 foram realizadas coletas de frutos maduros de plantas presumivelmente resistentes e produtivas pela referência dos agricultores e pela avaliação visual (seleção massal), em diferentes propriedades produtoras de pimenta-de-cheiro dos municípios de Iranduba, Manacapuru, Rio Preto da Eva e Presidente Figueiredo.

De cada planta foram removidos 3 a 5 frutos com pedúnculo, armazenados em sacos de papel, etiquetados e transportados para o laboratório de fitopatologia do INPA. Os frutos foram despolidos e suas sementes removidas. Estas foram desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% e lavadas em água destilada, secadas em temperatura ambiente, sobre papel toalha, por três dias. As sementes foram armazenadas em garrafas de plástico fechadas hermeticamente e identificadas de acordo com a sua procedência.

4.2 Reativação da patogenicidade do *Colletotrichum brevisporum* e obtenção da cultura monospórica e inóculos

O isolado INPA 2787, *Colletotrichum brevisporum*, depositado na coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia do INPA em 2015, estava preservado em método Castellani (Castellani 1967), para reativá-lo o fungo foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), mantido a 27 °C por 10 dias para produção de conídios. Foram utilizadas cinco plantas com 50 cm de altura, mantidas em vaso sob casa-de-vegetação. Quatro plantas foram inoculadas com suspensão de conídios com concentração de 10^6 conídios.mL⁻¹ e uma planta foi inoculada com água destilada estéril, como testemunha. A suspensão e a água foram pulverizadas nas plantas até o ponto de escoamento pelas folhas, mantendo-as em câmara úmida por 24 h. Depois de três dias procedeu-se ao reisolamento do fungo por meio da coleta de estruturas do fungo presentes em uma única lesão (Alfenas e Mafia 2007).

A partir da formação das colônias preparou-se o cultivo monospórico, na qual foram transferidas, com alça de platina, uma parte superficial do meio BDA, da região central da colônia, com mucilagem alaranjada, contendo os conídios do fungo para um microtubo de 2 mL contendo 0,5 mL de água destilada e esterilizada. Em seguida, foram

feitas cinco diluições para o ajuste da concentração em 400 conídios mL⁻¹. Desta suspensão foram transferidos 50 µL para placas de Petri com meio Ágar-Água (2%), espalhados com alça de drigalski de vidro e as placas mantidas a 27 °C por 12 h sob a luz. Posteriormente, por meio da visualização em lupa, uma única ponta de hifa produzida por colônia foi transferida isoladamente para o centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA, mantidas em câmara de crescimento B.O.D., a 27 °C, em fotoperíodo de 12 h por 10 dias. O procedimento garantiu a uniformidade genética do isolado.

As colônias formadas a partir do cultivo monospórico foram utilizadas para o preparado do inoculo. Foram adicionados 10 mL de água destilada estéril sobre cada placa utilizada e com auxílio de uma espátula a superfície da colônia foi raspada para a formação de uma suspensão de conídios. Em seguida, essa suspensão foi filtrada em duas camadas de gazes com o objetivo de remover fragmentos de micélio e estruturas reprodutivas do fungo. A suspensão foi ajustada para concentração de 10⁶ conídios.mL⁻¹ com auxílio da câmara de Neubauer.

4.3 Avaliação de resistência das plântulas de pimenta-de-cheiro à antracnose

O experimento foi desenvolvido em casa-de-vegetação no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, campus V8. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 102 tratamentos (genótipos) e 4 repetições para cada tratamento, sendo uma planta por parcela experimental. Dois desses genótipos foram utilizados como testemunhas. A testemunha positiva, um genótipo coletado com sintomas da antracnose, considerado, portanto, como suscetível, foi inoculada com o patógeno. A testemunha negativa, um genótipo coletado sem sintomas da antracnose, foi inoculada apenas com água estéril destilada.

A semeadura foi feita em bandejas de 128 células com substrato organomineral Plantmax® e depois transplantadas para copos de plástico de 300 mL com latossolo peneirado. Ao atingir 15 cm de altura e com seis a oito folhas, as plântulas foram inoculadas com suspensão de inoculo na concentração de 10⁶ conídios.mL⁻¹. Esta inoculação foi realizada com o auxílio de um pulverizador próximo ao ponto de escorrimento pelas folhas, em seguida as plântulas foram mantidas por 24 h em câmara úmida. Posteriormente, mantidas em casa-de-vegetação com irrigação controlada.

Os sintomas da antracnose nas folhas foram avaliados aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação (DAI), utilizando a escala de notas de severidade da doença, conforme descrito na Tabela 1. A escala de notas foi desenvolvida por Montri *et al.* (2009) e, posteriormente, alterada por Mahasuk *et al.* (2009a).

Tabela 1 - Escala de avaliação de severidade da antracnose em folhas de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*).

Notas	Descrição dos sintomas em folhas
1	Ausência de sintomas
2	Morte celular localizada, lesões (>1 mm) com margem definida, reação de hipersensibilidade.
3	Pequenas lesões necróticas isoladas, abrangendo cerca de 1% da área foliar.
4	Aumento discreto nas lesões necróticas, abrangendo cerca de 5% da área foliar.
5	Lesões que cobrem aproximadamente 10% da área foliar e com presença do acérvulo.
6	Lesões que cobrem aproximadamente 25% da área foliar e com presença abundante de acérvulos.

Fonte: MAHASUK *et al.* 2009a (com alterações).

Para análises estatísticas as pontuações da severidade das plântulas foram tabuladas e os dados foram comparados pela análise da variância (ANOVA) aplicando-se o teste de médias Scott e Knott (1974) ($P \leq 0,05$) utilizando o software Sisvar, versão 5.6 (Ferreira 2014).

4.4 Avaliação da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro

A partir dos resultados da inoculação em plântulas foram selecionados os genótipos para condução de um plantio em campo aberto, realizado na Estação Experimental de Hortaliças Dr. Alejo Von der Pahlen, localizada no Km 14, BR174, Rodovia AM 010, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

O solo dessa área é do tipo Podzólico, vermelho-amarelo álico, com textura arenosa e de baixa fertilidade; o clima local é caracterizado como “Afi” conforme Köppen. A instalação do plantio ocorreu nos meses de dezembro de 2016 a junho de 2017. Segundo o Instituto Nacional de Meteorologia – INMET a precipitação de chuvas nesse período variou da mais alta no mês dezembro com aproximadamente 500 mm e a menor de 200 mm nos meses de maio e junho.

A condução do transplante das mudas seguiu o espaçamento de 1 x 1m em solo adubado com esterco de galinha (2 kg por cova), 30 g de NPK (15-15-10) com as

seguintes fontes: sulfato de amônia, fosfato natural de Araxá e cloreto de potássio, mais 30g de calcário dolomítico conforme sugestões para cultura (Filgueira 2008). Para adubação de cobertura foram utilizados 30 g de NPK (4-14-8). Adubações foliares foram realizadas a cada 15 dias utilizando 6 g por litro de Plantafol (Valagro®) (NPK-20-20-20). A floração iniciou aos 65 dias após a semeadura e a colheita dos frutos aos 85 dias, aproximadamente.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 28 tratamentos (genótipos), 3 repetições por tratamento (uma planta como unidade experimental), sendo os frutos sub-repetições. De cada planta foram colhidos 5 frutos, perfazendo 15 frutos por tratamento, para cada estágio de maturação (maduro e imaturo). Os frutos coletados foram levados para o laboratório de Fitopatologia do INPA, onde foi avaliada a severidade dos frutos à antracnose em dois períodos (7 e 14 dias).

No laboratório os frutos foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio NaClO a 1% (v/v), por um minuto e então lavados em água destilada. Os frutos já secos foram acondicionados sob papel toalha, previamente esterilizados, dentro de caixas do tipo gerbox contendo algodão embebido com água estéril para manter 100% da umidade relativa (HR). A inoculação no fruto consistiu em depositar sobre o fruto uma gota de aproximadamente 10 µL da suspensão de conídios na concentração de 10^6 conídios.mL⁻¹ e, sobre a gota, foi realizada uma perfuração com uma agulha esterilizada (método de *pinpricking*) até a ruptura do pericarpo (Lin *et al.* 2002). A testemunha seguiu os mesmos procedimentos, porém com água destilada-estéril ao invés da suspensão de conídios.

A avaliação da resistência dos frutos de pimenta-de-cheiro à antracnose foi conforme as seguintes considerações:

(i) Área da lesão mensurada por meio de imagens dos frutos fotografados ao 7 DAI e aos 14 DAI, em estágio imaturo e maduro, com o auxílio de ferramentas do software Autocad 2016 (Anexo III); com isso, tornou-se possível classificar os genótipos em grupos: resistentes com <10% da área lesionada (R), moderadamente resistentes 11-20% (MR), suscetível 21-40% (S) e altamente suscetível > 41% (AS) (Park *et al.* 2009).

(ii) Número de dias para o surgimento dos primeiros sintomas do patógeno, período de incubação.

(iii) Contagem de conídios após 14^o DAI com auxílio da câmara de Neubauer. O fruto foi lavado com 1 mL de água destilada e esterilizada, sobre uma placa de Petri, com auxílio de um pincel número zero para ajudar a desprender os conídios dos conidióforos. Em seguida, se retirou uma amostra da suspensão para a quantificação dos conídios (Anexo IV) (Alfenas e Mafia 2007). Os resultados foram calculados para obter a quantidade de conídios por cm² da lesão.

Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e ao teste de médias de Scott e Knott (1974) ($P \leq 0,05$) utilizando o software Genes (Cruz 2001).

4.5 Caracterização cultural e morfológica do fungo

A caracterização consistiu na determinação da velocidade de crescimento micelial e a morfometria das estruturas reprodutivas do fungo. Discos de micélio com 6 mm de diâmetro, obtidos de um cultivo monospórico, após um mês de crescimento em meio BDA, foram removidos das bordas das colônias e repicados para cinco placas de Petri, para determinação do crescimento micelial. O crescimento das colônias foi acompanhado diariamente por sete dias medindo-se os diâmetros perpendiculares das colônias, expressa em mm/dia com auxílio de uma régua milimetrada. A partir dos dados obtidos calculou-se a velocidade de crescimento micelial por meio de regressão linear.

As medições dos conídios, apressórios e setas foram realizadas em microscópio de luz com câmara acoplada (modelo Axio Imager M2 Carl Zeiss, objetiva de 40 vezes e ocular de 10 vezes). O software utilizado para as medições foi o Zen 2012 (blue edition). De cada estrutura foi realizada 30 observações e calculado a média.

4.6 Caracterização dos genótipos de pimenta-de-cheiro

A caracterização dos genótipos considerou os frutos em estágio imaturo, colocação verde, em estágio maduro, aparecimento da cor do fruto maduro (fase de senescência) e o hábito de crescimento das plantas. Os descritores utilizados estão de acordo com o catálogo de descritores do gênero *Capsicum* (IPGRI 1995) (Anexo II).

As avaliações dos frutos foram obtidas de uma amostra de 150 frutos por genótipo, e foram: massa /fruto (g), comprimento do fruto (cm), diâmetro do fruto (cm), formato do fruto (1 - alongado; 2 - arredondado; 3 - triangular; 4 - campanulado; 5 -retangular; 6 – outro) (IPGRI 1995), cor do fruto no estágio maduro (1 - branco; 2 - amarelo limão; 3 - amarelo-laranja pálido; 4 - amarelo-laranja; 5 - laranja pálido; 6 - laranja; 7 - vermelho

claro; 8 - vermelho; 9 - vermelho- escuro; 10 - violeta; 11 - marrom; 12 - preto; 13 - amarelo; 14 - amarelo pálido; 15 – salmão).

A avaliação do hábito de crescimento da planta foi avaliada como: 3 –prostrado; 5- compacto; 7- ereto.

Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e ao teste de médias de Scott e Knott (1974) ($P \leq 0,05$) utilizando o software Genes (Cruz 2001).

4.7 Identificação de vírus

Foram avaliadas a presença de vírus nas plantas, no campo, por meio da visualização de sintomas causados por vírus (bolhosidade, encrespamento e mosaico). As folhas com os sinais da doença foram destacadas e levadas para o laboratório. Foram realizados os exames de extratos e de secções, ambos observados em um microscópio eletrônico de transmissão JEO JEM 1011, as imagens obtidas foram registradas digitalmente. Posteriormente, as amostras foram identificadas molecularmente por RT-PCR.

As amostras foram enviadas para a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz –ESALQ, USP e para o Instituto Agrônomo de Campinas – IAC. Os vírus foram identificados pelo grupo de pesquisa do Dr. Elliot Watanabe Kitajima - Laboratório de Microscopia Eletrônica e Dr. Jorge Alberto Marques Rezende – Laboratório de Biologia Molecular. O inseto vetor foi identificado pelo Dr. Valdir Atsushi Yuki.

4.7.1 Microscopia eletrônica de transmissão

No exame de extratos, pequenos fragmentos de folha sintomática foram maceradas em um tubo “ependorff” na presença de tampão fosfato 0,01 M e pH 7,2. A suspensão foi transferida para uma telinha porta espécime coberta com película de Formvar reforçada com carbono e contrastada negativamente com acetato de uranila aquoso a 1%.

No exame de secção pequenos fragmentos de 1 x 3 mm do tecido foliar sintomático foram fixados com glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2%) em tampão cacodilato 0,05 M e pH 7,2 por 2 horas, pós-fixada com OsO_4 a 1%, desidratados em etanol, infiltrados e emblocados Leica UTC, equipado com navalha de diamante. As secções (70 nm) foram montadas em telinhas de cobre 300 mesh, contrastadas com acetato de uranila (3%) e citrato de chumbo de Reynolds.

4.7.2 Detecção de vírus por RT-PCR

O RNA obtido de cada uma das amostras foi avaliado mediante RT-PCR usando oligonucleotídeos iniciadores específicos para a detecção do *Cucumber mosaic virus* (CMV) e oligonucleotídeos universais para o gênero *Potyvirus* (PepYMV) (Tabela 2).

Tabela 2 - Oligonucleotídeos usados na RT-PCR.

VÍRUS	PRIMERS	SEQUÊNCIA (5' – 3')	PRODUTO ESPERADO	REFERÊNCIA
CMV	CMV-1	GCCGTAAGCTGGATGGACAA	480 pb	Wylie <i>et al.</i> (1993)
	CMV-2	TATGATAAGAAGCTTGTTCGCG		
PepYMV	PV1/SP6	GATTTAGGTGACACTATAGT ₁₇ V	800 pb	Mackenzie <i>et al.</i> (1998)
	WCIEN sense	ATGGTTGGTGYATYGARAAT		

A RT-PCR One Step foi realizada em 25 µl, contendo 5 µl de RNA total extraído do vírus purificado, 12,5 µl de 2X PCR Master mix (Fermentas), 0,4 µl de 100 mM oligonucleotídeo antisense, 0,4 µl de 100 mM oligonucleotídeo senso, 0,04 U/µl AMV transcriptase reversa (Promega) e 0,4 U/µl RNase inhibitor (Ambion). As condições do termociclador no caso do *Cucumber mosaic virus* (CMV) foram: um ciclo de 42 °C por 30 min, um ciclo de 94 °C por 3 min, seguidos por 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 55 °C por 40 s e 72 °C por 40 s, e um ciclo de extensão final a 72 °C por 10 min, e no caso do *Potyvirus* (PepYMV) foram um ciclo de 42 °C por 30 min, um ciclo de 94 °C por 3 min, seguidos por 35 ciclos de 94 °C por 45 s, 60 °C por 1 min e 72 °C por 1 min, e um ciclo de extensão final a 72 °C por 10 min.

Os amplicons foram analisados mediante eletroforese em gel de agarose 1% corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen) e visualizados em transiluminador. Os amplicons do tamanho esperado foram purificados usando o kit PureLink® PCR purification (Invitrogen K3100-01).

