



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE *Phytophthora capsici* DE  
HORTALIÇAS E EXPRESSÃO E PROSPECÇÃO DA RESISTÊNCIA EM  
*Cucurbitaceae* E *Solanaceae***

MILTON LUIZ DA PAZ LIMA

TESE DE DOUTORADO EM FITOPATOLOGIA

BRASÍLIA/DF  
NOVEMBRO/2006



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE *Phytophthora capsici* DE  
HORTALIÇAS E EXPRESSÃO E PROSPECÇÃO DA RESISTÊNCIA EM  
*Cucurbitaceae* E *Solanaceae***

MILTON LUIZ DA PAZ LIMA

BRASÍLIA/DF  
NOVEMBRO/2006

**MILTON LUIZ DA PAZ LIMA**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE *Phytophthora capsici* DE  
HORTALIÇAS E EXPRESSÃO E PROSPECÇÃO DA RESISTÊNCIA EM  
*Cucurbitaceae* E *Solanaceae***

Aprovada em: 16 de novembro de 2006.

---

Ailton Reis, Dr.

---

Maria Esther de N. Fonseca Boiteux, Ph.D.

---

Prof. José Ricardo Peixoto, Dr.

---

Prof. José Carmine Dianese, Ph.D.

---

Prof. Adalberto Corrêa Café Filho, Ph.D.  
(Orientador)

## **DEDICO**

Primeiramente a Deus,

A minha mãe Neiva da Silva Paz de Lima, meu pai Ailton  
Rocha de Lima, meus irmãos Silvio e Gabriel.

A família Takiguti.

*“In memorian”* as minhas queridas avós Jovita e Adair.

A amizade sincera.

"Mas buscai primeiro o seu reino e a sua justiça,  
e todas as outras coisas vos serão acrescentadas." Mat. 6:33

## AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre guiar-me por meus caminhos e estar a frente das minhas decisões;

Aos membros de minha família pelo incentivo, amor e carinho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro;

Às instituições federais Embrapa Hortaliças e Universidade de Brasília pela infraestrutura para desenvolvimento dos projetos de pesquisa;

Ao professor Adalberto Corrêa Café Filho, pela atenção, paciência, confiança, pelos valiosos ensinamentos, críticas construtivas durante todas as etapas deste trabalho;

Ao pesquisador e amigo, Ailton Reis por sua orientação, amizade e respeito;

Ao Carlos Lopes pela amizade e admiração, o meu grande exemplo profissional, e pela idéia e convite para desenvolvimento deste projeto de tese;

A todos os professores do Departamento de Fitopatologia: Adalberto Corrêa Café Filho, Carlos H. Uesugi, Cláudia Renata F. Martins, Cláudio L. Costa, Denise V.R. Santiago, José C. Dianese, Juvenil E. Cares, Luiz B. Blum, Marisa A.S.V. Ferreira, Mariza Sanchez, Renato de O. Resende, e “*in memorian*” a Shiou P. Huang, por muito contribuírem para a minha formação intelectual, profissional e pessoal;

A Caroline Demo pelo amor e carinho sempre presentes.

A Alexandre M. Vargas pelo valioso auxílio em alguns experimentos de campo.

A Neusa Nogueira e Edna Dora N. Luz por ceder isolados de *Phytophthora*.

A todos os técnicos e funcionários dos Laboratórios de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças e UnB, aos funcionários da Estação Experimental de Biologia, em especial pela colaboração de Francisca de O. Souza, José César, Joaquim Olímpio e Antônio Olímpio.

A minha segunda família representada por Mauro Tadashi Takiguti, Dagmar Takiguti, Kessagi Takiguti e Fumie Onose Takiguti, Koiti Cláudio Takiguti, Mitsue Yoshioka, Kelly Isumi Takiguti e Cláudio Takiguti;

A Gilmar Henz pelas conversas amigas, pelo bom humor e sugestões;

A Maria Esther N. Fonseca e Leonardo S. Boiteux por me aceitarem no Laboratório de Melhoramento de Plantas da Embrapa Hortaliças, como também na orientação nos trabalhos de extração, seqüenciamento e análise do DNA dos isolados e estudos de resistência em *Cucurbita* e *Lycopersicon*.

A Patrícia Silva pelo auxílio durante o treinamento de caracterização molecular;

À Leilah Neme e Celso Eduardo Pedroso, amigos que me apoiaram e estiveram presentes em momentos difíceis;

Ao amigo Joilson Sodré Filho, pela amizade sempre presente, nas horas difíceis.

Ao amigo Wellington Abreu, pela amizade, entusiasmo e companheirismo.

A Clélia Lúcia grande amiga e que me auxiliou compreender e ultrapassar determinadas etapas da minha vida;

A Eliana Rocha e Rogério, por sempre valorizarem qualidades individuais e pessoais;

A Ribamar Frazão e Leila Santos, pela amizade, companheirismo e compreensão;

A Zuleide e Ângela Chaves por auxiliarem direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho;

A Sâmara Belém Costa, grande mulher, guerreira e amiga, que aprendi a admirar.

Aos amigos sempre presentes durante a pós-graduação: Ana Angélica, Alexei Dianese, Ângela Sathiko, Carlos Augusto, Ednalva Andrade, Andreza Tomé, Celso K. Tomita, Cleide, Denize Martins, Denise Dornelo, Dílson Costa, Dinaélia, Eiko Mori, Érico Dianese, Eliane Divina, Fernanda Carrijo, Gesimara Costa, Genildo Santos, German Chiavera, Gil Rodrigues, Giovana T. Arruda, Harley Sales, Luiz, Lenisa Vilas Boas, Loislene Trindade, Mariana Hallwass, Maricília Arruda, Marlos Rodrigues Santos, Michele S. F. André, Péricles de A. Melo Filho, Renata C. Chaves, Rita de Cássia Carvalho, Valdir Correa, Vânia Moreira Freitas; em especial reforço meu apreço pelo incessante apoio e ajuda a mim dedicados por Rita, Ednalva, Giovana, Andreza e Fernanda Carrijo.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	IV
LISTA DE TABELAS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS .....	XI
LISTA DE ANEXOS .....	XIII
RESUMO GERAL DA TESE .....	1
THESIS ABSTRACT .....	4
INTRODUÇÃO GERAL .....	7
REVISÃO DE LITERATURA .....	13
OS HOSPEDEIROS: .....	13
A DOENÇA .....	15
O PATÓGENO .....	18
Taxonomia e classificação de <i>Phytophthora</i> .....	19
Mudanças e evolução na taxonomia de <i>P. capsici</i> .....	25
Diversidade genética e mudanças na taxonomia de <i>Phytophthora capsici</i> .....	27
Complexos de espécies que ocorrem nas hospedeiras de <i>P. capsici</i> no Brasil .....	28
Complexos de espécies que ocorrem nas hospedeiras de <i>P. capsici</i> no mundo .....	29
Caracterização fenotípica e molecular de isolados de <i>Phytophthora capsici</i> .....	31
Caracterização morfológica .....	33
Caracterização de grupos de compatibilidade .....	33
Sensibilidade a Metalaxil .....	34
Agressividade, patogenicidade e virulência de isolados .....	36
Caracterização Molecular .....	40
Marcadores rDNA nuclear .....	43
CONCEITOS DE PATOGENICIDADE, AGRESSIVIDADE, VIRULÊNCIA, PERÍODO DE LATÊNCIA E DE INCUBAÇÃO .....	44
RESISTÊNCIA EM <i>CAPSICUM</i> , <i>LYCOPERSICON</i> E <i>CUCURBITA</i> .....	45
Estudos de Resistência à <i>P. capsici</i> em pimentão .....	47
Estudos de Resistência a <i>P. capsici</i> em Tomate ( <i>Lycopersicon</i> spp.) .....	49
Estudos de Resistência a <i>P. capsici</i> em Abóboras ( <i>Cucurbita</i> spp.) .....	49
CAPÍTULO 1 .....	60
RESUMO DO CAPÍTULO 1 .....	61
ABSTRACT: .....	63
1.1. INTRODUÇÃO .....	65
1.2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	68
1.2.0. Isolados de <i>Phytophthora</i> spp. ....	68
1.2.1. Caracterização morfológica e fisiológica .....	68
1.2.2. Identificação de grupos de compatibilidade .....	70
1.2.3 Resistência a metalaxil .....	70
1.2.4. Avaliação da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados .....	71
1.2.5 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR UTILIZANDO SEQÜENCIAMENTO DA REGIÃO ITS 1, 5.8 S E ITS 2 DO RDNA .....	74
1.3. RESULTADOS .....	79

1.3.1. Caracterização morfológica e fisiológica.....	79
1.3.2 Identificação de grupos de compatibilidade .....	93
1.3.3 Identificação de grupos de resistência a metalaxil.....	95
1.3.4 Patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados.....	100
1.3.5. Caracterização molecular utilizando seqüenciamento da região ITS 1, 5.8S e ITS 2 do rDNA. ....	114
1.3.5. Caracterização molecular utilizando seqüenciamento da região ITS 1, 5.8S e ITS 2 do rDNA. ....	114
1.4. DISCUSSÃO.....	125
1.4.1. Caracterização morfológica e fisiológica.....	125
1.4.2. Identificação de grupos de compatibilidade .....	127
1.4.3. Identificação de grupos de resistência a metalaxil.....	129
1.4.4. Patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados.....	130
1.4.5 Caracterização molecular utilizando seqüenciamento da região ITS 1, 5.8S e ITS do rDNA. ....	134
1.6. LITERATURA CITADA.....	137
CAPÍTULO 2 .....	146
RESUMO DO CAPÍTULO 2.....	147
ABSTRACT.....	149
2.1 INTRODUÇÃO.....	151
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	155
2.2.0 Produção de inóculo e inoculação.....	155
2.2.1. Reação de genótipos de <i>Lycopersicon</i> spp. à <i>Phytophthora capsici</i> .....	155
2.2.2 Reação de genótipos de <i>Cucurbita</i> spp. a <i>P. capsici</i> .....	156
2.2.3. Reação de genótipos de melão ( <i>Cucumis melo</i> ) a <i>P. capsici</i> .....	157
2.2.4 Efeito da idade de plantas em cultivares comerciais de cucurbitáceas e solanáceas na resistência a <i>P. capsici</i> . ....	157
2.2.5. Círculo de hospedeiros pertencentes às famílias <i>Cucurbitaceae</i> e <i>Solanaceae</i> .....	158
2.3. RESULTADOS .....	159
2.3.1. Reação de genótipos de <i>Lycopersicon</i> spp. à <i>Phytophthora capsici</i> . ....	159
2.3.2 Reação de genótipos de <i>Cucurbita</i> spp. a <i>Phytophthora capsici</i> .....	172
2.3.3. Reação de genótipos de melão ( <i>Cucumis melo</i> ) a <i>Phytophthora capsici</i> . ....	186
2.3.4. Efeito da idade da planta em genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas na resistência a <i>Phytophthora capsici</i> .....	188
2.4 DISCUSSÃO .....	198
2.4.1. Reação de genótipos de <i>Lycopersicon</i> spp. a <i>Phytophthora capsici</i> .....	198
2.4.2 Reação de genótipos de <i>Cucurbita</i> spp. à <i>P. capsici</i> .....	199
2.4.3. Reação de genótipos de melão ( <i>Cucumis melo</i> ) a <i>P. capsici</i> .....	200
2.4.4 Efeito da idade da planta em cultivares comerciais de cucurbitáceas e solanáceas na resistência a <i>P. capsici</i> . ....	201
2.4.5. Círculo de hospedeiros pertencentes às famílias <i>Cucurbitaceae</i> e <i>Solanaceae</i> .....	202
2.6 LITERATURA CITADA:.....	206

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dimensões ( $\mu\text{m}$ ) de estruturas assexuais e sexuais de <i>Phytophthora capsici</i> , descritas por diferentes autores.....	24
Tabela 1.1. Características dos isolados de <i>Phytophthora capsici</i> utilizados na caracterização e estudos de filogenia molecular.*.....	77
Tabela 1.2. Distribuição da frequência relativa (%) das amplitudes dos comprimentos do pedicelo dos diferentes isolados e suas hospedeiras.....	84
Tabela 1.3. Porcentagem de incidência dos formatos dos esporângios de diferentes isolados <i>Phytophthora capsici</i> oriundos de pimentão. ....	87
Tabela 1.4. Padrão morfológico das colônias e tipo de micélio dos isolados de <i>Phytophthora capsici</i> . ....	89
Tabela 1.5. Progresso do crescimento micelial expresso pela área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e taxa de crescimento de isolados de <i>Phytophthora</i> em meio suco de tomate (St).....	90
Tabela 1.6. Distribuição por hospedeiro do número de isolados em grupos de compatibilidade nos estados brasileiros. ....	94
Tabela 1.7. Sensibilidade de isolados de <i>Phytophthora</i> a metalaxil expressa pela porcentagem de crescimento (% Cresc.) em meio de cultura contendo 100 ppm de metalaxil, comparado ao meio testemunha sem o fungicida e pelo $EC_{50}$ (concentração do produto capaz de inibir 50 % do crescimento) e classificação da sensibilidade segundo três critérios (Cr1, Cr2 e Cr3) diferentes de classificação (S- sensível, I-intermediário e R-resistente). ....	98
Tabela 1.8. Área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no primeiro lote de avaliação.....	101
Tabela 1.9. Área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no segundo lote de avaliação. ....	102
Tabela 1.10. Área abaixo da curva de progresso do comprimento lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no terceiro lote de avaliação. ....	103
Tabela 1.11. Área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no quarto lote de avaliação. ....	105
Tabela 1.12. Área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no quinto lote de avaliação. ....	106

Tabela 1.13. Médias de incidência e severidade transformados dos isolados inoculados em genótipos resistentes, intermediários e suscetíveis de <i>Capsicum annuum</i> e <i>Lycopersicon esculentum</i> .	109
Tabela 1.14. Médias da incidência e severidade transformadas ( $\log(x+10)$ ) dos genótipos de <i>Capsicum annuum</i> e <i>Lycopersicon</i> spp.	111
Tabela 1.15. Incidência de murcha de fitóftora (valores originais) causada pelos isolados de pimentão, berinjela, tomate, pimenta e cacau em cultivares de tomate e pimentão aos seis dias após a inoculação.	112
Tabela 1.16. Severidade de murcha de fitóftora (valores originais) causada pelos isolados de pimentão, berinjela, tomate, pimenta e cacau em cultivares de tomate e pimentão aos seis dias após a inoculação.	112
Tabela 1.17. Agrupamento de sequências idênticas via alinhamento pelo método Clustal.	114
Tabela 1.18. Agrupamentos e sub-agrupamentos de seqüências do final da região 5,8S e região ITS 2 de isolados de <i>Phytophthora</i> analisados e dos isolados do Gene Bank.	116
Tabela 1.19. Resumo dos caracteres morfológicos, biológicos e moleculares dos isolados de <i>Phytophthora</i> analisados*.	121
Tabela 2.1. Suscetibilidade do primeiro lote de avaliação de genótipos de <i>Lycopersicon</i> spp ao grupo de compatibilidade A1 e A2.	159
Tabela 2.2. Distribuição dos genótipos de <i>Lycopersicon</i> nos grupos de reação inoculados com isolados de grupo de compatibilidade A1 e A2 no lote 1.	161
Tabela 2.3. Distribuição das espécies de <i>Lycopersicon</i> e outras plantas incorporadas no estudo, nos grupos de reação quando inoculados com o grupo de compatibilidade A1 e A2 no lote 1*.	163
Tabela 2.4. Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de <i>Lycopersicon</i> inoculados com isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A1 e A2 pertencentes no segundo lote.	165
Tabela 2.5. Distribuição dos genótipos nos grupos de reação inoculados com isolados de grupo de compatibilidade A1 e A2 de <i>P. capsici</i> no segundo lote de avaliação.	168
Tabela 2.6. Distribuição das espécies de <i>Lycopersicon</i> e outras plantas incorporadas no estudo, nos grupos de reação quando inoculados com o grupo de compatibilidade A1 e A2 no segundo lote de avaliação*.	170
Tabela 2.7. Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de <i>Cucurbita maxima</i> e <i>C. moschata</i> inoculados com isolados de <i>P. capsici</i> pertencentes ao grupo de compatibilidade A1 e A2 pertencentes no primeiro lote.	172
Tabela 2.8. Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de <i>Cucurbita maxima</i> e <i>C. moschata</i> inoculados com isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1 no segundo lote de avaliação.	175

