



DOUGLAS WILLIAN NOGUEIRA

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES
MOLECULARES E CAPACIDADE
COMBINATÓRIA DE LINHAGENS DE
PIMENTÃO COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA A
DOENÇAS**

LAVRAS – MG

2010

DOUGLAS WILLIAN NOGUEIRA

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES E
CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE LINHAGENS DE PIMENTÃO
COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA A DOENÇAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Wilson Roberto Maluf

LAVRAS - MG

2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Nogueira, Douglas Willian.

Seleção assistida por marcadores moleculares e capacidade combinatória de linhagens de pimentão com resistência múltipla a doenças / Douglas Willian Nogueira. – Lavras : UFLA, 2010.
80 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.
Orientador: Wilson Roberto Maluf.
Bibliografia.

1. *Capsicum annuum*. 2. Resistência genética. 3. Nematóides. 4. PepYMV. 5. *Phytophthora capsici*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.64323

DOUGLAS WILLIAN NOGUEIRA

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES E
CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE LINHAGENS DE PIMENTÃO
COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA A DOENÇAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 13 de dezembro de 2010.

Dra. Antônia dos Reis Figueira	UFLA
Dra. Luciane Vilela Resende	UFLA
Dr. Rovilson José de souza	UFLA
Dr. Sebastião Marcio Azevedo	SAKATA

Dr. Wilson Roberto Maluf

Orientador

LAVRAS – MG

2010

Aos meus familiares,
em especial aos meus pais e meus irmãos,
pelo carinho e atenção durante toda minha vida.
E aos meus queridos amigos

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e da sabedoria.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial aos Departamentos de Biologia, Fitopatologia e Fitotecnia.

Ao Prof. Wilson Roberto Maluf, pela confiança, orientação e amizade durante toda a vida acadêmica.

À Prof. Antônia dos Reis Figueira e ao Prof. Luís Antônio Augusto Gomes, pela amizade e orientação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à empresa HortiAgro Sementes Ltda.

Aos técnicos Paulo Moretto e Vicente Licursi, pelo apoio e grande amizade.

Aos funcionários da HortiAgro, pela grande ajuda.

Aos amigos da República Playboy, do laboratório de virologia, do Núcleo de Estudo em Genética (GEN) e, em especial, aos amigos Ranoel, Fernando, Régis, Álvaro, Gabriel, Romário, César Peruano, Godo, Davi, Irwin, Leandro, Sílvia, Sindinara, Dani, Marcela e Aline.

Ao grande amigo e irmão Zé Antônio, sua esposa Eliane e seu filho Luiz, pela imensa amizade e confiança.

À querida Nair.

Aos bons e velhos amigos Ceará, Carla, Sidão, Fredão, Eliane, Renan, Anderson, Gabriela, César Brasil, Júlio, Neide, Camila, Lúcia, Vó Ni, Marcelo, Velma, Edirlei, Ana Paula, Luciana e Rodrigo, pelos momentos de descontração.

Aos meus queridos Irmãos Danilo e Artur, aos meus avós, tios e tias.

Enfim, a todos que contribuíram de certa forma para esta conquista.

RESUMO

O pimentão é a terceira solanácea mais cultivada, ocupando uma área de cerca de 13.000 hectares com produção de aproximadamente 350 mil toneladas. A produção nacional concentra-se nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Nos últimos anos, tem sido observado um aumento significativo na produção, principalmente, após a utilização de cultivares híbridas e a intensificação do uso de estufas. Não obstante esses dados, a ocorrência de doenças é um dos principais problemas do cultivo do pimentão no Brasil, destacando-se a requeima, as viroses e os nematoides. Os objetivos do presente trabalho foram : (a) Avaliar genótipos de pimentão quanto à presença do marcador molecular tipo CAPS, ligado ao alelo *Pvr4*, que confere resistência ao PepYMV e determinar a utilidade deste marcador para a seleção assistida de plantas resistentes ao vírus. (b) Inferir sobre a capacidade combinatória de linhagens de pimentão. (c) Desenvolver híbridos de pimentão com resistência múltipla a doenças. Os trabalhos foram realizados em casa de vegetação na área experimental da empresa HortiAgro Sementes Ltda e no laboratório de Virologia Molecular (LVM) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras. Para a avaliação com marcador tipo CAPS e para a presença do alelo *Pvr4*, foram utilizadas plantas individuais dos seguintes genótipos de pimentão: Magali-R, Konan-R, Myr-29, Ikeda, PIM-025, Criollo de Morellos (CM-334-UFV e CM-334-INRA), PIM-004, populações F₁RC₁ (PIX-051, PIX-052 e PIX-053) e populações F₂ (PIX-044 e PIX-045). A avaliação dos genótipos com o marcador detectou que a resistência ao PepYMV nos genótipos CM-334-INRA, Myr-29, PIX-044 e PIX-053 está associada à banda de 444pb ligada ao alelo de resistência *Pvr4*. Nestes casos, os materiais resistentes homocigotos (*Pvr4/Pvr4*) mostraram uma banda de 444 pb; os suscetíveis (*Pvr4⁺/Pvr4⁺*), uma banda de 458 pb e os resistentes heterocigotos (*Pvr4⁺/Pvr4*) mostraram as 2 bandas. Contudo, em CM-334-UFV, Magali-R, Martha-R, PIX-045, PIX-051 e PIX-052, a resistência ao PepYMV não esteve associada ao marcador CAPS, indicando que nestes materiais o alelo *Pvr4* ou não está ligado em associação à banda de 444 pb, ou ainda que sua resistência é controlada por um outro gene. Para estudar a capacidade combinatória, foram avaliados 30 híbridos experimentais, 24 obtidos a partir do cruzamento de dois grupos de genitores (grupo I: Carolina Wonder, Charleston Belle, PIM-013, PIX-044B-01-01, PIX-044B-13-01, PIX-045B-27-02, PIX-045B-32-03 e PIX-052B-06-01; grupo II: Linha-004, MYR-29-03-02 e MYR-29-10-08) e seis obtidos a partir do cruzamento entre algumas linhagens do grupo I. Seis genótipos comerciais foram utilizados como testemunhas (Magnata Super, Konan R, Mallorca, Martha R, Stephany e Magali R). Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com três repetições. Avaliaram-se os seguintes caracteres: produção total de

frutos, massa média de fruto total, produção precoce de frutos, espessura do pericarpo, profundidade de inserção do pedúnculo floral e relação comprimento/diâmetro. Quanto à capacidade geral de combinação, destacaram-se as linhagens Carolina Wonder, Charleston Belle, PIM-013 e MYR-29-03-02. Entre os híbridos experimentais, destacaram os híbridos 1x2' =F₁(Carolina Wonder x MYR-29-03-02), 2x2'=F₁(Charleston Belle x MYR-29-03-02), 4x1=F₁(PIX-044B-01-01 x Carolina Wonder) e 4x2=F₁(PIX-044B-01-01 x Charleston Belle), com desempenho médio superior ou equivalente ao das testemunhas e que aliam resistência múltipla a doenças.

Palavras-chave: Nematóide. Potyvirus. *Phytophthora capsici*. Resistência genética. *Capsicum annuum*. Híbridos. *Pvr4*.

ABSTRACT

Sweet peppers in Brazil are the third most cultivated solanaceous crop. They are grown in over 13000 ha, and yearly production amounts to ca. 350 thousand metric tonnes, with the states of São Paulo and Minas Gerais as major producers. There has been a significant increase in yields in the past two decades due in great part to the widespread use of hybrid cultivars and/or protected cultivation. Diseases, with emphasis on blight, viruses and nematodes are considered major problems of the crop. The present work had the following objectives: (a) to screen sweet pepper genotypes for the presence of the CAPS molecular marker associated with the Pvr-4 allele that controls resistance to the PepYMV potyvirus; (b) to assess combining ability of selected pepper lines; (c) to develop sweet pepper hybrids with multiple disease resistances. Trials were carried out in plastic houses at the Hortiagro Sementes experiment station, Ijaci-MG, and at the Plant Virology Laboratory/ Department of Plant Pathology/ Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Brazil. The presence of the CAPS marker associated with Pvr-4 was assessed in individual plants of the genotypes: Magali-R, Konan-R, Myr-29, Ikeda, PIM-025, Criollo de Morellos (CM-334-UFV and CM-334-INRA), PIM-004, first-backcross populations PIX-051, PIX-052 e PIX-053) and F₂ populations (PIX-044 e PIX-045). PepYMV in genotypes CM-334-INRA, Myr-29, PIX-044 and PIX-053 was found possess the 444bp expected to be associated with the Pvr-4 allele: homozygous resistant genotypes (*Pvr4/Pvr4*) showed a single 444bp band, whereas susceptible genotypes (*Pvr4⁺/Pvr4⁺*) showed a single 458bp band, and heterozygous resistant (*Pvr4⁺/Pvr4*) genotypes showed both the 444bp and the 458bp bands. In contrast, PepYMV resistance in CM-334-UFV, Magali-R, Martha-R, PIX-045, PIX-051 and PIX-052 was not associated with the CAPS marker, indicating that in these genotypes either the Pvr-4 is not linked to the 444 bp CAPS band, or the resistance is under control of a different gene locus. In order to assess combining ability of sweet pepper lines, 30 experimental hybrids were tested: 24 hybrids comprised a partial diallel among two groups of parental lines (group I: Carolina Wonder, Charleston Belle, PIM-013, PIX-044B-01-01, PIX-044B-13-01, PIX-045B-27-02, PIX-045B-32-03 and PIX-052B-06-01; group 2: Linha-004, MYR-29-03-02 and MYR-29-10-08), and 6 hybrids obtained from crosses among lines of group I. Six commercial hybrids (Magnata Super, Konan R, Mallorca, Martha R, Stephany and Magali R) were used as check treatments. The genotypes were tested in a randomized complete block design with two replications, and the following traits were assessed: total fruit yield, mean fruit mass, early yield, pericarp thickness, depth of peduncle insertion, and fruit length/diameter ratio. Lines Carolina Wonder, Charleston Belle, PIM-013 e MYR-29-03-02 were found to have good general combining ability. Hybrids 1x2' =F₁(Carolina

Wonder x MYR-29-03-02), 2x2'=F₁(Charleston Belle x MYR-29-03-02), 4x1=F₁(PIX-044B-01-01 x Carolina Wonder) and 4x2=F₁(PIX-044B-01-01 x Charleston Belle) had performances equivalent to or superior to the check treatments, and had multiple disease resistances.

Keywords: Nematode. Potyvirus. *Phytophthora capsici*. Genetic resistance. *Capsicum annuum*. Hybrids. *Pvr-4*

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	11
1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Origem e importância econômica do pimentão	14
2.2	O melhoramento do pimentão no Brasil	15
2.3	Heterose e híbridos de pimentão	17
2.4	Principais doenças do pimentão	19
2.4.1	PepYMV	20
2.4.2	<i>Phytophthora capsici</i> Leonian	22
2.4.3	Nematoides (<i>Meloidogyne</i> spp)	24
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS	27
	REFERÊNCIAS	28
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	34
	ARTIGO 1 Seleção assistida por marcador molecular para resistência a Potyvirus em pimentão	34
	ARTIGO 2 Capacidade combinatória de linhagens de pimentão com resistência múltipla a doenças	55

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O pimentão está entre as principais hortaliças cultivadas no Brasil (RUFINO; PENTEADO, 2006), sendo a terceira solanácea mais cultivada, superada apenas pelo tomate e pela batata. A área cultivada com pimentão anualmente no país é cerca de 13.000 hectares, com produção de aproximadamente 350 mil toneladas (LOPES; ÁVILA, 2003). A cultura existe em todos os estados, concentrando-se nos estados de São Paulo e Minas Gerais. No ano de 2009, o estado de São Paulo, produziu 82.256,03 toneladas e a área cultivada foi de 2.123,03 hectares, alcançando uma produtividade média de 38,75 toneladas por hectare (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 2010).

Nos últimos anos, tem sido observado um aumento significativo na produção, principalmente após a utilização de cultivares híbridas e a intensificação do uso de estufas. As vantagens da utilização dos híbridos estão fundamentadas na combinação de caracteres, normalmente encontrados em genitores separados, em um único genótipo. Pode-se associar, por exemplo, genes de resistência a doenças com a heterose para caracteres importantes como produtividade e qualidade final do produto (NASCIMENTO, 2005; BLAT; BRAZ; ARRUDA, 2007).

Um dos principais problemas do cultivo do pimentão no Brasil é a ocorrência de doenças, destacando-se a requeima (causada por *Phytophthora capsici* Leonian), as viroses (em especial, o mosaico amarelo, causado pelo potyvirus PepYMV, *Pepper yellow mosaic virus*) e os nematoides (especialmente os causadores de galhas nas raízes, *Meloidogyne* spp.).

A espécie PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*) é o agente causal da principal doença virótica de pimentão no Brasil (INOUE-NAGATA et al., 2001; ECHER; COSTA, 2002; EMPRESA BRASILEIRA EM AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2010a). A resistência a potyvirus no pimentão pode ser controlada por um de pelo menos sete locos gênicos da série *pvr* (CARANTA et al., 1999; GRUBE et al., 2000a; PARRELA et al., 2002). Os alelos dominantes *Pvr4* e *Pvr7* conferem resistência a todos os patótipos das espécies conhecidas e testadas (CARANTA et al., 1999; ARNEDO-ANDRÉS et al., 2002). Marcadores moleculares ligados a diferentes alelos de resistência a potyvirus no gênero *Capsicum* spp foram desenvolvidos nos últimos anos (PARRELA et al., 2002). Os locos dos alelos *Pvr7* e *Pvr4* foram ambos mapeados no cromossomo 10 do pimentão, estando esse último associado a um marcador molecular tipo CAPS codominante (CARANTA et al., 1999).

A murcha ou requeima do pimentão, causada pelo fungo *Phytophthora capsici* Leonian, é uma das doenças fúngicas mais destrutivas desta cultura em todo o mundo (ECHER, 2001). O patógeno pode infectar todos os órgãos da planta, causando podridão da raiz e do colo, lesões negras no caule, lesões circulares amarronzadas em folhas, podridão de frutos e morte da planta.

Outro problema na cultura é a presença de nematoides, especialmente os do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas nas raízes, os quais podem causar elevadas perdas em hortaliças. A espécie *M. incognita* provoca maiores danos no pimentão (LOPES; ÁVILA, 2003). O processo curativo inclui o uso de produtos químicos como os nematicidas que, além de elevarem os custos da produção, trazem outros inconvenientes, como a poluição ambiental.

A resistência genética é uma forma eficiente, econômica e de menor impacto ambiental no controle desses fitopatógenos (BENTO et al., 2009; WOO et al., 2005; DJIAN-CAPORALINO et al., 1999). A presença de variabilidade genética no gênero *Capsicum* tem permitido encontrar e introduzir

resistências a esses patógenos em cultivares e isto tem sido prioridade nos programas de melhoramento de pimentão (ECHER; COSTA, 2002; CANDOLE; CONNER, 2010; DJIAN- CAPORALINO et al., 1999). A resistência genética a esses fitopatógenos é favorecida nas combinações híbridas, pois de forma geral, os estudos mostram a presença de alelos dominantes, com herança do tipo monogênica (ECHER; COSTA, 2002; MONROY-BARBOSA; BOSLAND, 2008; THIES; ARISS, 2009).

Os objetivos do presente trabalho foram : (a) Avaliar genótipos de pimentão comumente encontrados no Brasil quanto à presença do marcador molecular tipo CAPS, ligado ao alelo *Pvr4*, que confere resistência ao PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*) e determinar a utilidade deste marcador para a seleção assistida de plantas resistentes ao vírus. (b) Inferir sobre a capacidade combinatória de linhagens de pimentão potencialmente úteis na obtenção de híbridos. (c) Desenvolver híbridos de pimentão com resistência múltipla a doenças e identificar os que venham a ser competitivos com as testemunhas comerciais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem e importância econômica do pimentão

O pimentão e as pimentas pertencem à família *Solanaceae* e ao gênero *Capsicum*, que é originário das regiões tropicais e subtropicais da América. Após o processo de domesticação, foram levados para as demais regiões do mundo, principalmente a Europa. Em contraste com outras solanáceas, como o tomate e a batata, cultivados exclusivamente como plantas ornamentais logo após a sua respectiva introdução na Europa, enquanto as pimentas foram aceitas de imediato e difundidas de maneira muito mais rápida, por serem mais pungentes do que a tão procurada pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). A pungência deve-se a uma substância existente na placenta dos frutos - a *capsaicina*. A ausência de capsaicina diferencia os pimentões e pimentas doces das pimentas ardidas.

Atualmente consumido por um quarto da população mundial (MOREIRA et al., 2006), o gênero *Capsicum* possui cerca de 25 espécies, das quais cinco são mais amplamente cultivadas: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* e *C. pubescens*. Todas as espécies são $2n = 2x = 24$.

O Brasil destaca-se por possuir ampla diversidade, incluindo quatro espécies domesticadas (EMBRAPA, 2010b). *Capsicum annuum* é a espécie mais cultivada do gênero e a que apresenta a maior variabilidade, compreendendo os pimentões, as pimentas doces para páprica, as pimentas picantes, além de variedades ornamentais.