As sequências nucleotídicas obtidas foram editadas para obtenção do consenso e alinhadas usando os programas Electropherogram quality analysis (Embrapa) (<http://bioinformatica.cenargen.embrapa.br/phph/>) e Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). As identidades das sequências obtidas foram definidas usando BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) ferramenta disponibilizada pelo NCBI (National Center for Biotechnology Information) que permite a comparação com sequências depositadas no GenBank.

5. RESULTADOS

5.1 Seleção de genótipos de pimenta-de-cheiro em propriedades produtoras da cultura

Foram realizadas coletas de frutos de pimenta-de-cheiro em 37 propriedades, dos municípios do entorno de Manaus/Amazonas, sendo oito do município de Iranduba (IRA); sete de Manacapuru (MPU); treze de Presidente Figueiredo (PF) e nove de Rio Preto da Eva (RPE) (Anexo I). Dessas coletas, resultaram 100 genótipos presumivelmente resistentes e dois genótipos testemunhas. Os genótipos foram nomeados com a sigla do município, seguido por um número.

5.2 Confirmação da patogenicidade do isolado INPA 2787 (*Colletotrichum brevisporum*)

As cinco plantas de pimenta-de-cheiro inoculadas com o isolado INPA 2787 apresentaram, no terceiro dia, sintomas característicos de antracnose nas folhas e no sétimo dia em pecíolos e ramos. Por outro lado, a planta testemunha não manifestou sintomas decorrentes da doença, confirmando a patogenicidade do isolado. Após sete dias de inoculação, em lesões, foram observados sob microscópico estereoscópico os sinais do fungo, caracterizados pela presença abundante de setas e massas de conídios (Fig. 2). O fungo foi reisolado e cultivado em meio BDA. Para garantir a uniformidade genética foram obtidas culturas monospóricas e estas armazenadas em refrigeradores a 5 °C. A partir da cultura monospórica, prepararam-se suspensão de conídios para inoculação em plântulas e posteriormente em frutos de pimenta-de-cheiro. É importante ressaltar que este patógeno tem sido muito agressivo à pimenteira causando lesões praticamente em todos os órgãos da planta.



Figura 1 - Sintomas de antracnose (*Colletotrichum brevisporum* - isolado INPA 2787) no caule; a - aspecto do caule e ramos de pimenta-de-cheiro com sintomas de antracnose; b - visão microscópica das regiões necrosadas do caule com presença de acérvulos; c - visão microscópica da formação de setas e produção de conídios no tecido vegetal.

5.3 Severidade da antracnose em plântulas de pimenta-de-cheiro

Os primeiros sintomas da antracnose nas plântulas foram o surgimento de manchas cloróticas na parte superior, inicialmente com área menor ou igual a 1 mm (Fig. 2 a). Genótipos mais suscetíveis apresentaram lesões que evoluíram sem margem definida tornando-se necróticas. Isso levou a uma clorose generalizada das folhas afetadas (Fig. 2 b). Genótipos com resistência responderam ao processo infeccioso com reação de hipersensibilidade com o abortamento das folhas.



Figura 2 - Sintomas iniciais da antracnose em folhas e pecíolo de plântulas de pimenta-de-cheiro. a - sintomas aos 7 DAI; b - sintomas aos 21 DAI do *Colletotrichum brevisporum* - isolado INPA 2787. Experimento em casa-de-vegetação.

As avaliações realizadas aos 7, 14 e 21 (DAI) apontaram um aumento progressivo de níveis de severidade da doença, com médias de 2,70 a 4,41 (Tabela 3). Após 21 dias houve colonização do patógeno em 100% dos genótipos, porém com diferentes níveis de severidade (Tabela 4). O genótipo CN (controle negativo), inoculado com água, não manifestou sintomas decorrentes da antracnose, já o inoculado com o patógeno, genótipo CP (controle positivo), apresentou sintomas decorrentes da antracnose após 7 DAI.

A distribuição dos genótipos nas avaliações de severidade aos 7, 14 e 21 DAI foram de: 38,61% menor e 61,39 % maior que a média de 2,70, na primeira semana, 32,67% menor e 54,46% maior que a média de 3,50, na segunda semana e 40,59% menor e 59,41% maior que a média de 4,41, na terceira semana. Destacando-se os genótipos MPU10, IRA03 e RPE33 que apresentaram área lesionada menor que 1 mm até 14 DAI (Tabela 4).

Considerou-se genótipo com resistência precoce à antracnose aqueles que apresentaram ausência de sintomas da doença ou com lesões necróticas isoladas abrangendo área foliar de até 1% ou reação de hipersensibilidade. De acordo com Lima (2002), reações de hipersensibilidade como o abortamento de folhas ocorrem como resultado do processo infeccioso, o efeito da desfolha é tratado como um mecanismo importante, pois a planta elimina a fonte de inóculo, reduzindo a epidemia.

Tabela 3 - Análises de variâncias da severidade da antracnose, causada por *Colletotrichum brevisporum*, em genótipos de pimenta-de-cheiro avaliados aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação.

FV (7 DAI) ¹	GL	SQ	QM	Fc	P
Genótipo	101	192,17	1,90*	2,47	0,0000
Erro	306	235,75	0,77		
Total	407	427,92			
CV (%)	32,53				
Média geral	2,70	Número de observações		408	

FV (14 DAI) ¹	GL	SQ	QM	Fc	P
Genótipo	101	215,49	2,13*	2,65	0,0000
Erro	306	246,50	0,80		
Total	407	462,00			
CV (%)	25,61				
Média geral	3,50	Número de observações		408	

FV (21 DAI) ¹	GL	SQ	QM	Fc	P
Genótipo	101	193,75	1,92*	2,78	0,0000
Erro	306	211,25	0,69		
Total	407	405,00			
CV (%)	18,82				
Média geral	4,41	Número de observações		408	

* significativo ($p \leq 0,05$)

Tabela 4 - Severidade da antracnose em escala de notas em plântulas de *Capsicum chinense* inoculadas com *Colletotrichum brevisporum* (isolado INPA 2787).

Genótipo	Severidade da antracnose ¹		
	7 DAI	14 DAI	21 DAI ²
CN ³	1,00 a	1,00 a	1,00 a
MPU10	1,25 a	1,25 a	3,25 b
IRA03	1,25 a	1,75 a	2,75 b
RPE33	1,50 a	1,50 a	3,50 b
MPU05	1,25 a	2,50 b	3,50 b
MPU04	1,75 a	2,25 b	3,50 b
MPU16	1,75 a	2,25 b	3,50 b
MPU03	1,75 a	2,25 b	3,75 b
RPE16	1,75 a	2,50 b	2,75 b
MPU06	1,75 a	2,50 b	3,25 b
IRA24	1,75 a	2,50 b	3,50 b
MPU08	2,00 a	2,50 b	3,00 b
MPU29	2,00 a	3,00 b	3,75 b
MPU31	2,00 a	3,00 b	4,00 b
RPE02	2,50 a	2,50 b	3,50 b
MPU09	1,50 a	2,50 b	4,25 c
MPU12	1,50 a	3,00 b	4,50 c
IRA02	1,75 a	2,75 b	4,50 c
MPU01	2,00 a	2,50 b	4,25 c
IRA20	2,25 a	2,75 b	4,75 c
IRA9	2,25 a	3,00 b	4,25 c
IRA25	2,75 b	2,75 b	4,00 b
IRA01	3,00 b	3,00 b	4,00 b
IRA28	2,75 b	2,75 b	4,75 c
MPU13	2,00 a	3,25 c	4,00 b
IRA04	2,00 a	3,50 c	4,00 b
RPE07	2,00 a	3,75 c	4,00 b
RPE37	2,50 a	3,25 c	3,50 b
PF18	1,75 a	3,25 c	4,25 c
IRA1b	1,75 a	3,75 c	4,50 c
IRA21	2,00 a	3,50 c	4,25 c
MPU31b	2,00 a	3,50 c	4,25 c
MPU23	2,00 a	3,75 c	5,00 c
PF09	2,25 a	4,00 c	5,00 c
CP ³	2,25 a	4,25 c	4,50 c
MPU33	2,50 a	3,25 c	4,50 c
IRA05	2,50 a	3,50 c	4,25 c
MPU34	2,50 a	3,75 c	4,50 c
PF4a	2,50 a	3,75 c	4,75 c
RPE20	2,50 a	3,75 c	4,75 c
IRA19	2,50 a	4,00 c	4,25 c

Tabela 4 - continuação

Genótipo	7 DAI	14 DAI	21 DAI²
RPE15	2,50 a	4,00 c	4,50 c
MPU24	2,50 a	4,50 c	5,00 c
IRA06	2,75 b	3,25 c	4,00 b
PF29	2,75 b	4,00 c	4,00 b
IRA23	3,00 b	3,25 c	3,50 b
PF25	3,50 b	3,50 c	4,00 b
RPE4a	3,50 b	3,50 c	4,00 b
RPE18	2,75 b	3,25 c	4,25 c
RPE30	2,75 b	3,25 c	5,00 c
MPU25	2,75 b	3,75 c	4,25 c
RPE17	2,75 b	3,75 c	4,25 c
MPU02	2,75 b	3,75 c	4,75 c
MPU26	2,75 b	4,00 c	4,75 c
RPE06	2,75 b	4,00 c	4,75 c
PF 4c	2,75 b	4,00 c	5,00 c
MPU22	2,75 b	4,25 c	4,75 c
PF11	2,75 b	4,25 c	5,25 c
PF15	2,75 b	4,25 c	5,25 c
RPE19	2,75 b	4,25 c	5,50 c
PF33	3,00 b	3,25 c	4,50 c
RPE10	3,00 b	3,50 c	4,25 c
MPU30	3,00 b	3,50 c	4,50 c
RPE03	3,00 b	3,50 c	4,75 c
PF2	3,00 b	3,50 c	5,50 c
RPE41	3,00 b	3,75 c	4,50 c
RPE01	3,00 b	3,75 c	5,25 c
IRA18	3,00 b	4,00 c	4,75 c
PF3	3,00 b	4,00 c	4,75 c
IRA4b	3,00 b	4,00 c	5,00 c
PF 5c	3,00 b	4,25 c	4,75 c
PF9b	3,00 b	4,25 c	5,00 c
RPE05	3,25 b	3,25 c	4,25 c
PF19	3,25 b	3,50 c	4,50 c
PF31	3,25 b	3,50 c	4,75 c
IRA22	3,25 b	3,75 c	4,50 c
RPE31	3,25 b	3,75 c	5,00 c
IRA17	3,25 b	4,00 c	4,25 c
RPE24	3,25 b	4,00 c	4,25 c
IRA11	3,25 b	4,00 c	4,50 c
PF22	3,25 b	4,00 c	4,75 c
RPE18c	3,25 b	4,00 c	4,75 c
IRA14	3,25 b	4,25 c	5,00 c
PF34	3,25 b	4,50 c	5,50 c

Tabela 4 - continuação

Genótipo	7 DAI	14 DAI	21 DAI²
RPE38	3,25 b	4,75 c	5,00 c
PF08	3,25 b	4,75 c	5,25 c
MPU07	3,50 b	3,50 c	4,75 c
PF35	3,50 b	3,75 c	4,50 c
RPE04	3,50 b	3,75 c	4,50 c
IRA 10	3,50 b	3,75 c	4,75 c
IRA 12	3,50 b	3,75 c	5,00 c
RPE42	3,50 b	4,00 c	4,50 c
PF28	3,50 b	4,00 c	4,75 c
PF07	3,50 b	4,25 c	5,25 c
PF14	3,50 b	4,25 c	5,50 c
IRA7	3,75 b	3,75 c	4,50 c
PF20	3,75 b	4,00 c	4,25 c
IRA15	3,75 b	4,00 c	4,75 c
RPE34	3,75 b	4,00 c	5,00 c
PF5a	3,75 b	4,00 c	5,50 c
PF26	3,75 b	4,25 c	5,00 c
PF17	3,75 b	4,50 c	5,25 c

¹ Escala de notas: 1 – sem sintomas; 2 – lesão > 1mm; 3 – lesão 1 % da área foliar; 4 – lesão 5 % da área foliar; 5 – lesão 10 % da área foliar; 6 – lesão 25 % da área foliar.

² Médias de quatro repetições. Coluna com mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott & Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

³ CN – controle negativo (inoculado com água) e CP – controle positivo (inoculado com o isolado INPA 2787).

As médias de severidade da doença apresentaram valores crescentes de 1,25 a 5,50 para as avaliações dos genótipos, em uma escala que variou de 1 = resistente a 6 = altamente suscetível. O boxplot (Fig. 3) conjectura valores *outliers*, pontos fora do conjunto de dados, e, uma distribuição normal dos dados entre 2,50 a 4,75 no 14 DAI e 2,75 a 5,50 no 21 DAI. Poderíamos considerar *outliers* como indicativo da confirmação de genótipos resistentes. No entanto, para confirmar a resistência dos genótipos (MPU10, IRA03, RPE33 e RPE16) serão necessárias avaliações da resistência em outros estágios de desenvolvimento da planta e dos frutos. O genótipo CN (testemunha negativa) apareceu como *outliers* e CN (testemunha positiva) não diferiu estatisticamente dos outros genótipos, mostrando-se suscetível à antracnose.

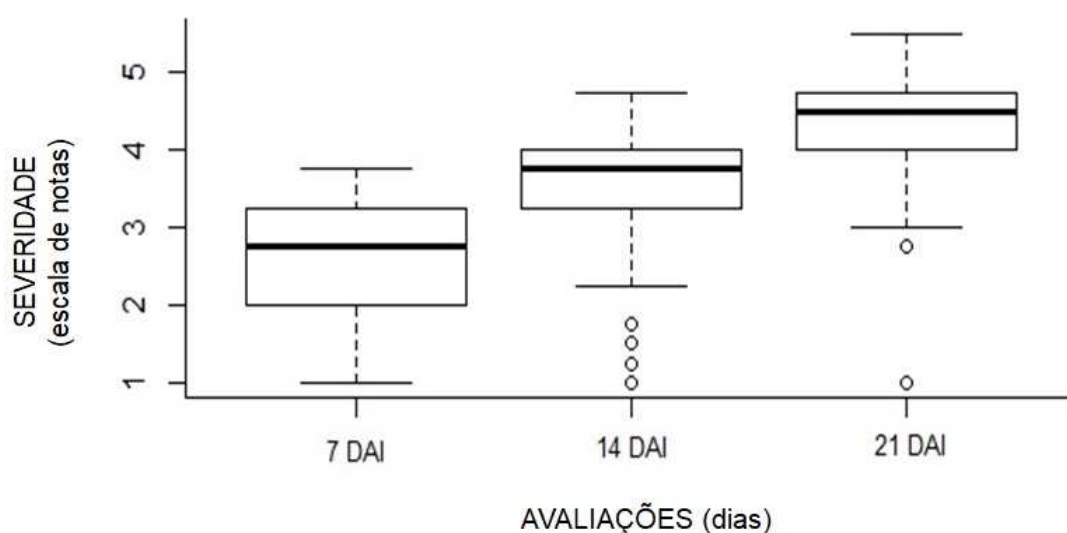


Figura 3 - Boxplot da severidade da antracnose em pimenta-de-cheiro aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação.

A avaliação de plântulas recorre a uma forma simples e rápida de identificar genótipos resistentes que permite aumentar a eficiência e a escala do sistema de seleção (Pereira *et al.* 2011). Em experimentos similares têm encontrado fontes de resistência à antracnose em *C. chinense* em fase de plântulas (Silva 2014; Pereira *et al.* 2011; Suhardi *et al.* 1991; Mahasuk *et al.* 2009a). Isto indica que o melhoramento desta espécie pode ser realizado por seleção ou por cruzamentos genéticos.

Resultados semelhantes aos obtidos nesse trabalho foram observados nos trabalhos de Mahasuk *et al.* (2009b) que ao realizar a inoculação em plântulas da cultivar suscetível *Capsicum annum* cv. Bangchang e da variedade resistente PBC932 obteve reações diferenciais nos hospedeiros. Após 3 DAI, ‘Bangchang’, apresentou sintomas necróticos cobrindo cerca de 5% a 25% da área foliar, enquanto que ‘PBC932’ apresentou reação de hipersensibilidade com lesões menores que 1 mm. Neste trabalho, nas avaliações aos 7, 14 e 21 DAI, obtiveram 25, 3 e 0 genótipos, respectivamente, com lesões menores que 1 mm de média. Levando em consideração que a variedade “PBC932” é considerada resistente, os genótipos que obtiveram, neste trabalho, resultados semelhantes, apresentam também resistência à antracnose.