Tabela 2.9. Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de <i>Cucurbita maxima</i> e <i>C. moschata</i> inoculados com isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A1 e A2 pertencentes no terceiro lote.....	178
Tabela 2.10. Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de <i>Cucurbita maxima</i> e <i>C. moschata</i> inoculados com isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1 no quarto lote de avaliação.....	180
Tabela 2.11. Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de melão ( <i>Cucumis melo</i> ) inoculados com isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1.....	186
Tabela 2.12. Médias da incidência transformada de <i>P. capsici</i> da doença avaliada entre genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas. ....	190
Tabela 2.13. Classificação dos genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas inoculados com <i>P. capsici</i> em grupos de reação nos diferentes estádios fenológicos (dap – dias após o plantio). ....	193
Tabela 2.14. Progresso da incidência da doença, graus de reação e classificação dos acessos de cucurbitáceas e solanáceas quanto à suscetibilidade a <i>P. capsici</i> *.....	195

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Centros de origens das principais hortaliças incluindo aquelas que podem ser infectadas por *P. capsici* (Editado e Adaptado de California Agriculture). ..... 15
- Figura 2. Estruturas assexuais de *Phytophthora capsici*. A. Emissão de emaranhado do esporângioforos após infecção na superfície de frutos de pimentão em microscópio estereoscópico. B. Detalhe da emissão de esporangióforo (seta). C. Proliferação simpodial do esporangióforo vista em microscópio estereoscópico; D. Esporângioforos com proliferação simpodial e esporângios visto em contraste de fase; E. Esporângios papilados (seta); F. Clamidósporo encontrado no isolado Pcp 3; G. Esporangióforo e esporângio; H. Esporângios em início de diferenciação dos zoósporos; I. Esporângio rompido antes da maturação completa do zoósporos.; J. zoósporo encistado formando tubo germinativo bifurcado (seta); K. esporângio bipapilado..... 23
- Figura 3. Sintomatologia de um isolado de *Phytophthora* (Pcp 65) em frutos de hortaliças aos 6 dias após a inoculação (dai). A. pimentão, B. abóbora, C. berinjela, D. tomate, E. pepino, F. chuchu, G. cenoura, H. jiló, I. maçã. .... 39
- Figura 4. Esquema dos três genes do rDNA e regiões de espaçamento interno (ITS) e intergênicas (IGS), e as setas representam primers universais que amplificam regiões codificantes e não codificantes (White *et al.*, 1990). ..... 44
- Figura 1.1. Distribuição de frequência de comprimento (C), largura (L) e relação C:L entre 72 isolados de *Phytophthora* oriundos de hortaliças. .... 81
- Figura 1.2. Médias + desvios padrões da profundidade de papila dos isolados de *P. capsici* oriundos de pimentão, tomate, abóboras, berinjela, jiló e um pertencente ao *P. nicotianae* (Phyt. Nicot). ..... 82
- Figura 1.3. Médias + desvios padrões do comprimento do pedicelo de isolados de *Phytophthora capsici*. \* ..... 83
- Figura 1.4. Médias + desvio padrão do diâmetro (D) do oogônio de isolados de pimentão, tomate e abóbora. .... 86
- Figura 1.5. Distribuição dos grupos de compatibilidade de 104 isolados de *Phytophthora* por hospedeira de origem. .... 93
- Figura 1.6. Distribuição de frequência das amplitudes das porcentagens de crescimento de 92 isolados de *Phytophthora capsici* após seis dias de incubação em meio de cultura contendo 100 ppm de metalaxil. .... 96
- Figura 1.7. Distribuição de frequência das amplitudes das porcentagens de crescimento de 92 isolados de *Phytophthora capsici* após seis dias de incubação em meio de cultura contendo 10 ppm de metalaxil. .... 96
- Figura 1.8. Progresso do comprimento da lesão (mm) dos isolados com maiores e menores áreas abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) nos cinco lotes de avaliação. .... 108
- Figura 1.9. Médias de incidência e severidade nos genótipos de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon* spp (TS-tomate suscetível, TI-tomate intermediário, TR-tomate resistente, PS-pimentão suscetível e PR-pimentão resistente). ..... 110

Figura 1.10. Gel de agarose do produto de PCR de alguns isolados de <i>Phytophthora</i> e alguns outros gêneros fúngicos analisados, utilizando os primers universais ITS 4 e ITS 6 do rDNA. ....	118
Figura 1.11. Agrupamento de isolados de <i>Phytophthora</i> de hortaliças baseado no alinhamento da porção final do gene 5,8S e a região ITS 2 pelo método Clustal. ....	119
Figura 1.12. Consenso de 1000 árvores obtidas por parsimônia e baseada na sequência das regiões ITS 1 e 2 e o gene 5,8 S (A porcentagem após 1000 repetições pelo método Bootstrap é dada em cada clade). ....	120
Figura 2.1. Distribuição de frequência da reação de genótipos de <i>Cucurbitaceae</i> nos diferentes lotes de avaliação. A. primeiro lote, B. segundo lote, C. terceiro lote e D. quarto lote...	185
Figura 2.2. Médias da incidência (transformada por log x+10) de <i>P. capsici</i> em todos os genótipos avaliados nos estádios de crescimento. ....	189
Figura 2.3. Médias da incidência transformada (log x+10) dos genótipos comerciais de solanáceas e cucurbitáceas pertencentes às quatro idades de plantio (10, 20, 30 e 40 dap), inoculados com <i>Phytophthora capsici</i> . ....	191
Figura 2.4. Dendrograma de agrupamento dos genótipos inoculados com <i>P. capsici</i> em diferentes dias após o plantio, avaliados a partir do segundo dia após a inoculação.....	192
Figura 2.5. Sintomatologia de novas hospedeiras por <i>P. capsici</i> . A. e B. Maria pretinha C. e D. Tomate de árvore, E. Croá, F. Jurubeba Bahiana G. Pimenta Cumari. ....	197

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.1 Comprimento (C), largura (L) e relação C/L dos esporângios de isolados de <i>Phytophthora</i> oriundos de pimentão, tomate, abóbora, berinjela, jiló, cacau, mandioca e seringueira (médias + desvio padrão).....	141
Anexo 1.2. Médias (valores originais) do comprimento ( $\mu\text{m}$ ), largura ( $\mu\text{m}$ ) e relação C:L de isolados de <i>Phytophthora</i> *.....	142
Anexo 1.3. Profundidade da papila de alguns isolados de <i>Phytophthora</i> . ....	144
Anexo 1.4. Médias do comprimento do pedicelo dos esporângios de <i>Phytophthora</i> . ....	145
Anexo 1.5. Comparação das médias dos diâmetros dos oósporos de isolados de tomate pimentão e abóbora.....	145

## RESUMO GERAL DA TESE

### **Caracterização fenotípica e molecular de isolados de *Phytophthora capsici* de hortaliças e expressão e prospecção da resistência em *Cucurbitaceae* e *Solanaceae*.**

Este trabalho descreve: (a) a diversidade de isolados brasileiros de *Phytophthora* de hortaliças usando-se marcadores fenotípicos e moleculares, e (b) a distribuição e identificação de resistência em *Lycopersicon* spp., *Cucurbita* spp. e *Cucumis melo*. Determinou-se ainda o efeito do estágio fenológico na expressão da resistência e identificaram-se novas hospedeiras. Na primeira parte do trabalho, a partir de uma coleção de 193 isolados de pimentão, tomate, abóbora, berinjela, jiló, cacau, pimenta-do-reino e seringueira, coletados nas cinco regiões geográficas do Brasil, fez-se a caracterização morfológica das estruturas sexuais e assexuais dos isolados, identificação do grupo de compatibilidade, identificação da resistência a metalaxil, avaliação da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados em frutos de pimentão e em plântulas de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon* spp., bem como o seqüenciamento das regiões ITS e do gene 5.8S. O esporângio de todos os isolados estudados variou de piriforme clavado a limoniforme. O comprimento do pedicelo foi de 38 a 45  $\mu\text{m}$  e as colônias mostraram-se estelares a rosiformes. A caracterização morfológica e fisiológica dos isolados demonstrou padrões consistentes para a espécie *P. capsici*, com alguns isolados diferenciados. O grupo de compatibilidade predominante na coleção foi o A1. O grupo de compatibilidade A2 foi mais freqüente na região Sul do Brasil. Os resultados indicaram que no Brasil não é comum o cruzamento sexual em *P. capsici*. A maioria dos isolados mostrou-se sensível a metalaxil em baixas doses. A concentração efetiva média capaz de inibir o crescimento em 50% foi de 1,39  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para os isolados classificados como sensíveis e 15,08  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para os isolados considerados de sensibilidade intermediária a metalaxil. Nenhum isolado foi classificado como resistente. É possível que isto se deva ao fato de que no Brasil metalaxil não venha sendo utilizado tão intensamente para controle de oomicetos como em outros países. Isolados da região Sul apresentaram-se como menos sensíveis a metalaxil.

Todos os isolados analisados foram patogênicos em frutos de pimentão, mas alguns isolados como os de seringueira mostraram sintomas menos severos. A agressividade em frutos de pimentão não foi um indicador da especificidade do isolado ao hospedeiro de origem. Todos os isolados inoculados foram virulentos em plântulas de pimentão, contudo apresentaram agressividades variáveis. Os isolados estudados foram altamente agressivos aos genótipos de tomate incluindo isolados oriundos de pimentão. O isolado oriundo de pimenta-do-reino (Pci 8) foi virulento em plântulas de pimentão e tomate, contudo sua agressividade foi menor que a dos demais. Os resultados do seqüenciamento da região ITS 2 confirmaram dados morfológicos, separando os isolados em três grupos: 1) *P. capsici*, 2) *P. nicotianae* e 3) *P. tropicalis*. A homologia de seqüências e a análise filogenética apoiou a separação de *P. tropicalis*, *P. nicotianae* e *P. capsici*, com a grande maioria classificada como *P. capsici*. Todas as espécies são consideradas causadoras de podridão do colo e frutos em hortaliças e a expressão da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados ocorreu de forma diferenciada em frutos e plântulas.

Na segunda parte do trabalho, 152 genótipos de *Lycopersicon*, 376 genótipos de *Cucurbita* e 74 genótipos de *C. melo* foram inoculados com dois isolados de *P. capsici* dos grupos de compatibilidade A1 e A2, pela deposição de 3 mL de suspensão de zoósporos na concentração de  $5.10^4$  no colo das plântulas. Foi avaliada a incidência da doença em três períodos de leitura. Em outros experimentos foram analisadas as reações de 41 cultivares comerciais de *Cucurbita*, *Citrullus lanatus*, *C. melo*, *Lycopersicon* e *Capsicum annum* inoculadas com *P. capsici* aos 10, 20, 30 e 40 dias de idade. Por fim, foi analisada a suscetibilidade de 19 acessos de cucurbitáceas e solanáceas nativas quanto a um isolado de *P. capsici*. Observou-se a reação diferencial dos genótipos de *Lycopersicon* e *Cucurbita* aos isolados pertencentes aos dois grupos de compatibilidade de *P. capsici*. A reação de *Lycopersicon* a *P. capsici* foi separada por espécie com maior freqüência de suscetíveis nos acessos de *L. peruvianum* e a resistência nos acessos de *L. esculentum*. Não foram detectados

níveis adequados de resistência nos acessos de *Cucurbita*. Aparentemente a expressão da resistência a *P. capsici* em genótipos de abóboras é mais influenciada pelo ambiente. Dentre as espécies de cucurbitáceas avaliadas, o gênero *Cucumis* apresentou maior frequência de genótipos resistentes que *Cucurbita*. Entre as três espécies de *Cucurbita* avaliadas, *C. moschata* apresentou maior número de genótipos resistentes (R). O período mais crítico para infecção de *P. capsici* em genótipos de pimentão, tomate, abóbora, melancia e melão foi de 10 a 15 dias após o plantio. Inoculados 10 dias após o plantio (dap) os genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas tiveram em sua maioria classificação no grupo Suscetível-S (69%); aos 20 dap a resistência distribuiu-se entre as classes R (40%) e S (44%); por fim, a partir dos 30 dias, 56% dos genótipos foram classificados como R à *P. capsici*. As novas hospedeiras classificadas como suscetíveis à inoculação artificial de *P. capsici* foram *Sicana odorifera* (Croá), *Nicandra physaloides* (fisalis), *Capsicum praetermissum* (pimenta cumari), *Cyphomandra betacea* (tomate de árvore), *Solanum paniculatum* (jurubeba bahiana) e *Solanum americanum* (Maria pretinha).

**Palavras-chaves:** caracterização, diversidade, murcha de fitofitora, abóbora, pimentão, tomate, *Capsicum annuum*, *Lycopersicon spp.*, *Cucurbita moschata*, *C. maxima*, *Cucumis melo*, *C. pepo*, resistência genética.

## THESIS ABSTRACT

### **Phenotypic and molecular characterization of *Phytophthora capsici* from vegetable crops and search and expression of genetic resistance in *Cucurbitaceae* and *Solanaceae***

This thesis describes (a) the diversity of *Phytophthora* isolates from vegetable crops in Brazil using phenotypic and molecular markers, and (b) the distribution and identification of resistance in *Lycopersicon* spp., *Cucurbita* spp. and *Cucumis melo*. In addition, the effect of plant phenology on the expression of host genetic resistance was studied, and finally, new hosts were identified. Characterization studies were conducted in a collection of 193 isolates from *Capsicum annuum*, *Lycopersicon esculentum*, *Cucurbita* spp., *Solanum melongena*, *Solanum gilo*, *Piper nigrum*, *Theobroma cacao* and *Hevea brasiliensis* collected from widely separated geographic areas in Brazil. The morphology and morphometrics of sexual and asexual structures, compatibility group, metalaxyl resistance, pathogenicity, aggressiveness and virulence to sweet pepper fruits and to sweet pepper and tomato plantlets were studied, and compared to molecular data derived from the sequencing of ITS region and the 5.8S gene. All isolates studied had clavate piriform to lemoniform sporangia, with pedicels varying from 38 to 45  $\mu$  and stelate to rosiform colonies. Morphologic and physiologic characterization of isolates demonstrated that most of them conformed to the taxon *P. capsici*, with some few exceptions. The most prevalent compatibility group was A1, while the group A2 prevailed in the Southern region. Results indicate that sexual reproduction is presently rare in Brazil. Most isolates were sensitive to metalaxyl in low dosages. Effective dosage for 50% inhibition of mycelial growth was 1.39  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  for isolates classified as sensitive, and 15.08  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  for isolates grouped as of intermediate sensitivity to metalaxyl. No isolate was classified as resistant. High prevalence of sensitive isolates may be due to the fact that in Brazil metalaxyl was not as widely used as a single active principle against oomycetes, as in other countries where resistance is more commonly found. Southern region isolates were the least sensitive to metalaxyl. All isolates tested were pathogenic to sweet pepper fruits, but some (as the *Hevea*

*brasiliensis* isolate) were less aggressive. Generally, however, aggressiveness to sweet pepper fruits had no relation to the host from which the isolate was originally found. All isolates were pathogenic to sweet pepper plantlets, but varied in their aggressiveness to pepper and tomato cultivars. All isolates were highly aggressive to tomato genotypes, including the isolates from sweet pepper. The isolate from *Piper nigrum* (Pci 8) was virulent to tomato and pepper plantlets, but its aggressiveness was lower than the others. ITS 2 sequencing confirmed morphological data, separating the isolates in three taxa: 1) *P. capsici*, 2) *P. nicotianae* and 3) *P. tropicalis*. Sequence homology and phylogenetic analysis supported separation of *P. tropicalis*, *P. nicotianae* and *P. capsici*, and the majority of isolates was identified as *P. capsici*. All three species are classified as crown and fruit pathogens of vegetable crops. Pathogenicity, aggressiveness and virulence of isolates was different in fruits and plantlets.