Dentre as hortaliças cultivadas no Brasil, o pimentão está entre as principais (RUFINO; PENTEADO, 2006), sendo a terceira solanácea mais cultivada, superada apenas pelo tomate e pela batata. No Brasil, o pimentão é em grande parte consumido verde, imaturo (90%). Em menor escala (10%), é

consumido também no estágio de frutos maduros (vermelhos ou amarelos, dependendo da cultivar). A área cultivada com pimentão anualmente no país é cerca de 13.000 hectares, com produção aproximada de 350 mil toneladas (LOPES; ÁVILA, 2003). A cultura de pimentão existe em todos os estados, mas concentra-se nos estados de São Paulo e Minas Gerais. No ano de 2009, o estado de São Paulo produziu 82.256,03 toneladas e a área cultivada foi de 2.123,03 hectares, alcançando uma produtividade média de 38,75 toneladas por hectare (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 2010)

Nos últimos anos, tem sido observado um aumento significativo na produção, principalmente após utilização de cultivares híbridas e a intensificação do uso de estufas. O mercado de sementes de pimentão no Brasil é estimado em US\$ 3 milhões/ano; dos quais, US\$ 600 a 900 mil estão relacionados ao segmento de pimentão cultivado em estufa. (BLAT; BRAZ; ARRUDA, 2007).

2.2 O melhoramento do pimentão no Brasil

O pimentão foi cultivado no Brasil em escala comercial provavelmente na década de 20, pelo agricultor Carlos Junger, em Mogi das Cruzes, SP. As primeiras cultivares plantadas foram pimentões com frutos de formato cônico e eram supostamente de origem espanhola (SILVA, 2002). Estes tipos foram cultivados ali intensamente entre os anos de 1920 e 1950, de onde se espalharam para outras regiões de São Paulo e para a Baixada Fluminense.

Os produtores provavelmente fizeram seleções nessas populações iniciais, das quais originaram-se as cultivares de polinização aberta como Moura, Avelar, Casca Dura, Ikeda, entre outras, que predominaram em plantios comerciais de pimentão no país. Produtores do Centro Sul que cultivavam pimentão __ especialmente o Califórnia Wonder, de frutos quadrados __

sofriam com uma virose denominada "mosaico do pimentão" (na verdade, estirpes de potyvirus).

O primeiro programa de melhoramento de pimentão foi implantado no início da década de 60, sob coordenação do pesquisador Hiroshi Nagai, no IAC e visava localizar fontes de resistência a potyvirus (*Potato vírus Y*), o agente causal da principal doença da época (ECHER; COSTA, 2002), combinar resistência a potyvirus, em cultivar de características desejáveis, e prevenir a "quebra" da resistência, através da caracterização de estirpes do patógeno e de genótipos que conferissem resistência. Foram identificadas várias fontes de resistência a estirpes de vírus em cultivares locais como Casca Dura, Ikeda, Avelar e Moura (todas de frutos cônicos). Essas cultivares substituíram em pouco tempo todas as de frutos quadrados.

Através de cruzamentos, seguidos de seleções para resistência a estirpes de PVY, H. Nagai lançou a série Agrônômico, da qual a cultivar Agrônômico 10 G passou a ser, durante muitos anos (até meados da década de 80), a principal cultivar no Sul do país. Nessa mesma década, foram registrados em plantações comerciais nos estados de Minas Gerais e São Paulo, surtos de uma nova estirpe de potyvirus infectando as cultivares de pimentão Agrônômico 10G, Magda, Margareth, Ikeda e Magnata (ECHER; COSTA, 2002). Essa nova estirpe capaz de vencer as fontes de resistência até então utilizadas, foi primeiramente denominada de PVY^M e é hoje considerada como uma nova espécie, conhecida como *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (INOUE-NAGATA et al., 2001). Desde então, o mosaico amarelo passou a predominar nos principais pólos de produção, ocasionando elevadas perdas econômicas em cultivares suscetíveis.

As primeiras cultivares híbridas utilizadas pelos produtores foram desenvolvidas em países de clima temperado, adaptando-se às condições brasileiras apenas para o cultivo em estufas, a única situação em que superavam as cultivares de polinização livre (LORENTZ et al. 2005).

Somente nos anos 90 é que surgiram os primeiros híbridos comerciais de pimentão, desenvolvidos em condições brasileiras, com a introdução e fixação de novos padrões heteróticos, principalmente de origem europeia, nos programas de melhoramento genético das empresas privadas, e posteriormente também resistentes a doenças, como as viroses causadas por potyvirus.

Atualmente, em sua maioria, os programas de melhoramento têm se dedicado à obtenção de híbridos que aliem, além de produtividade, qualidade de frutos e resistência múltipla as doenças.

2.3 Heterose e híbridos de pimentão

Heterose __ também denominada vigor híbrido __ é o termo usado para descrever a ocorrência de um aumento no valor de um caráter quantitativo em híbridos de animais ou de plantas. A heterose se manifesta quando o caráter avaliado no híbrido é maior (heterose positiva) ou menor (heterose negativa) do que a média dos genitores. Na prática, é mais comum o cálculo da heterose em relação ao genitor superior (heterobeltiose) ou a uma cultivar de importância econômica (heterose-padrão).

Em geral, o termo heterose tem sido utilizado para denotar o aumento no tamanho, vigor, crescimento e rendimento observados em certas combinações híbridas, em função da presença de alelos com efeitos não-aditivos (dominância e/ou epistasia). Embora já muito explorada entre as espécies alógamas, ultimamente a heterose tem se mostrado importante também entre as espécies autógamias (HOLLAND, 2001).

Em hortaliças, tem sido possível explorar a heterose em espécies alógamas (melão, abóbora, pepino, couve-flor, repolho e cebola), assim como em autógamias (tomate, pimentão e berinjela) (MALUF, 2001). Em *Capsicum annuum*, Ikuta & Venkovsky (1970) verificaram a presença de heterose positiva

em pimentão, sendo, portanto, possível produzir híbridos mais produtivos do que cultivares de polinização aberta.

Alguns autores consideram que o trabalho pioneiro no Brasil que documenta o melhor desempenho dos híbridos frente às cultivares de polinização aberta no pimentão foi apresentado por Miranda (1987). Neste trabalho, ficou comprovada a existência de heterose passível de exploração econômica em combinações híbridas nas condições brasileiras. Mais tarde, outros autores utilizando padrões heteróticos distintos corroboraram esses resultados (SILVA, 2002; GOMIDE et al., 2003; NASCIMENTO, 2005; BLAT; BRAZ; ARRUDA, 2007).

Nos anos 1990, começaram a ser produzidos em maior escala os primeiros híbridos comerciais de pimentão desenvolvidos em condições brasileiras. A utilização de híbridos de pimentão no país cresceu enormemente nos últimos 15 anos, devido à percepção de suas vantagens (heterose, maior resistência a doenças) por parte dos produtores.

Para obtenção de híbridos, torna-se necessária a obtenção prévia de linhagens homozigotas especificamente para esse fim, as quais serão avaliadas quanto ao desempenho *per se* e testadas nas diferentes combinações híbridas para os caracteres desejáveis. Além disso, a utilização de híbridos permite associar resistências às doenças presentes nos diferentes genitores, principalmente aquelas controladas por alelos dominantes.

No caso do pimentão, os trabalhos têm demonstrado uma grande influência dos efeitos gênicos não-aditivos no controle dos caracteres de interesse, principalmente naqueles relacionados à produção (NASCIMENTO, 2002; SILVA, 2002; NASCIMENTO, 2005). Diante desses resultados, fica impossível prever o comportamento de uma linhagem quando em combinação híbrida.

O uso da variabilidade genética existente tem permitido a seleção e obtenção de cultivares híbridas com melhor adaptação às condições de cultivo. Por essas e outras vantagens, o melhoramento de pimentão no Brasil tem sido conduzido pela maior necessidade de desenvolvimento de cultivares híbridas, sobretudo com resistências múltiplas a doenças e com características agronômicas desejáveis. Assim, a exemplo do que ocorreu em outros países, o uso de cultivares híbridas de pimentão passou a ser uma realidade entre os produtores brasileiros, tanto que passaram a dominar o segmento de mercado de sementes no país.

Para atenderem as exigências atuais de mercado “in natura” de pimentão no Brasil, as cultivares híbridas devem aliar maior produção (rendimento e qualidade), de preferência com frutos tetraloculares (nova tendência do mercado), com maior comprimento e largura, polpa espessa, coloração verde intensa e progressiva (sem estrias), e resistência às principais doenças.

2.4 Principais doenças do pimentão

Apesar de nos últimos anos ter havido um aumento na produção de pimentão devido aos avanços na melhoria dos sistemas produtivos da cultura, problemas fitossanitários têm sido os principais entraves ao seu aumento mais expressivo. Entre os problemas fitossanitários, observam-se infestações por vírus, bactérias, nematoides, fungos e pragas. Os problemas fitossanitários assumem diferentes graus de importância, dependendo do estágio fenológico em que a planta foi infectada, do genótipo utilizado, época de plantio e nível de infestação.

Entre os fitopatógenos destacam-se o potyvirus PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*), causador da doença conhecida como mosaico amarelo do

pimentão, o fungo *Phytophthora capsici* Leonian, causador da murcha, também conhecida como requeima ou podridão da raiz e os nematoides, especialmente os causadores de galhas nas raízes (*Meloidogyne* spp.).

2.4.1 PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*)

Os esforços no manejo de doenças viróticas têm sido direcionados para a eliminação de vetores e erradicação de plantas hospedeiras que constituem fonte de inóculos. Tais medidas muitas das vezes são provisórias, onerosas e pouco eficientes. No Brasil, os estudos de viroses em pimentão são quase todos relacionados ao gênero *Potyvirus*, o maior e mais importante gênero de fitovírus, que pode causar perdas econômicas significativas também em outras espécies da família solanáceas, como a batata e o tomate (EMBRAPA, 2010a). Os sintomas ocasionados por potyvirus variam com a espécie de vírus, com a estirpe, com o genótipo do hospedeiro e com as condições ambientais, variando desde infecção latente seguida ou não por deformação foliar, até necrose pronunciada das folhas e do caule, que pode culminar com a morte da planta (MURPHY, 2002).

Na década de 1980, uma nova estirpe de vírus primeiramente denominada PVY^M (NAGAI, 1983) foi identificada em plantações comerciais de pimentão em São Paulo e Minas Gerais, infectando as cultivares então resistentes Agrônomo 10G, Magda, Margareth e Ikeda (ECHER; COSTA, 2002). A partir de plantas infectadas da cultivar Magda, coletadas em lavouras dessa região, Inoue-Nagata et al. (2001) verificaram que se tratava de uma nova espécie de *Potyvirus*. A clonagem e análise da sequência da capa protéica do novo vírus revelaram uma proteína de 278 aminoácidos com identidade de 77,4% com a capa protéica do *Pepper severe mosaic virus*, a espécie mais próxima do gênero. Em função desses resultados, os autores propuseram um novo nome para o vírus — “*Pepper yellow mosaic virus*” (PepYMV).

A espécie PepYMV __ causadora da principal doença virótica de pimentão no Brasil (INOUE-NAGATA et al., 2001; ECHER; COSTA, 2002; EMBRAPA, 2010a) __ é de ocorrência natural nas regiões produtoras, provocando a doença conhecida vulgarmente como mosaico amarelo do pimentão. No Espírito Santo, essa espécie também foi relatada, infectando plantas de tomates em plantios comerciais (MACIEL-ZAMBOLIM et al., 2004).

Os potyvirus podem ser transmitidos por meio da inoculação mecânica e por muitas espécies de insetos vetores, entre eles os afídeos. No caso de estirpes comuns de PVY e PepYMV, o pulgão *Mizus persicae* Sulz tem sido considerado um dos mais importantes (DUSI, 2001; MORAIS, 2003).

A existência de variabilidade genética no gênero *Capsicum* tem permitido controlar com eficiência, via resistência genética, as doenças viróticas causadas pelo complexo potyvirus. Fontes de resistência têm se mostrado eficientes e duradouras em condições de inoculação artificial e em nível de campo (CARANTA et al., 1999; ECHER; COSTA, 2002).

A resistência a potyvirus no pimentão pode ser controlada por um de pelo menos sete locos gênicos da série *pvr*, os quais os autores denominaram: *pvr1*; *pvr2*; *pvr3*; *Pvr4*; *pvr5*; *pvr6* e *Pvr7* (CARANTA et al., 1999; GRUBE et al., 2000a; PARRELA et al., 2002). Em sua maioria, esses alelos são resistentes a duas ou mais espécies de potyvirus. Nos testes experimentais com materiais resistentes, tem-se observado que o alelo de resistência atua bloqueando a multiplicação do vírus, levando ao aparecimento de necroses sistêmicas nas regiões onde se encontram as partículas virais (NAGAI, 1993). Os alelos dominantes *Pvr4* e *Pvr7* conferem resistência a todos os patótipos das espécies conhecidas e testadas (CARANTA et al., 1999; ARNEDO-ANDRÉS et al., 2002). Os locos dos alelos *Pvr4* e *Pvr7* foram ambos mapeados no cromossomo 10 do pimentão. Entretanto, *Pvr4* é originado de *C. annuum*, acesso CM-334

(Criollo de Morelos-334) e *Pvr7* de *C. chinense*, acesso 'PI 159236'(GRUBE et al., 2000b).

No Brasil, várias fontes de resistência de amplo espectro à estirpe comum de PVY e a PepYMV têm sido identificadas, entre elas as resistências encontradas no acesso CM-334, em algumas linhagens e híbridos comerciais nas cultivares de polinização aberta Myr-29 e Myr-10. No entanto, não se sabe ao certo a natureza da resistência encontrada nesses materiais, ou seja, se é conferida por um único loco ou por mais de um loco da série *pvr* (CARANTA et al., 1999; VALLE, 2001; ECHER; COSTA, 2002).

Marcadores moleculares ligados a diferentes alelos de resistência a potyvirus no gênero *Capsicum* spp foram desenvolvidos nos últimos anos. Com exceção do alelo *pvr3*, todos os demais alelos da série *pvr* estão associados a um ou mais marcadores moleculares (PARRELA et al., 2002). O uso de marcadores moleculares proximamente ligados aos alelos de resistência e atualmente disponíveis passa a ser uma importante ferramenta para verificar e selecionar esses alelos em diferentes genótipos num programas de melhoramento.

2.4.2 *Phytophthora capsici* Leonian

A murcha do pimentão ___ ou podridão da raiz causada por *Phytophthora capsici* Leonian ___ é uma das doenças fúngicas mais destrutivas desta cultura em todo o mundo (HAUSBECK; LAMOUR, 2004; THABUIS et al., 2003). O fungo pode também causar doença em espécies de outros quarenta gêneros de plantas (LUZ et al., 2003). O patógeno pode infectar todos os órgãos da planta, causando podridão da raiz e do colo, lesões negras no caule, lesões circulares amarronzadas em folhas e podridão de frutos. Frutos podem ser comumente encontrados cobertos com esporângios do patógeno. Em razão dos

sintomas na parte aérea, a doença é também conhecida como requeima do pimentão (KUROZAWA; PAVAN, 1997).

A doença inicia-se no campo por meio da infecção das raízes pelo inóculo primário presente no solo, progredindo para a infecção do coleto, cujos sintomas se caracterizam pela podridão de raízes, murcha repentina, necrose de coloração marrom-escura na altura do colo e posterior morte das plantas (KUROZAWA; PAVAN, 1997). No campo, a doença é devastadora, mas pode provocar prejuízos também no armazenamento.

Práticas que reduzam o acúmulo de água no solo normalmente têm contribuído para o controle de *P. capsici*. No entanto, essa prática associada ao uso de fungicidas não tem sido suficiente para o controle do patógeno. Como a umidade do solo é muito difícil de ser controlada, principalmente em cultivos a céu aberto e, considerando os problemas associados ao uso dos fungicidas, normalmente sistêmicos, a utilização de genótipos com diferentes níveis de resistência tem sido uma importante alternativa para o controle de *P. capsici*.

A busca por fontes de resistência a *P. capsici* iniciou-se na década de 1960, com os trabalhos de Kimble e Grogan (1960). A partir daí, inúmeros trabalhos têm sido desenvolvidos na tentativa de encontrar fontes de resistência duradoura (MATSUOKA, 1984; KUROZAWA; PAVAN, 1997). Apesar de avanços obtidos em relação ao controle genético desse patógeno, híbridos plantados no país ainda são em grande parte suscetíveis. Alguns híbridos foram lançados no mercado com certo grau de resistência, porém nem sempre apresentaram uma boa aceitação por parte dos produtores (ECHER, 2001).

Várias fontes de resistência genética para controle da doença têm sido testadas. Os acessos mexicanos de *Capsicum annuum*, Criollo de Morelos (CM) 331 e 334 têm consistentemente apresentado o maior nível e a fonte de resistência mais promissora dentre os germoplasmas comumente utilizados como resistentes a *P. capsici* (THABUIS et al., 2003; ORTEGA; PALAZON-

ESPANOL; CUARTERO-ZUECO, 1991). Em relação aos estudos de herança, é comum encontrar na literatura discordância sobre o número e independência dos genes que controlam a resistência a *P. capsici*. Resistência do tipo completa — conferida por alelos de poucos genes, alguns de natureza dominante sob efeito de modificadores — tem sido relatada no acesso Criollo Morellos 334 (ORTEGA; PALAZON-ESPANOL; CUARTERO-ZUECO, 1991; KOBORI et al., 2000; SY et al., 2005; WANG; BOSLAND, 2006). Linhagens provenientes de cruzamentos com CM-334 constituem importantes fontes de resistência genética a *P. capsici* para serem exploradas em combinações híbridas.

2.4.3 Nematoides (*Meloidogyne* spp)

O pimentão é tido como a espécie que melhor se adaptou ao sistema produtivo sob cobertura plástica no Brasil, o que tem contribuído para regularizar a oferta do produto ao longo do ano (OLIVEIRA, 2007). Porém, como geralmente acontece em ambiente protegido, ou quando se faz rotação com outra cultura suscetível, o cultivo repetido na mesma área pode elevar o nível de população de nematoides, especialmente os do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas nas raízes e tornar o patógeno limitante à cultura. No gênero *Meloidogyne*, existem mais de 69 espécies, entre as quais se destacam as espécies *M. javanica* e *M. incognita*. Esta última provoca maiores danos ao pimentão (LOPES; ÁVILA, 2003).