Por outro lado, verifica-se que a seleção baseada apenas na reação de plântulas à antracnose não é suficiente. Pereira (2005) afirmou que a seleção apenas nesse estágio pode trazer inconsistência e inviabilizar testes de seleção, portanto, a avaliação em frutos faz-se necessária para confirmação da resistência.

5.4 Severidade da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro

Os frutos de genótipos resistentes maduros (Fig. 4 a) e imaturos (Fig. 4 b) apresentaram áreas lesionadas pela antracnose menores que 1 cm² aos 7 DAI. Por meio da visualização em estereoscópio observou-se a presença de acérvulos com setas ao redor da região perfurada. Fatores químicos e genéticos provavelmente estariam atuando no não desenvolvimento das estruturas reprodutivas do fungo. A perfuração realizada para controle, inoculada com água, não apresentou sinais do patógeno.

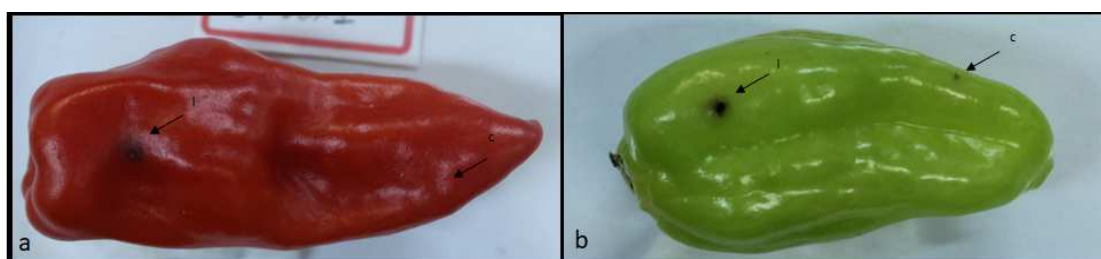


Figura 4 - Frutos de pimenta-de-cheiro após sete dias de inoculação com (*Colletotrichum brevisporum*) a - fruto maduro resistente; b - fruto imaturo resistente, (I) inoculado com o patógeno; (C) controle, inoculado com água destilada.

Nos frutos com antracnose mais progredidos, aos 14 DAI, foram observados sintomas de lesões circulares e aprofundamento do tecido. As lesões formaram anéis concêntricos que evoluíam até o acometimento de toda a área do fruto característico de antracnose (Fig. 5 b). Outra característica observada foi a produção de massas de conídios de cor laranja, às vezes branca ou acinzentada, que tornavam a superfície do fruto molhada (Fig. 5 a - e).

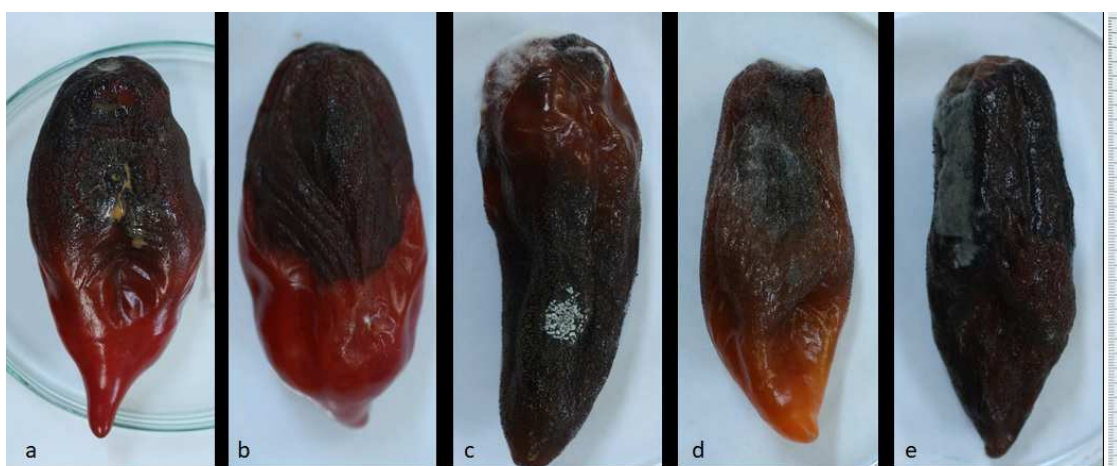


Figura 5 - [a - e] Sintomas de antracnose (*Colletotrichum brevisporum*) aos 14 DAI, em frutos de pimenta-de-cheiro após 14 dias de inoculação.

A amplitude de áreas lesionadas em frutos imaturos aos 7 DAI foi entre 0,3 e 3,2 cm² e em frutos maduros entre 0,2 a 3,8 cm². Em um estudo desenvolvido por Silva (2016) observou-se em frutos de *C. chinense*, do tipo pimenta-de-cheiro, áreas lesionadas que variaram entre 1,13 cm² e 2,26 cm² após 10 DAI e Padilha (2017) observou as menores lesões com área de 1,53 cm² em frutos imaturos aos 10 DAI. É importante ressaltar que os dois trabalhos citados utilizaram outras espécies de *Colletotrichum*.

Conforme a avaliação da severidade da antracnose em frutos imaturos aos 7 DAI, os genótipos que apresentaram médias de áreas lesionadas com amplitude que variaram entre 0,3 e 0,8 cm² foram considerados resistentes, os que tiveram médias de áreas lesionadas entre 0,9 e 1,8 cm² foram considerados moderadamente resistentes e os com média entre 1,9 e 3,2 cm² os suscetíveis (Tabela 5). Em frutos maduros, os genótipos que apresentaram áreas lesionadas entre 0,2 e 1,0 cm² foram considerados resistentes, entre 1,1 e 1,8 cm² considerados moderadamente resistentes e entre 2,2 e 3,8 cm² genótipos suscetíveis (Tabela 6). Santos *et al.* (2004) consideraram materiais resistentes de *C. chinense* os acessos que obtiveram área de lesão entre 1,62 cm² e 2,54 cm², em frutos maduros, aos 8 DAI. Enquanto que Pereira *et al.* (2011) consideraram, sem distinguir os estádios de maturação dos frutos, os acessos de *C. chinense* resistentes aqueles que obtiveram área de lesão menor que 2,0 cm², intermediário entre 2,0 a 2,3 cm² e suscetível os que obtiveram acima de 2,4 cm².

Seguindo a classificação das reações nos frutos aos 7 DAI, os resultados mostraram que os genótipos resistentes (R), moderadamente resistentes (MR), suscetíveis (S) no estágio de fruto imaturo compunham 17,86%, 32,14% e 50%, respectivamente e, no estágio de fruto maduro compunham 17,86%, 50% e 32,14% respectivamente (Tabelas 5 e 6). Os genótipos resistentes, em estágio de frutos imaturos, foram: RPE02, MPU29, IRA03, RPE33 e RPE 41. Em frutos maduros, foram: MPU29, PF09, IRA02, IRA 01 e RPE 41. Em contraposição, os genótipos suscetíveis foram: em estágio imaturo, MPU 02, IRA18, IRA21, IRA01, MPU06, IRA24, MPU08 e IRA05, em estágio maduro, RPE 02. Os genótipos MPU29 e RPE41 foram classificados como resistente em ambos estádios de maturação, MPU 29 apresentou a menor média de área lesionada (0,2 cm²) em estágio de fruto maduro (Tabela 5).

As reações diferenciais em frutos vermelhos podem ser devido à camada cuticular dos frutos que desempenham um papel importante na prevenção da infecção e colonização do fungo. Ko (1986) demonstrou que os frutos verdes apresentaram maiores atividades em peroxidase e polifenoloxidase do que os vermelhos, mas menores níveis de fenóis, aminoácidos e carboidratos totais, alguns dos quais foram relacionados à resistência do hospedeiro. Além disso, Manandhar *et al.* (1995) acrescentaram que o desenvolvimento da antracnose está correlacionado negativamente com a espessura da cutícula e do exocarpo, com a produção de conídios e com a expansão da lesão nos frutos.

A amplitude de áreas lesionadas em frutos imaturos aos 14 DAI foi entre 2,1 e 9,7 cm² e em frutos maduros entre 4,2 e 9,9 cm². Neste caso foram observados genótipos altamente suscetíveis, em estágio de fruto imaturo com áreas entre 4,2 e 9,7 cm² e em estágio de fruto maduro foram encontrados genótipos altamente suscetíveis com áreas lesionadas de 4,3 e 9,9 cm² conforme tabelas 5 e 6.

O período de incubação variou de 2 a 6 DAI tanto para frutos maduros como imaturos (Tabela 5 e 6). Esses dados corroboram com as observações realizadas por Ranathunge *et al.* (2002), que descreveram os mecanismos de colonização e infecção de *C. truncatum* e observou que no 6 DAI ocorre a dissolução das paredes celulares causando a aparência de afundada na superfície do fruto e somente no 7 - 9 DAI a epiderme então se rompe e revela a presença de setas e conídios.

O período de incubação (tempo decorrido entre a inoculação até o surgimento dos sintomas) e o período de latência (tempo decorrido entre a inoculação até o surgimento das primeiras estruturas do fungo) são índices que podem inferir se o patógeno é mais ou menos agressivo a um determinado genótipo. Na natureza, um sistema policíclico como o da antracnose pode gerar uma alta variabilidade. Portanto, períodos mais longos de latência representam um menor número de gerações do patógeno por ciclo do hospedeiro (Amorim 1995). Neste experimento, não foi possível relacionar o período de incubação com a classificação da resistência, visto que, os genótipos classificados como resistentes não apontaram um padrão, os sintomas se manifestaram precocemente, com dois dias ou tardiamente, com 6 dias.

Embora, foi possível observar nos genótipos resistentes estruturas reprodutivas do fungo, porém com a aparente estabilização do desenvolvimento. Segundo Adikaram,

Brown e Swinburne (1983), a infecção pode iniciar pela germinação do esporo, formação do esporo e formação de apressórios sobre os frutos verdes, os quais podem permanecer quiescentes e continuar o processo de infecção e colonização do hospedeiro somente após a maturação dos frutos. Além disso, Do (2003), menciona que plantas resistentes têm inibição de ácido ascórbico, resultando no acúmulo de H_2O_2 e aceleração da morte celular e Pereira *et al.* (2005) mencionam que frutos de plantas resistentes produzem altas concentrações de capsaicinóides e ácido ascórbico e baixas concentrações de açúcares.

Tabela 5 – Severidade da antracnose em área da lesão/cm² de frutos imaturos de *Capsicum chinense* inoculados com *Colletotrichum brevisporum* (isolado INPA 2787).

Genótipo	Severidade da antracnose em frutos imaturos				Incubação (dias)
	Área lesionada (cm ²)				
	7 DAI ^{1,2}	Reação ³	14 DAI	Reação	
MPU02	3,2 a	S	7,0 b	AS	6
IRA18	3,0 a	S	9,0 a	AS	2
IRA21	2,9 a	S	8,3 a	AS	2
IRA01	2,9 a	S	8,0 a	AS	3
MPU06	2,9 a	S	8,0 a	AS	3
IRA24	2,8 a	S	9,7 a	AS	3
MPU08	2,6 a	S	7,6 b	AS	4
IRA05	2,6 a	S	6,6 b	AS	5
IRA04	2,1 b	S	8,4 a	AS	2
IRA25	2,1 b	S	5,3 c	AS	4
IRA06	2,0 b	S	7,3 b	AS	3
RPE07	2,0 b	S	7,0 b	AS	3
IRA02	1,9 b	S	7,2 b	AS	2
MPU03	1,9 b	S	4,9 c	AS	3
IRA23	1,8 b	MR	8,5 a	AS	3
MPU13	1,8 b	MR	7,2 b	AS	3
IRA15	1,7 c	MR	7,2 b	AS	5
RPE03	1,6 c	MR	3,6 d	S	3
MPU31	1,5 c	MR	6,4 b	AS	6
MPU25	1,5 c	MR	4,9 c	AS	6
RPE04	1,3 c	MR	6,2 b	AS	4
PF09	1,2 c	MR	5,8 c	AS	3
PF25	1,1 c	MR	2,6 d	S	2
RPE41	0,8 d	R	5,8 c	AS	5
RPE33	0,7 d	R	5,2 c	AS	4
IRA03	0,7 d	R	5,4 c	AS	3
MPU29	0,6 d	R	4,6 c	AS	2
RPE02	0,3 d	R	2,1 d	S	3
Pr>F	7,8 **		14,0 **		
CV	27,2		13,5		
dms	1,6		2,8		

** significativo ao nível de 5% de probabilidade.

¹Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna não diferem pelo teste Scottt & Knott ao nível de 5% de probabilidade.

²Média de área lesionada de 15 frutos por genótipo.

³Reação: R - resistente; MR-modernamente resistente; S - suscetível; AS-altamente suscetível.

Tabela 6 - Severidade da antracnose em área da lesão/cm² de frutos maduros de *Capsicum chinense* inoculados com *Colletotrichum brevisporum* (isolado INPA 2787).

Severidade da antracnose em frutos maduros					
Genótipo	Área lesionada (cm ²)				Incubação (dias)
	7 DAI ^{1,2}	Reação ³	14 DAI	Reação	
RPE02	3,8 a	S	9,2 a	AS	3
RPE07	3,1 b	S	8,9 a	AS	3
MPU13	3,0 b	S	5,8 c	AS	2
MPU02	2,7 c	S	5,8 c	AS	5
IRA04	2,6 c	S	9,7 a	AS	2
IRA18	2,3 c	S	6,8 b	AS	2
RPE03	2,2 c	S	9,0 a	AS	2
MPU06	2,2 c	S	7,4 b	AS	5
IRA23	2,2 c	S	9,9 a	AS	3
PF25	1,8 d	MR	8,0 a	AS	4
MPU25	1,7 d	MR	7,5 a	AS	5
IRA21	1,6 d	MR	9,2 a	AS	2
IRA05	1,6 d	MR	6,5 b	AS	3
IRA24	1,6 d	MR	9,4 a	AS	3
IRA03	1,5 d	MR	8,5 a	AS	4
RPE04	1,5 d	MR	5,8 c	AS	3
MPU03	1,5 d	MR	5,8 c	AS	2
MPU08	1,4 d	MR	7,2 b	AS	4
IRA06	1,4 d	MR	4,3 c	AS	2
RPE33	1,4 d	MR	4,2 c	AS	4
MPU31	1,3 d	MR	4,8 c	AS	6
IRA15	1,1 e	MR	6,7 b	AS	5
IRA25	1,1 e	MR	5,7 c	AS	3
RPE41	1,0 e	R	6,4 b	AS	3
IRA01	1,0 e	R	5,9 c	AS	3
IRA02	0,6 e	R	6,2 b	AS	2
PF09	0,5 e	R	5,5 c	AS	4
MPU29	0,2 e	R	5,9 c	AS	2
Pr>F	10,7 **		9,3 **		
CV	25,2		13,7		
dms	1,4		3,1		

** significativo ao nível de 5% de probabilidade.

¹Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna não diferem pelo teste Scottt & Knott ao nível de 5% de probabilidade.

²Média de área lesionada de 15 frutos por genótipo.

³Reação: R - resistente; MR-modernamente resistente; S - suscetível; AS-altamente suscetível.

Ao analisar o estágio de maturação foi observado que não houve diferença significativa da área que foi lesionada aos 7 DAI entre os frutos imaturos e maduros, o tamanho das áreas, equipararam-se. Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) foram apontadas com 14 DAI, onde podemos analisar que há maiores áreas lesionadas, um dado esperado, devido à fatores fisiológicos dos frutos que são acelerados pelas condições experimentais (Tabela 7).