In the second part of the thesis, 152 genotypes of *Lycopersicon*, 376 genotypes of *Cucurbita* and 74 genotypes of *C. melo* were inoculated with 2 *P. capsici* isolates from compatibility groups A1 and A2. Inoculation was by deposition of a 3 mL zoospore suspension of  $5.10^4$  zoospores/mL next to the plantlet crown. Disease incidence was evaluated at three points in time. In other experiments, the reaction of 41 commercial cultivars of *Cucurbita*, *Citrullus lanatus*, *C. melo*, *Lycopersicon* and *Capsicum annuum* inoculated 10, 20, 30 and 40 days after planting was examined. Finally, the susceptibility of 19 accesses of native *Cucurbitaceae* and *Solanaceae* were studied. Reaction of *Lycopersicon* to *P. capsici* was differentiated by host species: *L. peruvianum* genotypes were mostly susceptible, while *L. esculentum* genotypes were more frequently resistant. Significant levels of resistance were not detected among *Cucurbita* accesses, and apparently, the expression of resistance against *P. capsici* in *Cucurbita* varies with the environment. Among all *Cucurbitaceae* studied, the genus *Cucumis* had most genotypes resistant to *P. capsici*. Among the three *Cucurbita* species evaluated, *C. moschata* had the higher number of resistant genotypes. Most critical period for *P. capsici* infection of all hosts studied was 10-15 days after planting (dap). When inoculated

10 dap, commercial cucurbitaceous and solanaceous genotypes were usually (69%) classified as susceptible (S); at 20 dap genotypes were more evenly distributed as resistant (R, 40%) and S (44%); finally, after 30 dap, 56% of the genotypes were classified as R. New hosts of *P. capsici* identified in this study, following artificial inoculation are *Sicana odorifera*, *Nicandra physaloides*, *Capsicum praetermissum*, *Cyphomandra betacea*, *Solanum paniculatum* and *Solanum americanum*.

**Key-words:** characterization, diversity, *Phytophthora* wilt, host genetic resistance.

## INTRODUÇÃO GERAL

Um avanço significativo na produção de hortaliças no Brasil ocorreu a partir da década de 1970, quando a produção de 6,8 milhões de toneladas (728,5 mil ha) saltou para 15 milhões (802,4 mil ha) em 2001. Dentre as hortaliças cultivadas no Brasil, o pimentão, o tomate e as abóboras merecem destaque pelo importante papel na geração de empregos e renda para o país (Embrapa, 2003).

Essas culturas sofrem severas perdas de produção por epidemias causadas por *Phytophthora capsici* Leonian. Este oomiceto é um patógeno de solo com ampla gama de hospedeiros que incluem espécies cultivadas, nativas, plantas de hábito de crescimento herbáceo ou arbóreo em várias famílias botânicas. Dentro de uma ampla gama de espécies hospedeiras que são afetadas pela murcha-de-fitóftora (*P. capsici*), as Solanáceas e as Cucurbitáceas são consideradas as famílias botânicas com maior número de hospedeiros de importância econômica (Erwin & Ribeiro, 1996 e Matsuoka & Vanetti, 2001).

O principal sintoma da doença causada por *P. capsici*, é a murcha de pimentão (*Capsicum annuum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), berinjela (*Solanum melongena* L.) e abóboras (*Cucurbita maxima* L., *C. pepo* L. e *C. moschata* Duch). Além disso, causa o tombamento de mudas e plântulas manchas foliares, lesões caulinares, podridão de frutos, raízes, colo e coroa (Ansani & Matsuoka, 1983; Matsuoka & Vanetti, 2001 e Ristaino & Johnston, 1999). O patógeno foi descrito originalmente em pimentão por Leonian (1922), no Novo México, EUA, recebendo desde então algumas propostas de mudanças nomenclaturais, geralmente não acatadas pela comunidade científica, sendo que atualmente o que prepondera é a designação de Leonian.

Diferentes populações do patógeno apresentam variabilidade morfológica, fisiológica e genética, especialmente quando ocorre a reprodução sexuada. Esta só acontece quando estão presentes os dois grupos de compatibilidade denominados de A1 e A2, originando oósporos. Esses esporos são estruturas de resistência, os quais garantem a sobrevivência do patógeno,

por longos períodos. Entretanto, mesmo na ausência de oósporos são frequentemente observadas epidemias severas em cultivos sucessivos. A intensidade das epidemias varia com diversos fatores, entre eles as características genéticas dos isolados. Conseqüentemente, o monitoramento de populações e sua caracterização fenotípica e molecular são trabalhos importantes para um avanço no manejo desta doença tão devastadora. A utilização de marcadores fenotípicos (aspectos morfofoculturais, morfometria, relações patógeno-hospedeiros e comportamentos epidemiológicos) e moleculares (polimorfismo de bandas de rDNA e similaridade com seqüências típicas da espécie) auxiliam a determinar corretamente a ocorrência de grupos, subespécies ou até possivelmente novas espécies do patógeno no país. A resistência a fungicidas, especialmente a resistência a metalaxil, além de ser uma informação importante para o manejo da doença, é também um instrumento de diferenciação, caracterização e determinação de grupos em populações do patógeno.

A temperatura, estresse hídrico, concentração de inóculo, período de incubação, isolado fúngico, método de inoculação e a idade da planta, são os fatores mais importantes que atuam na expressão das doenças causadas por *P. capsici* (Ansani & Matsuoka, 1983; Malot & Mas, 1983; Barksdale *et al.*, 1984; Reifschneider *et al.*, 1986). Existe na natureza uma forte variação intraespecífica (Ristaino, 1990) entre isolados havendo alguns trabalhos de identificação de novos *strains* (Polach & Webster, 1972), e de variação morfológica e molecular (Oudemans *et al.*, 1994; Mchau & Coffey, 1995; Cerqueira *et al.*, 1999; English *et al.*, 1999; Faleiro *et al.*, 2003; Luz *et al.*, 2003; Roberts *et al.*, 2003; Fernandez-Pavia *et al.*, 2004; Camele *et al.*, 2005; Islam *et al.*, 2005; French-Monar *et al.*, 2006).

As estratégias de manejo para serem efetivas envolvem a integração de conhecimentos sobre a etiologia, ecologia, epidemiologia da doença e da biologia do patógeno e orientam a tomada de decisão no emprego de medidas de controle da doença (Ristaino & Johnston, 1999). As medidas de controle mais empregadas no campo são o uso de genótipos resistentes e uso de controle químico com produtos à base de metalaxil e mefenoxam (Ristaino &

Johnston, 1999; Fernandez-Pavia *et al.*, 2004) e o manejo cultural (Ristaino & Johnston, 1999). Tem-se relatado no mundo inúmeros casos de resistência ao metalaxil não somente em populações de *P. capsici* (Parra & Ristaino, 2001; Lamour & Hausbeck, 2000), mas também em várias outras espécies de oomicetos.

A resistência (R) genética e a suscetibilidade (S) de plantas hospedeiras foram estudadas em *Capsicum* (Reifschneider *et al.*, 1986; Alcantara & Bosland, 1993; Boiteux *et al.*, 1993; Ribeiro *et al.*, 1997; Jianhua *et al.*, 1998; Alao & Alegbejo, 1999; Alegbejo & Erinle, 1999, Ribeiro *et al.*, 2003), *Cucurbita* (Henz & Lima 1994; Lima & Henz, 1994;) e tomate, havendo uma maior suscetibilidade ao patógeno em genótipos de pimentão e abóbora do que genótipos de tomate. Possivelmente genes maiores atuem de forma mais decisiva na expressão da resistência em genótipos de tomate do que em pimentão e abóbora. Estudos de resistência nas quatro espécies de hortaliças hospedeiras, foco da maioria dos programas de melhoramento de pimentão, berinjela, tomate e abóbora, revelaram que a maior quantidade de acessos com resistência estável, encontra-se nas espécies do gênero *Lycopersicon*.

No Brasil, pouco se conhece sobre a resposta de espécies de cucurbitáceas e *Lycopersicon* a infecção por *P. capsici*. Em pimentão já foram realizados vários estudos e modelos gênicos que explicam a herança da resistência nesta cultura (Smith *et al.*, 1967; Reifschneider *et al.*, 1992; Wang & Wang, 1996), não havendo relatos, até o momento, de estudos desta natureza em tomate e cucurbitáceas.

No que se refere à caracterização dos isolados de *P. capsici*, os trabalhos geralmente seguem duas linhas distintas. Uma foca o estudo do comportamento epidêmico de populações do patógeno e a outra foca a identificação de possíveis variações taxonômicas entre grupos de isoaldos e suas implicações com a redução dos danos incidentes sobre a planta hospedeira.

No presente trabalho, foram considerados aspectos vinculados ao patógeno e outros referentes à planta hospedeira. Em termos do patógeno, foram caracterizados isolados oriundos de vários hospedeiros utilizando marcadores como: morfologia e morfometria de

estruturas do patógeno, identificação de grupos de compatibilidade, resistência a metalaxil e caracterização molecular. No que se refere à planta hospedeira, o trabalho visou à identificação de genótipos R e S, identificar aspectos da resistência associada à idade de plantio de cultivares comerciais de cucurbitáceas e solanáceas e círculo de hospedeiras.

Os objetivos gerais da tese são a caracterização fenotípica e molecular de isolados de *P. capsici* e o estudo da resistência em solanáceas e cucurbitáceas à murcha de fitóftora.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAO, S.E.L. & ALEGBEJO, M.D. Screening of pepper lines for resistance to *Phytophthora capsici* in Northern Nigeria. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 19:105-108. 1999.
- ALCANTARA, T.P. & BOSLAND, P.W. A seedling screening technique for foliar blight (*Phytophthora capsici*) of *Capsicum*. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 12:83-84. 1993.
- ALEGHEJO, M.D. & ERINLE, I.D. Screening of advanced breeding pepper lines for resistance to basal stem rot and wilt. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 19:109-110. 1999.
- ANSANI, C. & MATSUOKA, K. Sobrevivência de *Phytophthora capsici* no solo. *Fitopatologia Brasileira* 8:269-276. 1983.
- BARKSDALE, T.H., PAPAVIDAS, G.C. & JOHNSTON, S.A. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Disease* 68:506-509 1984.
- BOITEUX, L.S., CUPERTINO, F.P. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. *Capsicum chinense* PI 159236: a source of resistance to *Phytophthora capsici* and tomato spotted wilt virus (TSWV). *Capsicum & Eggplant Newsletter* 12:76. 1993.
- CAMELE, I., MARCONE, C. & CRISTINZIO, G. Detection and identification of *Phytophthora* species in southern Italy by RFLP and sequence analysis of PCR-amplified nuclear ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology* 113:1-14. 2005.
- CERQUEIRA, A.O., LUZ, E.D.M.N. & ROCHA, C.S.S. Caracterização morfológica e biométrica de alguns isolados de *Phytophthora* spp. da micoteca do centro de pesquisas de cacau. *Fitopatologia Brasileira* 24(2):114-119. 1999.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Disponível em :< <http://www.agrov.com/vegetais/hor/abobora> >, consultado em: novembro/2003.
- ENGLISH, J.T., LADAY, M. BAKONYI, J., SCHOELZ, J.E. & ERSEK, T. Phenotypic and molecular characterization of species hybrids derived from induced fusion of zoospores of *Phytophthora capsici* and *Phytophthora nicotianae*. *Mycological Research* 103(8):1003-1008. 1999.
- ERWIN, D.C. & RIBEIRO, O.K. *Phytophthora* Diseases Worldwide. St. Paul, Minnesota, USA, APS press. 1996. 562 pp.
- FALEIRO, F.G., LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O. & ROCHA, C.S.S. Uso de marcadores RAPD na classificação de isolados de *Phytophthora* spp. causadores de podridão parda do cacau no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 28(3):312-315. 2003.
- FERNADEZ-PAVIA, S.P., BILES, C.L., WAUGH, M.E., ONSURAEZ-WAUGH, K., RODRIGUEZ-ALVARADO, G. LIDDELL, C.M. Characterization of southern new México *Phytophthora capsici* Leonian isolates from pepper (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatologia* 22(1):82-89. 2004
- FRENCH-MONAR, R.D., JONES, J.B. & ROBERTS, P.D. Characterization of *Phytophthora capsici* associated with roots of weeds on Florida vegetable farms. *Plant Disease* 90:345-350. 2006.
- HENZ, G.P. & LIMA, M.F. Avaliação de fatores que afetam a reação de *Cucurbita* spp. a *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira* 19(4):560-565. 1994.
- ISLAM, S.Z., BABADOOST, M., LAMBERT, K.N., NDEME, A. & FOULY, H.M. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from processing pumpkin in Illinois. *Plant Disease* 89(2): 191-197 2005.
- JIANHUA, L. YUHONG, Y., WEI LIN & YEFANG, Z. Resistance to *Phytophthora* blight in hot pepper germoplasm. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 17:64-65. 1998.
- LAMOUR, K.H. & HAUSBECK, M.K. Mefenoxam insensitivity and the sexual stage of *Phytophthora capsici* in Michigan cucurbit fields. *Phytopathology* 90(4):396-400. 2000.