A doença causada pelo nematoide se manifesta, normalmente, em reboleiras. As plantas afetadas apresentam sintomas que sugerem a deficiência de água e de nutrientes, ou seja, desenvolvimento abaixo do normal, amarelecimento das folhas e murcha. Estes sintomas se devem à formação de galhas (engrossamentos) e apodrecimento das raízes (LOPES; ÁVILA, 2003).

O processo curativo inclui o uso de produtos químicos como os nematicidas que, além de elevarem os custos da produção, trazem outros inconvenientes, como a poluição ambiental. Medidas de caráter preventivo têm sido adotadas, como a rotação de cultura com plantas tóxicas aos nematoides, pousio, aração profunda, solarização e até mesmo inundação da área. O uso de material resistente seria, contudo, o método mais eficaz e menos oneroso.

Os primeiros trabalhos que tratam da resistência ao *Meloidogyne* em *Capsicum annuum* L. datam da década de 1950. Hare (1957) descreveu o primeiro gene de resistência ao nematoide, denominado *N*. Atualmente, este gene está presente nas cultivares americanas ‘Charleston Belle’ e ‘Carolina Wonder’ (FERY et al., 1998). O alelo *N* confere alta resistência a *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* raças 1 e 2 (THIES; FERY, 2000).

Os acessos de *Capsicum annuum* PM217, PM687 e PM702 (CM334) que correspondem aos códigos de acesso do INRA (França), todos de frutos pungentes, constituem importantes fontes de resistência a espécies de *Meloidogyne*. Estudos revelaram a existência de três genes dominantes em PM217 (*Me1*, *Me2* e *Mech1*), dois em PM687 (*Me3* e *Me4*) e em PM702 (*Me7* e *Mech2*). A cultivar ‘Yolo Wonder’ constitui outra fonte de resistência e possui os genes *Me5* e *Me6*, esse último identificado em populações francesas. O gene *Me1* confere resistência a *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* e o *Me2* a *M. javanica* e *M. ‘Seville’* (SOUZA-SOBRINHO et al., 2002; WANG; BOSLAND, 2006). O gene *Me3* confere resistência a *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*, e o *Me4* a *M. arenaria* (SOUZA-SOBRINHO et al., 2002; DJIAN-CAPORALINO et al., 2001; WANG; BOSLAND, 2006). O *Me5* confere resistência a *M. javanica* (SOUZA-SOBRINHO et al., 2002; WANG; BOSLAND, 2006). *Me6* confere resistência a *M. arenaria* e *M. javanica* (WANG; BOSLAND, 2006). *Me7* confere resistência a *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica* (PEGARD et al., 2005; WANG; BOSLAND, 2006). Os

genes *Mech1* e *Mech2* conferem resistência a *M. chitwoodi* (DJIAN-CAPORALINO et al., 2007). Não se sabe se o gene *N* e alguns dos genes da série *Me* são alélicos ou não, porém Thies e Ariss (2009) demonstraram que os genes *Me3* e *N* são distintos e independentes.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Apesar de nos últimos anos ter havido um aumento na produção de pimentão devido a avanços na melhoria dos sistemas produtivos da cultura, problemas fitossanitários têm sido os principais entraves a um aumento mais expressivo. Entre os problemas fitossanitários, observam-se infestações por vírus, fungos e nematoides, os quais são de difícil controle em função da alta incidência e severidade em áreas tropicais e subtropicais do mundo. O controle desses fitopatógenos está associado a um conjunto de medidas preventivas que, na maioria das vezes, não são eficientes. Um dos métodos mais promissores para o controle desses patógenos é o uso de cultivares resistentes. A presença de variabilidade genética no gênero *Capsicum* tem permitido encontrar e introduzir resistência a esses patógenos em cultivares e isto tem sido prioridade nos programas de melhoramento de pimentão. A resistência genética a esses fitopatógenos é favorecida nas combinações híbridas, pois de forma geral, os estudos de herança mostram a presença de alelos dominantes, com herança do tipo monogênica. O desenvolvimento de híbridos com resistência a dois ou aos três patógenos considerados e que aliem boas características agrônômicas representará uma evolução no cultivo de pimentão, principalmente os resistentes ao nematoide *Meloidogyne incognita*, patógeno em relação ao qual inexistem, atualmente, no mercado brasileiro, cultivares resistentes.

REFERÊNCIAS

ARNEDO-ANDRÉS, M. S.; GIL-ORTEGA, R.; LUIS-ARTEAGA, M.; HORMAZA, J. J. Development of RAPD and SCAR markers linked to the *pvr4* locus for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, p. 1067-1074, 2002.

BENTO, C. S.; RODRIGUES, R.; ZERBINI JUNIOR, F.; SUDRÉ, C.P. Sources of resistance against the *Pepper yellow mosaic virus* in chili pepper. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 196-201, 2009.

BLAT, S.F.; BRAZ, L.T.; ARRUDA, A.S.. Avaliação de híbridos duplos de pimentão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, p. 350-354, 2007.

CANDOLE, B. L.; CONNER, P.J. Screening *Capsicum annuum* Accessions for Resistance to Six Isolates of *Phytophthora capsici*. **HortScience**, Alexandria, v.45, n.2, p. 254-259, 2010.

CARANTA, C.; THABUIS, A.; PALLOIX, A. Development of a CAPS marker for the *Pvr4* locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. **Genome**, Ottawa, v.42, p. 1111-1116, 1999.

DJIAN-CAPORALINO, C.; FAZARI, A.; ARGUEL, M.J.; VERNIE, T.; VANDECASTEELE, C.; FAURE, I.; BRUNOUD, G.; PIJAROWSKI, L.; PALLOIX, A.; LEFEBVRE, V.; ABAD, P. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) *Me* resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.114, p. 473-486, 2007.

DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; FAZARI, A.; SAMSON, M.; GAVEAU, L.; O'BYRNE, C.; LEFEBVRE, V.; CARANTA, C.; PALLOIX, A.; ABAD, P. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me3* and *Me4* conferring heat-stable resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne* spp). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.103, p. 592-600, 2001.

DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; JANUEL, A.; LEFEBVRE, V.; DAUBEZE, A.; PALLOIX, A.; DALMASSO, A.; ABAD, P. Spectrum of resistance to root-knot nematodes and inheritance of heatstable resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, p. 496-502, 1999.

DUSI, A.N. Manejo integrado de viroses. In: **Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças**. Ed. SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. Lavras-UFLA, p.364, 2001.

ECHER, M. M.; COSTA, C. P. Reaction of sweet pepper to the *potato virus Y* (PVY^M). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.2, p.309-314, 2002.

ECHER, M.M. **Reação de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a *Phytophthora capsici* e Potato virus Y (PVY^m)**. 2001. 62 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA EM AGROPECUÁRIA. **Sistemas de produção**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/doencas_virus.htm>. Acesso em: 25 jun. de 2010a.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA EM AGROPECUÁRIA. **Pimentas e pimentões do Brasil**. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/capsicum/especies.htm>>. Acesso em: 20 set. 2010b.

FERY, R.L.; DUKES, P.D.; THIES, J.A. Carolina Wonder and Charleston Belle: southern root-knot nematode resistant bell peppers. **HortScience**, Alexandria, v.33, n.5, p. 900-902, 1998.

GOMIDE, M.L.; MALUF, W.R.; GOMES, L.A.A. Heterose e capacidade combinatória de linhagens de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras v.27, n.5, p.1007-1015, 2003.

GRUBE, R.C.; RADWANSKI, E.R.; JAHN, M. Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae. **Genetics**, New York, v. 155, p. 873-887, 2000a.

GRUBE, R.C.; BLAUTH, J. R.; ARNEDO-ANDRÉS, M. S.; CARANTA, C.; JAHN, M. Identification and Comparative mapping of dominant potyvirus resistance gene cluster in *capsicum*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.101, p. 852-859, 2000b.

HARE, W.W. Inheritance of resistance to root-knot nematodes in pepper. **Phytopathology**, Orlando, v.47, p.455-459, 1957.

HAUSBECK, M. K.; LAMOUR, K. H. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. **Plant Disease**, St. Paul, V.88, p.1292-1303, 2004.

HOLLAND, J.B. Epistasis and plant breeding. In: JAHICK J. (Ed.). **Plant breeding reviews**. New York: John Wiley & Sons, v.21, p.27-92, 2001.

IKUTA, H.; VENCOVSKY, R. Ensaio de híbridos F₁ de variedades de pimentão resistentes a virose. In: **Relatório Científico. Departamento de Genética**, Piracicaba, 2.ed., p.62-65, 1970.

INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O; BOITEUX, L.S.; MONTE, D.C.; DUSI, A.N.; ÁVILA, A.C.; VAN DER VLUGT, R.A.A. Pepper yellow mosaic virus (PVY^m), a new species of *potyvirus* in sweet-pepper. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, p.218, 2001.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Área e produção dos principais produtos da agropecuária do Estado de São Paulo**. São Paulo, 2010.

Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/banco/conceitos.php>>. Acesso em: 30 set. 2010.

KIMBLE, K.A.; GROGAN, R.G. Resistance to *Phytophthora* root rot in pepper. **Plant Disease Reporter**, Washington DC, v.44, p.872-873, 1960.

KOBORI, R. F.; DELLA-VECHIA, P. T.; KUROZAWA, C.; SOLER, J. M. P. Avaliação da resistência de linhagens de *Capsicum annuum* quando inoculadas com três concentrações de inóculo de *Phytophthora capsici*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 77-81, 2000.

KUROZAWA, C., PAVAN, M.A. Doenças das solanáceas (beringela, jiló, pimentão e pimenta). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. (Ed) **Manual de fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p 665-675.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do pimentão: diagnose e controle**. Embrapa Hortaliças, Brasília, 2003, 96p.

LORENTZ, L.H.; LÚCIO, A.D.; BOLIGON, A.A.; LOPES, S.J.; STORCK, L. Variabilidade de produção de frutos de pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, Santa Maria RS, v.5, n.2, p.316-326,2005.

LUZ, E. D. M. N.; CERQUEIRA, A. O.; FALEIRO, F. G.; DANTAS NETO, A.; MATUSUOKA, K.; MARQUES, J. R. B. Diversidade genética de isolados de *Phytophthora capsici* de diferentes hospedeiros com base em marcadores RAPD, patogenicidade e morfologia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 559-564, 2003

MACIEL-ZAMBOLIM, E.; COSTA, H.; CAPUCHO, A. S.; ÁVILA, A. C. de; INOUE-NAGATA, A. K.; KITAGIMA, E.W. Surto epidemiológico do vírus do mosaico amarelo do pimentão em tomateiro na região serrana do Espírito Santo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 325-327, 2004.

MALUF, W.R. Heterose e emprego de híbridos F1 em hortaliças. In: **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Ed. NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS. Rondonópolis, Fundação MT, P.327-355, 2001.

MATSUOKA, K. Melhoramento do pimentão e pimenta visando a resistência a doenças fúngicas. **Informe Agropecuário (EPAMIG)**, Belo Horizonte, v. 10, n. 113, p. 49-52, 1984.

MIRANDA, J.E.C. **Análise genética de um cruzamento dialélico em pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 1987. 159p. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

MONROY-BARBOSA, A.; BOSLAND, P.W. Genetic Analysis of Phytophthora Root Rot Race-specific Resistance in Chile Pepper. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Stanford , v.133, n.6, p.825–829. 2008.

MORAIS, F.H.R. **Caracterização de isolados do vírus Y (“*Potato Virus Y*” – PVY) provenientes de batata no Brasil**. 2003. 124p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

MOREIRA, G.R.M. et al. Espécies e variedades de pimenta. **Informe Agropecuário (EPAMIG)**, Belo Horizonte, v.27, p.16-29, 2006.

MURPHY, J.F. The relationship between Pepper mottle virus source leaf and spread of infection through the stem of *Capsicum* sp. **Archives of Virology**, Austria, v.147, p.1789-1797, 2002.

NAGAI, H. Melhoramento de pimentão (*Capsicum annuum* L.) visando resistência ao vírus Y. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.1, p.3-9, 1983.
NAGAI, H. **Pimentão, pimenta-doce e pimentas**. In: FURLANI, A.M.C.; VIÉGAS, G.P. (Ed.) O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo. IAC, Campinas, v.1, p.276-294, 1993.

NASCIMENTO, I.R. **Avaliação da capacidade combinatória de linhagens e potencial agrônomo de híbridos de pimentão**. 2002. 82p. Tese (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

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

OLIVEIRA, C. D. **Enxertia de plantas de pimentão em *capsicum* spp. no manejo de nematoides de galha**. 2007. 134p. Tese (Doutorado Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Estadual de São Paulo UNESP, Jaboticabal, 2007.

ORTEGA, R. G.; PALAZON-ESPANOL, C.; CUARTERO-ZUECO, J. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line ‘SCM-334’. **Plant Breeding**, Berlin, v.107, p.50-55, 1991.

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. **Phytopathology**, Orlando, v. 95, p.158-165, 2005.

PARRELA, G.; RUFFEL, S.; MORETTI, A.; MOREL, C.; PALLOIX, A.; CARANTA, C. Recessive resistance genes against potyviruses are localized in collinear genomic regions of the tomato (*Lycopersicon* spp.) and pepper (*Capsicum* spp.) genomes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, p. 855-861, 2002.

RUFINO, J.L. dos S.R.; PENTEADO, D.C.S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades de mercado para a pimenta. **Informe agropecuário** (EPAMIG), Belo Horizonte, v.27, p.7- 15, 2006.

SILVA, L. L. **Heterose e capacidade de combinação em cruzamentos dialélicos parciais em pimentão**. 2002. 82p. Dissertação (Mestrado em Genética e

Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo.

SOUZA-SOBRINHO, F.; MALUF, W.R.; GOMES, L.A.A.; CAMPOS, V.C. Inheritance of resistance to *Meloidogyne incognita* race 2 in the hot pepper cultivar Carolina Cayenne (*Capsicum annuum* L.). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto SP, v. 1, P. 271-279, 2002.

SY, O.; STEINER, R.; BOSLAND, P.W. Inheritance of Phytophthora stem blight resistance as compared to Phytophthora root rot and Phytophthora foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Stanford, v.130, P.75–78, 2005.

THABUIS, A.; PALLOIX, A.; PFLIEGER, S.; DAUBÈZE, A. M.; CARANTA, C.; LEFEBVRE, V. Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserve resistance loci across Solanaceae and for a large genetic diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, p.1473-1485, 2003.

THIES, J. A.; ARISS, J.J. Comparison between the *N* and *Me3* genes conferring resistance to the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in genetically different pepper lines (*Capsicum annuum*). **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 125, p. 545–550, 2009.

THIES, J. A.; FERY, R. L. Characterization of resistance conferred by the *N* gene to *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2, *M. hapla*, and *M. javanica* in two sets of isogenic lines of *Capsicum annuum* L. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Stanford, v. 125, p.71–75, 2000.

VALLE, L. A. C. **Análise genética e identificação de regiões genômicas que conferem resistência a *Phytophthora capsici* em Criollo de Morellos 334 (*Capsicum annuum*)**. 2001. 85p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

WANG, D.; BOSLAND, P.W. The genes of Capsicum. **HortScience**, Alexandria, v. 41(5), p. 1169-1187, 2006.

WOO, J.; YU, J.; KIL, K.; RO, P.; TAE, K. Changes in pathogenesis-related proteins in pepper plants with regard to biological control of phytophthora blight with *Paenibacillus illinoisensis*. **BioControl**, Montreal, v.50, p. 165-178, 2005.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADOR MOLECULAR PARA
RESISTÊNCIA A POTYVIRUS EM PIMENTÃO**

**Artigos redigidos conforme norma da revista Pesquisa Agropecuária
Brasileira – PAB**

Seleção assistida por marcador molecular para resistência a potyvirus em pimentão

Douglas Willian Nogueira⁽¹⁾, Wilson Roberto Maluf⁽²⁾, Danilo Gustavo Nogueira⁽¹⁾, Gabriel Mascarenhas Maciel⁽²⁾ e Antônia dos Reis Figueira⁽³⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Caixa Postal 3.037, CEP 37.200-000. Lavras, MG. E-mail: douglagen@yahoo.com.br, asp@yahoo.com.br ⁽²⁾UFLA, Departamento de Agricultura. E-mail: wrmaluf@dag.ufla.br, gabrielmascarenhasmaciel@yahoo.com.br ⁽³⁾(UFLA), Departamento de Fitopatologia. E-mail: antonia@ufla.br

Resumo - O presente trabalho teve por objetivo avaliar genótipos de pimentão resistentes a potyvirus, comumente encontrados no mercado brasileiro, utilizando um marcador molecular codominante, tipo CAPS, ligado ao alelo *Pvr4*, que confere resistência ao potyvirus PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*). A resistência ao PepYMV nos genótipos CM-334-INRA, Myr-29 e em materiais derivados do híbrido comercial Mônica-R foi detectada como associada à banda de 444pb, ligada ao alelo de resistência *Pvr4*. Nestes casos, os materiais resistentes homozigotos (*Pvr4/Pvr4*) mostraram uma banda de 444 pb; os suscetíveis (*Pvr4⁺/Pvr4⁺*), uma banda de 458 pb e os resistentes heterozigotos (*Pvr4⁺/Pvr4*) mostraram as 2 bandas. Contudo, na linhagem resistente CM-334-UFV, nos híbridos Magali-R, Martha-R e em populações derivadas dessa linhagem e desses híbridos, a resistência ao PepYMV não esteve associada ao marcador CAPS, indicando que nestes materiais o alelo *Pvr4* ou não está ligado em associação à banda de 444 pb, ou que sua resistência ao PepYMV é controlada por um outro gene; mas não o *Pvr4*. O acesso CM-334-UFV (Criollo de Morelos-334, obtido da UFV/Viçosa-MG) mostra-se distinto do CM-334-INRA (Criollo de Morelos-334, proveniente do INRA/França), pois embora ambos tivessem sido resistentes ao PepYMV, apenas no segundo há a associação da resistência com a banda de 444pb.