Tabela 7 - Avaliação de dois estádios de maturação de frutos sobre suas áreas lesionadas avaliadas aos 7 e 14 dias após a inoculação do *Colletotrichum brevisporum* em pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*).

Estádio de maturação	Área lesionada em cm ²	
	7 DAI	14 DAI
Imaturo	1,86 a ¹	6,44 a ¹
Maduro	1,73 a	7,00 b
dms	0,14	0,28

¹ as médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste Scottt & Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

Estudos precursores avaliaram principalmente a resistência à antracnose em fase de frutos. Kim *et al.* (1999) consideraram que a resistência nos frutos se comporta de forma diferente de acordo com seu estágio de maturação. Para Mongkolporn *et al.* (2010) genes diferentes com mecanismos de expressão distintos reagem diferencialmente às espécies de *Colletotrichum*. Neste estudo, não houve diferença em relação à severidade entre os frutos imaturos e maduros aos 7 DAI, porém houve diferença aos 14 DAI.

Oh *et al.* (1998) observaram uma invasão bem sucedida e uma colonização de *C. gloeosporioides* ocorrendo em frutos verdes, mas não em frutos vermelhos. Apesar da severidade não ter apresentado diferença significativa aos 7 DAI, porém numericamente os frutos verdes apresentaram maior média de área lesionada em relação aos frutos maduros. É importante ressaltar que aos 14 DAI os frutos maduros apresentavam decomposição maior em relação ao fruto verde, por isso a área média da lesão foi maior.

Além disso, é importante considerar as interações específicas entre os tipos de genótipos, os tipos de isolados e a maturidades dos frutos. Mahasuk *et al.* (2009a) analisaram o espectro da resistência à antracnose de 3 genótipos de *Capsicum* após serem inoculados com 13 isolados de *Colletotrichum* spp. e observaram que *C. chinense* (PBC

932) foi altamente suscetível, exceto ao isolado *C. capsici* '158ci', que não causou infecções. Park *et al.* (2009) estudaram a interação de 41 genótipos de *Capsicum* spp. à 11 isolados de *Colletotrichum* e observaram que os acessos de *C. chinense* foram suscetíveis ou altamente suscetíveis à maioria dos 11 isolados testados, exceto para um isolado, que apresentou baixos índices da doença a três genótipos, que foram classificados como moderadamente resistentes. Mongkolporn *et al.* (2010), demonstrou que os isolados de *C. acutatum*, *C. capsici* e *C. gloeosporioides* são geralmente mais virulentos em frutos maduros, diferente do que foi observado em *C. chinense* que apresentou maior resistência ao isolado *C. capsici* em frutos vermelhos maduros e verdes imaturos. Silva *et al.* (2014) avaliaram a reação de 37 acessos ao *C. gloeosporioides* em dois estádios de desenvolvimento do fruto e os acessos de *C. chinense* manifestaram resistência em frutos imaturos de dois acessos e em frutos maduros de quatro acessos.

Outro índice que permite determinar a capacidade de uma espécie fúngica se proliferar na natureza com maior eficiência e assim, garantir um maior número de gerações do patógeno por ciclo do hospedeiro é o potencial de esporulação do fungo. Após a deposição na superfície do hospedeiro, os conídios emitem o tubo germinativo e inicia-se a penetração. Em condições de laboratório, foi detectada uma produção máxima de $19,57 \times 10^6$ conídios/cm² e produção mínima de $3,27 \times 10^6$ conídios/cm², após 14 DAI.

Comparando os resultados da esporulação do *C. brevisporum* com a reação das lesões em fruto maduro (Tabelas 6) observa-se que há certa correspondência dos dados, no entanto, este parâmetro pode ser um referencial, mas não determinante. Os genótipos RPE02, MPU13 e RPE07 foram classificados como altamente suscetível (AS) e apresentaram concentrações de conídios de $19,57 \times 10^6$, $16,57 \times 10^6$ e $12,36$ por cm² da lesão, respectivamente (Tabela 8). E o genótipo MPU29, classificado como resistente (R), apresentou concentração de conídios/cm² da lesão de $4,61 \times 10^6$ (Tabela 8). Porém, esse comportamento não pode ser considerado o padrão, pois o genótipo RPE41, classificado como resistente (R), apesar da baixa esporulação ($0,51 \times 10^6$), apresentou área lesionada grande e produção de conídios de $12,55 \times 10^6$ conídios/cm² (Tabela 8). Isto significa que a maior produção de conídios não necessariamente indica reação de suscetibilidade.

Tabela 8 - Esporulação de *Colletotrichum brevisporum* (isolado INPA 2787) após 14 dias da inoculação) sob frutos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*).

Genótipo	Área final ¹	Esporulação ²	Conídios.10 ⁶ por cm ² da lesão ³
MPU03	5,8	0,35 a	16,57
MPU13	5,8	0,35 a	16,57
RPE02	9,2	0,47 a	19,57
MPU25	7,5	0,50 a	15,00
IRA03	8,5	0,50 a	17,00
RPE41	6,4	0,51 a	12,55
IRA05	6,5	0,52 a	12,50
IRA02	6,2	0,61 a	10,16
RPE33	4,2	0,64 a	6,56
RPE07	8,9	0,72 a	12,36
MPU31	4,8	0,73 a	6,58
PF25	8,0	0,78 a	10,26
IRA01	5,9	0,95 a	6,21
IRA25	5,7	0,95 a	6,00
IRA21	9,2	1,02 a	9,02
PF09	5,5	1,05 a	5,24
MPU02	5,8	1,09 a	5,32
RPE03	9,0	1,16 b	7,76
IRA06	4,3	1,27 b	3,39
MPU29	5,9	1,28 b	4,61
IRA18	6,8	1,31 b	5,19
IRA04	9,7	1,42 b	6,83
IRA24	9,4	1,49 b	6,31
IRA15	6,7	1,51 b	4,44
IRA23	9,9	1,53 b	6,47
RPE04	5,8	1,72 b	3,37
MPU08	7,2	1,86 b	3,87
MPU06	7,4	2,26 b	3,27
Pr>F		3,11 **	

¹ média da área lesionada final do fruto maduro após 14 dias; ² concentração de conídios em 1 mL; ³ relação da área lesionada/quantidade de conídios.

** significativo ao nível de 5% de probabilidade. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste Scottt & Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Semelhante aos resultados obtidos neste trabalho, Tozze Jr. (2007) constatou que em isolados de *C. acutatum* houve esporulação superior aos das demais espécies de *Colletotrichum* avaliadas, com quantidade média de conídios, variando entre $16,4 \times 10^6$ e $32,6 \times 10^6$ conídios/cm² da lesão, causando lesões grandes, acima de 8 cm², com sintomas tanto em frutos maduros como imaturos. Entretanto, os isolados de *C. acutatum* apresentaram menor variabilidade em relação aos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. capsici*. Demonstrando que o comportamento dessas duas espécies não é uma característica estável e, apresenta níveis distintos de agressividade.

5.5 Caracterização cultural e morfológica do isolado INPA 2787

O isolado INPA 2787, reisolado a partir do isolado MPU 108 (genbank: KU315570.1), identificado molecularmente na descrição do complexo *C. brevisporum*, Noireung (Almeida 2015), apresentou-se com produção de colônias inicialmente cinza que posteriormente tornaram-se marrom-escuro, com micélio aéreo ralo, não cotonoso, de cor cinza claro, com lado reverso também de cor marrom-escuro. O centro das colônias apresentou massas de conídio de cor laranja brilhante (Fig. 6 a - b). O crescimento foi do tipo radial com taxa de crescimento de 0,82 mm/dia. A morfologia do conídio foi do tipo longo cilíndrico, com extremidades obtusas e ligeiramente arredondadas, hialino e asseptados (Fig. 6 f). A média do comprimento e da largura dos conídios foi de 15,97 µm e 129,1 µm, respectivamente. A morfologia do apressório apresentou formas ovoide, clavado e ligeiramente irregular com contornos bem definidos (Fig. 6 c). A média do comprimento e da largura dos apressórios foi de 9,29 µm e 7,38 µm, respectivamente. As setas eram lisas, de forma cônica, a base, algumas vezes parecia inflada e a ponta de forma aguda, com coloração marrom escura (Fig. 6 d). A média do comprimento das setas foi de 85,58 µm. Conidióforos foram do tipo lageniformes a subcilíndricos, com média de comprimento de 13,43 µm, hialinos, com 1 a 3 septos, lisos, ramificados na base, formados a partir da parede de conidiomas (Fig. 6 e). As células conidiogênicas terminais, enteroblásticas, fialídicas, cilíndricas, hialinas e lisas (Fig. 6 e).

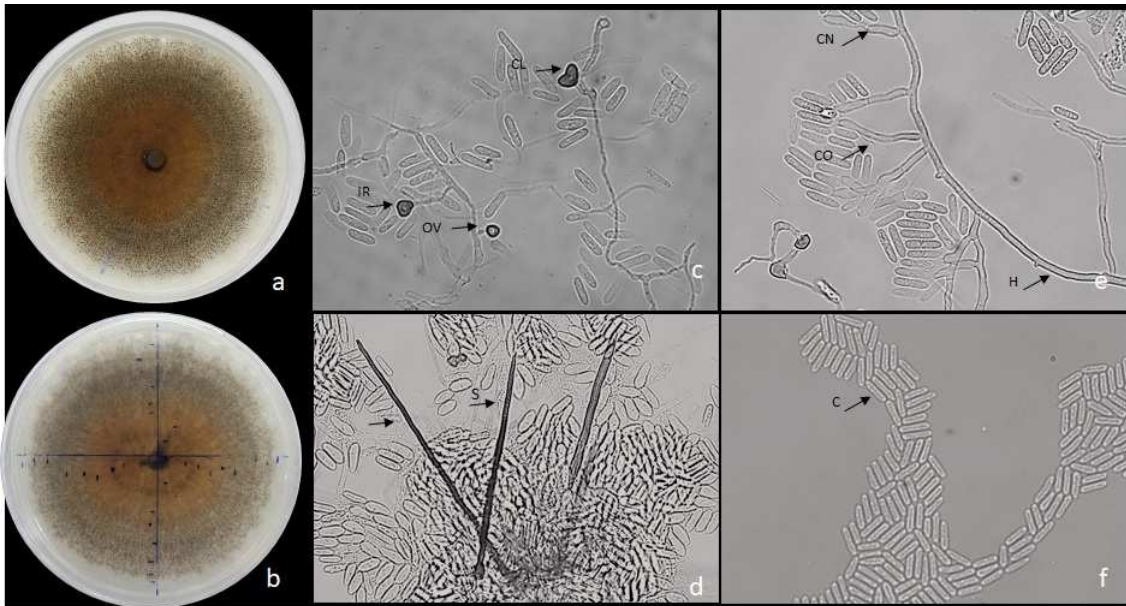


Figura 6 - Características cultural e morfológica de *Colletotrichum brevisporum* isolados de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*). a - visão superior da colônia; b - visão reversa da colônia; c - apressórios dos tipos: oval (OV), irregular (IR) e clavado (CL); d - setas (S); e - conidióforos (CN) e células conidiogênicas (CO) e Hifa (H); f - conídios (C). Barra de escala=50 μm .

A caracterização morfológica do isolado fúngico INPA 2787 assemelha-se com as descrições de Noireung *et al.* (2012) que observou conídios cilíndricos a clavados de dimensões de $14,9 \times 5,9 \mu\text{m}$, apressórios com tamanho médio de $11,3 \times 9,8 \mu\text{m}$, com formas variando de ovoide, clavado e ligeiramente irregular. A colônia era de cor branca por cima, e no reverso cinza. Taxa de crescimento de $6,7-7,2 \text{ mm dia}^{-1}$. Liu *et al.* (2016) identificou conídios longos e cilíndricos com $16,3-22,2 \mu\text{m}$ de comprimento e $4,2-6,3 \mu\text{m}$ de largura. Os apressórios apresentaram comprimento de $6,1-9,5 \mu\text{m}$ e largura de $5-7,9 \mu\text{m}$. A forma variou de ovoide a ligeiramente irregular. A aparência da colônia era cinza claro com o centro laranja. A velocidade de crescimento foi de $0,6 \text{ mm dia}^{-1}$. Silva *et al.* (2017) identificou apenas conídios de forma cilíndrica que apresentaram comprimento de $17,17 (13,63-23,72) \mu\text{m}$ e largura de $5,54 (4,47-7,02) \mu\text{m}$. As colônias apresentaram cor rosa e verde no centro, com crescimento de $0,28 \text{ cm/dia}$.

5.6 Caracterização morfoagronômica dos frutos de *Capsicum chinense*

Os valores de massa dos frutos variaram entre 5,58 g (MPU03) e 13,74 g (IRA18), os valores de comprimento dos frutos variaram entre 4,08 cm (MPU02) e 8,16 cm (IRA21), os valores do diâmetro variaram entre 1,61 (IRA04) e 2,55 (IRA03 e PF25), a relação comprimento/diâmetro variou entre 1,88 (MPU02) e 4,70 (IRA21) (Tabela 9).

Os genótipos de Rio Preto da Eva apresentaram valores de massa do fruto de 7,88 a 11,19 gramas, o comprimento variou de 4,68 a 6,81 cm, o diâmetro variou de 1,92 a 2,48 e a relação comprimento/diâmetro foi de 1,93 a 3,55.

O conjunto de genótipos oriundos do município de Manacapuru, apresentaram valores de massa do fruto que variaram de 5,58 a 11,12 gramas, o comprimento variou de 4,08 a 6,67 cm, o diâmetro variou de 1,95 a 2,38 e a relação comprimento/diâmetro foi de 1,88 a 2,98. Os genótipos MPU02 e MPU03 apresentaram as menores médias para comprimento (4,08 e 4,10 cm) e relação comprimento/diâmetro (1,88 e 1,90).

Os genótipos do município de Presidente Figueiredo são apenas dois, PF25 e PF09, com massa de 12,59 e 10,43, comprimento de 5,39 e 7,51, diâmetro de 2,54 e 1,99 e relação comprimento/diâmetro de 2,16 e 3,93.

Os genótipos classificados como resistentes obtiveram médias de comprimentos de 4,68 (RPE 33), 5,49 (IRA 01), 5,59 (RPE 02), 6,33 (MPU 29), 6,41 (RPE 41), 6,47 (IRA 03), IRA 02 (7,03) e 7,51 (PF 09). O genótipo IRA 03 destaca-se agronomicamente, com relação massa/fruto de 13,59 gramas e diâmetro do fruto de 2,55 centímetros (Fig. 7). Os genótipos IRA25, MPU25, IRA24, PF25, IRA21 indicaram tolerância à antracnose, visto que tiveram um desenvolvimento normal e boa produtividade, com médias de massa/fruto que variaram de 10,43 (PF 09) a 12,59 (IRA 25) (Tabela 9).

Quanto ao formato dos frutos (Tabela 10) os genótipos distinguiram-se em quatro tipos: alongado, triangular, campanulado e bloco. Em relação a cor dos frutos, três variações da cor vermelha foram observadas, o vermelho-claro, o vermelho e o vermelho escuro, além do amarelo-limão. Quanto ao hábito de crescimento das plantas os genótipos diferiram nas formas: ereto, compacto e prostrado.

Tabela 9 – Caracterização morfoagronômica de 28 genótipos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*).