- LEONIAN, L.H. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology* 12:401-408. 1922.
- LIMA, M.F. & HENZ, G.P. Patogenicidade de isolados de *Phytophthora capsici* à abóbora e avaliação da resistência de genótipos de *Cucurbita* spp. *Horticultura Brasileira* 12:45-48. 1994.
- LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O., FALEIRO, F.G., DANTAS NETO, A., MATSUOKA, 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* 28(5):559-564. 2003.
- MALOT, P.M. & MAS, P. *Phytophthora capsici* Leon. influence de la temperature sur la accumulation du capsidiol et les variations de l'induction de résistance. *Agronomie* 3:39-44 1983.
- MATSUOKA, K. & VANETTI, C.A. Murcha ou requeima do pimentão e podridão de frutos de abóbora causados por *Phytophthora capsici*. In: LUZ, E.D.M.N., SANTOS, A.F., MATSUOKA, K. & BEZERRA, J.R. (Eds.) *Doenças causadas por Phytophthora no Brasil*. Livraria e Editora Rural Ltda. 2001. p. 509-559.
- MCHAU, G.R.A. & COFFEY, M.D. Evidence for the existence of two subpopulations in *Phytophthora capsici* and a redescription of the species. *Mycological Research* 99(1):89-102. 1995.
- OUDEMANS, P., FÖSTER, H. & COFFEY, M.D. Evidence for distinct isozyme subgroups within *Phytophthora citricola* and close relationships with *P. capsici* and *P. citrophthora*. *Mycological Research* 98(2):189-199. 1994.
- PARRA, G. & RISTAINO, J.B. Resistance to mefenoxam and metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight of bell pepper. *Plant Disease* 85(10):1069-1075. 2001.
- POLACH, F.J. & WEBSTER, R.K. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 62:20-26. 1972.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., BOITEUX, L.S., DELLA VECCHIA, P.T., KURODA, N. & POULOS, J.M. Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. *Euphytica* 62:45-49. 1992.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., CAFÉ FILHO, A.C. & RÊGO, A.M. Comparison of *Phytophthora capsici* inoculation techniques in sweet pepper. *Biological and Cultural Tests for Control of Plant Pathogens* 1:12. 1986.
- RIBEIRO, C.S., LOPES, CA & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Identification of sources of juvenile resistance in *Capsicum* spp. to *Phytophthora capsici*. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 16: 1011 1997.
- RIBEIRO, C.S.C, LOBO JR., M. HENZ, G. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Evaluation of *Capsicum* spp. genotypes for resistance to *Phytophthora capsici* in Brazil. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 22:125-126. 2003.
- RISTAINO, J.B. & JOHNSTON, S.A. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease* 83(12):1080-1089. 1999.
- RISTAINO, J.B. Intraspecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80(11):1253-1259. 1990.
- ROBERTS, P.D., McGOVERN, R.J., HERT, A., VAVRINA, C.S. & URS, R.R. *Phytophthora capsici* on tomato: survival, severity, age, variety, and insensitivity to mefenoxam. Disponível em: <<http://www.imok.ufl.edu/veghort/pubs/wokshop/roberts99.htm>>, Acessado em: outubro de 2003.
- SMITH, P.G., KIMBLE, K.A., GROGAN, R.G., & MILLET, A.H. Inheritance of resistance in pepper to *Phytophthora* root rot. *Phytopathology* 57:377-379. 1967.
- WANG, Y. & WANG, M. Inheritance of resistance to *Phytophthora* blight in hot pepper. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 15: 61-62. 1996.

## REVISÃO DE LITERATURA

### OS HOSPEDEIROS:

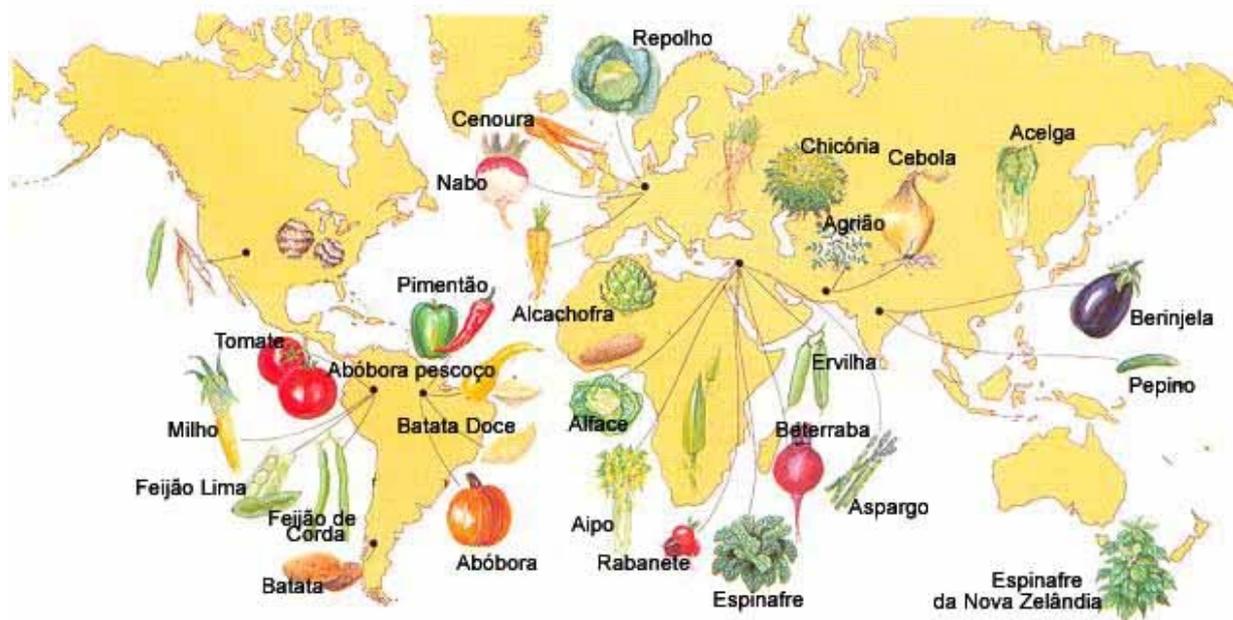
As hortaliças exercem um importante papel econômico, social e nutricional na cadeia produtiva de alimentos. No Brasil, no ano de 2001 a “Food and Agriculture Organization, FAO”, que estimou em uma área 802,4 mil ha que produziu 14,9 milhões de toneladas, com destaque para as culturas do tomate, batata e cebola que apresentaram as maiores produções, e as culturas da batata, melancia e cebola que tiveram as maiores participações em área cultivada (Hortaliças, 2006).

Os pimentões e pimentas pertencem à família *Solanaceae*, gênero *Capsicum*, e são originários das Américas. Poucos anos após o descobrimento, as pimentas já eram consumidas na Europa e plantadas na Índia. Atualmente é cultivada em todos os continentes, em regiões de clima tropical ou temperado. O gênero *Capsicum* compreende cinco espécies domesticadas: *C. annuum* L. (mais cultivada), *C. frutescens* L., *C. chinense* Jaq., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* Ruiz & Pavon. *Capsicum annuum* apresenta grande variabilidade genética e nela são encontrados os pimentões, alguns tipos de pimenta, e tipos ornamentais. É discutível o centro de diversidade, no entanto muitas publicações citam como sendo a América Central (Reifschneider, 2000).

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é originário da região ocupada hoje pelo Peru, Equador e Bolívia, tendo sido cultivado no México, de onde foi levado para a Europa. O emprego de tomate como alimento é hoje universal. Atualmente, a produção mundial é de 89,2 milhões de toneladas, sendo 25,4 milhões destinados ao processamento, gerando milhares de empregos diretos nos Estados Unidos, Itália, Grécia, Turquia, China, Espanha, Brasil, Rússia e outros países. Recentemente, inúmeras inovações tecnológicas no cultivo permitiram importantes aumentos dos índices de produtividade, seja em tomate de mesa ou indústria (Silva & Giordano, 2000).

A família *Cucurbitaceae* é constituída por cerca de 118 gêneros e mais de 775 espécies. No Brasil as espécies com maior expressão econômica pertencem aos gêneros *Cucurbita* (*Cucurbita maxima* Duch. ex Lam. – abóboras de pescoço, *C. pepo* - abobrinhas e *C. moschata* Duch. ex Poir. – abóboras morangas; além de *C. argyrosperma* e *C. ficifolia*), *Cucumis* (*C. melo* L. - melão e *C. sativus* L. - pepino), *Citrullus* (*C. lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai. – melancia), *Sechium* (*S. edulis* (Jacq.) Sw. – chuchu) e *Lagenaria* (*L. vulgaris* Ser. - cabaça). Desenvolvem-se adequadamente em regiões de clima subtropical a tropical. A maioria das espécies surgiram no México, mas algumas poucas, incluindo *C. maxima*, são nativas da América do Sul (Robinson & Decker-Walters, 1999).

Inúmeras hortaliças merecem destaque quanto aos seus aspectos alimentícios e nutricionais. Na Figura 1 podem ser observados os centros de origem de diversas hortaliças incluindo aquelas que são infectadas por *P. capsici* e por outras espécies deste oomiceto. Vale ressaltar nesta ilustração o fato do primeiro registro e descrição do patógeno *Phytophthora capsici* ter ocorrido no Novo México, EUA, e neste mesmo continente, tal como em países vizinhos, encontram-se os centros de origem de muitas hortaliças que são extremamente suscetíveis ao patógeno como o pimentão e tomate.



**Figura 1.** Centros de origens das principais hortaliças incluindo aquelas que podem ser infectadas por *P. capsici* (Editado e Adaptado de California Agriculture).

## A DOENÇA

A murcha-de-fitóftora ou requeima, causado por *Phytophthora capsici* Leonian, é uma doença devastadora em pimentão e cucurbitáceas em todo mundo. Em pimentão, a murcha de fitóftora foi primeiramente descrita no Novo México (EUA) em 1922 (Leonian, 1922). Recentemente tem-se notado severas epidemias nos EUA e outros países (Ristaino & Johnston, 1999). O patógeno é capaz de infectar as raízes, colo, caule, folhas e frutos de pimentão, tomate, abóbora, melão, melancia, abobrinha, abóbora moranga, entre outros. Os sintomas podem ser resumidos como tombamento de mudas e plantas, manchas foliares, lesões caulinares, podridão de frutos e raízes, além da podridão da coroa (Urban, 1980). Ristaino (1990) registrou que os sintomas em solanáceas e cucurbitáceas são representados por tombamento, lesão caulinar, queima foliar, necrose da coroa do colo.

Em pimentão, os sintomas mais comuns são: murcha generalizada na parte aérea, normalmente irreversível, associada à podridão e necrose da base do caule. Com o arranquio

de plantas infectadas, nota-se a presença de raízes de cor amarronzada, a epiderme e o córtex se destacam facilmente do cilindro central. A doença se desenvolve no sentido ascendente, finalizando com necrose do coleto e ramos. Dependendo da incidência de chuvas ou da forma de irrigação (sulco, aspersão ou gotejamento) a doença pode-se estender por toda área plantada. A necrose do coleto pode inicialmente ser verde escura, tornando-se amarronzada, circundando toda circunferência do caule (Luz *et al.*, 2001).

Nas abóboras, os sintomas atingem principalmente os frutos por estarem estes em contato direto com o solo. A lesão se inicia com uma mancha aquosa (anasarca), que cede à pressão dos dedos, sem cheiro característico de podridão e que, em dois a três dias, torna-se branco acinzentado devido a presença abundante de micélio, esporangióforos e esporângios. Esses esporângios, na presença de água líquida, diferenciam-se em zoósporos e através de água de irrigação ou de gotas de chuvas são dispersos e vão infectar plantas vizinhas. As folhas, raízes e caules também são afetados. As lesões da parte aérea normalmente são causadas por inóculo disseminado por respingos da água de chuva ou irrigação (Luz *et al.*, 2001).

No tomateiro os sintomas nas raízes e caules são similares aos do pimentão, a doença fica mais restrita ao colo e aos frutos de cultivares rasteiros. A planta atacada logo lança raízes adventícias que ajudam na sua recuperação. Nas podridões de frutos podem ser encontradas duas espécies de *Phytophthora* (*P. nicotianae* var. *parasitica* [= *P. parasitica*] e *P. capsici*). Perdas significativas são registradas em tomate para indústria, onde os frutos são infectados diretamente, devido ao contato com o solo (Café Filho & Duniway, 1995). Todas as partes de plantas de pimentão e cucurbitáceas podem ser atacadas pelo patógeno, mas o mesmo não ocorre em tomate, onde os sintomas são mais freqüentes incidem sobre o colo da planta (Urban, 1980).

As perdas ocasionadas pelo patógeno foram observadas em cultivos de pimentão e cucurbitáceas da Carolina do Norte, onde a murcha-de-fitóftora causa elevadas perdas quando

se utiliza irrigação por aspersão (Ristaino, 1990). Lamour & Hausbech (2003) relataram que na região do Arkansas River Valey, as perdas na produção de tomate nos anos de 1938 a 1940 chegaram a 50 % da produção. Satour e Butler (1967) registraram que as perdas em campos de tomate na Califórnia, EUA durante os anos de 1955 e 1965 foram devidas a *P. capsici* e *P. parasitica*. Ioannou & Grogan (1984) relataram que na Califórnia, que *P. capsici* ocorre esporadicamente, causando perdas inexpressivas em tomate industrial, e que *P. parasitica* é responsável por 85 % da queda de produção causada pela podridão do colo, mas esta situação atualmente alterou-se, elevando-se a importância de *P. capsici* nos campos de produção (Café Filho (2006) Comunicação pessoal). Já na Espanha (Andrés *et al.*, 2003) e Tunísia (Allagui & Lepoivre, 2000), tem-se registros de ocorrência de *P. nicotianae* B. de Hann causando perdas e epidemias da podridão do colo em pimentão.

Atualmente o patógeno encontra-se disseminado por todos os continentes com regiões de clima temperado e tropical, com exceção apenas do continente australiano (Irwin *et al.*, 1995). Contudo Shivas (1989) relatou a ocorrência em berinjela de *P. capsici* na Austrália.

No Brasil, a doença ocorre em todos os Estados onde se cultiva pimentão, ocorrendo epidemias de maior ou menor intensidade de acordo com a quantidade sazonal de chuvas .

O manejo da doença requer constantes mudanças das práticas culturais, rotação de cultura e uso de fungicidas seletivos (Ristaino & Johnston, 1999). Para abóbora, o manejo da irrigação tem excelentes resultados (Café Filho *et al.*, 1995). É baseado em práticas culturais que reduzam a condição de alta umidade do solo, associada com o monitoramento e redução dos propágulos do patógeno. Baseado no conhecimento da etiologia, ecologia, epidemiologia, biologia do patógeno e das características de cada hospedeiro podem-se gerar estratégias de manejo e controle da doença (manejo físico, químico e biológico) visando reduzir os severos danos causados por epidemias de *P. capsici* (Ristaino & Johnston, 1999). Outra medida importante é a utilização de cultivares resistentes. Entretanto são poucas as opções de genótipos de pimentão, pimenta e cucurbitáceas com boas características agrônômicas que

apresentem níveis adequados de resistência. A busca de fontes de resistência e sua incorporação em cultivares comerciais e estudos de herança, são caminhos promissores para obtenção de genótipos resistentes utilizados como medida de controle genético.

O patógeno é considerado de difícil controle pela quantidade de hospedeiros (Gubler & Davis, 1996) e pode sobreviver no solo na forma de oósporos, ou em restos culturais, na forma de micélio e esporângio por até 120 dias (Ansani, 1981).

## O PATÓGENO

Este oomiceto é uma espécie heterotática do gênero *Phytophthora* (Classe Oomicetos) que se reproduz sexual e assexuadamente. Na reprodução sexuada, *P. capsici* produz um gametângio masculino (anterídio), e um gametângio feminino (oogônio). Suas populações são representadas por indivíduos pertencentes a dois grupos de compatibilidade, denominados de A1 e A2. Os tipos de compatibilidade não refletem dimorfismo. Cada grupo de compatibilidade produz hormônios que são responsáveis pela diferenciação dos gametângios, quando em oposição ao grupo de compatibilidade complementar. O anterídio de *P. capsici* é definido como anfígeno. Na formação dos gametângios, ocorre a meiose, e com a fecundação a plasmogamia e a cariogamia, resultando assim a formação de oósporos diplóides. Entretanto, Uchida & Aragaki (1985) relatam que, em determinadas condições, alguns isolados produzem clamidósporos, o que não é típico para a espécie *sensu* Leonian (1922). Os oósporos podem germinar através da emissão de um tubo germinativo ou indiretamente via formação de esporângio.