Termos para indexação: PepYMV, híbridos, *Pvr4*.

Marker-assisted selection for potyvirus resistance in sweet peppers

Abstract - The objective of this work was to assess potyvirus-resistant sweet pepper genotypes commonly available in the Brazilian market for the presence of a codominant molecular marker (CAPS) associated with the *Pvr4* allele that controls resistance to the PepYMV (*Pepper Yellow Mosaic Virus*) potyvirus. PepYMV resistance in genotypes CM-334-INRA, Myr-29, and in genotypes derived from the hybrid Monica-R, was found to be associated with the 444bp band linked to the resistance allele *Pvr4*. Homozygous resistant plants (*Pvr4/Pvr4*) showed a single band of 444bp, whereas susceptible plants (*Pvr4⁺/Pvr4⁺*) showed a band of 458bp and heterozygous resistant plants (*Pvr4⁺/Pvr4*) showed both bands. In contrast, in the resistant line CM-334-UFV, in hybrids Magali-R and Martha-R, and in populations derived from them, resistance to PepYMV was not associated to the CAPS marker, indicating that in those cases either the *Pvr-4* allele is not linked to the 444bp band, or PepYMV resistance is under control of a different gene locus. The access CM-334-UFV (Criollo de Morelos-334, obtained from the UFV/Viçosa-MG) proved to be distinct from CM-334-INRA (Criollo de Morelos-334, obtained from INRA/France): although both lines were resistant to PepYMV, only in the latter case was there an association of resistance with the 444 bp band.

Index terms: PepYMV, hybrids, *Pvr4*

Introdução

Apesar dos avanços na melhoria dos sistemas produtivos da cultura do pimentão, as doenças têm sido os principais entraves a um aumento mais expressivo da produção. Entre as principais doenças da cultura, estão as causadas por vírus dos gêneros *Potyvirus*, particularmente pela espécie *PepYMV* (*Pepper yellow mosaic virus*), que tem sido prioridade nos programas de melhoramento de pimentão no Brasil (Echer & Costa, 2002; Maciel-Zambolim et al., 2004). Atualmente, a espécie *PepYMV* é de ocorrência natural nas principais regiões produtoras, provocando a doença conhecida vulgarmente como mosaico amarelo do pimentão. No Espírito Santo, essa espécie foi relatada também em plantios comerciais de tomateiro (Maciel-Zambolim et al., 2004). A existência de variabilidade genética no gênero *Capsicum* tem permitido controlar com eficiência, via resistência genética, as doenças viróticas causadas pelo complexo potyvirus. Fontes de resistência têm se mostrado eficientes e duradouras em condições de inoculação artificial e em nível de campo (Caranta et al., 1999; Echer & Costa, 2002).

A resistência a potyvirus no pimentão pode ser controlada por um de pelo menos sete locos gênicos da série *pvr*, os quais os autores denominaram: *pvr1*; *pvr2*; *pvr3*; *Pvr4*; *pvr5*; *pvr6* e *Pvr7* (Caranta et al., 1999; Grube et al., 2000a; Parrela et al., 2002). Em sua maioria, esses alelos são resistentes a duas ou mais espécies de potyvirus. Os alelos dominantes *Pvr4* e *Pvr7* conferem resistência a todos os patótipos das espécies conhecidas e testadas (Caranta et al., 1999; Arnedo-Andrés et al., 2002). Os locos dos alelos *Pvr4* e *Pvr7* foram ambos mapeados no cromossomo 10 do pimentão. Entretanto, *Pvr4* é originado de *C. annuum*, acesso CM-334 (Criollo de Morelos-334) e *Pvr7* de *C. chinense*, acesso 'PI 159236' (Grube et al., 2000b).

No Brasil, as fontes de resistência de amplo espectro à estirpe comum de PVY e a de PepYMV tem sido encontradas no acesso CM-334, em algumas linhagens, em híbridos comerciais e nas cultivares de polinização aberta Myr-29 e Myr-10. Entretanto, não se sabe ao certo a natureza da resistência encontrada nesses materiais, ou seja, se é conferida por um único loco ou por mais de um loco da série *pvr* (Caranta et al., 1999; Valle, 2001; Echer & Costa, 2002).

Com exceção do alelo *pvr3*, todos os demais alelos da série *pvr* estão associados a um ou mais marcadores moleculares, seja do tipo RFLP, ou obtidos a partir de cDNA. O alelo *Pvr4* — para o qual inicialmente se usavam marcadores do tipo AFLP (Caranta et al., 1999; Arnedo-Andrés et al., 2002) — teve tal marcador convertido em marcador PCR – primer específico (Parrela et al., 2002). Desenvolvido por Caranta et al. (1999), o marcador PCR – *primer* específico é um marcador do tipo CAPS codominante, obtido a partir do cruzamento entre as cultivares Yolo Wonder (Suscetível) e CM-334 (Resistente), usando análise de bulk segregante associada a primers de AFLP. Este marcador está a $2,1 \pm 0,8$ cM do alelo *Pvr4* e gera bandas de 458 pb nos genótipos suscetíveis e 444 pb para os resistentes, constituindo assim uma importante ferramenta para identificação e seleção em diferentes genótipos. Presumivelmente, genótipos portadores de *Pvr4* deverão apresentar a banda correspondente a este alelo de resistência descrito por Caranta et al. (1999), a menos que a ligação entre o gene *Pvr4* tenha sido quebrada via recombinação na fonte original de resistência a potyvirus utilizada, ou em gerações posteriores. Por outro lado, Grube et al. (2000b) descreveram em *C. chinense* um outro gene de resistência a potyvirus — o *Pvr7*, mapeado a cerca de 2 cM de *Pvr4*, mas que, ao contrário deste último, não está aparentemente associado ao marcador CAPS em questão.

Até o momento, não se sabe ao certo se as atuais cultivares híbridas disponíveis e comercializadas pelas principais empresas no Brasil, bem como

linhagens elites e progênies do Programa de Melhoramento Genético de Hortaliças da UFLA/HortiAgro Sementes Ltda __ todas resistentes a estirpes comuns de PVY e PepYMV __ são portadoras ou não do alelo *Pvr4* e de seu marcador CAPS, descrito por Caranta et al. (1999), visto que existem outros alelos, com modo de ação distinto, que podem também ser responsáveis pela expressão da resistência a isolados de potyvirus do país.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar genótipos de pimentão comumente encontrados no Brasil, utilizando um marcador molecular tipo CAPS (Caranta et al., 1999), ligado ao alelo *Pvr4*, que confere resistência ao PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*) e determinar a utilidade deste marcador para a seleção assistida de plantas resistentes ao vírus.

Material e métodos

As avaliações da resistência dos genótipos ao potyvirus (PepYMV) foram realizadas em casa de vegetação na área experimental da empresa HortiAgro Sementes Ltda, situada no município de Ijaci – MG. Os trabalhos com o marcador foram realizados no Laboratório de Virologia Molecular (LVM) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

As inoculações com isolado do vírus e as avaliações de sintomas foram feitas em plantas contidas em bandejas de isopor de 128 células (16 x 8), com substrato comercial Plantimax®. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições e as parcelas foram constituídas de 8 plantas.

Para a avaliação com marcador tipo CAPS, foram utilizadas plantas individuais dos seguintes genótipos de pimentão.

Genótipos comerciais resistentes a PepYMV.

- Magali-R (Cultivar híbrida, Sakata Sudamerica); (procedência da resistência ao PepYMV não revelada).

- Konan-R (Cultivar híbrida, HortiAgro/ Agristar do Brasil); (híbrido entre Myr-29 e uma linhagem suscetível a PepYMV).
- Myr-29 (Cultivar de polinização aberta); procedência da resistência não conhecida.

Genótipo comercial suscetível a PepYMV (Cultivar de polinização aberta).

- Ikeda

Linhagem resistente a PepYMV (resistência obtida a partir do híbrido Magali-R).

- PIM-025

Acessos resistentes a PepYMV.

- Criollo de Morellos CM-334-UFV (proveniente da Universidade Federal de Viçosa, cedido pela empresa Sakata Sudamerica).
- Criollo de Morellos CM-334-INRA (proveniente do Institut National de La Recherche Agronomique, cedido por Carole Caranta).

Linhagem suscetível a PepYMV.

- PIM-004

Populações (F_1RC_1) experimentais resistentes a PepYMV.

- PIX-051 $\{=[(PIM-025 \times PIM-013) \times PIM-025]\}$ = população F_1RC_1 , onde o genitor recorrente é PIM-025 (linhagem resistente a PepYMV, obtida a partir do híbrido Magali-R) e o genitor não recorrente é PIM-013 (linhagem suscetível a PepYMV).
- PIX-052 $\{=[(PIM-023 \times PIM-013) \times PIM-023]\}$ = população F_1RC_1 , onde o genitor recorrente é PIM-023 (linhagem resistente a PepYMV obtida a partir do híbrido Magali-R) e o genitor não recorrente é PIM-013 (linhagem suscetível a PepYMV).
- PIX-053 $\{=[(Myr-29 \times PIM-013) \times Myr-29]\}$ = população F_1RC_1 , onde o genitor recorrente é a cv. Myr-29 (resistente a PepYMV) e o genitor não recorrente é PIM-013 (linhagem suscetível a PepYMV).

Populações (F₂) experimentais segregantes para resistência a PepYMV.

- PIX-044 (= população F₂ obtida a partir da autofecundação do híbrido Mônica-R); (resistência proveniente de fonte não revelada).
- PIX-045 (= população F₂ obtida a partir da autofecundação do híbrido Martha-R); (resistência proveniente de fonte não revelada).

Famílias derivadas da autofecundação de plantas resistentes ao PepYMV e portadoras do marcador CAPS, associado a esta resistência, foram testadas posteriormente tanto para resistência, quanto para a presença do marcador.

Para as populações PIX-051, PIX-052 e PIX-053, esperam-se 100% de plantas resistentes ao PepYMV (das quais 50% homozigotas e 50% heterozigotas para o alelo de resistência). Para PIX-044 e PIX-045, espera-se 75% de plantas resistentes ao PepYMV (das quais 1/3 homozigotas e 2/3 heterozigotas para o alelo de resistência). Se o alelo de resistência presente for o *Pvr4*, descrito por Caranta et al.(1999) como proveniente de Criollo de Morellos CM-334-INRA, estas proporções esperadas também se aplicam ao marcador CAPS, ligado ao alelo, como descrito pelos mesmos autores.

Os genótipos foram avaliados quanto à reação a PepYMV. Para isso, foi utilizado um isolado de PepYMV, cedido pela empresa Sakata Sudamerica, da região de Lins – SP, oriundo de plantas de pimentão com sintoma sistêmico e naturalmente infectadas, caracterizado sorologicamente como PepYMV. Para a manutenção do isolado, plantas de fumo Turkish “TNN” e de pimentão da cultivar Ikeda, previamente infectadas com PepYMV foram armazenadas em dessecadores com sílica-gel e também em nitrogênio líquido, em ultra-freezer, a -80°C. Para a produção de inóculo, a multiplicação foi feita em plantas de fumo cv. TNN, mantidas em estufas teladas e substituídas em intervalos não superiores a dois meses.

Os genótipos de pimentão foram semeados em bandejas de isopor de 128 células. Foram semeadas em cada célula duas sementes e, após a

germinação e emergência, procedeu-se ao desbaste, deixando apenas uma plântula por célula.

Para inoculação, folhas de fumo infectadas com PepYMV foram maceradas em tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0. Em seguida, as plantas de pimentão a serem testadas foram aspergidas com carborundum (400 mesh) e, posteriormente, a solução de extrato vegetal foi aplicada por fricção do polegar sobre as folhas. Após a inoculação, as plantas foram irrigadas e mantidas em estufas com cobertura plástica e laterais teladas. Foram realizadas duas inoculações e, para evitar possíveis escapes: a primeira, quando as plantas atingiram o estágio de primeira folha definitiva plenamente expandida e a segunda sete dias após a primeira. As avaliações foram feitas semanalmente, do 15º ao 40º dia após a primeira inoculação, totalizando cinco avaliações, sendo tomadas como avaliações definitivas aquelas realizadas no 40º dia. Para cada planta, foram atribuídas notas, variando de 1 a 5, sendo: 1- Sem sintomas; 2- Clareamento internerval; 3- Mosaico leve; 4- Mosaico bem desenvolvido, sem deformação foliar; 5- Mosaico amarelo, bolhoso, com deformação foliar. Foram consideradas resistentes as plantas que na avaliação do 40º dia tiveram nota igual a 1,0.

Com base nos resultados da avaliação fenotípica, procedeu-se à extração de DNA. Para as populações (F₂) (PIX-044 e PIX-045), a extração foi realizada somente nas plantas que foram resistentes com base na avaliação fenotípica.

Foram extraídos DNAs de uma amostra de cada população e, de posse dos resultados, procedeu-se à extração de um número maior de plantas nas populações portadoras do alelo *Pvr4*, objetivando a identificação de genótipos homocigotos resistentes (*Pvr4/Pvr4*).

Para as extrações de DNA, foram coletados folíolos, que foram colocados em envelopes plásticos devidamente identificados e acondicionados em caixa de isopor, contendo gelo (procedimento utilizado para minimizar a

ocorrência de oxidação). A extração de DNA foi feita em microtubos de 1,5 ml, a partir de 120 miligramas de tecido foliar, conforme sugerido por Ferreira & Grattapaglia, (1998).

O marcador utilizado é um marcador do tipo CAPS (codominante), desenvolvido por Caranta et al.(1999). As sequências dos primers foram CSO-F (5'-CGAAGAGAGAAGGTC-3') e CSO-R (5'-TCAGGGTAGGTTATT-3'). A reação de PCR, a clivagem dos fragmentos amplificados e a eletroforese foram realizadas conforme sugerido por Caranta et al., (1999).

Nos casos em que há ligação entre o marcador e o alelo *Pvr4*, plantas contendo o padrão de banda única de 458 pb correspondem aos genótipos presumivelmente suscetíveis homocigóticos ($Pvr4^+/Pvr4^+$); plantas contendo o padrão de banda única de 444 pb correspondem aos genótipos presumivelmente homocigotos resistentes ($Pvr4/Pvr4$), enquanto plantas contendo ambas as bandas correspondem aos genótipos presumivelmente resistentes heterocigotos ($Pvr4^+/Pvr4$) a PepYMV.

Resultados e discussão

No experimento para avaliação da reação a PepYMV, os sintomas iniciais nas plantas suscetíveis consistiram de clareamentos internervais a mosaico leve. No final do experimento (aos 40 dias após a primeira inoculação), 100% das plantas da cultivar Ikeda e da linhagem PIM-004 (ambas suscetíveis) apresentaram sintomas típicos da doença (mosaico amarelo, seguido ou não por deformação foliar, com notas médias superiores a 4,0), confirmando a eficácia do inóculo. Comportamento variável foi observado entre plantas dentro das populações PIX-044 e PIX-045, o que se espera de populações segregantes para a resistência a PepYMV. Por outro lado, em todos os genótipos comerciais tidos como resistentes ao PepYMV (Magali-R, Konan-R e Myr-29), assim como na

linhagem PIM-025, nos acessos (CM-334-UFV e CM-334-INRA) e nas populações F₁RC₁(PIX-051, PIX-052 e PIX-053) não foi observada nenhuma planta com sintomas. Em trabalho semelhante de avaliação de genótipos resistentes a PepYMV, Nascimento et al. (2007) obtiveram resultados similares para os genótipos avaliados neste ensaio, que também la foram testados.

O marcador molecular do tipo CAPS mostrou-se altamente eficiente para distinguir, em populações derivadas da cultivar resistente Myr-29, plantas resistentes homozigotas *Pvr4/Pvr4* de plantas heterozigotas *Pvr4⁺/Pvr4*, ou suscetíveis *Pvr4⁺/Pvr4⁺*. Em Myr-29, plantas resistentes mostraram uma banda de 444 pb, que caracteriza os genótipos homozigotos resistentes (*Pvr4/Pvr4*); plantas suscetíveis (Ikeda) mostraram uma banda de 458 pb, característica dos genótipos homozigotos suscetíveis (*Pvr4⁺/Pvr4⁺*); o híbrido resistente Konan-R, sabidamente heterozigoto, mostrou as duas bandas que caracterizam os genótipos resistentes heterozigotos (*Pvr4⁺/Pvr4*) a PepYMV (Caranta et al., 1999) (Figura 1).

A distância entre o marcador CAPS e o gene com o alelo *Pvr4* é de apenas $2,1 \pm 0,8$ cM, o que permite selecionar com boa margem de segurança plantas resistentes a PepYMV, com base na seleção assistida (Caranta et al, 1999) e em populações cuja fonte de resistência ao PepYMV seja proveniente do acesso Myr-29. De cinco plantas previamente selecionadas como resistentes e analisadas com o marcador na população F₁RC₁ PIX-053, três apresentaram bandas correspondentes ao genótipo heterozigoto e duas apresentaram a banda correspondente ao genótipo homozigoto resistente para o alelo *Pvr4* (Figura 2). Esses resultados confirmam a eficiência do marcador em selecionar genótipos portadores do alelo *Pvr4*, pois essa população F₁RC₁ teve como pai recorrente a cultivar Myr-29 e, portanto, as plantas desse retrocruzamento serão portadoras do alelo *Pvr4* e seu marcador, seja em homozigose (banda de 444 pb) ou

heterozigose (bandas de 444 pb e de 458 pb), fato este observado no presente ensaio.