Genótipo	massa/fruto (g) ¹		comprimento do fruto (cm)		diâmetro do fruto (cm)		comprimento/diâmetro	
MPU03	5,58	a	4,10	a	2,14	b	1,90	a
IRA01	6,13	a	5,49	a	1,74	a	3,25	b
MPU02	7,28	a	4,08	a	2,18	b	1,88	a
IRA04	7,33	a	7,11	b	1,61	a	4,44	b
MPU08	7,53	a	4,88	a	1,95	a	2,44	a
IRA06	7,86	a	6,66	b	1,85	a	3,64	b
RPE41	7,88	a	6,41	b	2,09	a	3,08	a
RPE04	8,12	a	5,50	a	2,10	a	2,61	a
MPU13	8,45	a	5,60	a	2,19	b	2,57	a
IRA05	8,66	a	6,93	b	1,81	a	3,88	b
MPU06	9,25	a	5,27	a	2,38	b	2,23	a
RPE07	9,38	a	6,81	b	1,92	a	3,55	b
IRA15	9,40	a	7,27	b	1,80	a	4,08	b
MPU29	9,86	b	6,33	b	2,38	b	2,73	a
MPU31	9,90	b	5,78	a	2,24	b	2,58	a
RPE02	10,16	b	5,59	a	2,27	b	2,46	a
IRA02	10,39	b	7,03	b	2,07	a	3,44	b
PF09	10,43	b	7,51	b	1,99	a	3,93	b
RPE03	10,66	b	5,90	a	2,35	b	2,51	a
IRA21	10,75	b	8,16	b	1,76	a	4,70	b
IRA23	10,99	b	7,20	b	2,19	b	3,30	b
MPU25	11,12	b	6,67	b	2,24	b	2,98	a
RPE33	11,19	b	4,68	a	2,48	b	1,93	a
IRA24	11,33	b	7,66	b	2,03	a	3,81	b
PF25	11,75	b	5,39	a	2,54	b	2,16	a
IRA25	12,59	b	7,79	b	2,04	a	3,79	b
IRA03	13,59	b	6,47	b	2,54	b	2,55	a
IRA18	13,74	b	7,33	b	2,42	b	3,08	a
Pr>F	2,09	**	4,98	**	2,66	**	6,91	**
CV	24,50		13,67		12,75		16,91	

** significativo ao nível de 5% de probabilidade

¹ média da massa de 150 frutos por genótipo

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Scottt & Knott (P< 0,05).

Tabela 10 - Características descritivas do formato e cor do fruto, hábito de crescimento da planta de 28 genótipos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*).

Genótipo	Formato do Fruto	Cor do fruto maduro	Hábito de crescimento
RPE07	campanulado	vermelho-escuro	prostrado
MPU13	campanulado	vermelho-escuro	prostrado
IRA25	alongado	vermelho-escuro	compacto
RPE04	triangular	vermelho-escuro	ereto
RPE41	campanulado	vermelho-escuro	ereto
IRA02	alongado	vermelho-claro	compacto
IRA18	triangular	vermelho-escuro	ereto
MPU06	triangular	vermelho-escuro	prostrado
MPU02	bloco	amarelo-limão	compacto
MPU31	triangular	vermelho-escuro	ereto
MPU25	triangular	vermelho-escuro	ereto
RPE03	triangular	vermelho-escuro	ereto
IRA23	triangular	vermelho	compacto
IRA06	alongado	vermelho	ereto
MPU03	bloco	amarelo-limão	compacto
IRA04	alongado	vermelho-claro	ereto
IRA01	triangular	vermelho-escuro	compacto
MPU08	bloco	vermelho-escuro	prostrado
IRA24	alongado	vermelho	prostrado
RPE02	bloco	vermelho-escuro	compacto
RPE33	bloco	vermelho-escuro	ereto
PF25	bloco	vermelho	compacto
IRA21	alongado	vermelho-escuro	ereto
IRA05	alongado	vermelho-claro	compacto
PF09	alongado	vermelho-escuro	compacto
IRA03	triangular	vermelho-claro	ereto
IRA15	alongado	vermelho-escuro	compacto
MPU29	alongado	vermelho-escuro	ereto



Figura 7 - [A-J] Caracterização morfológica dos frutos de pimenta-de-cheiro. a - PF25; b - RPE02; c - RPE33; d - IRA03; e - PF09; f - RPE41; g - IRA02; h - MPU29; i - IRA06; j - IRA01.

No Amazonas o mercado consumidor demonstra preferências por frutos maiores em comprimento (Alves 2009) e segundo os agricultores, por frutos de cor verde, mais procurado para o consumo *in natura* na culinária local, os frutos maduros são reservados para retirada de sementes (observação própria). Foram observados genótipos classificados como resistentes com bom desempenho agrônômico apresentando frutos com comprimentos que variaram de 4,68 cm a 7,66 cm, comprimento/diâmetro de 1,87 a 3,93 cm e massa/fruto de 6,13 a 13,60 g.

Oliveira *et al.* (2011) caracterizou genótipos provenientes dos Estados do Amazonas, Pará e Rondônia e obteve frutos que apresentaram variação no comprimento do fruto de 3,2 cm a 7,5 cm e diâmetro do fruto de 1,9 cm a 3,2 cm. Domenico (2012) caracterizou acessos de *C. chinense* provenientes do banco de germoplasma de pimenta de Campinas, SP e obteve frutos de *C. chinense* com valores médios de comprimento que variaram de 2,3 a 7,7 cm e para largura os valores médios variaram de 1,1 a 2,5 cm. Costa (2012) caracterizou 40 acessos de *Capsicum* spp. e o morfotipo pimenta-de-cheiro apresentou frutos com tamanho de 2,0 a 4,0 cm de largura por 4,0 a 7,0 cm de comprimento. Fonseca *et al.* (2008) caracterizaram 38 acessos da região do Alto Rio Negro, AM e categorizaram os diferentes comprimentos em cinco classes, cujas medidas

variaram de 1 a 12 cm, enquanto que, para a largura, foram três classes, cujas medidas variaram de 1,0 a 2,5 cm. Essas variações de comprimento e largura também foram constatadas neste estudo.

5.7 Identificação de vírus

5.7.1 Microscopia eletrônica de transmissão

Em análises ao microscópio eletrônico de transmissão foram observadas folhas de pimenta-de-cheiro, naturalmente infectada, indícios de infecção mista por vírus dos gêneros *Cucumovirus* e *Potyvirus*. Cortes histológicos ultrafinos foram observados pela técnica de contrastação negativa e, revelaram a presença de partículas isométricas e partículas alongado-flexuosas (Fig. 8A (a, b)) correspondente às espécies *Cucumber mosaic virus* e *Pepper mottle virus*, respectivamente. Também foram observadas inclusões citoplasmáticas cilíndricas, dos tipos: catavento e túbulos seccionados transversalmente e longitudinalmente (Fig.8 B-D), típicos aos induzidos por vírus pertencentes ao gênero *Potyvirus*. Ambos os vírus tiveram como vetor um afídeo da espécie *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Auchenorrhynca: Aphididae) (Fig. 11).

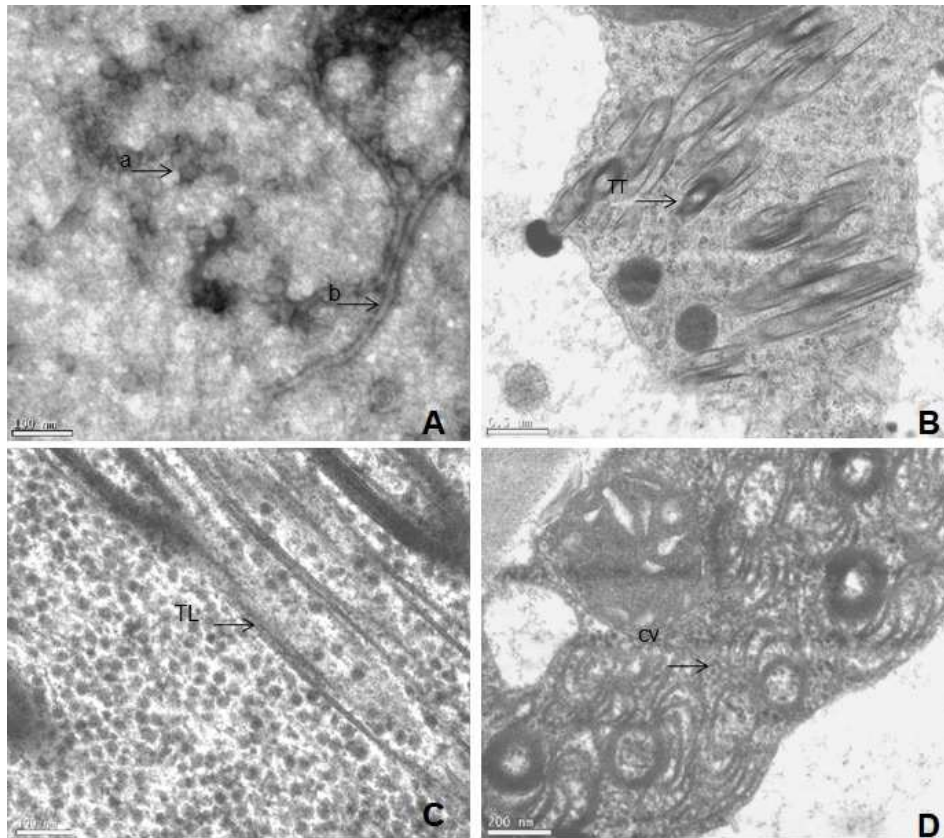


Figura 8 - (A) - Micrografia eletrônica de transmissão de extrato foliar de *Capsicum chinense* com sintomas de infecção por vírus mostrando dois tipos de partículas, onde: a - partícula viral isométrica do CMV e b - partícula viral alongada-flexuosa do PepYMV. Barra de escala=100 nm. (B - D) - micrografia eletrônica de transmissão de corte ultrafino de folhas de *C. chinense* infectadas por vírus, apresentando inclusões citoplasmáticas cilíndricas: túbulos seccionados transversalmente (TT), 0,5 μ m, túbulos seccionados longitudinalmente (TL), 100 nm, e catavento (CV), 200 nm.

5.7.2 Detecção de vírus por RT-PCR

A presença das espécies *Cucumber mosaic virus* e *Pepper mottle virus* foi confirmada via RT-PCR. Fragmentos de 480 pb e 800 pb foram amplificados para CMV e PepYMV a partir das amostras dos genótipos PF18, PF09 e MPU16 (Fig. 9).

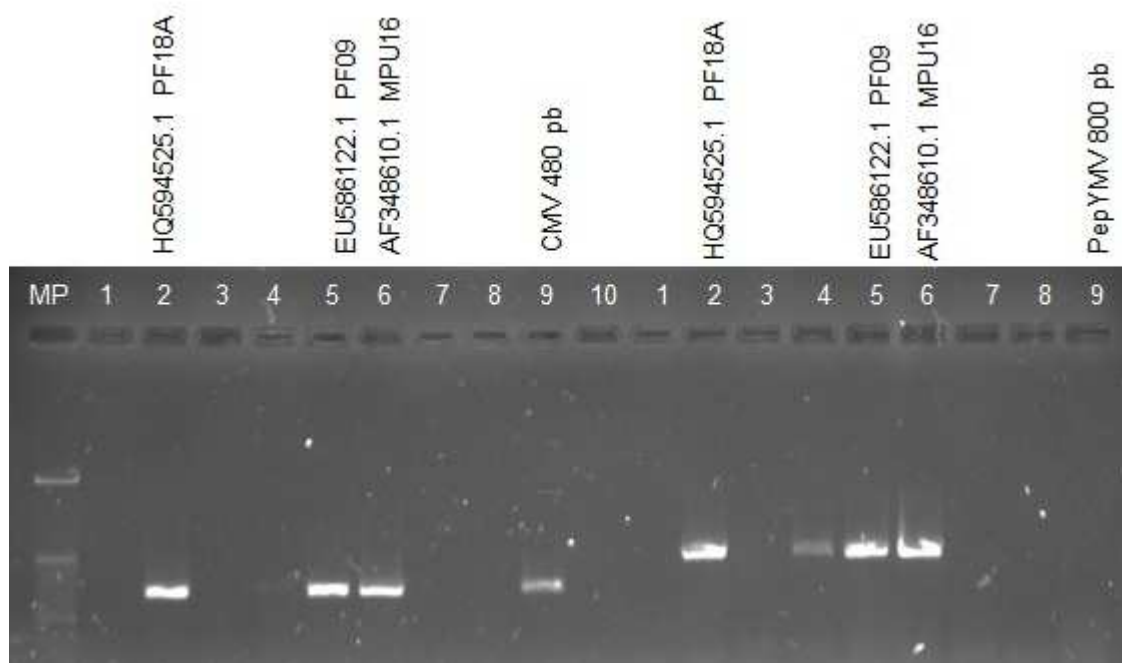


Figura 9 - Detecção do *Cucumber mosaic virus* e Potyvirus mediante RT-PCR (MP), marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA (Invitrogen). (1 - 8) amostras de pimenta-de cheiro; (9) controle positivo: espinafre infectado com CMV e pimenta infectada com *Pepper yellow mosaic virus*; (10) controle negativo: água.

As sequências de nucleotídeos dos amplicons obtidos (665 pb) revelaram identidade de 98% com sequências de nucleotídeos correspondentes de diferentes isolados de *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV).

A análise das sequências obtidas no sequenciador mostrou que os isolados HQ594525.1 PF18A (665 nt), EU586122.1 PF09 (665 nt) e AF348610.1 MPU16 (665 nt) apresentaram variação de identidade de nucleotídeos de 98-99% com o acesso HQ594520, isolado 6Q da espécie *Capsicum* spp. depositados no genbank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#1200775775>).



Figura 10 - Plantas cultivadas em campo na região de Manaus – AM, apresentando sintomas de viroses. a - bolhosidade; b – redução do limbo foliar; c – definhamento da planta; d - distorção foliar e mosaico amarelo.



Figura 11 - Afídeos em diferentes estádios de desenvolvimento nas pimenteiras cultivadas à campo na região de Manaus-AM. Foto: Luiz Alberto

Foram observadas nas amostras de pimenta-de-cheiro colhidas sintomas típicos de vírus, que se apresentam como encrespamento das folhas, bolhosidade, o desenvolvimento de mosaico com tonalidade verde-amarelada, redução geral do tamanho das folhas e dos frutos, deformação inicialmente das folhas mais novas e

subdesenvolvimento da planta (Figura 10 a - d), conforme descrito por Truta *et al.* (2004) e Rêgo *et al.* (2011).

Neste estudo foram identificadas a ação sinérgica dos vírus das espécies *Pepper mottle virus* - PepYMV (vírus do mosqueado do pimentão) e *Cucumber mosaic virus* - CMV (vírus do mosaico do pepino), tendo como vetor um inseto afídeo da espécie *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Auchenorrhynca: Aphididae) (Fig. 11). Esse trabalho traz o primeiro relato dessas espécies de vírus em pimentas da espécie *Capsicum chinense* no estado do Amazonas.

6. CONCLUSÃO

- i. Os genótipos provenientes dos municípios de Iranduba, Manacapuru, Rio Preto da Eva e Presidente Figueiredo ainda estão em processo de segregação genética para a resistência a antracnose.
- ii. Em cada um dos estádios de fruto imaturo e maduro, após 7 DAI, foram identificados 5 genótipos resistentes ao *Colletotrichum brevisporum*.
- iii. A esporulação pode ser utilizada como um referencial para o estudo da severidade em frutos, mas não como um padrão de resposta para a resistência ou a suscetibilidade.
- iv. Os genótipos classificados como resistentes apresentaram frutos com comprimentos de 4,68 cm a 7,51 cm, comprimento/diâmetro de 1,87 cm a 3,93 cm e massa/fruto de 6,13 g a 13,59 g.
- v. O isolado INPA 2787 é patogênico à pimenta-de-cheiro causando lesões de até 9,7 cm² em frutos imaturos e de até 9,9 cm² em frutos maduros.
- vi. O isolado INPA 2787 apresentou velocidade de crescimento micelial de 0,82 mm/dia⁻¹, colônia com coloração marrom escura e centro laranja brilhante.
- vii. Utilizando o método de seleção massal é possível selecionar genótipos com fontes de resistência à antracnose, avaliando-se plântulas e posteriormente frutos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, H. 2004. The regional hot pepper germoplasm collection. Disponível em: (<http://www.caisnet.org/hptif/Pages/bar00-00154.html>). Acesso em: 15 de fevereiro de 2016.
- Adikaram, N.K.B.; Averil, E. Brown; Swinburne, T.R. 1983. Observations on infection of *Capsicum annuum* fruit by *Glomerella cingulata* and *Colletotrichum capsici*. Transactions of the British Mycological Society, 80(3):395-401.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 5ed. Academic Press, 635p.
- Alfenas, A.C; Mafia, R.G. 2007. *Métodos em Fitopatologia*. Universidade Federal de Viçosa. 382p.
- Almeida, L.B. 2015. *Diversidade e identificação molecular de isolados de Colletotrichum associados ao gênero Capsicum no Amazonas*. Dissertação de mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Manaus, 54p.
- Almeida, L.B. de; Matos, K.S.; Assis, L.A.G.; Hanada, R.E. 2017. First report of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil caused by *Colletotrichum brevisporum*. *Plant Disease*, 101(6): 1035.
- Almudi, T.; Pinheiro, J.O.C. 2015. *Dados Estatísticos da Produção Agropecuária Florestal do Estado do Amazonas no ano de 2013*. Embrapa Amazônia Ocidental. (<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1021964/1/LivroGCEA.pdf>). Acesso em 19/02/2015.
- Alves, S.R.M. 2009. Caracterização e avaliação de genótipos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.). Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, 81p.
- Amorim, L. 1995. Colonização e reprodução. In: Bergamin Filho, A; Kimati, H; Amorim, L. (Eds). Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos. 3ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, 308-309.
- Andrews, J. 1999. *Pepper Trail: History & Recipes from Around the World*. University of North Texas Press, College Station, TX, USA, 251p.
- Arogundade, O.; Balogun, O.S.; Kareem, K.T. 2012. Occurrence and distribution of pepper vein mottle virus and cucumber mosaic virus in pepper in Ibadan, Nigeria. *Virology Journal*, 9:79.
- AVRDC. 2004. Host resistance to pepper anthracnose. In: *AVRDC Report 2002*, Shanhu, Taiwan: AVRDC-the World Vegetable Center, 29-30.