Na reprodução assexuada, ocorre à formação dos esporângios, que nascem da ramificação dos esporangióforos na forma de umbelas (Erwin & Ribeiro, 1996). Eles são geralmente ovóides e possuem uma papila proeminente em seu ápice. Podem apresentar esporângios bi-papilados (Figura 2K). Os esporângios podem germinar diretamente (Figura 2 HI) ou indiretamente liberando zoósporos biflagelados (Figura 2 J), capazes de se moverem

em um filme de água na superfície da planta ou no solo quando ocorre estatus hídrico elevado, podendo assim atingir e infectar raízes e porções do colo das plantas. Nesta espécie os esporângios possuem alta caducidade facilmente se desprendem do esporangióforo (característica de especialização) (Figura 2G), sendo passíveis de dispersão através do vento, respingos da chuva e água de irrigação. A fonte de inóculo primário pode ser constituída por oósporos. A condição policíclica da doença (Ristaino & Johnston, 1999) é assegurada pela liberação repetitiva de inóculo constituído por massas de zoósporos produzidos e liberados em ciclos sucessivos.

Este patógeno infecta todos os órgãos das hospedeiras podendo ser disseminado pela água de superfície no filoplano, via respingo de chuva ou irrigação, ou via água corrente.

### **Taxonomia e classificação de *Phytophthora***

Alexopoulos *et al.* (1996) separa o Filo Oomycota (pertencente ao Reino Chromista) dos membros do Reino Fungi por uma série de características, entre as quais: a reprodução assexual ser por meio de zoósporos biflagelados (flagelo anterior maior com mastigonemas laterais, semelhante a uma pena, e o outro voltado para trás, menor, liso – tipo chicote); os flagelos dos zoósporos possuem características ultraestruturais peculiares. O talo é diplóide, porém na produção dos gametângios haplóides, designados anterídios e oogônio, ocorre meiose. A copulação oogonial resulta em um esporo de parede espessa, o oósporo, importante na sobrevivência do fungo. A parede celular dos Oomycota é composta de  $\beta$  1,3 e  $\beta$  1,6-glucanas contendo hidroxiprolina e microfibrilas de celulose como nos vegetais que possuem crescimento primário; os mitocôndrios possuem cristas tubulares; a síntese de lisina é via ácido diaminopimélico; requerem esteróis no meio de cultura; e por fim o armazenamento de energia é na forma de micolaminarinas.

No reino Chromista, o filo Oomycota é monofilético o qual abriga tanto biotróficos por excelência, ditos parasitas obrigatórios, quanto necrotróficos e sapróbios implicando por

um lado uma alta especialização e por outro uma pequena evolução quanto ao parasitismo em seu hospedeiro. Este filo acomoda uma classe denominada de Oomycetes, onde são aceitas as Ordens Leptomitales, Rhipidiales, Sclerosporales, Pythiales, Peronosporales e Saprolegniales. A Ordem Peronosporales abriga os gêneros de fungos fitopatogenicamente mais importantes (Dick, 1990), dividido em três famílias, *Pythiaceae*, *Peronosporaceae* e *Albuginaceae*. A primeira família inclui o gênero *Phytophthora*.

No Index Fungorum (2006) existem registradas 131 espécies de *Phytophthora* sem contar as variedades. Neste banco de dados as espécies de *Phytophthora* encontram-se associadas aos seguintes categorias taxonômicas: Família Pythiaceae, Ordem Pythiales, Classe Oomycetes, Filo Oomycota, Reino Chromista ou Straminipila .

Existe certa dificuldade em a identificar taxonomicamente a espécie de *Phytophthora* associada a certas hortaliças. Assim têm-se inúmeras sinonímias que representam a evolução na taxonomia da espécie, no caso para *P. capsici*, tem-se *P. hydrophyla* Curzi (1927), *P. parasitica* var. *capsici* (Leonian) Sarejanni (1936) e *P. palmivora* MF4 (Griffin, 1977). As três espécies mais próximas de *P. capsici*, *P. palmivora*, *P. tropicalis* e *P. nicotianae* são citadas logo abaixo:

***Phytophthora palmivora*** (E.J. Butler) E.J. Butler, Science Rep. Agric. Res. Inst. Pusa: 82 (1919) seus sinônimos são *P. arecae* (L.C. Coleman) Pethybr., Scientific Proc. R. Dublin Soc., N.S. 13: 555 (1913), *P. cactorum* var. *arecae* (L.C. Coleman) Sacc. & Trotter, (1912), *P. faberi* Maubl., (1909), *P. heveae* A.W. Thomps., Malay. Agric. Journal 17(3-4): 77 (1929), *P. omnivora* var. *arecae* L.C. Coleman, (1910), *P. palmivora* var. *heveae* (A.W. Thomps.) Orellana, Phytopathology 49: 213 (1959), *P. palmivora* var. *theobromae* (L.C. Coleman) Orellana, Phytopathology 49: 212 (1959), *P. theobromae* L.C. Coleman, Annls mycol. 8: 621 (1910), *Pythium palmivorum* E.J. Butler, (1907).

***Phytophthora tropicalis*** Aragaki & J.Y. Uchida, em Aragaki & Uchida, Mycologia 93(1):139 (2001) que é uma espécie nomeada a partir do tipo nomenclatural de *P. capsici*, não

possui sinônimos, e foi recentemente caracterizada infectando tecidos de *Macadamia integrifolia* Maid. & Bet. e outros hospedeiros perenes do Hawaii, não pertencentes às famílias *Solanaceae* ou *Cucurbitaceae*.

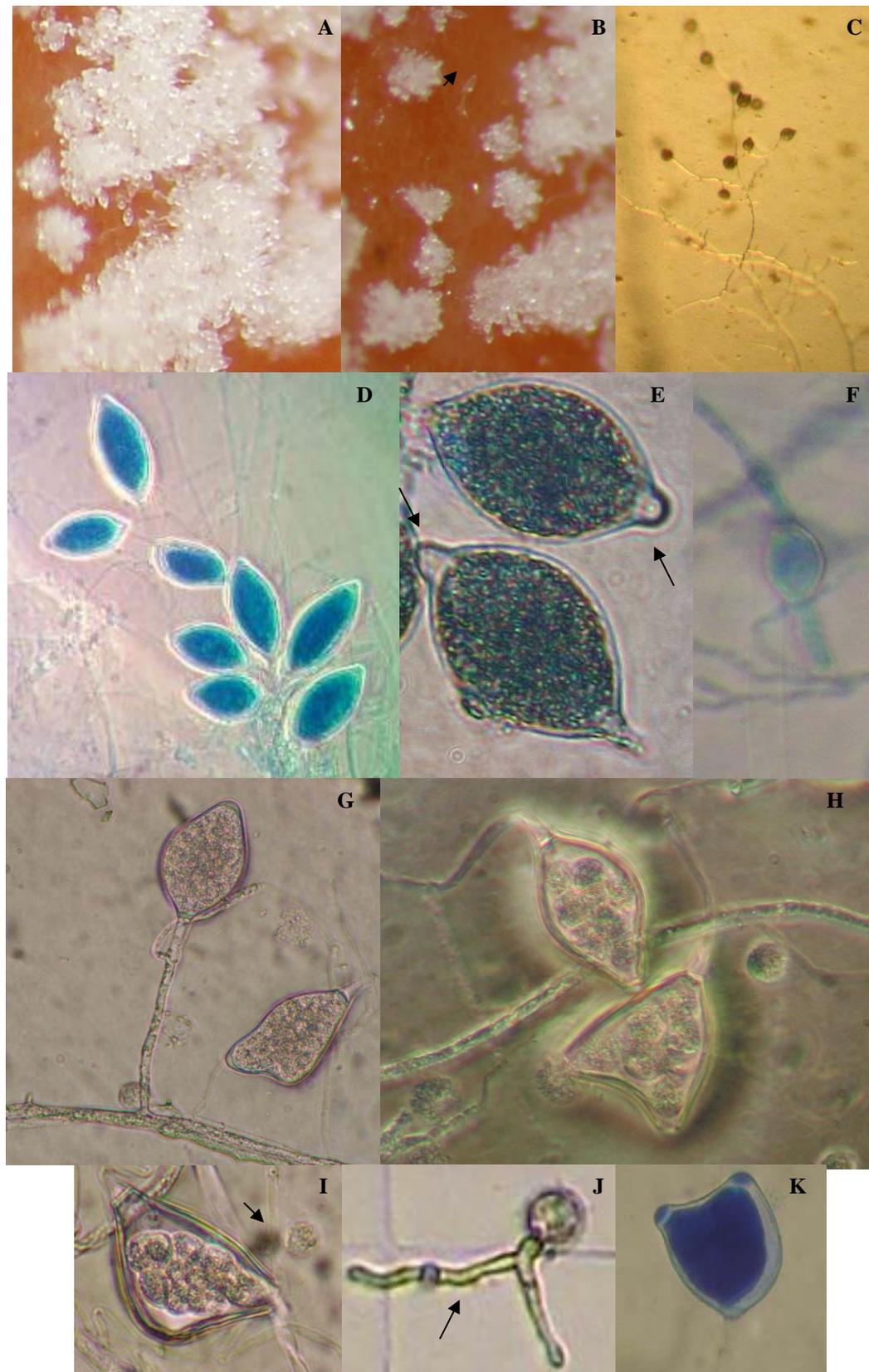
*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, Meded. Lds PITuin, Batavia 15: 57 (1896), possui como sinônimas *Blepharospora terrestris* (Sherb.) Peyronel, (1920), *Phloeophthora nicotianae* (Breda de Haan) G.W. Wilson, Mycologia 6: 80 (1914), *Phytophthora allii* Sawada, *P. formosana* Sawada, Agric. Mag., Formosa 38(4): 271 (1942), *P. imperfecta* var. *nicotianae* Sarej., Annals Inst. Phytopath. Benaki 2(1): 46 (1936), *P. lycopersici* Sawada, Agric. Mag., Formosa 38(2): 111 (1942), *P. manoana* Sideris, *P. melongenae* Sawada, (1915), *P. nicotianae* var. *parasitica* (Dastur) G.M. Waterh., Mycol. Pap. 92: 14 (1963), *P. parasitica* Dastur, Memoirs of the Dept. Agric. India, Bot. Ser. 5(4): 177-231 (1913), *P. parasitica* var. *nicotianae* Tucker, Research Bulletin, Miss. Agricultural Experimental Station 153: 173 (1931), *P. parasitica* var. *piperina* Dastur, (1935), *P. parasitica* var. *rhei* G.H. Godfrey, Journal of Agricultural Research 23:21 (1923), *P. ricini* Sawada, Agric. Mag., Formosa 38(3): 174 (1942), *P. tabaci* Sawada, Report of the Department of Agriculture, Government Research Institute of Formosa 27: 37-38 (1927), *P. terrestris* Sherb., Phytopathology 7: 127 (1917).

A primeira chave de Waterhouse (1963) não resolveu os problemas taxonômicos dos “complexos” *P. palmivora* (MF 1 a 4), *P. nicotianae-parasitica* e a dificuldade da separação dos táxons onde onde é presente a papila no esporângio. Newhook *et al.* (1978) propuseram uma nova chave apresentando os caracteres em forma tabular, onde mativeram os seis grupos propostos por Waterhouse (1963). O fungo *P. capsici* encontra-se no Grupo II desta chave, que tem como características ápice do esporângio arcadamente papilado, espeçamento apical com cinco  $\mu\text{m}$  de espessura, o poro de saída dos zoósporos é estreito ( $\leq 7\mu\text{m}$ ), esporângios abundantes em substrato sólido, geralmente descíduos, sem proliferação interna, oogônios com anterídios anfigenos.

As colônias são petalóides ou estreladas, com micélio aéreo denso (Figura 2), **esporangióforos** irregularmente ramificados (Figura 2C), ou de ramificação simpodial, **esporângios** caducos abundantes (Figura 2AB), medindo em média 30-53 x 18-35  $\mu\text{m}$  (Figura 2), com pedicelos longos (Figura 2) variando de 20-49  $\mu\text{m}$  de comprimento (média 36  $\mu\text{m}$  de comprimento) e papilas proeminentes (Figura 2E), podendo em alguns casos apresentarem-se como semi-papilados, **clamidósporos** raramente produzidos em isolados de pimentão (Figura 2F), quando presentes, medindo em média 28  $\mu\text{m}$  de diâmetro, reprodução heterotática, com ambos os tipos compatíveis presentes na população (A1 e A2); **oogônios** esféricos a subsféricos, 23 a 50  $\mu\text{m}$ ; hialinos a marrons, **oósporos** esféricos a subsféricos, 23-34  $\mu\text{m}$ , pleuróticos, de anterídio anfígeno, formado intra e interespecificamente (Waterhouse, 1963).

Na Tabela 1 podemos observar uma evolução das características morfométricas e os padrões das estruturas assexuais e sexuais de *P. capsici*. O valor padrão para a espécie, baseado nos dados da Tabela 1 foi de: 24-105 x 12-92  $\mu\text{m}$  para as dimensões do esporângio, 34,7-138,0  $\mu\text{m}$  para comprimento do pedicelo, 21-46  $\mu\text{m}$  para o diâmetro do oogônio e 18-43  $\mu\text{m}$  para o diâmetro do oósporo.

Influenciando o comportamento fisiológico de isolados de *P. capsici* a amplitude de temperaturas ótimas para crescimento incluem-se de 28 a 35 °C (Stamps, 1985). A temperatura ótima de crescimento testado para uma quantidade grande de isolados variou de 24 a 33 °C (Mchau & Coffey, 1995).



**Figura 2.** Estruturas assexuais de *Phytophthora capsici*. **A.** Emissão de emaranhado do esporângioforos após infecção na superfície de frutos de pimentão em microscópio estereoscópico. **B.** Detalhe da emissão de esporângioforos (seta). **C.** Proliferação simpodial do esporângioforos vista em microscópio estereoscópico; **D.** Esporângioforos com proliferação simpodial e esporângios visto em contraste de fase; **E.** Esporângios papilados (seta); **F.** Clamidósporo encontrado no isolado Pcp 3; **G.** Esporângioforos e esporângio; **H.** Esporângios em início de diferenciação dos zoósporos; **I.** Esporângio rompido antes da maturação completa do zoósporos.; **J.** zoósporo encistado formando tubo germinativo bifurcado (seta); **K.** esporângio bipapilado.

**Tabela 1.** Dimensões ( $\mu\text{m}$ ) de estruturas assexuais e sexuais de *Phytophthora capsici*, descritas por diferentes autores.

Características Morfológicas	Leonian, 1922 (Pimentão)	Tucker, 1931 (Pimentão)	Wiant & Tucker, 1940 (Melão)	Frezzi, 1950 (Pimentão)	Waterhouse 1963 (Pimentão)	Ershad, 1971 (Pimentão)	Kamjaipai & Ui, 1978 (Abóbora)	Lawrence <i>et al.</i> (1982)	Kröber (1985)	Tsao (1991)	Mchau & Coffey, 1995
Dimensões Esporângio	35-105(60) x (36)21-56	16-69(30) x (20,8)12-31	21,4(36,5) x (27,0)18-40,7	28-123(53,0) x (30,5)21,0-50,0	30-60x25-35	29-68(44,7) x (28,1)17-38	24-60(39,0) x 30-92,4(65,3)	60x36 $\mu\text{m}$	32-92(51.4) x (34.5)25-46	40-52(47.0) x (27.0)20-31	32-65 $\pm$ 5,8 x17,4-38-7 $\pm$ 3,8
$\Phi$ oogônio	ND	23.4-33.4	24.1-41.4(29.9)	29.5-46(36.2)	<39.0	21-50(31.8)	28.8-33.6(30.3)	ND	21-50(31.8)	27-43(33)	ND
$\Phi$ oósporo	25-35	20.9-29.2(24.9)	22.7-31.4(26.5)	25-42(31.5)	ND	18/43(28.8)	24.0-28.8(26.3)	ND	18-43(28.8)	22-37(28)	22-36.6 $\pm$ 2.9
C pedicelo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	34,7-138

$\Phi$  oogônio-diâmetro do oogônio,  $\Phi$  oósporo-diâmetro do oósporo; C pedicelo-comprimento do pedicelo; ND não determinado.