Famílias foram obtidas a partir da autofecundação de plantas testadas como resistentes ao PepYMV na população PIX-053 e identificadas como portadoras do alelo *Pvr4* e da marca de 444 pb, seja em homozigose (*Pvr4/Pvr4*) ou heterozigose (*Pvr4⁺/Pvr4*). A família PIX-053A-01 ___ derivada de planta resistente, previamente identificada como portadora das bandas de 444 e 458 pb ___ foi testada, bem como as famílias PIX-053A-03 e PIX-053A-04, derivadas de plantas previamente identificadas portadoras apenas da banda de 444 pb.

Após inoculação e extração de DNA (amostras), observou-se a ausência de plantas com sintomas típicos da doença nas famílias PIX-053A-03 e PIX-053A-04 e a análise feita com o marcador revelou apenas a presença da banda de 444pb, correspondente ao genótipo homozigoto *Pvr4/Pvr4* (Figura 3), o que era esperado, pois as plantas que originaram tais famílias eram presumivelmente homozigotas resistentes (*Pvr4/Pvr4*). Plantas dentro das famílias PIX-053A-01 apresentaram segregação, tanto na avaliação fenotípica (inoculação), quanto na genotípica (marcador) (Figura 3), pois tal família foi originada a partir da planta heterozigota (*Pvr4⁺/Pvr4*).

Na população PIM-004, todas as plantas que foram avaliadas apresentaram banda correspondente ao genótipo homozigoto suscetível no loco do alelo *Pvr4* (Figura 2), confirmando a avaliação fenotípica da reação a PepYMV.

Quando testadas com o marcador CAPS, as plantas testadas (e confirmadas como resistentes ao PepYMV) do híbrido Magali-R, do acesso CM-334-UFV, da linhagem PIM-025 e das populações PIX-051 e PIX-052 apresentaram o padrão correspondente à banda de 458 pb. Nestes casos, o alelo de resistência ao PepYMV não está associado à banda de 444 pb e, com o marcador CAPS, todas as plantas analisadas mostraram um padrão de

suscetibilidade ao vírus, que não corresponde ao fenótipo (resistente) observado (Figuras 2, 4 e 5). O fato de as plantas do acesso de Criollo de Morellos CM-334-UFV mostrarem um padrão de suscetibilidade com o marcador CAPS revela que a origem desse acesso não parece corresponder à mesma do CM-334, descrita por Caranta et al. (1999) que é citado como resistente a potyvirus e portadora da banda de 444 pb, associado a esta resistência. Os resultados do presente ensaio confirmam a não-identidade entre os dois acessos, pois plantas do acesso CM-334-INRA (cedido por Caranta/INRA), quando testadas com o marcador CAPS, apresentaram a banda de 444 pb correspondente ao genótipos homozigoto *Pvr4/Pvr4* (Figura 5). É possível que no acesso CM-334-UFV o alelo *Pvr4* não esteja associado à banda de 444 pb, ou mesmo que sua resistência ao PepYMV seja controlada por um outro gene que não o *Pvr4*. Por outro lado, embora a origem da resistência do pimentão Magali-R não tenha sido revelada, por ser informação confidencial da empresa proprietária, é possível que esta resistência seja originária do acesso CM-334-UFV (e não do CM-334 de Caranta et al., 1999). Embora resistentes ao PepYMV, isso explicaria o fato de CM-334-UFV, Magali-R, a linha e as populações destes derivadas (linhagem PIM-025 e populações PIX-051 e PIX-052) não apresentarem a banda de 444 pb associada ao alelo *Pvr4* (Figuras 2 e 4). Se *Pvr7* ou outro gene, não associado à banda de 444 pb do marcador CAPS (Grube et al., 2000b), é responsável pela resistência a potyvirus do CM-334-UFV e/ou de Magali-R e seus derivados, é uma hipótese que ainda precisa ser dirimida.

Em plantas resistentes a potyvirus da população segregante PIX-044 (F₂ do híbrido Mônica-R), observou-se um padrão de banda que corresponde ao genótipo homozigoto (*Pvr4/Pvr4*) e um padrão que corresponde ao genótipo heterozigoto (*Pvr4⁺/Pvr4*) (Figura 4). Isto demonstra que a seleção fenotípica foi eficiente e também que a resistência a PepYMV, encontrada no híbrido Mônica-R se deve ao alelo *Pvr4*, neste caso associado à banda de 444 pb do marcador

CAPS. A exemplo do relatado anteriormente para a população PIX-053, plantas testadas como resistentes ao PepYMV na população PIX-044 e identificadas como portadoras do alelo *Pvr4* e das marcas de 444pb e 458pb foram autofecundadas para obtenção de famílias. A família PIX-044A-05 apresentou segregação tanto na avaliação fenotípica (inoculação), quanto na genotípica (marcador) (Figura 3), pois foi derivada de planta resistente previamente identificada como heterozigota ($Pvr4^+/Pvr4$).

Nas plantas resistentes ao PepYMV, da população segregante PIX-045 (F_2 do híbrido Martha-R), observou-se um padrão de banda correspondente a um padrão de suscetibilidade ao vírus, mas que não corresponde ao fenótipo (resistente) observado, ou seja, a presença da banda de 458 pb somente (Figura 4). A exemplo do que se concluiu para CM-334-UFV, Magali-R e seus derivados, em Martha-R, o alelo *Pvr4* ou não está associado à banda de 444 pb, ou a resistência ao PepYMV é controlada por um outro gene que não o *Pvr4* (Grube et al., 2000b).

Das diversas vantagens da seleção assistida por marcadores moleculares, podem ser citadas a ausência de efeitos ambientais e a independência do estágio de desenvolvimento da planta, ambos considerados por alguns autores como alguns dos principais problemas quando se deseja selecionar plantas resistentes ou imunes a viroses, via seleção fenotípica (Lanza et al., 2000). Muitos marcadores moleculares associados a genes de resistência a viroses têm sido desenvolvidos, porém sua utilização não é frequente, pois, na maioria das vezes, esses não estão ligados muito próximos ao(s) gene(s) de interesse (Silva et al., 2003; Santos, 2004). Este não é o caso do alelo *Pvr4* (Caranta et al., 1999). Além da grande importância na identificação de materiais homozigotos resistentes, esse marcador CAPS associado a *Pvr4* possibilitará a piramidação de genes de resistência ao PepYMV.

A resistência ao PepYMV nos genótipos CM-334-INRA, Myr-29 e em materiais derivados do híbrido comercial Mônica-R foi detectada como associada à banda de 444pb do marcador, descrito por Caranta (1999) como ligado ao alelo de resistência *Pvr4*. Contudo, na linhagem resistente CM-334-UFV, nos híbridos Magali-R, Martha-R e populações destes derivadas, a resistência ao PepYMV não esteve associada à presença do mesmo marcador, indicando que nestes materiais o alelo *Pvr4* ou não está associado à banda de 444 pb, ou que sua resistência ao PepYMV é controlada por um outro gene; mas não o *Pvr4*.

Conclusões

1. O marcador molecular do tipo CAPS mostrou-se altamente eficiente em selecionar plantas resistentes, portadoras do alelo *Pvr4* em populações cuja resistência foi derivada da linhagem Myr-29 ou do híbrido Mônica-R.
2. A cultivar comercial Myr-29, o acesso CM-334-INRA e os híbridos Konan-R e Mônica-R são portadores do alelo de resistência (*Pvr4*) associado a um marcador molecular tipo CAPS (banda de 444 pb).
3. A resistência a potyvirus em CM-334-UFV, Magali-R (e seus derivados) ou Marta-R não esteve associada ao marcador molecular CAPS, que se revelou, portanto, inapropriado para a seleção de plantas resistentes ao PepYMV em populações derivadas destes materiais.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico (CNPq); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); à Universidade Federal de Lavras (UFLA); à FAEPE/UFLA, à FUNDECC/UFLA, à empresa HortiAgro Sementes Ltda, à equipe do laboratório de Virologia Molecular/UFLA, à pesquisadora Carole Caranta/ Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

Referências

- ARNEDO-ANDRÉS, M. S.; GIL-ORTEGA, R.; LUIS-ARTEAGA, M.;HORMAZA, J. J. Development of RAPD and SCAR markers linked to the *pvr4* loco for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, p. 1067-1074, 2002.
- CARANTA, C.; THABUIS, A.; PALLOIX, A. Development of a CAPS marker for the *Pvr4* locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. **Genome**, Ottawa, v.42, p. 1111-1116, 1999.
- ECHER, M. M.; COSTA, C. P. Reaction of sweet pepper to the *potato virus Y*(PVYM). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 309-314, 2002.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENERGEN, 1998. 220p
- GRUBE, R.C.; RADWANSKI, E.R.; JAHN, M. Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae. **Genetics**, [S.l.] v. 155, p. 873-887, 2000a.
- GRUBE, R.C.; BLAUTH, J. R.; ARNEDO-ANDRÉS, M. S.; CARANTA, C.; JAHN, M. Identification and Comparative mapping of dominant potyvirus resistance gene cluster in *capsicum*. **Theor. Appl. Genet**, v.101, p. 852-859, 2000b.
- LANZA, M.A.; GUIMARÃES, T.C.; SHUSTER, I. **Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, MG, v. 21, p. 97-108, 2000.

MACIEL-ZAMBOLIM, E.; COSTA, H.; CAPUCHO, A. S.; ÁVILA, A. C. de; INOUE-NAGATA, A. K.; KITAGIMA, E.W. Surto epidemiológico do vírus do mosaico amarelo do pimentão em tomateiro na região serrana do Espírito Santo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 325-327, 2004.

NASCIMENTO, I.R.; COSTA DO VALE, L.A.; MALUF, W.R.; GONÇALVES, L.D.; GOMES, L.A.A.; MORETO, P.; LOPES, E.A.G.L. Reação de Híbridos, Linhagens e Progênies de pimentão a requeima causada por *Phytophthora capsici* e ao mosaico amarelo causado por *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV). **Ciências e agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 121-128, 2007.

PARRELA, G.; RUFFEL, S.; MORETTI, A.; MOREL, C. Recessive resistance genes against potyviruses are localized in collinear genomic regions of the tomato (*Lycopersicon* spp.) and pepper (*Capsicum* spp.) genomes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, p. 855-861, 2002.

SANTOS, R.C. **Reação de cultivares de soja aos vírus do amarelo do broto (Soybean yellow shoot vírus- SYSV) e do mosaico da soja (Soybean mosaic vírus- SMV) e seleção de marcadores SSR para identificação do alelo de resistência ao SYSV**. 2004. 77 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

SILVA, G. F.; SANTOS, J. B.; RAMALHO, M. A. P. Identification of SSR and RAPD markers linked to a resistance allele for angular leaf spot in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) line ESAL 550. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 4, p 459-463. Dec. 2003.

VALLE, L. A. C. **Análise genética e identificação de regiões genômicas que conferem resistência a *Phytophthora capsici* em Criollo de Morellos 334 (*Capsicum annuum*)**. 2001. 85 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

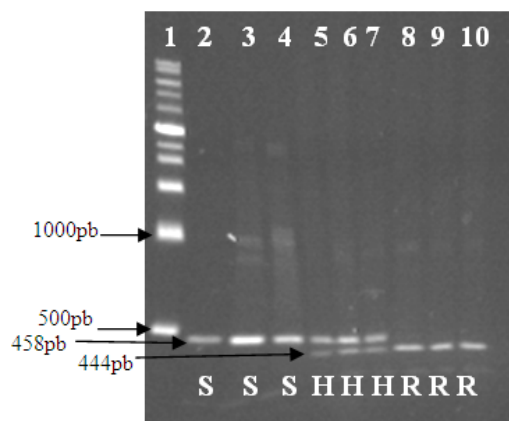


Figura 1 Padrão eletroforético de fragmentos de DNA, amplificados com o marcador CAPS em plantas de pimentão: 1- Ladder (500 pb); 2- Ikeda pl#1; 3- Ikeda pl#2; 4- Ikeda pl#3; 5- Konan-R pl#1; 6- Konan-R pl#2; 7- Konan-R pl#3; 8- Myr-29 pl#1; 9- Myr-29 pl#2; 10-Myr-29 pl#3. S- Suscetível; R- Resistente; H- Heterozigoto (para o loco do alelo *Pvr4*)



Figura 2 Padrão eletroforético de fragmentos de DNA, amplificados com o marcador CAPS em plantas de pimentão: 1- Ikeda pl#1; 2- Myr-29 pl#1; 3- Konan-R pl#1; 4- PIM-004 pl#1; 5- PIM-004 pl#2; 6- PIM-004 pl#3; 7- PIM-004 pl#4; 8- PIM-025 pl#1^(a); 9- PIM-025 pl#2^(a); 10- PIM-025 pl#3^(a); 11- PIM-025 pl#4^(a); 12- Magali-R pl#1^(a); 13- Magali-R pl#2^(a); 14- Magali-R pl#3^(a); 15- PIX-053 pl#1; 16- PIX-053 pl#2; 17- PIX-053 pl#3; 18- PIX-053 pl#4; 19- PIX-053 pl#5; 20- CM-334-UFV pl#1^(a); 21- CM-334-UFV pl#2^(a); 22- CM-334-UFV pl#3^(a); 23- CM-334-UFV pl#4^(a); 24- CM-334-UFV pl#5^(a); 25- CM-334-UFV pl#6^(a); 26- CM-334-UFV pl#7^(a); 27- CM-334-UFV pl#8^(a);

28- CM-334-UFV pl#9^(a); 29- CM-334-UFV pl#10^(a). S- Suscetível;
R- Resistente; H- Heterozigoto (para o loco do alelo *Pvr4*)

Obs: (a) padrão S não correspondente ao fenótipo da planta (resistente a PepYMV)



Figura 3 Padrão eletroforético de fragmentos de DNA, amplificados com o marcador CAPS em plantas de pimentão: 1- Ladder (500 pb); 2- Ikeda pl#3; 3- Konan-R pl#3; 4- Myr-29 pl#3; 5- PIX-044A-05 pl#1; 6- PIX-044A-05 pl#2; 7- PIX-044A-05 pl#3; 8- PIX-044A-05 pl#4; 9- PIX-044A-05 pl#5; 10- PIX-044A-05 pl#6; 11- PIX-044A-05 pl#7; 12- PIX-053A-01 pl#1; 13- PIX-053A-01 pl#2; 14- PIX-053A-01 pl#3; 15- PIX-053A-01 pl#4; 16- PIX-053A-01 pl#5; 17- PIX-053A-01 pl#6; 18- PIX-053A-01 pl#7; 19- PIX-053A-03 pl#1; 20- PIX-053A-03 pl#2; 21- PIX-053A-03 pl#3; 22- PIX-053A-03 pl#4; 23- PIX-053A-03 pl#5; 24- PIX-053A-04 pl#1; 25- PIX-053A-04 pl#2; 26- PIX-053A-04 pl#3; 27- PIX-053A-04 pl#4; 28- PIX-053A-04 pl#5. S- Suscetível; R- Resistente; H- Heterozigoto (para o loco do alelo *Pvr4*)

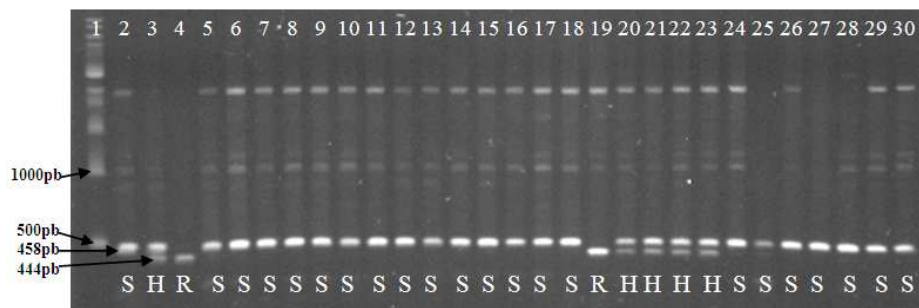


Figura 4 Padrão eletroforético de fragmentos de DNA, amplificados com o marcador CAPS em plantas de pimentão: 1- Ladder (500 pb); 2- Ikeda pl#2; 3- Konan-R pl#2; 4- Myr-29 pl#2 5- PIX-051 pl#1^(a); 6- PIX-051 pl#2^(a); 7- PIX-051 pl#3^(a); 8- PIX-051 pl#4^(a); 9- PIX-051 pl#5^(a); 10- PIX-051 pl#6^(a); 11- PIX-051 pl#7^(a); 12- PIX-052 pl#1^(a); 13- PIX-052 pl#2^(a); 14- PIX-052 pl#3^(a); 15- PIX-052 pl#4^(a); 16- PIX-052 pl#5^(a); 17- PIX-052 pl#6^(a); 18- PIX-052 pl#7^(a); 19- PIX-044 pl#1; 20- PIX-044 pl#2; 21- PIX-044 pl#3; 22- PIX-044 pl#4; 23- PIX-044 pl#5; 24- PIX-045 pl#1^(a); 25- PIX-045 pl#2^(a); 26- PIX-045 pl#3^(a); 27- PIX-045 pl#4^(a); 28- PIX-045 pl#5^(a); 29- Magali-R pl#4^(a); 30- Magali-R pl#5^(a). S- Suscetível; R- Resistente; H- Heterozigoto (para o loco do alelo *Pvr4*)

Obs: (a) padrão S não correspondente ao fenótipo da planta (resistente a PepYMV)