- Bailey, J.A.; Jeger, M. J. 1992. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford, UK, Common Wealth Mycological Institute, 388p.
- Baral, J.B.; Bosland, P.W. 2004. Unraveling the species dilemma in *Capsicum frutescens* and *C. chinense* (Solanaceae): A multiple evidence approach using morphology, molecular analysis, and sexual compatibility. *Journal American Society Horticultural Science*, 129: 826–832.
- Barbosa, R. I.; Luz, F.J.F.; Nascimento Filho, H.R.; Maduro, C.B. 2002. Pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia brasileira. I. Espécies Domesticadas. *Acta Amazonica*, 32 (2): 177-192.
- Barbosa, R.I; Mourão Júnior, M.; Luz, F.J.F. 2010. Morphometric patterns and preferential uses of *Capsicum peppers* in the State of Roraima, Brazilian Amazonia. *Horticultura Brasileira*, 28: 477-482.
- Barnett, H.L. 1959. Plant disease resistance. *Annual Review Microbiology*, 13: 191-210.
- Bedendo, I.P. 1995. Classificação de doenças. In: Bergamim Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 3 ed. cap. 16. Agronômica Ceres, São Paulo, 309-323p.
- Bergmann, J.C.; Moreira, S.R.; Chaves, A.L.R.; Eiras, M.; Colariccio, A. 2003. *Novo surto do Cucumber mosaic virus (CMV) em plantações comerciais de pimentão no Estado de São Paulo, Brasil*. 1º Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias e Ambientais (CICAM), v.70, suplemento 2.
- Berni, K.F.; Cardoso, M.O. 2013. *Custos Operacionais na cultura da pimenta de cheiro e estimativa da renda familiar em várzea do Amazonas*. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas, documento (105), ISSN: 1517-3135.
- Bezerra, J. P.; Pereira, P.V.; Barbosa, L. da F.; Ramos-Sobrinho, R.; Pinho, D.B.; Reis, A.; et al. 2016. First Report of Antracnose on Chayote fruits (*Sechium edule*) caused by *Colletotrichum brevisporum*. *Plant Disease*, v. 100, (1): 217.
- Boari, A.J.; Figueira, A.R.; Oliveira, F.A.; Moraes, F.H.; Santos, R.C.; Silva, O.A. 2002. Analysis of an isolate of *Cucumber mosaic vírus* (CMV) from sweetpepper. *Virus Reviews and Research*, (1):149p.
- Borém, A. 1998. *Melhoramento de Plantas*. Viçosa. 453p.
- Bosland, P.W.; Votava, E. J. 2012. *Peppers: vegetable and spice Capsicums*. 2 edition, Crop Production Science in Horticulture 22, CABI Publishing, 219p.
- Buso, G.S.C.; Lourenço, R.T.; Bianchetti, L. de B.; Lins, T.C. de L.; Pozzobon, M.T.; Amaral, Z.P. de S.; et al. 2001. Espécies silvestres do gênero *Capsicum* coletadas na Mata Atlântica brasileira e sua relação genética com espécies cultivadas de pimenta: uma

primeira abordagem genética utilizando marcadores moleculares. Brasília, *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, (7): 22.

Breese, E.L. 1989. Regeneration and multiplication of germoplasm resources in seed gene banks: The scientific background. *International Board for Plant Genetic Resources-IBPGR, Rome, Italy*, 69p.

Brunt, A.A.; Kenten, R.H.; Phillips, S. 1978. Symptomatically distinct strains of Pepper veinal mottle virus from four. West African Solanaceous crops. *Annals of Applied Biology*, 88 :115-119.

Brunt, A. A.; Crabtree, K.; Gibbs, A. J. 1990. *Viruses of tropical plants*. Wallingford. Cab International, 707p.

Carvalho, S.I.C.; Bianchetti, L.B. 2005. *Caracterização morfológica de acessos de pimenta (Capsicum chinense Jacq) mantida pela Embrapa Hortaliças*. Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos de Frutas e Hortaliças, Pelotas. RS, Resumos e Palestras. Embrapa Clima Temperado, Documentos (135): 180-183.

Castellani, A.A. 1967. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researches. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, Mclean, 70:181-184.

Casali, V.W.; Couto, F.A.A. 1984. Origem e botânica de *Capsicum*. *Informe Agropecuário*, 10 (11): 8-10.

Correia, L.C. 1984. Colheita, rendimento, classificação, embalagem e comercialização de pimentão e pimenta. *Informe Agropecuário*, 10 (113): 70-72.

Costa, L.V.; Lopes, M.T.G.; Lopes, R.; Silves, S.R.M. 2008. Polinização e Fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq. *Acta Amazonica*, Manaus, 38 (2): 361-364.

Clement, C.R. 1999. 1492 and the loss of amazonian crop genetic resources. The relation between domestication and human population decline I. *Economic Botany*, 53 (2): 188-202.

Cruz, C. D. 2001. *Programa GENES - versão windows*. Aplicativo computacional em Genética e Estatística, 1. Ed, Viçosa, MG, editora UFV, v. 1, 648 p.

Dias, B.G.; Gomes, V.M.; Pereira, U.Z.; Ribeiro, S.F.F.; Carvalho, A.O.; Rodrigues, R.; et al. 2012. Isolation, Characterization and Antifungal Activity of Proteinase Inhibitors from *Capsicum chinense* Jacq. *Journal the Protein*, 32: 15–26.

Dias, P.R.P. 2004. *Caracterização de isolados e reação de Capsicum spp. ao Cucumber mosaic virus (CMV)*. Dissertação de Doutorado, UNESP, Botucatu, SP, 95p.

Diaz Rodrigues, G. 1990. Técnicas de la producción de semillas de plantas hortícolas. *Hortofruticultura*, Madrid, 5: 31-36.

Dean, R.; Van, J.A.L.; Pretorius, Z.A.; Hammond- Kosack, K.E.; Di Pietro, A. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13:414-430.

Do, H.M.; Hong, J.K. Jung, H.W.; Kim, S.H.; Ham, J.H. e Hwang, B.K. 2003. Expression of peroxidase-like genes, H₂O₂ production, and peroxidase activity during the hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* in *Capsicum annuum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 16 (3):196–205.

Dougherty, W.G. e Hiebert, E. 1980. Translation of potyvirus RNA in a rabbit reticulocyte lysate: identification of nuclear inclusion proteins as products of tobacco etch virus RNA translation and cylindrical inclusion protein as a product of the potyvirus genome. *Virology* 104: 174-182.

Domenico, C.I.; Coutinho, J.P.; Godoy, H.T.; de Melo, A.M.T. 2012. Caracterização agrônômica e pungência em pimenta de cheiro. *Horticultura Brasileira*, 30 (3): 466-472.

Eiras, M.; Araujo, J.; Colariccio, A.; Chaves, A.L.R.; Harakava, R.; Chagas, C.M. Caracterização molecular de isolados do Cucumber mosaic vírus de maracujazeiros no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, 28(4):346-349.

Edwardson, J.R. 1966. Electron microscopy of cytoplasmic inclusions in cells infected with rod-shaped viruses. *American Journal Botany*, 53: 359-364.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2002. Pimentas. Gênero *Capsicum* em Roraima. *Centro de Pesquisa Agroflorestal de Roraima*. Folder (3).

FAOSTAT – Divisão de Estatística da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. *Chillies and Peppers, green: Production report*. (http://www.herbazest.com/herbs/chilli_pepper). Acessado em 10/02/2016.

Fauquet, C.M.; Mayo, M.A.; Maniloff, J.; Desselberger, U.; Ball, L.A. 2005. Virus Taxonomy: *Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. New York: Academic Pres.

Ferreira, Daniel Furtado. 2014. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, vol.38, (2):109-112. Disponível em: ISSN 1413-7054. (<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>). Acessado em: 15/08/2016.

Filgueira, F.A.R. 2008. *Novo manual de Olericultura*. Agricultura Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças, 3ed, Ed, UFV, Viçosa, Minas Gerais, 421p.

Fonseca, R.M.; Lopes, R.; Barros, W.S.; Lopes, M.T.G.; Ferreira, F.M. 2008. Morphologic characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. Accession along the upper Rio Negro – Amazonas. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8:187-194.

- Gasparotto, L.; Pereira, J.C.R.; Berni, R.F. 2014. A antracnose da pimenta-de-cheiro. *Comunicado Técnico* (104).
- Gonçalves, L.S.A.; Rodrigues, R.; Amaral, Jr A.T.; Karasawa, M.; Sudré, C.P. 2008. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. *Genetic and Molecular Research*, 7:1289–1297.
- Hanada, R.E.; Gasparoto, L.; Pereira, J.C.R.; Assis, L.A.G. 2011. Danos causados por *Colletotrichum* sp. em pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) e recomendações de controle. *Tropical Plant Pathology*, 36:0795 (suplemento).
- Hernández, S. M. 2002. Genetic resources of chile (*Capsicum* spp.) in Mexico. In: *Proceedings of the 16th international pepper conference*. Tampico, Tamaulipas, Mexico.
- IDAM. 2016. Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. Relatório de Acompanhamento Trimestral (janeiro – dezembro de 2016).
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Censo Agropecuário*. 2006. Rio de Janeiro. ISSN: 0103-6157, 1-777.
- IPGRI - INTERNATIONAL PLANT GENETIC RESOURCE INSTITUTE. 1995. Descriptor for Capsicum (*Capsicum* spp.). *International Plant Genetic Resource Institute*, Rome, 49p.
- Inoue-Nagata, A.K.; Fonseca, M.E.N.; Lobo, T.O.T.A.; De Ávila, A.C.; Monte, D.C. 2001. Analysis of the nucleotide sequence of the coat protein and 3'untranslated region of two Brazilian Potato vírus Y isolates. *Fitopatologia Brasileira*, 26:45-52.
- Inoue-Nagata, A.K.; Fonseca, M.E.N.; Resende, R.O.; Boiteux, L.S.; Monte, D.C.; Dusi, A.N.; De Ávila, A.C.; Van der Vlugt, A.A.A. 2002. Pepper yellow mosaic virus, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. *Archives of Virology*, 147: 849-855.
- Jarret, R.L.; Berke, T. 2008. Variation for fruit morphological characteristics in a *Capsicum chinense* jacq. Germoplasm Collection. *HortScience*, 43 (6):1694-1697.
- Johnston, P.R.; Jones, D. 1997. Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruit-rots assessed using rDNA sequences. *Mycologia*, 89 (3):420-430.
- Jones, J.B.; Lacy, G.H.; Bouzar, H.; Stall, R.E.; Schaad, N.W. 2004. Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology*, 27:755-762.
- Karpate, R. R.; Saxena, S. R. 2010. Post Harvest Profile of Chilli. Government of India. *Ministry of Agriculture*. 80p.

- Kim, B.S.; Park, H.K.; Lee, W.S. 1989. Resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in pepper. In: Proc. International Symposium on Integrated Management Practices: Tomato and Pepper Production in the Tropics, AVRDC, Tainan, Taiwan, 184-188p.
- Kim, K.D.; Oh, B.J.; Yan, J. 1999. Differential interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* isolated with green and red pepper fruits. *Phytoparasitica*, 27(2): 97-106.
- Kim, K.H.; Yoon, J.B.; Park, H.G.; Park, E.W.; Kim, Y.H. 2004. Structural modifications and programmed cell death of chili pepper fruit related to resistance responses to *Colletotrichum gloeosporioides* infection. *Phytopathology*, 94:1295-1304.
- Kim, S.H.; Yoon, J.B.; Do, J.W.; Park, H.G. 2007. Resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal Crop Science Biotechnology*, 10:277-280.
- Kim, S.H.; Yoon, J.B.; Do, J.W.; Park, H.G. 2008. A major recessive gene associated with anthracnose resistance to *Colletotrichum capsici* in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) *Breeding Science*, 58:137-141.
- Ko, Y.H. 1986. The physiological and biochemical characteristics of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. and the host plant, *Capsicum annuum* L. Ph.D. dissertation, Korea University, Seoul, Korea. In: Kim, K. D.; Oh, B. J.; Yang, J. 1999. Differential interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* isolated with green and red pepper fruits. *Phytoparasitica*, 27(2): 97-106.
- Kosack, K.E.H.; Jones, J.D.G. 1997. Plant Disease Resistance Genes. *Annual Review Plant Physiol. Plant Mol Biol*, 47:575-607.
- Kosowski, R.M.; Furlanetto, C.; Tomita, C.K.; Café Filho, A.C. 2001. Efeito de fungicidas em *Colletotrichum acutatum* e controle da antracnose do morangueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 26:662-666.
- Lee, J.; Hong, J. H.; Do, J. W.; Yoon J. B. 2010. Identification of QTLs for resistance to anthracnose to two *Colletotrichum* species in pepper. *Journal Crop Science Biotechnology Korea*, 13(4):227-233.
- Liu, F.; Tang, G.; Zheng, X.; Li, Y.; Sun, X.; Qi, X.; et al. 2016. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. *Scientific Reports*, 6:32761.
- Libera, L.P.; Daniel, L.; Gabriel, S.; Shigeyuki, T.; Liang, L.; Marie, T.; et al. 2015. Fungal Effectors and Plant Susceptibility. *Annual Review of Plant Biology*, 66:513-545.
- Lima, M.L.P. 2002. *Resistência genética e aspectos epidemiológicos, fisiológicos e anatômicos da infecção de Oidiopsis taurica em Capsicum spp.* Dissertação de Mestrado, UNB/IB, Brasília, 130p.