O corrente sistema de classificação do gênero *Phytophthora* (Waterhouse 1963 e 1970; Newhook *et al.* 1978; Stamps *et al.* 1990) classifica as espécies com base em características morfológicas tais como papilação e caducidade do esporângio, forma de agregação do anterídio, homotalismo ou heterotalismo, temperatura de crescimento, esporulação em meio de cultura, aspectos biológicos como especificidade a hospedeiros (testes de patogenicidade) e alguns caracteres fisiológicos como taxa de crescimento (Ribeiro, 1978; Stamps *et al.*, 1990; Ho, 1981; Stamps *et al.*, 1990 e Waterhouse *et al.*, 1983). Contudo persistem muitas incertezas na identificação de muitas espécies e designação dos táxons específicos, tais como os complexos *P. megasperma* e *P. palmivora*. A dificuldade resulta do limitado número de características morfológicas disponíveis para as espécies identificadas e a variabilidade das mesmas. A combinação destes métodos fenotípicos de identificação pode produzir uma identificação acurada, contudo o tempo consumido é elevado, e o rigor descritivo pode dificultar a interpretação (Brasier, 1991).

Brasier (1983) e Cerqueira *et al.* (1999) ressaltaram que muitas das características morfológicas utilizadas para identificação são plásticas, altamente influenciadas pelo ambiente, e estas mostram diferenças que dificultam a identificação das espécies, além de possuírem um base genética desconhecida (Zhang *et al.*, 2004). Assim, a caracterização dos isolados de *P. capsici* pelos critérios da taxonomia clássica é demorada requerendo experiência, sendo passível de equívocos. No entanto, com o surgimento de novas tecnologias, critérios moleculares podem ser extremamente úteis para identificação de espécies e caracterização de populações. Muitas ferramentas moleculares importantes surgiram e confirmaram uma série de hipóteses e questionamentos sobre a caracterização de *P. capsici*.

### **Mudanças e evolução na taxonomia de *P. capsici***

Por mais de 50 anos *P. capsici* foi reconhecido como patógeno de pimentão (*Capsicum* spp.), tomate, berinjela e algumas cucurbitáceas (Aragaki & Uchida, 2001). A

descrição original realizada por Leonian (1922), era composta de isolados oriundos de pimentão e alguns isolados pertencentes a outros hospedeiros com características diferentes do “tipo”. Tsao & Alizadeh (1988) e Tsao (1991) redescreveram o táxon para incluir os isolados de cacau (*Theobroma cacao* L.) e pimenta do reino (*Piper nigrum* L.), até então classificados como *P. palmivora* (MF4). Estas “*morphological forms*” (MFs) são quatro subdivisões de *P. palmivora*. Mchau & Coffey (1995) considerando estudos isoenzimáticos que consolidaram a redescricao de Tsao & Alizadeh (1988) adicionando dados enzimáticos e morfológicos complementares. Kunimoto *et al.* (1976) transferiram o agente causal da podridão de macadâmia previamente identificada como *P. nicotianae* para *P. capsici*, baseada em parte na formação da papila, e no esporângio ser descíduo com longos pedicelos. Inúmeras contradições surgiram com essa classificação com os isolados patogênicos de cacau e outros hospedeiros tropicais em *P. capsici*. Tsao & Alizadeh (1988) e Mchau & Coffey (1995), descobriram que isolados de cacau e de hospedeiras tropicais anteriormente classificados como “*P. palmivora* MF4”, na realidade pertenciam a *P. capsici*. Uchida e Aragaki (1985) estabeleceram uma nova espécie *P. tropicalis* Aragaki et Uchida para acomodar os isolados patogênicos a pimenta do reino, cacau, macadâmia, mamão e outras hospedeiras, os quais produzem clamidósporos e esporângios alongados e são avirulentos ao pimentão (Aragaki & Uchida, 2001). Alguns isolados de cacau foram temporariamente designados como *P. palmivora* MF4, e estes poderiam ser distinguidos de outros isolados de *P. palmivora* devido à presença de pedicelos esporangiais longos (Aragaki & Uchida, 2001). Recentemente estes isolados juntamente com isolados de *P. capsici* de macadâmia (*Macadamia integrifolia*) (Kunimoto *et al.*, 1976), foram separados daqueles isolados patogênicos de pimentão, tomate, berinjela e abóboras, e incluídos em *P. tropicalis* (Aragaki & Uchida, 2001).

Aragaki & Uchida (2001) através da análise de isoenzima de *P. capsici* com pedicelos longos separaram os isolados em dois grupos. A constatação da existência de dois grupos morfológicos obrigou a uma re-avaliação do táxon e estudos de biologia molecular vieram

confirmar a existência de dois grupos. Assim, *P. tropicalis* e *P. capsici* possuem alguns atributos morfológicos e fisiológicos similares, tais como, esporângio com longo pedicelo, decíduos em água, o oogônio com anterídio anfigeno, os quais são produzidos heterotalicamente (Zhang *et al.*, 2004). Estudos morfológicos e culturais de 100 isolados de *Phytophthora capsici* apresentavam como característica mais comum a presença de esporângios decíduos e de longos pedicelos.

Biológica e morfológicamente os dois grupos de isolados de *P. capsici*, diferenciam-se no seguinte: no primeiro grupo que constitui a espécie *P. capsici*, os esporângios são mais largos, a relação comprimento largura do esporângio é menor que 1,8, a base do esporângio é arredondada, e não produz clamidósporos, bom crescimento a 35 °C, e é patogênico a *Capsicum*; o segundo grupo hoje constituindo a a espécie *Phytophthora tropicalis*, possui esporângio mais estreito e menor que 26 µm de diâmetro, a relação comprimento/largura do esporângio é maior que 1,8, a base do esporângio é cônica, formação de clamidósporos escassa, pouco crescimento a 35 °C e fraca ou nenhuma virulência a cultivares de *Capsicum* (Aragaki & Uchida, 2001).

### **Diversidade genética e mudanças na taxonomia de *Phytophthora capsici***

A reprodução sexual é o principal mecanismo promotor de variabilidade nos seres vivos, e em *Phytophthora* a formação de oósporos é a concretização deste evento (English *et al.*, 1999). Em campos de produção da Carolina do Norte, EUA, detectou-se potencial de recombinação sexual e formação de oósporos de *P. capsici*, devido à presença de ambos os grupos de compatibilidade (Ristaino, 1990). No Brasil, Rêgo & Reifschneider (1982) e Marque *et al.* (1999) identificaram ambos os grupos de compatibilidade, contudo em campos de produção diferentes, não sendo constatado a reprodução sexual ou presença de oósporos em um mesmo campo de produção.

Outra forma de se estimar a diversidade é através da observação da multiplicidade de patótipos em decorrência da evolução localizada, como pode ser inferido pela presença de certos patótipos multivirulentos numa área geográfica específica (Ottoya *et al.*, 1993). A variabilidade de isolados pode ser observada em diferentes locais, e numa mesma localidade podem apresentar variabilidade em pontos da gleba, além de apresentar variabilidade entre plantas e até entre folhas ou outros órgãos vegetais (Figueiredo *et al.*, 1993). Estes patótipos tiveram seus genes de virulência substituídos, ao superarem os genes de resistência das variedades locais, adquirindo variabilidade patogênica por meio de recombinações, mutações, seleção natural ou outros mecanismos (Ottoya *et al.*, 1993).

Artificialmente, a ação da diversidade na expressão de caracteres fenotípicos e genéticos foi estudada pela fusão de zoósporos (conjugação somática) por English *et al.* (1999). Estes autores observaram que ao realizar o cruzamento forçado de *P. capsici* e *P. nicotianae*, os isolados híbridos apresentavam variações detectadas por marcadores fenotípicos e moleculares. Os autores especularam que este evento, embora raro, poderia, em condições naturais, contribuir para a diversidade de espécies heterotálicas de *Phytophthora*. A percentagem de GC, (elemento medidor de diversidade) dos isolados híbridos analisados foi de 47,2 %, valor típico encontrado para espécies de *Phytophthora*.

### **Complexos de espécies que ocorrem nas hospedeiras de *P. capsici* no Brasil**

Cruz & Silveira (1965) citaram que a requeima do pimentão foi observada pela primeira vez em 1951 no Estado de São Paulo, contudo seu registro no Brasil foi realizado por Amaral (1952) sendo considerada como uma das doenças mais destrutivas da cultura. Em Minas Gerais, os agricultores de algumas áreas da Zona da Mata abandonaram o cultivo do pimentão devido aos severos surtos epidêmicos (Luz *et al.*, 2001). Desde então, vários estudos foram realizados por grupos de pesquisa nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Distrito Federal e Bahia, verificando-se inúmeros aspectos da doença. Além de pimentão (Amaral,

1952) observou-se a ocorrência de ataque de *Phytophthora* spp. em outras hospedeiras como abóboras, tomate, pepino, pimenta, berinjela, jiló, melão e melancia (Urban, 1980), cacau e macadâmia (Kellam & Zentmyer, 1982; Kunimoto *et al.*, 1976; Satour & Butler, 1967).

No banco de dados americano de fungos da SBML (2006) encontram-se registrados 34 relatos no mundo de *P. capsici* infectando *Capsicum* spp. No Brasil existem registros em outras hospedeiras (Mendes *et al.*, 1998), tais como: mamão (*Carica papaya*), melancia (*Citrullus lanatus*), pepino (*Cucumis sativus*), abóboras (*Cucurbita* spp.), *Dianthus caryophyllus*, *Epipremnum aureum*, seringueira (*Hevea brasiliensis*), melão (*Cucumis melo*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), mandioca (*Manihot esculenta*), macadamia (*Macadamia integrifolia*), *Phaseolus lunatus*, pimenta do reino (*Piper nigrum*), jiló (*Solanum gilo*), berinjela (*Solanum melongena*) e cacau (*Theobroma cacao*), e *P. nicotianae* var *parasitica* (= *P. parasitica*) foi relatada no Brasil em tomate.

Luz *et al.* (2003) relataram que os principais hospedeiros de *P. capsici* na Bahia são cacaueiro, a seringueira, a pimenta do reino e o mamoeiro. Ao final dos anos 70 e início da década de 80, *P. capsici* foi responsável pela perda de inúmeras plantações de pimenta do reino na Bahia. Tanto em seringueira como em cacau, três espécies são responsáveis pelo desenvolvimento da podridão do colo (*P. capsici*, *P. palmivora* e *P. citrophthora*). Na década de 70 a 80, a espécie *P. capsici* predominou como agente etiológico da podridão parda do cacaueiro no Espírito Santo e na Bahia, contudo em levantamentos realizados no fim da década de 80 notaram-se variações na distribuição populacional, havendo tendência para a predominância da espécie *P. citrophthora* (Luz *et al.*, 2003).

### **Complexos de espécies que ocorrem nas hospedeiras de *P. capsici* no mundo**

Luz *et al.* (2003) relatam que existem 40 gêneros de diferentes famílias botânicas, com mais de uma espécie, que são planta hospedeiras de *P. capsici*. Entre os hospedeiros estão

incluídos membros das famílias das cucurbitáceas, solanáceas, piperáceas, caricáceas, euforbiáceas, proteáceas, entre outros.

Erwin & Ribeiro (1996) relataram 48 espécies hospedeiras de *P. capsici* no mundo, incluindo abacate, alfafa, algodão, abóbora, baunilha, berinjela, cacau, cebola, cenoura, citrus, chuchu, datura, ervilha, espinafre, feijão fava, figo, fumo, girassol, linho, melão, maçã, macadâmia, melancia, quiabo, pêra, pepino, pimentão, pimenta do reino, *Spondias purpurea*, tomate. A distribuição geográfica destas ocorrências abrange países como a Argentina, Brasil, Bolívia, Camarões, Coreia, China, Espanha, EUA, França, Indonésia, Iran, Itália, Japão, Porto Rico, Sérvia, Taiwan, Tailândia, antiga União Soviética, Venezuela.

A consulta no SBML (2006) indicou 11 espécies de *Phytophthora* principalmente associadas a *C. annuum* e algumas a *C. frutescens*: *P. boehmeriae*, *P. cactorum*, *P. capsici* (maioria), *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. infestans*, *P. megasperma*, *P. nicotianae*, *P. palmivora* e *P. parasitica* Dasthur.

Já, com o gênero *Lycopersicon*, estão associadas 21 espécies de *Phytophthora*: *P. arecae*, *P. boehmeriae*, *P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. erythroseptica*, *P. fragariae*, *P. hibernalis*, *P. infestans* (maioria), *P. megasperma*, *P. mexicana*, *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. parasitica*, *P. phaseoli*, *P. terrestris* e *P. verrucosa*) que infectam basicamente *L. esculentum* (maioria), *L. peruvianum* e *L. tuberosum* (SBML, 2006). Pane *et al.* (2000) relataram três espécies representadas por *P. capsici*, *P. criptogea* e *P. nicotianae* causando podridão do colo em tomateiros do sul da Itália.

Para o gênero *Cucurbita* (SBML, 2006), existem 35 registros incluindo nove espécies de *Phytophthora*: *P. boehmeriae*, *P. cactorum*, *P. capsici* (maioria), *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. nicotianae* e *P. parasitica*) que infectam basicamente *C. maxima*, *C. moschata* e *C. pepo*. No Irã, Mansoori & Banihashemi (1982) e Alavi & Strange, (1982); e na China Ho *et al.* (1984) destacaram que além de *Phytophthora*

*capsici*, outras espécies de *Phytophthora* spp., principalmente *P. drechsleri*, já foram relatadas como causadoras de epidemias de murchas de fitóftora em espécies de cucurbitáceas.

### **Caracterização fenotípica e molecular de isolados de *Phytophthora capsici***

O desenvolvimento de novas técnicas de biologia molecular, conduzem ao surgimento de métodos mais eficientes de detecção do polimorfismo genético, através do acesso direto à molécula de DNA (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Existem muitos trabalhos no mundo de caracterização fenotípica e molecular de isolados de *P. capsici*, brevemente listados a seguir:

Ristaino (1990) estudou a virulência de isolados de pimentão e cucurbitáceas, bem como suas características morfológicas, grupo de compatibilidade e o crescimento em meio de cultura.

Oudemans & Coffey (1991) realizaram análises de isoenzimas de 84 isolados oriundos de várias partes do mundo, e concluíram que *P. capsici* é um complexo genético representado por três espécies contidas em três subgrupos. O subgrupo CAP1 agrupa a maior parte dos isolados oriundos de solanáceas anuais e cucurbitáceas, tal como alguns isolados de pimenta do reino e cacau, que haviam sido preliminarmente identificados como *P. palmivora* MF4 (Koasiri & Zentmyer, 1980). O grupo CAP2 agrupa isolados oriundos de hospedeiros tropicais, tais como pimenta do reino, cacau, mamão, macadâmia e seringueira e isolados oriundos do Hawaii identificados posteriormente como *P. tropicalis*. O grupo CAP3 contém o menor nível de diversidade incluindo isolados brasileiros de cacau. Os isolados previamente identificados como *P. palmivora* MF4 ocorreram em todos os três grupos.