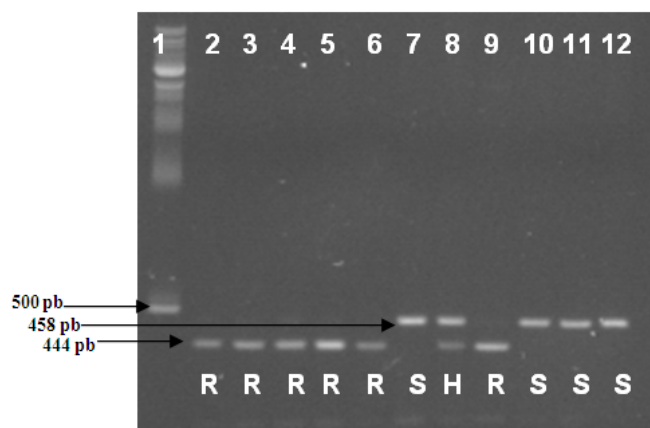


Figura 5 Padrão eletroforético de fragmentos de DNA, amplificados com o marcador CAPS em plantas de pimentão: 1- Ladder (500 pb); 2- CM-334-INRA pl#1; 3- CM-334-INRA pl#2; 4- CM-334-INRA pl#3; 5-

CM-334-INRA pl#4; 6- CM-334-INRA pl#5; 7- Ikeda pl#1; 8- Konan-R pl#1; 9- Myr-29 pl#1; 10- CM-334-UFV pl#11^(a); 11- CM-334-UFV pl#12^(a); 12- CM-334-UFV pl#13^(a). S- Suscetível; R- Resistente; H- Heterozigoto (para o loco do alelo *Pvr4*)

Obs: (a) padrão S não correspondente ao fenótipo da planta (resistente a PepYMV)

**CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE LINHAGENS DE PIMENTÃO
COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA A DOENCAS**

**Artigos redigidos conforme norma da revista Pesquisa Agropecuária
Brasileira – PAB**

Capacidade combinatória de linhagens de pimentão com resistência múltipla a doenças

Douglas Willian Nogueira⁽¹⁾, Wilson Roberto Maluf⁽²⁾, Danilo Gustavo Nogueira⁽¹⁾, Cesar Augusto Ticona Benavente ⁽¹⁾, Ranoel José de Sousa Gonçalves⁽¹⁾ e Luiz Antônio Augusto Gomes⁽²⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Caixa Postal 3.037, CEP 37.200-000. Lavras, MG. E-mail: doulagen@yahoo.com.br, asp.yahoo.com.br, cesar.benavente@gmail.com, ranoelgoncalves@hotmail.com, ⁽²⁾UFLA, Departamento de Agricultura. E-mail: wrmaluf@dag.ufla.br, laagomes@ufla.br

Resumo – Este trabalho teve por objetivos desenvolver híbridos de pimentão com resistência múltipla a doenças e inferir sobre a capacidade combinatória de suas linhagens constituintes. O material genético foi constituído por seis testemunhas e 30 híbridos experimentais, sendo 24 obtidos a partir do cruzamento de dois grupos de genitores (grupo I: 1=Carolina Wonder, 2=Charleston Belle, 3=PIM-013, 4=PIX-044B-01-01, 5=PIX-044B-13-01, 6=PIX-045B-27-02, 7=PIX-045B-32-03 e 8=PIX-052B-06-01; grupo II: 1'=Linha-004, 2'=MYR-29-03-02 e 3'=MYR-29-10-08) e seis obtidos a partir do cruzamento entre algumas linhagens do grupo I. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com três repetições. Avaliaram-se os seguintes caracteres: produção (total e precoce) de frutos, massa média de fruto, espessura do pericarpo, profundidade de inserção do pendúnculo floral e relação comprimento/diâmetro. Destacam-se as linhagens Carolina Wonder, 2 Charleston Belle e PIM-013, no grupo I, e MYR-29-03-02, no grupo II, pelos altos valores da capacidade geral de combinação para os principais caracteres. Os efeitos gênicos aditivos foram importantes para todos os caracteres avaliados, mas os efeitos não-aditivos parecem também ser relevantes para os caracteres relacionados à produção. Foram identificados os híbridos 1x2', 2x2', 4x1 e 4x2, com desempenho médio superior ou equivalente ao das testemunhas e que aliam resistência múltipla a doenças.

Termos para indexação: Nematóide, Potyvirus, *Phytophthora capsici*, Híbridos.

Combining ability of sweet pepper lines with multiple disease resistance

Abstract - The objectives of the present work were to develop sweet pepper hybrids with multiple disease resistances, and to assess the combining ability of their parental lines. Tested genotypes included six commercial hybrids (Magnata Super, Konan R, Mallorca, Martha R, Stephany and Magali R), used as check treatments, and 30 experimental hybrids: 24 hybrids comprising a partial diallel among two groups of parental lines (group I: 1=Carolina Wonder, 2=Charleston Belle, 3=PIM-013, 4=PIX-044B-01-01, 5=PIX-044B-13-01, 6=PIX-045B-27-02, 7=PIX-045B-32-03 and 8=PIX-052B-06-01; group II: 1'=Linha-004, 2'=MYR-29-03-02 and 3'=MYR-29-10-08), and 6 additional hybrids obtained from crosses among lines of group I. The genotypes were tested in a randomized complete block design with two replications, and the following traits were assessed: total fruit yield, mean fruit mass, early yield, pericarp thickness, depth of peduncle insertion, and fruit length/diameter ratio. Lines Carolina Wonder, Charleston Belle and PIM-013, in group I, and MYR-29-03-02, in group II, were found to have good general combining ability for the majority of the traits under study. Additive genetic effects were important for all traits evaluated, but non-additive effects also appeared to be relevant for yield related traits. Hybrids 1x2', 2x2', 4x1 and 4x2 had performances equivalent to or superior to the check treatments, and had multiple disease resistances.

Index terms: nematode, potyvirus, *Phytophthora capsici*, hybrids.

Introdução

Dentre as hortaliças cultivadas no Brasil, o pimentão ocupa um lugar de destaque, sendo a terceira solanácea mais cultivada, superada apenas pelo tomate e pela batata. Seu cultivo é encontrado em praticamente todas as regiões brasileiras, mas os principais estados produtores são São Paulo e Minas Gerais.

Os programas de melhoramento têm buscado obter cultivares híbridas que aliem, além de produtividade, melhor qualidade de fruto e maior resistência as doenças. A utilização de cultivares híbridas de pimentão cresceu enormemente no mercado brasileiro devido à percepção de suas vantagens por parte dos produtores. Entre as vantagens, pode-se citar o aumento da produtividade e da qualidade final do produto em razão da existência de heterose em níveis economicamente viáveis (Pereira et al., 2004; Nascimento et al., 2004) e também a maior resistência às principais doenças limitantes à produção.

Entre os fitopatógenos desta cultura, destacam-se: i) Os potyvirus, especialmente o PepYMV (*Pepper Yellow Mosaic Virus*), causador da doença conhecida como mosaico amarelo do pimentão, atualmente a principal doença virótica da cultura no Brasil (Inoue-Nagata et al., 2001); ii) o fungo *Phytophthora capsici* Leonian, agente causal da doença conhecida como murcha, requeima ou podridão da raiz e uma das doenças fúngicas mais destrutivas desta cultura em todo o mundo (Hausbeck & Lamour, 2004); iii) os nematoides, especialmente os causadores de galhas nas raízes (*Meloidogyne* spp.), os quais podem atacar quase todas as plantas cultivadas em climas tropicais e subtropicais (Djian-Caporalino et al., 1999). Dentre os nematoides, *M. incognita* é a espécie que pode provocar maiores danos em pimentão (Lopes & Ávila, 2003), pois ocorre com maior frequência nos campos de cultivo.

A resistência genética é uma forma eficiente, econômica e de menor impacto ambiental no controle desses fitopatógenos (Bento et al., 2009; Woo

et al., 2005; Djian-Caporalino et al., 1999). A presença de variabilidade genética no gênero *Capsicum* tem permitido encontrar e introduzir resistência a esses patógenos em cultivares e isto tem sido prioridade nos programas de melhoramento de pimentão (Echer & Costa, 2002; Candole & Conner, 2010; Caporalino et al., 1999). A resistência genética a esses fitopatógenos é passível de ser mais facilmente explorada nas combinações híbridas, pois, de forma geral, os estudos mostram a presença de alelos dominantes, com herança do tipo monogênica, no controle destas resistências (Echer & Costa, 2002; Monroy-Barbosa & Bosland, 2008; Thies & Ariss, 2009).

Atualmente, há no mercado um grande número de híbridos, em boa parte importados, que possuem resistência a duas ou mais doenças de importância econômica (entre elas a resistência ao fungo *Phytophthora capsici*, ao PepYMV, ao vírus do mosaico do pepino - CMV e ao vírus do mosaico do tabaco - TMV). Porém, alguns deles ainda apresentam defeitos que impedem seu emprego em maior escala (notadamente, menor tamanho de frutos). Nenhum híbrido comercial atualmente cultivado no país possui resistência ao nematoide *Meloidogyne incognita*.

Aliado às boas características agronômicas, o desenvolvimento de híbridos resistentes a dois ou aos três patógenos considerados representará uma evolução nos cultivos de pimentão, principalmente os resistentes ao nematoide *Meloidogyne incognita*.

Para o desenvolvimento de combinações híbridas, é necessária a identificação de linhagens parentais com boa capacidade combinatória, baseada na obtenção de estimativas da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação.

Os objetivos deste trabalho foram: (a) Inferir sobre a capacidade combinatória de linhagens de pimentão potencialmente úteis na obtenção de híbridos. (b) Desenvolver híbridos de pimentão com resistência múltipla às

doenças e identificar os que venham a ser competitivos com as testemunhas comerciais.

Material e Métodos

O material genético foi constituído de 36 genótipos de pimentão, sendo seis testemunhas comerciais (Magnata Super, Konan R, Mallorca, Martha R, Stephany e Magali R) e 30 híbridos experimentais. Dos híbridos experimentais, 24 foram obtidos num esquema dialélico North Carolina II, a partir do cruzamento de dois grupos de genitores (grupo I - genitores femininos: Carolina Wonder, Charleston Belle, PIM-013, PIX-044B-01-01, PIX-044B-13-01, PIX-045B-27-02, PIX-045B-32-03 e PIX-052B-06-01; grupo II – genitores masculinos: Linha-004, MYR-29-03-02 e MYR-29-10-08) e seis híbridos foram híbridos adicionais obtidos a partir do cruzamento entre algumas linhagens do grupo I: F1(PIX-044B-01-01 x Carolina Wonder), F1(PIX-044B-01-01 x Charleston Belle), F1(PIX-044B-01-01 x PIM-013), F1(PIX-044B-13-01 x PIX-052B-06-01), F1(PIX-045B-27-02 x PIX-052B-06-01) e F1(PIX-045B-32-03 x PIX-052B-06-01).

As linhagens parentais e suas características estão descritas na Tabela 1. Durante o processo de obtenção das linhagens de códigos PIX e MYR, foi utilizada seleção fenotípica, quanto à reação de resistência ao PepYMV e/ou a *P. capsici* (Nascimento et al., 2007). Também se utilizou durante este processo a seleção assistida por marcador molecular para a obtenção dos genótipos resistentes ao PepYMV (Nogueira et al., dados não publicados), usando-se o marcador CAPS, desenvolvido por Caranta et al. (1999), ligado ao alelo *Pvr4*, que confere resistência ao potyvirus. Carolina Wonder e Charleston Belle são linhagens obtidas pelo USDA, homocigotas para o gene *N*, que confere resistência ao nematoide *M. incognita* (Fery et al., 1998). PIM-013 é uma

linhagem elite do programa de melhoramento da HortiAgro Sementes Ltda/UFLA, resistente a *P. capsici*. PIX-044B-01-01 e PIX-044B-13-01 são linhagens endogâmicas, selecionadas a partir de autofecundações sucessivas do híbrido comercial Mônica R, resistentes a PepYMV e a *P. capsici*. PIX-045B-27-02 e PIX-045B-32-03 são linhagens endogâmicas, selecionadas a partir de autofecundações sucessivas do híbrido comercial Martha R, resistentes a PepYMV e a *P. capsici*. PIX-052B-06-01 é uma linhagem endogâmica, selecionada a partir de retrocruzamento e autofecundações sucessivas, onde o genitor recorrente é PIM-023 (linhagem resistente a PepYMV) e o genitor não recorrente é PIM-013 (linhagem resistente a *P. capsici*); é resistente a PepYMV e a *P. capsici*. Linha-004 é uma linhagem elite do programa de melhoramento da HortiAgro Sementes Ltda/UFLA, obtida a partir do híbrido F1 Vidi (Sementes Vilmorin, França). MYR-29-03-02 e MYR-29-10-08 são linhagens endogâmicas resistentes a PepYMV, selecionadas a partir de autofecundações sucessivas dentro da cultivar comercial de polinização aberta MYR-29. As linhagens PIX-044B-01-01, PIX-044B-13-01, MYR-29-03-02 e MYR-29-10-08, resistentes a PepYMV, apresentam a banda de 444 bp associada ao alelo *Pvr-4*, que controla resistência (Caranta et al., 1999), enquanto as linhagens PIX-045B-27-02, PIX-045B-32-03 e PIX-052B-06-01, também resistentes, não apresentam (Figura 1).

Os híbridos experimentais foram obtidos a partir de cruzamentos manuais e controlados. O experimento foi conduzido na estação experimental da HortiAgro Sementes Ltda., situada no município de Ijaci – MG, entre os meses de abril e novembro de 2010 (período do inverno). A altitude da região é de 920 m, situado a 21° 14' 16'' de latitude Sul e a 45° 08' 00'' de longitude. As mudas foram produzidas em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato comercial Plantimax®. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições. Cada bloco correspondia a uma diferente estufa tipo capela,

de dimensões 6 m largura x 32 m de comprimento, com três canteiros de 1,5 m de largura em cada uma. Estas estufas apresentavam um histórico de altas populações de nematoides no solo, incluindo *M. incognita*, mas estas populações não foram quantificadas previamente à realização do experimento. As plantas foram transplantadas para estufas no estágio de 4 a 6 folhas definitivas. Cada parcela experimental constou de 14 plantas espaçadas de 0,75 m entre fileira e 0,35 m entre plantas na fileira e duas fileiras por canteiro, correspondendo a uma população equivalente a 38.095 plantas/ha.

Foram feitas 11 colheitas, compreendendo 73 dias entre as datas de 23/08/2010 e 03/11/2010 e os frutos foram colhidos na fase de coloração verde final (ponto comercial). As avaliações e análises foram realizadas em parcelas. Foram avaliados os seguintes caracteres:

- Produção total de frutos (PRODT): foram somadas as produções de frutos colhidos em cada parcela durante as colheitas; os dados foram expressos em $t \cdot ha^{-1}$;
- massa média de fruto total (MMFT), expressos em $gramas \cdot fruto^{-1}$;
- produção precoce de frutos (PRODP), correspondente às produções das três primeiras colheitas (primeiros 17 dias de colheita), expressa em $t \cdot ha^{-1}$;
- espessura do pericarpo (EP), expressa em mm, medida em frutos cortados na região de maior diâmetro;
- profundidade de inserção do pedúnculo floral (PIP) e
- relação comprimento/ diâmetro (C/D), como indicativo do formato de fruto, sendo o formato ideal para o comércio aquele de valor aproximado a 2:1.

Para os caracteres espessura do pericarpo, profundidade de inserção do pedúnculo floral e relação comprimento/ diâmetro foram avaliados 20 frutos tomados aleatoriamente ao longo das colheitas. Notas de 1 a 5 foram atribuídas para avaliar o caráter profundidade de inserção do pedúnculo, conforme a seguinte escala: Nota 1= pedúnculo inserido no nível da base do fruto; Nota 2= pedúnculo inserido de 0 a 0,5 cm abaixo do nível da base do fruto; Nota 3= de

0,5 a 1,0 cm abaixo do nível da base do fruto; Nota 4= de 1,0 a 1,5 cm abaixo do nível da base do fruto; Nota 5= mais de 1,5 cm abaixo do nível da base do fruto. Notas menores são consideradas desejáveis.

Foram realizadas análises de variância para todos os caracteres avaliados. Os quadrados médios da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação foram obtidos para as $pq=24$ combinações híbridas resultantes do cruzamento entre $p=8$ (genitores do grupo I) e $q=3$ (genitores do grupo II), segundo o modelo estatístico: $y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + e_{ij}$, em que μ = média geral; g_i (efeito da CGC do parental do grupo I); g_j (efeito da CGC do parental do grupo II); s_{ij} (efeito da CEC entre os genitores i e j) e e_{ij} = erro experimental. Os testes de médias foram feitos através do teste de Duncan ($P \geq 0.05$).

Resultados e Discussão

Embora resistentes ao PepYMV, as linhagens PIX-045B-27-02, PIX-045B-32-03 e PIX-052B-06-01 não revelaram a presença da banda de 444 pb que caracteriza os genótipos homozigotos resistentes (Figura 1) quando testadas com o marcador CAPS. É possível que nessas linhagens o alelo *Pvr4* não esteja associado à banda de 444 pb, ou mesmo que sua resistência seja devida a um outro gene dominante (Nogueira, et al., dados não publicado); mas não o *Pvr4*, uma vez que a resistência a potyvirus no pimentão pode ser controlada por um de pelo menos sete locos gênicos da série *pvr* (Caranta et al., 1999; Grube et al., 2000; Parrela et al., 2002). Já as linhagens PIX-044B-01-01, PIX-044B-13-01, MRY-29-03-02 e MYR-29-10-08 revelaram a presença da banda de 444 pb associada ao alelo *Pvr4* (Figura 1).

Diferenças significativas entre os tratamentos foram observadas para todas as características avaliadas (Tabela 2), indicando que os materiais testados apresentam variabilidade. A significância dos tratamentos para o caráter

produção total estaria explicada, principalmente, pela variabilidade encontrada nos híbridos adicionais, os quais foram também altamente divergentes também para as demais características.