- Lin, Q.; Kanchana, U.C.; Jaunet, T.; Mongkolporn, O. 2002. Genetic analysis of resistance to pepper anthracnose caused by *Colletotrichum capsici*. *Thai Journal of Agricultural Science*, 35:259-264.
- Lucinda, N.; Rocha, W. B. da; Inoue-Nagata, A. K.; Nagata, T. 2012. Complete genome sequence of pepper yellow mosaic virus, a potyvirus, occurring in Brazil. *Archives of Virology*, 157:1397–1401.
- Maciel, S.C.; da Silva, R.F.; Reis, M.S. Jidão, A.S.; Rosa, D.D.; Giampan, J.S.; Kitajima, E.W.; *et al.* 2011. Characterization of a new potyvirus causing mosaic and flower variegation in *Catharanthus roseus* in Brazil. *Science Agriculture*, 68(6):687-690.
- Mackenzie, A. M.; Nolan, M. Wei, K.J.; Clements, M. A.; Gowanlock, D.; Wallace, B. J.; Gibbs, A. J. 1998. Ceratobium mosaic potyvirus: another virus from orchids. *Archive of Virology*, 143:903-914.
- Maffia, L.A.; Mizubuti, E.S.G.2005. Controle alternativo de fungos. *In: Venzon, M.; Paula Júnior, T.J.de; Pallini, A. Controle Alternativo de pragas e doenças*. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Universidade Federal de Viçosa, MG, 362p.
- Mahasuk, P.; Khumpeng, N.; Wasee, S.; Taylor, P.W.J.; Mongkolporn, O. 2009a. Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum capsici*) at seedling and fruiting stages in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Breeding*, (128):701-706.
- Mahasuk, P.; Taylor, P.W.J.; Mongkolporn, O. 2009b. Identification of two new genes conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Capsicum baccatum*. *Phytopathology*, 99:1100-1104.
- Manandhar, J.B., Hartman, G.L. and Wang, T.C. 1995. Anthracnose development on pepper fruits inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease*. 79:380-383.
- Martins, K.C.; Pereira, T.N.S.; Souza, S.A.M.; Costa, F.R. 2010. Meiose e viabilidade polínica em acessos de *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum*. *Ciência Rural*, Santa Maria, 40 (8):1746-1751.
- Mauk, K.; Bosque-Pérez, N. A.; Eigenbrode, S. D.; Consuelo, M. de M.; Mescher, M. C. 2012. Transmission mechanisms shape pathogen effects on host-vector interactions: evidence from plant viroses. *Functional Ecology*, 26:1162-1175.
- Menezes, M. 2006. Aspectos biológicos e taxômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*. Recife, Pernambuco, v.3, 170-179.
- Mongkolporn, O.; Montri, P.; Supakaew, T.; Taylor, P.W.J. 2010. Differential reactions on mature green and ripe chili fruit infected by three *Colletotrichum* spp. *Plant Disease*, 94:306-310.

- Montri, P.; Taylor, P.W.J.; Mongkolporn, O. 2009. Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. *Plant Disease*, 93:17-20.
- Moreira, A.; Teixeira, P.C.; Zaninett, R.A.; Plácido Junior, C.G. 2010. Fertilizantes e corretivo da acidez do solo em pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) cultivada no Estado do Amazonas. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, documentos 82, 18.
- Moses, M.; Umaharan, P. 2012. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Capsicum chinense*. *Journal American Society Horticultural Science*, 137(4): 250-262.
- Moses, M.; Umaharan, P.; Dayanandan, S. 2014. Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. *Genetic Resources Crop Evolution*, 61:741-755.
- Moscone, E.A.; Lambrou, M.; Hunziker, A.T.; Ehrendorfe, F. 1993. Giemsa G-banded karyotypes in *Capsicum* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 186:213-229.
- Muñch, S.; Lingnerb, U.; Flossa, D. S.; Ludwiga, N.; Sauerb, N.; Deisinga, H. B. 2008. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. *Journal of Plant Physiology*, 165: 41-51.
- Mueller, G.M.; Bills, G.F.; Foster, M.S. 2004. Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. *Antracnose*. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780125095518500106>). Acessado em 27/11/2015.
- Nagai, H. 1983. *Pimentão, pimenta doce e pimentas*. In: Furlani, A.M.C.& Viegas, G.P. (Eds.) O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo. Campinas, São Paulo: Instituto Agrônomo de Campinas. 276-294.
- Nascimento Filho, H. R.; Barbosa, R.I.; Luz, F.J. de F. 2007. Pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia brasileira. II. Hábitos e formas de uso. *Acta Amazonica*, Manaus, 37(4): 561-568.
- Nicholson, R.L. 1992. *Colletotrichum graminicola* and the anthracnose disease of corn and sorghum. In: Bailey, J. A. e Jeger, M. J. (Eds), *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*, CAB International, Wallingford, 186-202.
- Nirenberg, H.I.; Feiler, U.; Hagedorn, G. 2002. Description of *Colletotrichum lupini* comb. nov. In modern terms. *Mycologia*, 94(2):307-320.
- Noda, S.N.; Ribeiro, G.A.; Noda, H.; Soares, J.E.C.; Castelo Branco; Mendonca Neto, M. F. 2007. Principais características dos sistemas de produção agrícola das comunidades ribeirinhas e do abastecimento do município de Pauini. In: Sandra do Nascimento Noda. (Org.). *Agricultura familiar na agricultura familiar das águas*. 1º ed. Manaus: Editora da Universidade do Amazonas, Manaus, 1:167-207.

- Noireung, P.; Phoulivong, S.; Liu, F.; Cai, L.; Mckenzie, H.C.E.; Chukeatirote, E.; *et al.* 2012. Novel species of *Colletotrichum* revealed by morphology and molecular analysis. *Cryptogamie, Mycologie*, 33(3):347-362.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development. 2006. Consensus Document on the Biology of the *Capsicum annuum* Complex (Chili peppers, Hot peppers and Sweet peppers). Paris, 48p.
- O'Connell, R.J.; Panstruga, R. 2006. Tete a tete inside a plant cell: establishing compatibility between plants and biotrophic fungi and oomycetes. *New Phytology*, 171: 699-718.
- O'Connell, R.J.; Thon M.R.; Hacquard, S.; Amyotte, S.G.; Kleemann, J. 2012. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetics*, 44:1060-65.
- Oh, B.J.; Kim, K.D.; Kim, Y.S. 1998. A microscopic characterization of the infection of green and red pepper fruits by an isolate of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal Phytopathology*, 146:301-303.
- Ohta, Y. 1962. Physiological and genetical studies on the pungency of pepper IV capsaicin-secreting organs and receptacles in the fruits of *Capsicum annuum* L. *Jpn. Journal Breeding*, 12:43-47.
- Oliveira, L.S.; Alves, S.R.M.; Lopes, R.; Costa, L.V.; Rocha, M.Q. 2011. Produtividade e qualidade de genótipos de pimenta de cheiro em Manaus. *Horticultura Brasileira*, 29 (2), (suplemento).
- Padilha, H.K.M. 2017. *Recursos genéticos de pimentas (Capsicum, Solanaceae): diversidade genética, resistência à antracnose e produção de metabólitos especializados*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pelotas, RS, 108p.
- Pakdeevaraporn, P.; Wasee, S.; Taylor, P.W.J.; Mongkolporn, O. 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. *Plant Breed*, 124:206-208.
- Park, H.K.; Kim, B.S.; Lee, W.S. 1990. Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in pepper (*Capsicum annuum* L.) II. Genetic analysis of resistance to *Colletotrichum dematium*. *Journal Korean Society Horticultural Science*, 31:207-212.
- Park, H.K.; Kim, B.S.; Park, H.G.; Yoon, J.B. 2009. *Capsicum* Germplasm Resistant to Pepper Anthracnose Differentially Interact with *Colletotrichum* Isolates. *Horticultural Environmental Biotechnology*, 50(1):17-23.
- Parlevliet, J.E. 1997. Present concepts in breeding for disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*, 22: 7-15 (Suplemento).

Palukaitis, P.; Roossink, M.J.; Dietzgen, R.G.; Francki, R.I.B. 1992. *Cucumber mosaic virus*. *Advances on Virus Research*, 41(2):281-348.

PAM – *Produção agrícola municipal*. Culturas temporárias e permanentes 2015. IBGE, v.42 (https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2015_v42_br.pdf) Acessado em 29/02/2017.

Pereira, M.J.Z. 2005. *Reação de acessos de Capsicum spp. a Colletotrichum sp. agente causal da antracnose nas solanáceas*. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, 88p.

Pereira, R.C.A.; Crisóstomo, JR. 2011. Agronegócio Pimenta no Ceará. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, *Horticultura Brasileira*, 29 (2): 6009-6015.

Pereira, M.J.Z.; Massola Junior, N.S.; Sussel, A.A.B.; Sala, F.C.; Costa, C.P. da; Boiteux, L.S. 2011. Reação de acessos de *Capsicum* e de progênies de cruzamentos interespecíficos a isolados de *Colletotrichum acutatum*. *Horticultura brasileira*, 29: 569-576.

Pérez-Martin, José e Di Pietro, Antônio. 2012. *Morphogenesis and Pathogenicity in Fungi*. Topics in current genetics 22. Springer- Verlag Berlin Heidelberg, 286 pp. DOI: 10.1007/978-3-642-22916-9.

Pickersgill, B. 1991. Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. In: Tsuchiya, T. and Gupta, P. K. (Eds). *Chromosome engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution*, Part. B. Amsterdam: Elsevier, 139-160.

Pickersgill, B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, 96: 129-133.

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

Paul, N. C.; Lee, J.H.; Shin, K. S.; Rye, T. H.; Kwon, H. R.; Kim, Y. K.; *et al.* 2014. Endophytic fungi from *Lycium chinense* Mill and characterization of two new Korean records of *Colletotrichum*. *International Journal Molecular Sciences*, 15(9):15272-15286.

Prusky, D.; Plumbley, R.A. 1992. Quiescent Infections off *Colletotrichum* in Tropical and Subtropical Fruits. In: Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (Eds.), *Colletotrichum: Biology, Pathology, and Control*. CAB International Wallingford, 289-307.

Ranathunge, N.P.; Mongkolporn, O.; Ford, R.; Taylor, P.W.J. 2012. *Colletotrichum truncatum* Pathosystem on *Capsicum* spp: infection, colonization and defence mechanisms. *Australasian Plant Pathology*, 41:463–473.

Reis, A.; Boiteux, L.S.; Henz, G.P. 2009. Antracnose em Hortaliças da Família Solanaceae. Embrapa Hortaliças. (79), 9p.

Réblová, M.; Gams, W.; Seifert, K.A. 2011. Monilochaetes and allied genera of the Glomerellales, and a recon-sideration of families in the Microascales. *Studies Mycology*, 68 (1): 163-191.

Reifschneider, F.J. B. (Org). 2000. *Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil*. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia. Embrapa Hortaliças, 113p.

Rêgo, E.R.; Finger, F.L.; Rêgo, M.M. 2011. *Produção, genética e melhoramento de pimentas (Capsicum spp.)*. Ed. CNPQ. 223p.

Reyes-Escogido, M.L.; Gonzalez-Mondragon, E.G.; Vazquez-Tzompantzi, E. 2011. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. *Molecules*, 16:1253-1270.

Rich, M. K.; Schorderet, M.; Reinhardt, D. 2014. The role of the cell wall compartment in mutualisticsymbioses of plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, 238p.

Ribeiro, C.S.C.; Lopes, C.A.; Carvalho, S.I.C.; Henz, G.P.; Reifschneider, F.J.B. 2008. *Pimentas Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 200p.

Ribeiro do Vale, F.X.; Parlevliet, J.E.; Zambolim, L. 2001. Concepts in plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*, 26: 577-589.

Rodríguez-Burruezo, A. ; González-Mas Mdel, C.; Nuez, F. 2010. Carotenoid composition and vitamin A value in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the Andean region. 75(8): 446-453.

Roossinck, M. J.; Zhang, L.; Hellwald, K. H. 1999. Rearrangements in the 5' nontranslated region and phylogenetic analyses of *Cucumber mosaic virus* RNA 3 indicate radial evolution of three subgroups. *Journal of Virology*, USA, 73(8):6752-6758.

Santos, M.R.; Henz, G.P.; Lima, M.L.P.; Café Filho, A.C. 2004. Reação de frutos verdes e maduros de *Capsicum* spp. a antracnose. *Fitopatologia Brasileira*(29) (suplemento): 58.

Sahitya, L.U.; Sri Deepthi, R.; PeddaKasim, D.; Suneetha, P.; Krishna, M.S.R. 2014. Anthracnose, a Prevalent Disease in *Capsicum*. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*. Department of Biotechnology, KL, University, India, ISSN: 0975-8585, 5: 1583-1604.

SEDUC – Secretaria de Estado de Educação do Amazonas. Programa de Regionalização da Merenda Escolar – PREME. Disponível em: <<http://www.educacao.am.gov.br/programa-de-regionalizacao-da-merenda-escolar-preme/>>. Acessado em: 06 de novembro de 2017.

Silva, F.A.S. 2016. Assistat. The Assistat Version 7.7 and its use in the analysis of experimental. Universidade Federal de Campina Grande, Brasil.

Silva, S.A.M.; Rodrigues, R.; Gonçalves, L.S.A.; Sudré, C. P.; Bento, C.S.; Carmo, M. G.F.; *et al.* 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.

Silva, A. M. da. 2016. Caracterização cultural, morfológica, molecular e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose da pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) no estado do Amazonas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Amazonas, AM, 84p.

Silva, J.R.A.; Chaves, P.C.; da Silva, A.R.G.; Barbosa, L. da F.; Costa, J.F.O.; Roberto R.S.; *et al.* 2017. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brasil. *Tropical Plant Patology, Fitopatologia brasileira*.

Simmonds, J.H. 1965. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. Queensland, *Journal Agriculture and Animal Science*, 22: 437-459.

Simonne, A.H.; Simonne, E.H.; Eitenmiller, R.R.; Mills, H.A.; Green, N.R. 1997. Ascorbic Acid and Provitamin 'A' Contents in Unusually Colored Bell Peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of food Composition and Analysis*, 10: 299-311.

Smith, P.G.; Heiser, C.B. Taxonomy of *Capsicum chinense* Jacq. and the geographic distribution of the cultivated *Capsicum* species. Bulletin of the Torrey Botanical Club, v.84, n.6, p.413-420, 1957.

Suhardi. 1991. Resistance of pepper (*Capsicum* spp.) against *Colletotrichum gloeosporioides* at the seedling stage. *Buletin Penelitian Hortikultura*, Indonédia, 20(1):83-85.

Scott, A. J. and Knott, M. 1974. *A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance*. *Biometrics*, 507:512.

Sharma, P.N.; Kaur, M.; Sharma, O.P.; Sharma, P.; Pathania, A. 2005. Morphological, pathological and molecular variability in *Colletotrichum capsici*, the cause of fruit rot of chillies in the subtropical region of northwestern India. *Journal of Phytopathology*, 153 (4): 232-237.

Prashant, S.; Anitha, P.; Pavankumar, J. 2012. Serological and molecular detection of an isolate of *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) infecting cucumber (*Cucumis sativus*) and cloning of its coat protein gene. *Journal Biochemical Technology*, 3(5): S198-S202.

Sutton, B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J. A. e Jeger, M. J. (Eds). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. CAB International, Wallingford, 1-26p.

Snowdon, A.L. 1991. A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of frutis and vegetables. London: *Wolfe Scientific*, 416p.

- Spigariol, L. Mercado de pimentas no Brasil. *Revista HortiFruti Brasil. Ervas e Especiarias*. 2015. CEPEA, ESALQ, USP, ano 14, n. 147. ISSN 1981-1837. Disponível em: <http://cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/147/full.pdf>. Acesso em: 19 de janeiro de 2016.
- Strange, R.N. 2005. Plant disease: a threat to global food security. *Annual Review Phytopathology*, 43: 83-116.
- Tanaka, M.A.S.; Passos, F.A.; Betti, J.A. 1996. Mancha irregular da folha do morangueiro, causada por *Colletotrichum acutatum*, no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 21: 486-488.
- Töfoli, J.G.; Domingues, R.J.; Ferrari, J.T. 2015. Antracnose em solanáceas: etiologia, características e controle. *Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal*, São Paulo, 77 (1): 73-79. (Divulgação técnica).
- Toquica, S.; Rodríguez, F.; Martínez, E.; Cristina Duque, M.; Tohme, J. 2003. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germoplasm from the Amazon department in Colombia. *Genetic Resources Crop Evolution*, 50: 639-647.
- Tozze, Junior, H.J. 2007. Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* sp. associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil. *Dissertação de Mestrado*. ESALQ, Piracicaba, 81p.
- Than, P.P.; Prihastuti, H.; Phoulivong, S.; Taylor, P.W.J.; Hyde, K.D. 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 9: 764-778.
- Truta, A.A.C.; Souza, A.R.R.; Nascimento, A.V.S.; Pereira, R.C.; Pinto, C.M.F.; Brommonschenkel, S.H.; *et al.* 2004. Identidade e propriedades de isolados de potyvírus provenientes de *Capsicum* spp. *Fitopatologia Brasileira* 29: 160-168.
- Vieira, W.A.S.; Nascimento, R.J.; Michereff, S.J. 2013. First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. *Plant Disease*, 97:1659.
- Venzon, M.; Oliveira, C.H.C.M.; Rosado, M.C.; Pallini, A.; Santos, I.C. 2006. Pragas associadas a cultura da pimenta e estratégias de manejo. *Informe Agropecuário*, 27 (235):75-86.
- Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; de Lee, T.V.; Hornes, M.; *et al.* 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 21: 4407-4414
- Voorrips, R.E.; Finkers, R.; Sanjaya L. and Groenwold, R. 2004. QTL mapping of anthracnose (*Colletotrichum* spp.) resistance in a cross between *Capsicum annuum* and *C. chinense*. *Theoretical Applied Genetics*, 109: 1275-1282.