Mchau & Coffey (1995) caracterizaram 113 isolados de *P. capsici*, separando-os em dois grupos CAPA e CAPB com base em análise isoenzimas. Cada subgrupo correspondeu a uma ampla variabilidade de hospedeiros e locais de origem, entretanto alguns membros de cada subgrupo variaram quanto à morfologia das estruturas assexuais. Relataram ainda que

somente as características morfológicas são insuficientes para redefinição da espécie *P. capsici*.

Hwang *et al.* (1991) separaram isolados de *P. capsici* em quatro grupos, a partir de isolados de pimentão com base em padrões de RFLP do mtDNA.

Cerqueira *et al.* (1999) caracterizaram isolados brasileiros de *Phytophthora* em cacau, valorizando aspectos morfológicos e biométricos, destacando, que para os isolados “atípicos”, há necessidade de utilizar critérios adicionais como testes de patogenicidade e trabalhos moleculares para confirmação de táxons.

Oudemans *et al.* (1994), utilizando análise de isoenzimas (Ets – *eletroforesis types*), separaram 125 isolados de *P. citricola*, *P. capsici* e *P. citrophthora*, concluíram que de várias hospedeiras em cinco sub-grupos CIT 1, 2, 3, 4 e 5, concluindo que três enzimas (fosfoglucose isomerase, malato desidrogenase e menadione nitrato redutase) podem ser usadas para definir subgrupos de *P. citricola*. E ainda ao analisar os isolados *P. citricola*, *P. capsici* e *P. citrophthora*, existe uma especificidade da planta hospedeira relacionada ao grupo 5 que é representado por *P. capsici* e *P. citrophthora*, a qual é maior do que os subgrupos que agrupam *P. citricola*.

Lamour & Hausbeck (2003) caracterizaram isolados de *P. capsici* coletados em campos produtores de tomate e cucurbitáceas nos anos de 1998 a 2001, identificaram a resistência a mefenoxam, os grupos de compatibilidade e utilizaram marcadores AFLP.

Silvar *et al.* (2006) estudando 16 isolados de *P. capsici* oriundos da Espanha, observaram que 87,5 % dos isolados são sensíveis a metalaxil, nenhum isolado foi identificado como pertencente ao grupo de compatibilidade A2, sendo que a reação de virulência permitiu separar os isolados em dois grupos com base na reação de cultivares de pimentão. A análise RAPD, gerou 92 bandas polimórficas entre os isolados, separando-os em três grupos. Não houve nenhum relacionamento entre os fatores fenotípicos e genéticos avaliados.

## **Caracterização morfológica**

Em um grupo de isolados de *P. capsici*, o comprimento do pedicelo variou de 31-99  $\mu\text{m}$  sendo altamente variáveis entre os isolados de cucurbitáceas e pimentão, não estando correlacionado com a hospedeira (Ristaino, 1990). Os oósporos variaram entre os isolados de 24 a 35  $\mu\text{m}$  de diâmetro, também variando independentemente da hospedeira (Ristaino, 1990).

Oudemans *et al.* (1994) observaram que entre os grupos de isolados separados por análise isoenzimática, foram separados por morfologia esporangial e oogonial.

Ristaino (1990) não constatou a presença de clamidósporos em isolados de *P. capsici* oriundos de pimentão, sendo rara a ocorrência de clamidósporos em espécies hospedeiras de *P. capsici* de hábito de crescimento arbóreo (Uchida & Aragaki, 1985).

## **Caracterização de grupos de compatibilidade**

*Phytophthora capsici* é uma espécie heterotática (Galindo & Zentmyer, 1967), deste modo, somente o pareamento de grupos de compatibilidade opostos resulta na formação de oósporos, que é a fonte de recombinação e variabilidade genética encontrada em condições de campo (Papavizas, 1981; Polach & Webster, 1972; Satour & Butler, 1967). O cruzamento de hifas pertencentes a grupos de compatibilidade contrastantes (A1 e A2) pode ser induzida por fatores como nutrientes contidos no meio de cultura, luminosidade, temperatura de crescimento e presença de hormônios indutores nas culturas, entre outros (English *et al.*, 1999).

Nos campos da Carolina do Norte, EUA, é comum ocorrerem simultaneamente os grupos A1 e A2 em cultivos de pimentão e em outros cultivos (Ristaino *et al.*, 1998). Lamour

& Hausbeck (2003) no estado do Michigan, EUA, observaram nos campos de produção de cucurbitáceas e de tomateiros que nos anos de 1998, 1999, 2000 e 2001, a proporção de 1:1 entre os grupos de compatibilidade A1 e A2. Silvar *et al.* (2006) na Espanha não observaram a presença simultânea dos dois grupos de compatibilidade no mesmo campo de produção, havendo predominância do grupo de compatibilidade A1. Já no Brasil, não há relatos da ocorrência simultânea dos dois grupos de compatibilidade no mesmo campo de produção, tal como não se sabe sobre a associação preferencial ou predominância de cada grupo de acordo com origem da hospedeira ou localização geográfica do isolado. Rêgo & Reifschneider (1982) detectaram ambos os grupos de compatibilidade no Brasil, focando-se na Região Centro-Oeste, coletando os isolados no DF, GO e MS, sendo a maioria dos isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A1. Recentemente, Marque *et al.* (1999), analisando apenas quatro isolados, confirmaram a ocorrência no Brasil dos grupos de compatibilidade A1 e A2.

Se cada grupo de compatibilidade realmente ocorre isoladamente em determinadas condições ambientais, o controle da doença poderia ser facilitado. A presença de ambos os grupos numa mesma micro-região, possibilita a ocorrência de cruzamentos naturais, criando oportunidade para aparecimento de novas raças ou biótipos com maior perfil de virulência ou com resistência a produtos empregados no controle químico.

Neste contexto, faz-se necessário um trabalho mais amplo de caracterização de grupos de compatibilidade de *P. capsici* no Brasil.

### **Sensibilidade a Metalaxil**

A resistência a metalaxil tem sido usada como um marcador fenotípico para caracterizar populações de diferentes espécies de *Phytophthora*, tais como *P. infestans* (Zhang *et al.*, 1997; Reis *et al.*, 2003; Riveros *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2005), *P. capsici* (Tamietti &

Valentino, 2001; Parra & Ristaino, 2001; Lamour & Hausbeck, 2001; Roberts *et al.*, 2003) e *P. sojae* (Bhat *et al.*, 1993).

O primeiro caso de resistência a metalaxil foi relatado em 1980, dois anos após seu lançamento no mercado para controle do míldio das cucurbitáceas (*Pseudoperonospora cubensis*) em pepinos cultivados em estufa em Israel (Delp, 1980). Em meados da década de 80, uma severa epidemia causada por *P. infestans* causou grandes perdas em culturas de batata na Holanda e na Irlanda, sendo a principal causa de seleção de populações resistentes derivada do mal uso extensivo do fungicida. O produto foi então retirado do mercado pela empresa fabricante, nos dois países. Após algum tempo, o produto foi relançado em mistura com um fungicida protetor, como parte de uma estratégia anti-resistência.

Apesar de casos de resistência, o metalaxil em formulações combinadas com outros princípios ativos é um produto padrão no mercado, muito utilizado para o controle da requeima da batata e tomate, causada por *P. infestans* (Azevedo & Oliveira, 2003), e para outras espécies incluindo *P. capsici*.

No Brasil existem quatro produtos comerciais que apresentam metalaxil na sua contituição. O primeiro é Apron<sup>®</sup> que é registrado para tratamento de sementes de tomateiro para controle de *Pythium*. O segundo é Folio<sup>®</sup> que é uma mistura metalaxil+clorotalonil recomendado para as culturas da batata, tomate, cebola e rosa para controle de *Phytophthora infestans* e *Peronospora destructor*. O terceiro é Ridomil 50GR<sup>®</sup> é um sistêmico granulado, composto apenas de metalaxil, recomendado para as culturas do crisântemo (controle de *Pythium rostratum* e *P. dreschleri*), citros (*P. parasitica*), fumo (*Peronospora tabacum* e *Pythium ultimum*) e maçã (*P. cactorum*). E o quarto e último Ridomil Mancozeb<sup>®</sup> que é uma mistura do de ação sistêmica de metalaxil+mancozeb recomendado para a cultura da batata (controle de *Phytophthora infestans*), tomate (*P. infestans*, *Pythium* spp. e *Phytophthora* spp.) e uva (*Plasmopara viticola*). Atualmente, no Agrofitec (2006) constam apenas três produtos

comerciais contendo metalaxil, tais como, Folio Gold<sup>®</sup> (pó molhável), Maxim XL<sup>®</sup> (suspensão concentrada) e Ridomil Gold MZ<sup>®</sup> (pó molhável).

Além da resistência a metalaxil, tem-se encontrado em campos de produção de pimentão a existência de populações resistentes ao enantiômero de metalaxil (Ridomil<sup>®</sup>) denominado mefenoxam (Ridomil Gold<sup>®</sup>). Com o passar dos anos em levantamento de campos de pimentão, não houve decréscimo da sensibilidade a mefenoxam, dos isolados coletados no estado de Michigan, EUA (Lamour & Hausbeck, 2001). Também foi detectada alta prevalência de populações resistentes ao mefenoxam nos isolados de cucurbitáceas na Carolina do Norte (Café Filho & Ristaino, 2002). Associado à detecção da sensibilidade *in vitro*, têm sido utilizados marcadores genéticos para verificar aspectos da transferência de genes de resistência a metalaxil (Travis *et al.*, 1996; van der Merwe *et al.*, 2000). No Brasil ainda não foram realizados levantamentos sobre a existência de populações de *P. capsici* oriundos de hortaliças resistentes a metalaxil, nem das suas misturas.

Parra & Ristaino (1998) registraram que 50 % dos isolados testados de *P. capsici* de plantas de vários campos produtores de New Jersey e North Carolina foram insensíveis a metalaxil e mefenoxam. Em epidemias registradas na Flórida, EUA, McGovern *et al.* (1993) verificaram que os isolados de *P. capsici* variaram em níveis de sensibilidade e insensibilidade a metalaxil.

### **Agressividade, patogenicidade e virulência de isolados.**

A especificidade a planta hospedeira muitas vezes não é um critério taxonômico confiável, porque *P. capsici* é conhecida por infectar, um grande número de hospedeiras herbáceas e arbóreas.

Não se sabe ao certo sobre especificidade de isolados e seus hospedeiros de origem, sendo estudados principalmente os efeitos de reação diferencial do isolado ligado a

agressividade, não sendo encontrado o efeito diferencial do hospedeiro de origem, da origem geográfica ou grupo de compatibilidade do isolado.

Foram realizadas algumas tentativas de se evidenciar a especificidade dos isolados. Como exemplo, tem-se alguns isolados de abóbora, que ocasionaram uma maior severidade de doença nas cultivares de abóbora do que nos materiais de pimentão, indicando especialização (Lee *et al.*, 2001), não podendo ser desdobrado que todos os isolados de abóbora, se especializaram a sua planta hospedeira. Isolados de pimentão e cucurbitáceas são virulentos em pimentão, mas alguns isolados de cucurbitáceas são pouco virulentos em pepino (Ristaino, 1990). Todos os isolados de pimentão foram patogênicos em pimentão, contudo os isolados de cucurbitáceas foram pouco agressivos em pimentão (Ristaino, 1990).

Quanto à patogenicidade, Crossan *et al.* (1954), Kreutzer *et al.* (1940), Thompkins & Tucker (1937) relataram que realmente isolados de cucurbitáceas inoculados em pimentão e cucurbitáceas foram patogênicos comprovando assim sua habilidade polífaga de parasitismo.

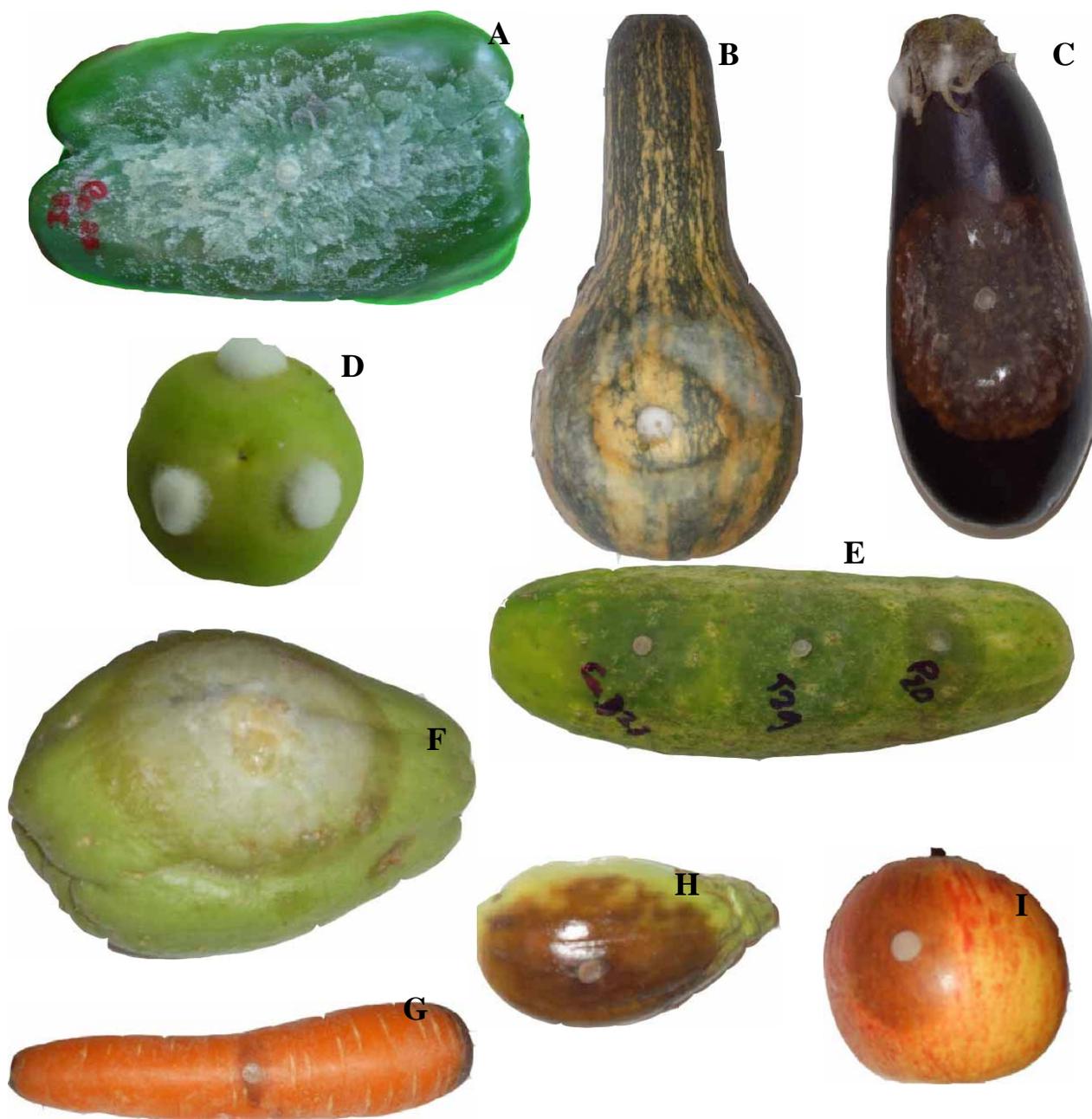
Lee *et al.* (2001) estudaram a agressividade de nove isolados de *P. capsici* em cucurbitáceas, detectando evidências de resistência quantitativa; a interação cultivar-isolado foi observada somente em algumas cultivares, demonstrando especialização. Os isolados de abóbora causaram mais doença em abóbora do que em pimentão.