Os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) entre linhagens do grupo I foram significativos para todas as características analisadas, exceto produção total (Tabela 2), o que indica alto grau de divergência entre estas linhagens para a maioria das características analisadas. Já os efeitos de CGC no grupo II não foram significativos para produção total, produção precoce e massa média por fruto, indicando menor variação entre as linhagens deste grupo, em comparação com a variação encontrada entre linhagens do grupo I. Não houve significância para capacidade específica de combinação (CEC) para nenhum dos caracteres, exceto relação comprimento/diâmetro (C/D). Desta maneira, a relação C/D, característica relacionada ao formato de frutos, foi a única característica analisada que não pode ser predita com base na média das linhagens parentais.

As estimativas de CGCs (g_i , g_j) para produção total variaram nas linhagens do grupo I, entre -5,64 e 7,29 [amplitude total de 12,93 t.ha⁻¹], valor considerável quando comparado à média geral ($\mu = 39,18$ t.ha⁻¹); nas linhagens do grupo II, as g_j variaram entre -2,41 e 2,43 (amplitude total de 4,84 t.ha⁻¹, que foi menos importante relativamente à média geral) (Tabela 3). Esses valores indicam que, apesar de os efeitos não serem significativos de CGC, indicados pela análise de variância (Tabela 2), os efeitos aditivos também podem ter alguma importância na expressão da produção total, principalmente no grupo I. Já os efeitos não-aditivos S_{ij} (que representam a CEC), variaram de -6,53 a 9,35, com amplitude total de 15,88 t.ha⁻¹, o que representa cerca de 40% do valor representado pela média $\mu = 39,18$ t.ha⁻¹ (Tabela 3). Isso indica que, além dos efeitos gênicos aditivos, os não-aditivos (dominância e/ou epistasia) também podem ser de alguma importância na expressão do caráter, apesar da

não detecção de efeitos significativos de CEC (Tabela 2). Com estimativas positivas de g_i para produção total, as linhagens 1 = Carolina Wonder, 2 = Charleston Belle e 3 = PIM-013 (grupo I) e 2' = MYR-29-03-02 (grupo II) contribuem favoravelmente para o caráter (Tabela 3), em especial as duas primeiras. O fato de que os maiores valores de g_i no grupo I, 7,29 e 6,59 t.ha⁻¹ estarem associados às linhagens 2 (= Charleston Belle) e 1 (= Carolina Wonder), respectivamente, ambas resistentes a *M. incognita*, pode refletir a importância desta resistência para a produção nas condições do experimento, que foi conduzido em estufas com populações de nematoides no solo sabidamente altas.

Os maiores efeitos positivos de CECs (S_{ij}) foram apresentados pelas combinações 4x1' = F₁(PIX-044B-01-01 x Linha-004), 2x2' = F₁(Charleston Belle x MYR-29-03-02), 6x3' = F₁(PIX-045B-27-02 x MYR-29-10-08), 7x3' = F₁(PIX-045B-32-03 x MYR-29-10-08) e 1x2' = F₁(Carolina Wonder x MYR-29-03-02), com valores de 9,35; 6,19; 5,89; 5,66 e 3,13 t.ha⁻¹, respectivamente (Tabela 3). A melhor combinação híbrida deve ser aquela com maior S_{ij} , cujos parentais apresentam alta CGC. Neste caso, as melhores combinações no dialelo foram 2x2' e 1x2'. Todos os genitores das combinações híbridas 4x1', 6x3' e 7x3' apresentam valores negativos de CGC, presumindo-se que os efeitos gênicos não-aditivos foram mais importantes para superioridade desses híbridos. Os autores Nascimento (2005) e Silva (2002), encontraram efeitos gênicos não-aditivos para caracteres relacionados à produção, resultando em heterose significativa.

A amplitude total das estimativas da CGCs para massa média por fruto variou entre -20,26 e 11,28 g.fruto⁻¹ (amplitude de 31,54 g.fruto⁻¹) entre as linhagens do grupo I e entre -3,58 e 2,08 g.fruto⁻¹ (amplitude de 5,66 g.fruto⁻¹) e entre linhagens do grupo II (Tabela 3). A menor amplitude no grupo II é indicativa de pouca influência na média do caráter e reflete uma CGC não significativa (Tabela 2). Os efeitos da CECs para o caráter em questão variaram

de -8,78 a 10,18 g.fruto⁻¹ (amplitude de 18,96) (Tabela 3), valores esses menos relevantes do que os da CGC no grupo I quando comparados com a média geral (111,30 g.fruto⁻¹), o que refletiu na não-significância da CEC (Tabela 2). As combinações híbridas 3x1' = F₁(PIM-013 x Linha-004) e 4x1' = F₁ (PIX-044B-01-01 x Linha-004) possuem altos valores para S_{ij} (CEC) e todos os seus genitores apresentam valores positivos para g_i,g_j (CGC), o que é desejável (Tabela 3). A não significância da CEC indica pouca influência dos efeitos gênicos não-aditivos para massa média de fruto. O predomínio de efeitos gênicos aditivos para o caráter poder ser comprovado pela amplitude da CGC no grupo I, estando de acordo com os resultados encontrados por Nascimento et al., (2004); Bonetti (2002) e Gomide et al., (2003).

A amplitude dos valores de g_i, (CGC) para produção precoce no grupo I foi de 6,72 t.ha⁻¹ (Tabela 3) __ o que representou cerca de 33,7% da média do caráter (μ= 19,93 t.ha⁻¹), destacando-se os genitores 1 = Carolina Wonder, 2 = Charleston Belle e 3 = PIM-013, com valores de 2,98, 3,45 e 3,10 t.ha⁻¹ respectivamente, tendo uma maior influência na média das combinações híbridas onde participam (Tabela 4).

Embora o efeito de CEC não tenha sido significativo (Tabela 2), os valores de S_{ij} variaram entre -3,60 e +4,90 __ uma amplitude de 8,50 t.ha⁻¹, valor relevante quando comparado à média geral (μ= 19,93 t.ha⁻¹) (Tabela 3). Isso indica que, em alguns híbridos, o valor de S_{ij} pode ser relevante, embora, em média, a CEC não seja de grande importância na expressão da produção precoce. O maior efeito positivo da CEC (S_{ij}) foi apresentado pela combinação 4x1' (4,90 t.ha⁻¹) __ híbrido que obteve produções precoces superiores ao esperado, com base nas CGC dos seus genitores, que foram negativas para ambos. A significância da CGC do grupo I, relativamente ao grupo II, pode indicar uma maior contribuição dos primeiros genitores para expressão do caráter nas combinações aqui avaliadas. A CEC não significativa indica que os

efeitos gênicos não-aditivos têm menor importância que os efeitos aditivos para expressão da produção precoce, concordando com os resultados apresentados por Nascimento et al. (2004), Bonetti (2002) e Gomide et al., (2003) e discordando dos de Innecco (1995).

Para espessura do pericarpo, a CGC foi significativa para ambos os grupos de genitores: para os genitores do grupo I, as g_i variaram entre de -0,39 e 0,41mm (amplitude de 0,80 mm), ao passo que no grupo II (g_j), variaram entre -0,14 e 0,08 mm (amplitude de 0,22 mm) (Tabela 3). As CEC variaram entre -0,32 e 0,32 mm (amplitude de 0,64 mm), com a maioria dos valores de S_{ij} próximos de zero, o que resultou em efeito médio não significativo para CEC. As significâncias das CGC tanto no grupo I, como no grupo II (Tabela 2) são indicativas de que os efeitos gênicos aditivos são predominantes no controle do caráter.

Estimativas negativas de CGC para profundidade de inserção do pedúnculo (PIP) indicam tendência dos genitores em proporcionar frutos com menor PIP, o que é desejável. No grupo I, as estimativas da CGC variaram de -0,58 a 0,45 (amplitude de 1,03) e a amplitude do grupo II foi de 0,33 (Tabela 3). Aparentemente, as linhagens do grupo I apresentaram maior influência na média do caráter, destacando-se favoravelmente as linhagens 5 = PIX-044B-13-01 e 8 = PIX-052B-06-01, com valores respectivos de -0,58 e -0,28. As estimativas da CEC variaram de -0,32 a 0,34 (amplitude de 0,66) (Tabela 3), que apesar de representativos em relação ao comportamento médio do caráter ($\mu=2,29$), revelaram-se, em média, não significativos (Tabela 2). A significância da CGC tanto no grupo I, como II e a não significância da CEC é indicativa de que os efeitos gênicos aditivos foram mais importantes que os não-aditivos no controle de PIP, concordando com os resultados apresentados por Bonetti (2002) e Nascimento et al., (2004).

As estimativas das CGC para a relação comprimento/diâmetro (C/D), indicativo do formato de fruto, variaram de -0,42 a 0,42 (amplitude de 0,84) no grupo I e de -0,20 a 0,11 (amplitude de 0,31) no grupo II (Tabela 3). Esses valores representam, respectivamente, 37,8% e 13,9% da variação total da expressão da C/D em relação à média ($\mu = 2,22$) e refletem a importância dos efeitos gênicos aditivos na expressão do caráter, especialmente no grupo I de genitores. Os efeitos da CECs variaram de -0,12 a 0,09 (amplitude de 0,21), valores esses menos relevantes quando comparados à média. Essa maior amplitude das CGC é indicativa de que os efeitos gênicos aditivos foram mais importantes para expressão do caráter (C/D) do que os efeitos gênicos não-aditivos, principalmente no grupo I, em relação à amplitude das CEC. Resultados semelhantes foram encontrados por Gomide et al., (2008).

De forma geral, a maioria dos híbridos teve comportamentos semelhantes às melhores testemunhas para todos os caracteres aqui avaliados (Tabela 4), principalmente para produção (total e precoce), espessura do pericarpo e relação C/D, características para as quais o contraste "Testemunhas vs. híbridos do dialelo" foram não significativas (Tabela 2). Desta forma, o grupo de combinações híbridas testadas no dialelo inclui híbridos pelo menos competitivos com as testemunhas comerciais utilizadas.

Os híbridos do dialelo $1 \times 2' = F_1(\text{Carolina Wonder} \times \text{MYR-29-03-02})$ e $2 \times 2' = F_1(\text{Charleston Belle} \times \text{MYR-29-03-02})$ tiveram estimativas elevadas de CGC e CEC para produção total e produção precoce (Tabela 3). A produção total foi de $50,59 \text{ t.ha}^{-1}$ no híbrido ($1 \times 2'$) e $54,35 \text{ t.ha}^{-1}$ no híbrido ($2 \times 2'$), os quais tiveram médias numericamente superiores a Magali-R ($48,93 \text{ t.ha}^{-1}$) e ligeiramente inferiores a Konan-R ($55,83 \text{ t.ha}^{-1}$), não havendo, no entanto, diferenças estatísticas entre estes tratamentos (Tabela 4). Esses mesmos híbridos tiveram comportamento semelhante ao das testemunhas para as demais características, e, como consequência das características de suas linhagens

genitoras (Tabela 1), possuem tolerância ao nematoide *Meloidogyne incognita* e ao vírus PepYMV: os genitores 1 (=Carolina Wonder) e 2 (= Charleston Belle) são resistentes ao *M. incognita* (homozigotas para gene *N*) (Tabela 1) e o genitor 2' = (MYR-29-03-02) é resistente ao PepYMV (homozigoto para o marcador molecular associado ao alelo *Pvr4*). As elevadas produtividades destes híbridos podem refletir pelo menos em parte a importância da resistência ao *M. incognita* em solos com populações de nematoides sabidamente altas, como foi o caso do presente experimento.

O híbrido 7x3' [= F₁(PIX-045B-32-03 x MYR-29-10-08)] apresentou CGCs negativas para ambos os genitores, porém produziu 40,42 t.ha⁻¹, não diferindo das melhores testemunhas (Tabela 4). Isso reflete a elevada CEC para produção total observada neste cruzamento. Este híbrido é interessante, pois apresenta resistência a *P. capsici* e ao PepYMV, com a possibilidade de ser homozigoto resistente para o alelo *Pvr-4*, ou heterozigoto para dois genes resistência ao PepYMV. Seu genitor 3' = (MYR-29-10-08) apresenta a marca associada ao alelo *Pvr4*, que confere resistência ao PepYMV (Tabela 1) (Figura 1), enquanto o genitor 7 (= PIX-045B-32-03) é resistente ao PepYMV, sem a referida marca. Desta forma, o híbrido 7x3' poderá ser homozigoto para o alelo *Pvr-4* (na hipótese de alelismo entre os genes dos genitores que controlam resistência ao PepYMV), ou, alternativamente, na hipótese de não alelismo, heterozigoto para dois diferentes locos (um deles o *Pvr-4*) que controlam esta resistência. A distinção entre estas duas possibilidades precisará aguardar resultados de futuros testes de alelismo.

Para a maioria das características avaliadas, os melhores desempenhos entre os híbridos adicionais foram observados nas combinações 4x1 = F₁(PIX-044B-01-01 x Carolina Wonder) e 4x2 = F₁(PIX-044B-01-01 x Charleston Belle), destacando-se a produtividade total do híbrido 4x2 (56,93 t.ha⁻¹), numericamente superior à melhor testemunha (Tabela 4). Aliado ao bom

desempenho, estes híbridos apresentam resistência a *M. incognita*, a PepYMV e a *P. capsici*. A exemplo do acontecido com os híbridos do dialelo 1x2' e 2x2', também para 4x1 e 4x2, as elevadas produtividades podem refletir, pelo menos em parte, a importância da resistência ao *M. incognita* em solos com altas populações de nematoides.

A maioria dos híbridos aqui avaliados tem, portanto, potencial para serem competitivos em relação às testemunhas comerciais. Por outro lado, os híbridos 4x1 e 4x2 poderiam mesmo superá-las em condições em que ocorra estresse pela presença de múltiplos fitopatógenos.

Em trabalho semelhante de capacidade combinatória de linhagens de pimentão, Gomide et al. (2003) verificaram a maior importância dos efeitos gênicos aditivos para produção precoce de frutos, massa média de fruto total e produção total de frutos. Para esse último caráter, os efeitos gênicos não-aditivos foram também de grande importância, com resultados similares aos aqui observados. Os efeitos gênicos aditivos foram importantes também para espessura do pericarpo, profundidade de inserção do pedúnculo floral e relação comprimento/diâmetro, concordando com os resultados encontrados para esses caracteres por Silva, (2002); Nascimento et al., (2004) e Gomide et al., (2008) respectivamente.

As elevadas produtividades dos híbridos 1x2', 2x2', 4x1 e 4x2 podem estar relacionadas ao fato de que esses híbridos envolvem o uso das linhagens Carolina Wonder ou Charleston Belle como genitoras, ambas resistentes a *M. Incognita*, dessa forma, refletindo que a resistência é efetiva mesmo em heterozigose, pois o experimento foi conduzido em solo com altas populações de nematoides. Libânio, (2005) similarmente verificou que a presença do alelo *Mel* confere resistência aos nematoides de galhas, mesmo em condições de heterozigose.

Como geralmente acontece com a cultura do pimentão, o cultivo repetido numa mesma área pode elevar o nível da população de nematoides e torná-los limitantes à cultura. O controle químico muitas das vezes é ineficiente, além de oneroso. O uso de material resistente é o método mais eficaz contra os nematoides.

Conclusões

1. A maioria dos híbridos possui desempenho semelhante às melhores testemunhas para todos os caracteres avaliados.
2. Os efeitos gênicos aditivos foram importantes para todos os caracteres avaliados e, para produção total de frutos, os não-aditivos foram também de grande importância.
3. Destacam-se pelos altos valores da capacidade geral de combinação para os principais caracteres, as linhagens 1 = Carolina Wonder, 2 = Charleston Belle e 3 = PIM-013, no grupo I, e 2' = MYR-29-03-02, no grupo II.
4. Foram identificados os híbridos $1 \times 2'$ = F_1 (Carolina Wonder x MYR-29-03-02), $2 \times 2'$ = F_1 (Charleston Belle x MYR-29-03-02), 4×1 = F_1 (PIX-044B-01-01 x Carolina Wonder) e 4×2 = F_1 (PIX-044B-01-01 x Charleston Belle), com desempenho médio superior ou equivalente ao das testemunhas e que aliam resistência múltipla às doenças.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); à Universidade Federal de Lavras (UFLA); à FAEPE/UFLA,

à FUNDECC/UFLA, à empresa HortiAgro Sementes Ltda e à equipe do laboratório de Virologia Molecular/UFLA.

Referências

- BENTO, C.S.; RODRIGUES, R.; ZERBINI JUNIOR, F.M.; SUDRÉ, C.P. 2009. Sources of resistance against the *Pepper yellow mosaic virus* in chili pepper. *Horticultura Brasileira* 27: 196-201.
- BONETTI, M. L. G. Z. **Heterose e capacidade combinatória de linhagens de híbridos de pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 2002. 85 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.
- CANDOLE, B. L.; CONNER, P.J. Screening *Capsicum annuum* Accessions for Resistance to Six Isolates of *Phytophthora capsici*. **HORTSCIENCE**, v.45, n.2, p. 254–259, 2010.
- CARANTA, C.; THABUIS, A.; PALLOIX, A. Development of a CAPS marker for the *Pvr4* locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. **Genome**, Ottawa, v.42, p. 1111-1116, 1999.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 340 p. 2003.
- Djian-Caporalino C, Pijarowski L, Januel A, Lefebvre V, Daubeze A, Palloix A, Dalmaso A, Abad P (1999) Spectrum of resistance to root-knot nematodes and inheritance of heatstable resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theor Appl Genet* 99:496–502
- ECHER, M.M; COSTA, C.P. Reaction of sweet pepper to the *potato virus Y* (PVY^M). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.2, p.309-314, 2002.
- FERY, R.L.; DUKES, P.D.; THIES, J.A. Carolina Wonder and Charleston Belle: southern root-knot nematode resistant bell peppers. *HortScience*. v.33, n.5, p. 900-902, 1998.