Yoon, J.B, Park, H.G. 2005. Trispecies bridge crosses, (*Capsicum annuum* x *C. chinense*) x *C. baccatum*, as an alternative for introgression of anthracnose resistance from *C. baccatum* into *C. annuum*. *Journal Korean Society Horticultural Science*, 46: 5-9.

Wylie S, Wilson C.R, Jones R.A.C, Jones M.G.K. 1993. A polymerase chain reaction assay for cucumber mosaic virus in Lupin seeds. *Australian Journal of Agricultural Science*, 44, 41–51.

ANEXOS

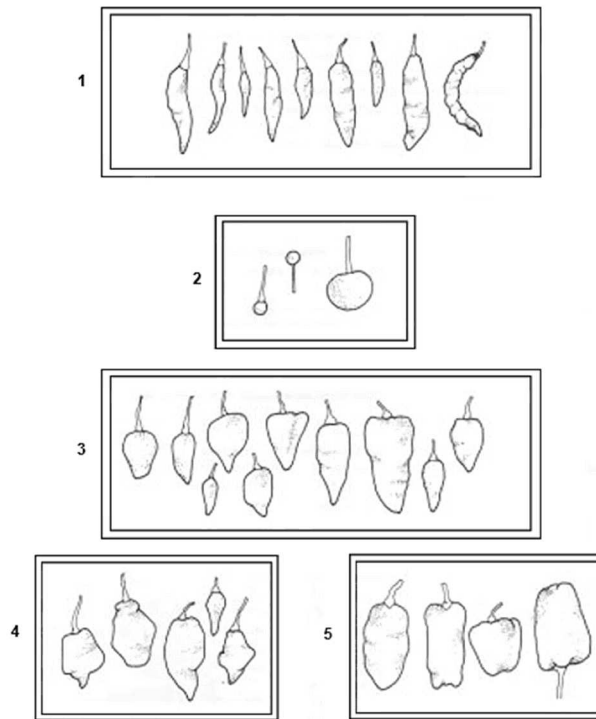
Anexo 1 - Levantamento das áreas de coleta

Agricultor	Município	Estrada	Ramal	Localização	Propriedade	Coordenadas
Lino Alves Vieira	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal Boa Esperança	Estrada de Balbina	Sítio próximo do Pacú	S 0,1° 54' 58,8" W 60° 0,1' 48,8"
Maria Rejane B. Tavares	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal do Adelmo	Estrada de Balbina	Sítio Rosa de Saron	S 0,1° 56' 53,1" W 59° 58' 41,3"
Juvenes Bezerra de Lima	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal do Paraíso	Estrada T do Paraíso	Sítio sem nome	S 0,1° 46' 21,6" W 60° 18' 47,7"
Francisco Machado do Vale	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal do Novo Paraíso	Assentamento do Rio Pardo, km 139	Sítio sem nome	S 0,1° 46' 32,9" W 60° 19' 20,5"
José Neris Alves Barbosa	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal São Salvador, km 7	Estrada de Balbina, km 26	Sítio Chapadão	S 0,2° 6' 20" W 59° 48' 50,6"
Francisco Sampaio	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal Micadi, km 20	Comunidade São Salvador	Sítio Munique	S 0,2° 5' 51,8" W 59° 48' 51,8"
Maria Antônia da R. Sampaio	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal Micadi, km 20	Comunidade São Salvador	Sítio próximo a associação	S 0,2° 5' 49,4" W 59° 48' 53,3"
José Taumaturgo Gomes	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal São Salvador, km 7	Estrada de Balbina, km 26	Sítio Toca do Curupira	S 0,2° 6,1' 36" W 59° 48,8' 86"
Edenildo Sena de Souza	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal Cristo Rei	Estrada de Balbina, km 28	Sítio Nova Canaã	S 0,2° 3' 11,1" W 59° 46' 57,2"
Gilberto de Oliveira Junior	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal São Salvador, km 7	Estrada de Balbina, Km 26	Sítio sem nome	S 0,2° 7' 9,1" W 59° 48' 49,8"
Ester de Moraes	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal Vicinal, km 24	Comunicade São Francisco de Assis	Sítio Sol	S 0,2° 15,4' 3" W 59° 49' 22,9"
José Teixeira da Rocha	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal São Salvador, km 7	Estrada de Balbina, km 26	Sítio São Tomé	S 0,2° 0,72' 3" W 59° 48' 50,3"
Mario Sérgio Gome da Silva	Presidente Figueiredo	BR 174	Ramal	Estrada de Balbina, Km 42	Sítio Maiana	S 0,2° 0,2' 52,4" W 59° 40' 0,4"
Aldenor dos Santos Gomes	Eva	AM 010	Ramal da Pedreira	km 134	Sítio Nova Conquista	S 0,2° 53' 50,5" W 59° 24,7' 0,7"
Anderson Teixeira	Rio Preto da		Ramal Casa Branca,	Comunidade Santo Antônio, km 114		
Hiroiaque	Eva	AM 010	km 7		Sítio Hiroiaque	S 0,2° 48' 12,5" W 59° 30' 59,2"
Isaias Conceição dos Santos	Rio Preto da					
Francisco de Assis de	Eva	AM 010	Ramal Boa Sorte	km 125	Sítio Canaã	S 0,2° 50' 33,5" W 59° 26' 19"
Arruda	Eva	AM 010	Ramal do Banco, Km 6	km 126	Sítio Recanto dos Arruda	S 0,2° 48' 18,3" W 59° 22' 47,7"

Agricultor	Município	Estrada	Ramal	Localização	Propriedade	Coordenadas
Rosenildo de Oliveira Fonseca	Rio Preto da Eva	AM 010	Ramal	km 88	Sítio Amazonia	S 0,2° 38' 0,50" W 59° 38' 13,3"
Moises Ferreira Araújo	Rio Preto da Eva	AM 010	ZF km 03	km 91	Sítio Dois Irmaos	S 0,2° 36' 34,5" W 59° 37' 13,9"
Edimilson Nogueira da Fonseca	Rio Preto da Eva	AM 010	Ramal Casa Branca, km 6	Comunidade Santo Antônio, km 114	Sítio Everton	S 0,2° 48' 19,6" W 59° 30' 32,5"
Rony Nonato da Silva Paes	Rio Preto da Eva	AM 010	Ramal Casa Branca, km 7	Comunidade Santo Antônio, km 114	Sítio Vinicius	S 0,2° 48' 19,6" W 59° 30' 32,5"
William Roberto Vieira Lemes	Rio Preto da Eva	AM 010	Ramal da Pedreira, km 1	Comunidade 6 de Janeiro Comunidade Monte Castelo	Sítio N. Sra de Aparecida	S 0,2° 52' 20,5" W 59° 22' 49,4"
Emerson Maia de Souza	Irاندuba	AM 070	Ramal	Comunidade Caldeirão, km 26	Sítio Fortaleza	S 0,3° 12,9' 60" W 60° 11,7' 55"
Angela Moraes da Silva	Irاندuba	AM 070	Ramal do Incra	km 26	Sítio Sonho Real	S 0,3° 14,2' 49" W 60° 12,5' 2"
Damial Guedes Piheiro	Irاندuba	AM 070	Ramal Jandira	km 26	Sítio Nossa Sra de Fátima	S 0,3° 0,5' 48" W 59° 58' 2"
Raimundo Edinilson Souza	Irاندuba	AM 070	Ramal Jandira	Km 26	Sítio Sempre Alegre	S 0,3° 16,2' 46" W 60° 19' 6"
Vander Lopes da Costa	Irاندuba	AM 070	Ramal Ubirajara	km 26	Sítio Nossa Sra de Fátima	S 0,3° 15' 65,9" W 60° 16' 75,8"
Rosiney Favela Nascimento	Irاندuba	AM 070	Ramal	Comunidade Nossa Sra de Fátima	Sítio	S 0,3° 15' 44,6" W 60° 17' 3,4"
Maique Rodrigues de Oliveira	Irاندuba	AM 070	Ramal do Vovô	Ariauzinho Estrada do Caldeirão, km 26	Sítio Quatro Irmãos	S 0,3° 12,5' 51,4" W 60° 18' 40,4"
Edna Pereira Ramos	Irاندuba	AM 070	Ramal do Incra	26	Sítio Ramos	S 0,3° 14' 2,08" W 60° 12' 5,2"
Jailson de Araújo Pereira	Manacapuru	AM 070		Comunidade São João	Sítio São Raimundo	S 0,3° 16' 11,1" W 60° 18' 51,7"
Raimundo Nonato A. Souza	Manacapuru	AM 070	Ramal Vai quem quer	Comunidade Boa Vista	Sítio Nova Vida	S 0,3° 15' 55,4" W 60° 28' 07"
Anderson Ruis Barbosa	Manacapuru	AM 070	Ramal Bela Vista	km 55	Sítio João Filho	S 0,3° 17' 8,2" W 60° 26' 57,4"
Edimundo Farkas	Manacapuru	AM 070	Ramal Nova Aliança	km 17	Sítio Boa Vista	S 0,3° 8' 52,7" W 60° 41' 27,5"
João Paulo Colares dos Santos	Manacapuru	AM 070	Ramal Terra Preta	Com.Nossa Sra de Aparecida, km 56	Sítio São Sebastião	S 0,3° 15' 41,9" W 60° 29' 51,8"
João Moreira da Silva	Manacapuru	AM 070	Ramal Costa do Laranjal	referência: Igreja Assembléia	Sítio	S 0,3° 18' 18,8" W 60° 29' 7,8"
Francisco Alcione Rodrigues	Manacapuru	AM 070	Ramal Nova Aliança	Aliança	Sítio Mundial	S 0,3° 07' 30,1" W 60° 40' 57,4"

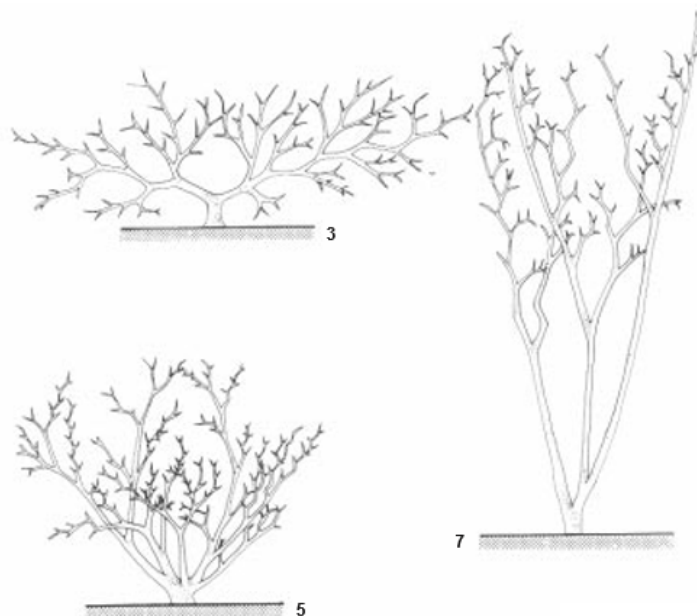
Anexo 2 - Descritores do gênero *Capsicum* spp.

Formato do fruto: (1) alongado; (2) arredondado; (3) triangular; (4) campanulado; (5) retangular.



IPGRI 1995

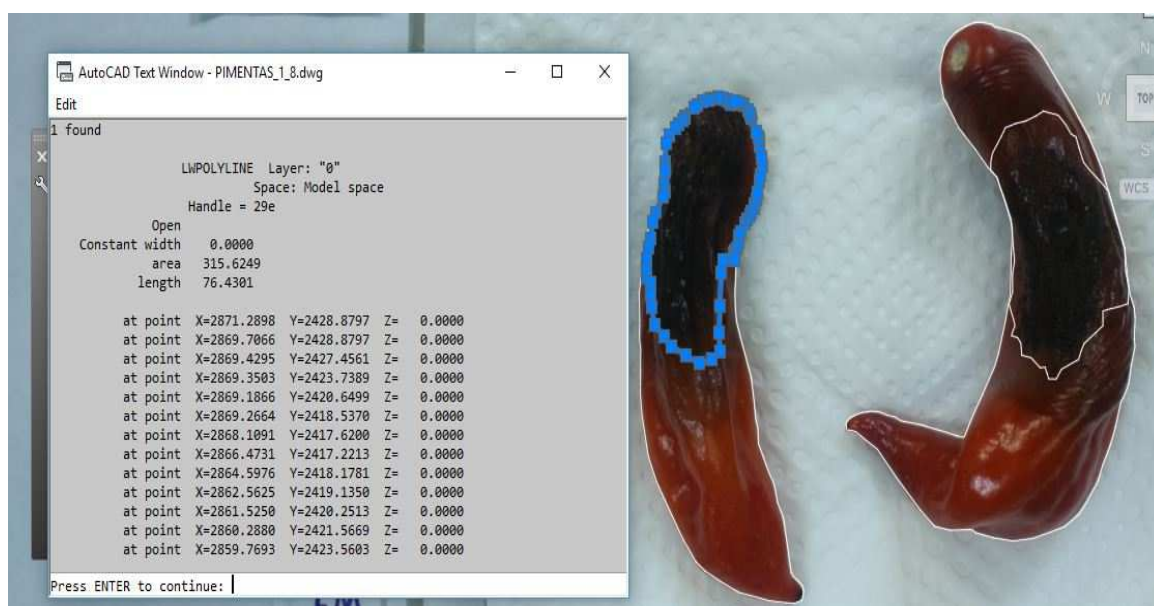
Hábito de crescimento da planta: (3) prostrado; (5) compacto; (7) ereto.



IPGRI 1995

Anexo 3 - Metodologia para medição de áreas lesionadas.

Para estimar a área lesionada do fruto causada pela doença o método utilizado foi o uso de imagens. As imagens foram capturadas com uma câmara fotográfica e utilizadas para aferir a medição com o uso das ferramentas do software AutoCad 2018 (AutoDesk). As etapas para obtenção dos valores foram: inserir a imagem na tela gráfica com o comando IMAGE e configurar o valor da escala para referência, usando o comando R; com o comando SCALE foi possível mensurar o tamanho da amostra próximo do real selecionando o ponto inicial e final da amostra (fruto) formando uma reta. Com a ferramenta POLILINE tracejou-se uma linha em volta de toda a extensão do fruto e depois somente da área lesionada. O comando LIST traz todos os cálculos da área em uma nova janela. Obtendo assim, a área total do fruto e área lesionada pela doença a partir das imagens obtidas no 7^o e 14^o dia de observação.



Anexo 4 - Metodologia para contagem de conídios

A concentração de conídios foi obtida a partir da contagem de conídios presentes nos quadrantes A, B, C, D, e E do hemacitômetro, câmara de Neubauer. Os valores foram obtidos por meio da fórmula: número médio de conídios em A $\times 2,5 \times 10^5 =$ conídios mL^{-1} . Onde “A” – representa uma área de $1/16$ ou $0,0625 \text{ mm}^2$ (Alfenas e Mafia 2007).