GOMIDE, M.L.; MALUF, W.R.; GOMES, L.A.A. Capacidade de combinação de linhagens elite de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 740-748, 2008.

GOMIDE, M.L.; MALUF, W.R.; GOMES, L.A.A. Heterose e capacidade de combinatória de linhagens de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.5, p.1007-1015, 2003.

GRUBE, R.C.; RADWANSKI, E.R.; JAHN, M. Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae. **Genetics**, [S.1.] v. 155, p. 873-887, 2000.

HAUSBECK, M. K. and LAMOUR, K. H. 2004. Phytophthora capsici on vegetable crops: Research progress and management challenges. *Plant Dis.* 88:1292-1303

INNECCO, R. **Avaliação do potencial agronômico de híbridos e capacidade combinatória de linhagens de pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 1995. 113 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O; BOITEUX, L.S.; MONTE, D.C.; DUSI, A.N.; ÁVILA, A.C.; VAN DER VLUGT, R.A.A.. Pepper yellow mosaic virus (PVY^m), a new species of *potyvirus* in sweet-pepper. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, p.218, 2001.

LIBÂNIO, R.A. Obtenção de híbridos de pimentão com resistência a nematoides de galhas *meloidogyne incognita* . Lavras-UFLA: 2005, 59 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia).

LOPES, C.A. e ÁVILA, A.C. Doenças do pimentão: diagnose e controle. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 96p.

MONROY-BARBOSA, A.; BOSLAND, P.W.; Genetic Analysis of Phytophthora Root Rot Race-specific Resistance in Chile Pepper. *Journal. Amer. Soc. Hort. SCI.* V.133, n.6, p.825–829. 2008.

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

NASCIMENTO, I.R.; COSTA DO VALE, L.A.; MALUF, W.R.; GONÇALVES, L.D.; GOMES, L.A.A.; MORETO, P.; LOPES, E.A.G.L. Reação de Híbridos, Linhagens e Progênes de pimentão a requeima causada por *Phytophthora capsici* e ao mosaico amarelo causado por *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV). **Ciências e agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 121-128, 2007.

NASCIMENTO, I.R.; MALUF, W.R.; FARIA, M.V.; VALLE, L.A.C.; MENEZES, C.B.; BENITES, F.R.G. Capacidade combinatória e ação gênica na expressão de caracteres de importância econômica em pimentão. *Ciência e Agrotecnologia*, v.28, n.2, p.251-260, 2004.

NOGUEIRA, D.W. Seleção assistida por marcador molecular para resistência a potyvirus em pimentão.

PARRELA, G.; RUFFEL, S.; MORETTI, A.; MOREL, C. Recessive resistance genes against potyviruses are localized in collinear genomic regions of the tomato (*Lycopersicon* spp.) and pepper (*Capsicum* spp.) genomes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, p. 855-861, 2002.

PEREIRA, P.R.V.S.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; NECHTE, K.L.; MOURÃO JÚNIOR, M. Ocorrência danos e controle do ácaro branco (*Polyphagotossosoma latus* (Banhs, 1904) (Acarina: Tarsonemidae) em cultivo protegido em pimentão. **Comunicado técnico**, Embrapa, 2004.

SILVA, L. L. **Heterose e capacidade de combinação em cruzamentos dialélicos parciais em pimentão**. 2002. 82p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo.

Thies, J. A.; Ariss, J.J. Comparison between the *N* and *Me3* genes conferring resistance to the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in genetically different pepper lines (*Capsicum annuum*). *Eur J Plant Pathol*, v. 125, p. 545–550, 2009.

WOO J., YU J., KIL K., RO P., TAE K., 2005. Changes in pathogenesis-related proteins in pepper plants with regard to biological control of phytophthora blight with *Paenibacillus illinoisensis*. *BioControl* 50, 165-178.



Figura 1 Padrão eletroforético de fragmentos de DNA, amplificados com o marcador CAPS em plantas de pimentão: 1- Marcador; 2- PIX-044B-01-01; 3- PIX-044B-13-01; 4- MRV-29-03-02; 5- MYR-29-10-08; 6- PIX-045B-27-02^(a); 7- PIX-045B-32-03^(a); 8- PIX-052B-06-01^(a). S- Suscetível; R- Resistente. (para o loco do alelo *Pvr4*)

Obs: (a) padrão S não correspondente ao fenótipo da planta (resistente a PepYMV).

Tabela 1 Progenitores utilizados nos cruzamentos e suas respectivas características de reação a patógenos, formato e tamanho de frutos

Parentais	Reação ¹			Formato	Tamanho de frutos
	PepYMV	<i>P. capsici</i>	<i>M. incognita</i>		
Grupo I					
1- Carolina Wonder	S	S	R	Quadrado	Pequeno
2- Charleston Belle	S	S	R	Quadrado	Pequeno
3- PIM-013	S	R	S	Cônico-largo	Grande
4- PIX-044B-01-01	R*	R	S	Cônico-comprido	Grande
5- PIX-044B-13-01	R*	R	S	Cônico-comprido	Pequeno
6- PIX-045B-27-02	R	R	S	Cônico-largo	Pequeno
7- PIX-045B-32-03	R	R	S	Cônico-largo	Pequeno
8- PIX-052B-06-01	R	R	S	Cônico-comprido	Médio
Grupo II					
1'-Linha-004	S	S	S	Quadrado	Grande
2'-MYR-29-03-02	R*	S	S	Cônico-comprido	Grande
3'-MYR-29-10-08	R*	S	S	Cônico-largo	Grande

¹ S = Suscetível; R = Resistência; *Presença da banda associada ao alelo *Pvr4*

Tabela 2 Resumo das análises de variâncias para produção total, massa média de frutos total, produção precoce, espessura do pericarpo, profundidade de inserção do pendúnculo floral e relação comprimento/diâmetro em pimentão. UFLA, Lavras, MG, 2010

Fonte de variação	GL	QM					
		Produção total (t.ha ⁻¹)	Massa média de fruto total (g.fruto ⁻¹)	Produção precoce (t.ha ⁻¹)	Espessura do pericarpo (mm)	Profundidade de inserção do pendúnculo (Notas 1-5) ⁽¹⁾	Relação comprimento/diâmetro
Blocos	2	3585,376 **	2805,229 **	1238,916 **	3,057 **	0,3182 **	0,087 **
Tratamentos	35	221,384 **	768,110 **	59,069 **	0,376 **	0,364 **	0,254 **
Híbridos do dialelo	23	129,277 ^{ns}	429,412 **	36,810 ^{ns}	0,338 **	0,378 **	0,281 **
<i>C.G.C (Grupo I)</i>	7	207,948 ^{ns}	1139,604 **	70,013 *	0,794**	0,871 **	0,677 **
<i>C.G.C (Grupo II)</i>	2	140,924 ^{ns}	232,239 ^{ns}	14,660 ^{ns}	0,339 *	0,660 **	0,753 **
<i>C.E.C (I x II)</i>	14	88,227 ^{ns}	102,455 ^{ns}	23,388 ^{ns}	0,107 ^{ns}	0,090 ^{ns}	0,015 *
Híbridos adicionais	5	688,173**	1311,341 **	138,369 **	0,363 **	0,261 **	0,339 **
Testemunhas	5	211,195 ^{ns}	1543,476 **	67,991 ^{ns}	0,528 **	0,284 *	0,140 **
Testemunhas vs Híbridos do dialelo	1	0,247 ^{ns}	2037,783 **	21,375 ^{ns}	0,110 ^{ns}	1,248 **	0,015 ^{ns}
Híbridos adicionais vs (Testemunhas + Híbridos do dialelo)	1	249,532 ^{ns}	1477,108 *	188,583 *	0,584 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,032 ^{ns}
Erro médio	70	101,061	84,732	27,879	0,065	0,060	0,011
Média		39,18	111,30	19,93	4,78	2,29	2,22
C.V. %		25,66	8,27	26,49	5,32	10,68	4,67

^{ns}, **, *: não significativo e significativo a 1 % e 5 % de probabilidade, pelo teste de F, respectivamente

¹ Nota 1 - pendúnculo inserido no nível da base do fruto e Nota 5- pendúnculo inserido a mais de 1,5 cm abaixo do nível da base do fruto. Notas menores são desejáveis

Tabela 3 Estimativas da capacidade geral (g_i e g_j) e específica (S_{ij}) de combinação dos componentes de média de seis caracteres avaliados em pimentão. UFLA, Lavras, MG, 2010

	Produção total (t.ha ⁻¹)	Massa média de fruto total (g.fruto ⁻¹)	Produção precoce (t.ha ⁻¹)	Espessura do pericarpo (mm)	Profundidade de inserção do pedúnculo (Notas 1-5) ⁽¹⁾	Relação comprimento/diâmetro
g_i						
1	6,59	9,58	2,98	0,35	-0,01	-0,34
2	7,29	11,28	3,45	0,41	0,05	-0,42
3	1,59	11,07	3,10	0,14	0,12	-0,02
4	-5,64	3,56	-3,27	-0,39	0,16	0,03
5	-3,68	-0,30	-2,08	-0,29	-0,58	0,42
6	-1,90	-5,23	-1,90	-0,19	0,45	0,01
7	-3,66	-20,26	-2,36	-0,13	0,09	0,18
8	-0,59	-9,70	0,12	0,10	-0,28	0,13
g_j						
1'	-2,41	1,50	-0,72	0,06	0,16	-0,20
2'	2,43	-3,58	0,83	-0,14	0,01	0,09
3'	-0,02	2,08	-0,11	0,08	-0,17	0,11
S_{ij}						
1x1'	-1,38	1,00	-1,00	0,10	-0,04	0,05
1x2'	3,13	-0,72	1,99	-0,12	0,04	-0,04
1x3'	-1,75	-0,28	-0,99	0,02	0,01	-0,01
2x1'	-2,58	1,01	-1,40	-0,15	-0,08	0,04
2x2'	6,19	3,58	2,37	0,18	0,11	-0,05
2x3'	-3,61	-4,59	-0,97	-0,03	-0,04	0,01
3x1'	2,03	6,53	0,27	0,12	0,34	-0,07
3x2'	-3,95	-4,60	-0,63	-0,15	-0,01	-0,01
3x3'	1,92	-1,93	0,37	0,03	-0,32	0,08

Tabela 3, continuação

4x1'	9,35	10,18	4,90	0,32	0,13	0,05
4x2'	-2,82	-1,40	-1,39	-0,003	-0,16	-0,05
4x3'	-6,53	-8,78	-3,51	-0,32	0,04	0,001
5x1'	-4,39	-5,12	-2,14	-0,03	0,003	0,03
5x2'	2,11	-0,09	1,06	0,01	0,09	0,09
5x3'	2,28	5,21	1,08	0,01	-0,10	-0,12
6x1'	-1,63	-3,86	0,30	-0,28	-0,05	0,02
6x2'	-4,26	-1,37	-2,64	0,04	-0,08	-0,005
6x3'	5,89	5,23	2,33	0,23	0,14	-0,02
7x1'	-5,45	-7,37	-3,60	-0,16	-0,15	-0,01
7x2'	-0,21	4,51	0,09	0,05	-0,04	0,03
7x3'	5,66	2,86	3,50	0,11	0,18	-0,03
8x1'	4,05	-2,38	2,66	0,08	-0,15	-0,11
8x2'	-0,20	0,10	-0,86	-0,02	0,04	0,03
8x3'	-3,85	2,28	-1,80	-0,06	0,10	0,07

1=Carolina Wonder, 2=Charleston Belle, 3=PIM-013, 4=PIX-044B-01-01, 5=PIX-044B-13-01, 6=PIX-045B-27-02, 7=PIX-045B-32-03, 8=PIX-052B-06-01, 1'=Linha-004, 2'= MYR-29-03-02 e 3'= MYR-29-10-08. ¹ Nota 1= pendúnculo inserido no nível da base do fruto. Nota 5= pendúnculo inserido a mais de 1,5cm abaixo do nível da base do fruto. Notas menores são desejáveis

Tabela 4 Médias da produção total, massa média de frutos total, produção precoce, espessura do pericarpo, profundidade de inserção do pendúnculo floral e relação comprimento/diâmetro em pimentão. UFLA, Lavras, MG, 2010

Identificação dos tratamentos	Produção total (t.ha ⁻¹)	Massa média de fruto total (g.fruto ⁻¹)	Produção precoce (t.ha ⁻¹)	Espessura do pericarpo (mm)	Profundidade de inserção do pendúnculo (Notas 1-5) ⁽¹⁾	Relação comprimento/diâmetro
Test. comerciais						
Magnata Super	33,12 cde	96,41 klm	16,01 bcd	4,46 fghijk	2,38 cdefghi	2,00 lmnopq
Konan R	55,83 a	128,81 bc	28,40 a	4,72 defghi	2,40 cdefghi	2,22 ghijk
Mallorca	43,08 abcd	153,15 a	25,41 ab	5,46 a	2,38 cdefghi	2,05 klmnop
Martha R	38,66 abcde	91,68 lm	19,79 abc	4,63 efghij	1,96 ijklm	2,37 defg
Stephany	36,97 abcde	110,48 defghijk	20,24 abc	5,32 ab	1,76 klm	2,59 bc
Magali R	48,93 abc	121,32 bcdefg	26,48 ab	5,25 abc	2,55 abcde	2,26 ghij
Híb. Dialelo						
1x1	41,23 abcd	124,63 bcdef	20,88 abc	5,24 abc	2,47 bcdefgh	1,72 rs
1x2'	50,59 abc	117,83 bcdefgh	25,43 ab	4,82 cdefgh	2,40 cdefghi	1,93 nopq
1x3'	43,25 abcd	123,92 bcdef	21,52 abc	5,17 abcd	2,17 efghijk	1,98 mnopq
2x1'	40,73 abcd	126,34 bcde	20,95 abc	5,05 abcde	2,49 bcdefg	1,63 s
2x2'	54,35 ab	123,83 bcdef	26,27 ab	5,18 abcd	2,53 abcdef	1,84 qr
2x3'	42,09 abcd	121,32 bcdefg	21,99 abc	5,18 abcd	2,20 efghijk	1,92 opq
3x1'	39,64 abcd	131,65 b	22,23 abc	5,04 abcde	2,98 a	1,92 opq
3x2'	38,50 abcde	115,44 bcdefghi	22,88 abc	4,58 efghijk	2,48 bcdefgh	2,27 ghij
3x3'	41,92 abcd	123,76 bcdef	22,95 abc	4,97 bcdef	1,99 hijkl	2,39 defg
4x1'	39,73 abcd	127,78 bcd	20,53 abc	4,71 defghi	2,81 abc	2,09 jklmno
4x2'	32,40 cde	111,13 cdefghijk	15,79 bed	4,19 jk	2,37 cdefghi	2,29 fghi
4x3'	26,25 de	109,40 efghijkl	12,73 cd	4,09 k	2,39 cdefghi	2,36 defg
5x1'	27,95 de	108,62 efghijkl	14,67 cd	4,47 fghijk	1,94 ijklm	2,47 cdef
5x2'	39,30 abcde	108,58 efghijkl	19,43 abc	4,31 ijk	1,88 jklm	2,82 a
5x3'	37,00 abcde	119,53 bcdefgh	18,51 abcd	4,52 fghijk	1,51 m	2,63 bc
6x1'	32,49 cde	104,96 ghijkl	17,30 bcd	4,32 hijk	2,92 ab	2,05 klmnop
6x2'	34,71 bcde	102,36 hijklm	15,91 bcd	4,44 ghijk	2,74 abcd	2,32 efgh
6x3'	42,40 abcd	114,62 bcdefghij	19,95 abc	4,84 bcdefg	2,78 abc	2,33 efgh
7x1'	26,91 de	86,41 mn	12,94 cd	4,49 fghijk	2,46 bcdefgh	2,19 ghijkl

Tabela 4, continuação

7x2'	37,00 abcde	93,28 klm	18,18 abcd	4,50 fghijk	2,42 cdefghi	2,53 bcd
7x3'	40,42 abcd	97,23 jklm	20,66 abc	4,78 cdefghi	2,46 bcdefgh	2,49 cde
8x1'	39,48 abcde	101,96 hijklm	21,68 abc	4,96 bcdef	2,09 efghijkl	2,04 klmnop
8x2'	40,07 abcd	99,37 ijklm	19,71 abc	4,67 efghij	2,14 efghijk	2,48 cdef
8x3'	33,97 cde	107,21 fghijkl	17,83 abcd	4,84 bcdefg	2,01 ghijkl	2,54 bcd
Híb. Adicionais						
4x1	55,67 a	108,79 efghijkl	25,50 ab	4,85 bcdefg	2,29 defghij	1,87 pqr
4x2	56,93 a	128,86 bc	26,25 ab	5,48 a	2,42 cdefghi	1,82 qr
4x3	39,27 abcde	115,58 bcdefghi	19,79 abc	4,79 cdefghi	2,06 fghijkl	2,16 hijklm
5x8	31,73 cde	93,31 klm	16,12 bcd	4,60 efghij	1,65 lm	2,68 ab
6x8	28,33 de	85,08 mn	13,95 cd	4,58 efghijk	2,18 efghijk	2,12 ijklmn
7x8	19,46 e	72,29 n	8,82 d	4,56 efghijk	1,79 klm	2,46 cdef

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Tratamentos: 1=Carolina Wonder, 2=Charleston Belle, 3=PIM-013, 4=PIX-044B-01-01, 5=PIX-044B-13-01, 6=PIX-045B-27-02, 7=PIX-045B-32-03, 8=PIX-052B-06-01, 1'=Linha-004, 2'= MYR-29-03-02 e 3'= MYR-29-10-08

¹ Nota 1= pendúnculo inserido no nível da base do fruto. Nota 5= pendúnculo inserido a mais de 1,5 cm abaixo do nível da base do fruto. Notas menores são desejáveis

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)