Aos quatro dias após a inoculação de quatro isolados de *P. capsici*, Reifschneider *et al.* (1986) observaram aparecimentos de variação da expressão de sintomas em genótipos resistentes demonstrando-se assim a variação de agressividade dentro do táxon.

### **Efeitos de *P. capsici* em frutos de pimentão**

A suscetibilidade de frutos de pimentão é reduzida com o amadurecimento de frutos. O comprimento da lesão sofre um decréscimo em fruto verde de 14,1 mm.dia<sup>-1</sup> para 10,7 mm.dia<sup>-1</sup> em frutos vermelhos. A taxa de alongamento da lesão variou de 9,6, 5,9 e 2,7

mm.dia<sup>-1</sup> para frutos imaturos verdes, maduros verdes e frutos vermelhos, respectivamente. Não existe em frutos vermelhos de pimentão a presença de inibidores químicos, pois o crescimento micelial ocorreu em maior intensidade sob extratos de pimentão vermelho, sendo este crescimento explicado pelo conteúdo de açúcar deste fruto. A espessura da cutícula aumentou de frutos imaturos verdes de 12 mm para 54 mm em frutos maduros vermelhos. A atividade da peroxidase na região cuticular foi aumentada funcionando como uma barreira à infecção. Assim a espessura da cutícula é um fator de resistência a *P. capsici* em frutos maduros (Biles *et al.*, 1993). Observou-se em ensaios (dados não registrados) o sintoma de apodrecimentos de frutos de muitas hortaliças aos seis dias, e algumas destas são comumente observadas em literatura (pimentão, abóbora, berinjela, pepino e até mesmo tomate) e outras de ocorrência pouco observada (cenoura, maçã, chuchu e jiló). A sintomatologia de frutos infectados por *P. capsici* pode ser observada na Figura 1.2.



**Figura 3.** Sintomatologia de um isolado de *Phytophthora* (Pcp 65) em frutos de hortaliças aos 6 dias após a inoculação (dai). **A.** pimentão, **B.** abóbora, **C.** berinjela, **D.** tomate, **E.** pepino, **F.** chuchu, **G.** cenoura, **H.** jiló, **I.** maçã.

## Caracterização Molecular

Espécies diferem entre si por modificações na molécula de DNA, devido às mutações, tais como substituições de bases, inserções translocações e deleções. Os genes compreendem uma pequena porção do DNA total e estão sob pressão de seleção para responder às mudanças ambientais. A maioria das modificações que diferenciam os indivíduos, em nível de seu DNA, ocorrem em regiões não codificadoras, que estão livres deste tipo de seleção (Liu, 1977).

O desenvolvimento de técnicas bioquímicas e moleculares tem aumentado a habilidade de identificar isolados desconhecidos, detectar, classificar e avaliar a variabilidade genética entre e dentro de espécies de *Phytophthora* e melhor delimitar os táxons de *Phytophthora* existentes (Zang *et al.*, 2004). Entre as técnicas de potencial uso destacam-se a análise de isoenzimas, sorologia, RFLP, PCR (“Polymerase Chain Reaction”) e suas variações, incluindo “Sequence Characterized Amplified Regions” (SCARs) ou “Amplified Specific Amplicon”(ASA), Microsatélites (SSR =“Simple Sequence Repeats”), “Sequence Tagged Sites”( STS), “Amplified Fragment Length Polimorphism” (AFLP), “Repetitive DNA Sequence PCR” (rep-PCR), “Single-stranded Conformational Polymorphisms”(SSCP) e análise de DNAs ribossomal e mitocondrial (rDNA e tDNA-PCR, além de, “Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ANDRA) (Foster *et al.*, 1990; Goodwin *et al.*, 1990a; Goodwin *et al.*, 1990b; Hwang *et al.*, 1991; Lee & Taylor, 1992; Lee *et al.*, 1993; Miller *et al.*, 1994; Cooke & Duncan, 1997; Miller *et al.*, 1997; Lamour & Hausbeck, 2003; Oudemans & Coffey, 1991; Panabières *et al.*, 1989; Silvar *et al.*, 2006).

O uso de sorologia foi utilizado para identificação de isolados de *P. cinnamomi* (Benson, 1991). Análise do polimorfismo de elementos repetitivos do DNA também tem sido utilizada para identificação de espécies de *Phytophthora* (Panabieres *et al.*, 1989). O conteúdo de GC é um parâmetro importante para caracterização do gênero *Phytophthora*, sendo que *P. parasitica* (= *P. nicotianae*) o conteúdo foi de 49 % (Storck & Alexopoulos, 1970), para *P.*

*infestans* foi de 47,5 (Clark *et al.*, 1968) e para *P. megasperma* o conteúdo foi de 48% (Mao & Tyler, 1991). Storck & Alexopoulos (1970) relataram que o conteúdo de GC de 10 outras espécies de *Phytophthora* variou de 49 a 58%.

Utilizando marcadores AFLP Lamour & Hausbeck (2003) identificaram isolados de *P. capsici* de campos produtores de hortaliças nos EUA, identificando diferenças genéticas entre isolados de localidades diferentes.

Lamour & Hausbeck (2002) observaram que 35 % da diversidade do total das populações de *P. capsici* do Michigan, EUA, foram encontradas entre populações e 65 % foi encontrado dentro de uma população. Lamour & Hausbeck (2001 e 2003) reconheceram linhagens clonais de isolados de *P. capsici* no estado de Michigan, EUA, Lamour & Hausbeck (2001)

Utilizando marcadores RAPD, Silvar *et al.* (2006) estudaram 16 isolados de *P. capsici* originários da Espanha em três grupos. No Brasil, Faleiro *et al.* (2003) e Luz *et al.* (2003) também utilizaram marcadores RAPD para identificar variabilidade de isolados de *Phytophthora (capsici e palmivora)*, separando os isolados em grupos.

Islam *et al.* (2005), estudaram a variabilidade genética de 24 isolados de *P. capsici* utilizando marcadores RAPD em Michigan, EUA. Ducamp *et al.* (2004) utilizaram marcador RAPD para analisar a diversidade de isolados de *Phytophthora* incidentes sobre cacau. Pane *et al.* (2000) em isolados de *Phytophthora* que causam podridão do colo em tomateiros do sul da Itália, analisaram a diversidade dos isolados de *P. capsici*, *P. nicotianae* e *P. criptogea* utilizando marcadores moleculares. English *et al.* (1999) utilizaram marcadores RAPD para identificar as espécies de *Phytophthora* em híbridos originados por fusão de zoósporos. Zheng e Ward (1998) utilizaram marcadores RAPD para estudo da diversidade de 39 isolados pertencentes a seis grupos morfológicos que confirmando assim o agrupamento de isolados de *Phytophthora* de citrus (maioria) em seu grupo morfológico. Em todos esses trabalhos, os

isolados foram separados em grupos análogos com suas hospedeiras de origem, havendo variações para alguns isolados.

O marcador SSCP do rDNA foi utilizado para identificação de 282 isolados em 29 espécies de *Phytophthora*, destacando que os padrões obtidos, permitem uma identificação rápida e de baixo custo (Kong *et al.*, 2003).

A análise de dados de seqüências de DNA de regiões que codificam o rRNA tem sido uma poderosa ferramenta para compreender a taxonomia de *Phytophthora* (Lee & Taylor, 1992; Crawford *et al.*, 1996; Cooke *et al.*, 2000). A partir de 24 isolados quatro sondas da região ITS foram desenvolvidas por Lee *et al.* (1993), para distinção específica de *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. megakarya* e *P. palmivora*, além de outras 15 sondas complementares identificadas anteriormente por Lee & Taylor, (1992), menos específicas, contudo excelentes para detecção do táxon mais genérico – *Phytophthora* sp.

Chowdappa *et al.* (2003) amplificaram a região ITS e digeriram através de enzimas de restrição os isolados de *Phytophthora* de coqueiro, seringueira e “areacanut” da Indonésia, Índia, Sri Lanka, e verificaram a presença de *P. capsici*, *P. arecae*, *P. nicotianae*, *P. palmivora* e *P. meadii*. Alguns isolados apresentavam padrões de espécies idênticos. Hong *et al.* (1999) analisaram 59 isolados coreanos de *Phytophthora* (15 espécies) utilizando “amplicons” das regiões ITS, e estes foram digeridos com enzimas de restrição, que resultaram em padrões específicos para as espécies, com exceção de algumas como *P. sojae* e *P. erythroseptica* tiveram o mesmo padrão de bandas. Foi possível agrupar os isolados coreanos em três grupos genéticos com base nos padrões apresentados. Assim sugere-se que o PCR-RFLP de regiões do rDNA utilizando determinadas enzimas de restrição pode ser usado para diferenciar ou identificar espécies de *Phytophthora*.

Outra aplicação da utilização de técnicas moleculares foi a clonagem de regiões do DNA específicas para duas espécies do gênero que permitiram a identificação de *P. parasitica* e *P. citrophthora* (Goodwin *et al.*, 1990).

O primer PCAP foi desenvolvido para detectar *P. capsici* em amostras de tecidos de plantas e no solo (Lee *et al.*, 1993; Ristaino *et al.*, 1998).

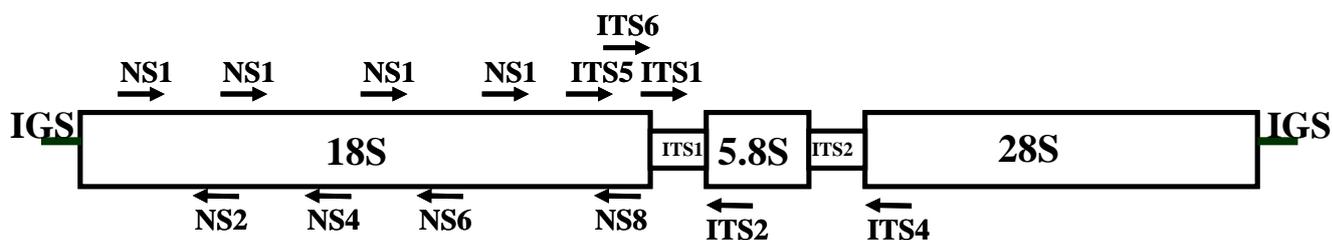
### **Marcadores rDNA nuclear**

Estudos comparativos das seqüências nucleotídicas de genes do RNA ribossomal (rDNA) permitem analisar e classificar os isolados com base filogenética em vários níveis taxonômicos (White *et al.*, 1990). Estes estudos têm elucidado a ligação evolucionária de muitas espécies de oomycetos (Crawford *et al.*, 1996; Erwin & Ribeiro, 1996; Ristaino *et al.*, 1998; Cooke *et al.*, 2000; Appiah *et al.*, 2004).

Os genes nucleares rDNA, existem como uma família de genes de cópias múltiplas, presentes em 60 a 220 cópias em um genoma haplóide de fungo. Essas cópias constituem seqüências de DNA altamente similares (tipicamente 8-12 kb cada) organizadas lado a lado. Os quatro genes dos RNAs ribossômicos com diferentes níveis de sedimentação (5S, 5.8S, 18S e 28S) fazem parte de uma mesma unidade de transcrição. Em cada unidade de transcrição as regiões codificadoras são separadas por regiões espaçadoras internas (*Internal transcribed spacer* = ITS). A região ITS 1 separa os transcritos para os genes 18S e 5.8S e o ITS 2 separa os transcritos para os genes 18S e 5.8S (Figura 3). As múltiplas unidades de transcrição são separadas por regiões espaçadoras intergênicas (*Intergenic Spacers* = IGS). As regiões codificadoras são altamente conservadas entre diferentes espécies e gêneros, enquanto as regiões ITS e IGS apresentam maior variabilidade de seqüência, sendo amplamente utilizadas em estudos de sistemática molecular (Vilgalys & Gonzalez, 1990; Ferreira & Grattapaglia, 1995; Berthier *et al.*, 1996).

A região ITS é a região mais seqüenciada em fungos, *Phytophthora* (Palloix *et al.*, 1988; Lee & Taylor, 1991; Lee *et al.*, 1993; Foster *et al.*, 2000; Ordoñez *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2004) devido ao elevado nível de variação, maior que o das regiões SSU “Small Subunit” e LSU “Large Subunit” do rDNA.

O grau de variabilidade nas seqüências de rDNA, pode ser usado na classificação específica e subespecífica.



**Figura 4.** Esquema dos três genes do rDNA e regiões de espaçamento interno (ITS) e intergênicas (IGS), e as setas representam primers universais que amplificam regiões codificantes e não codificantes (White *et al.*, 1990).

Vários autores estudaram a região ITS de espécies de *Phytophthora* (Lee & Taylor, 1991; Lee *et al.*, 1993; Ordoñez *et al.*, 2000; Foster *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2004).

Appiah *et al.* (2004) analisaram 161 isolados de *Phytophthora* oriundos de cacau e identificaram quatro espécies, e entre estas, a análise das seqüências permitiu dividir os isolados em dois grupos, sendo um representado por *P. capsici* e *P. citrophthora* e outro representado por *P. palmivora* e *P. megakarya*. A comparação das seqüências com a literatura publicada, sugeriu que os isolados de *P. capsici* de cacau pertenceriam à espécie *P. tropicalis*, recentemente descrita infectando *Cyclamen* sp. e *Dianthus* sp.

Lee & Taylor (1992) ao estudarem a diversidade filogenética da região ITS de 27 isolados de *Phytophthora* (cinco espécies) observaram que existe uma maior similaridade entre *P. capsici* e *P. citrophthora* do que isolados de *P. palmivora* e *P. megakarya*. A espécie *P. cinnamomi* distinguiu-se grandemente das demais espécies.

Em cruzamentos “*in vitro*” de *P. capsici* x *P. nicotianae* a similaridade de seqüências do rDNA com *P. capsici* do banco foi identificada com mais facilidade nos híbridos do que as seqüências do banco de *P. nicotianae* (English *et al.*, 1999).

**Conceitos de patogenicidade, agressividade, virulência, período de latência e de incubação.**

Neste trabalho os termos patogenicidade, agressividade e virulência foram utilizados da seguinte forma: A **patogenicidade** é uma variável qualitativa, que é a propriedade de uma espécie de patógeno que em interação com o hospedeiro, produz uma doença infecciosa, ocasionando uma presença ou não da doença; a **agressividade** é a quantidade de doença induzida pelo genótipo do patógeno em um determinado genótipo do hospedeiro suscetível num período de tempo determinado (medida quantitativa). A **virulência** é uma variação positiva ou negativa, inferior ou superior na expressão da patogenicidade dentro de uma espécie de patógeno, ela serve para isolados da mesma espécie (medida qualitativa). O **período de latência** (PL) é o período entre a inoculação (ou infecção, supostamente no mesmo dia) e a esporulação (equivale ao período 'p' de VanderPlank, 1990). O **período de incubação** (PI) é o período entre a inoculação e o aparecimento de sintomas. Às vezes os PI e PL quase coincidem, como no caso das ferrugens, por exemplo (Campbell & Madden, 1990; Andrivon, 1993).

#### **Resistência em *Capsicum*, *Lycopersicon* e *Cucurbita*.**

No Brasil e no mundo, existem vários trabalhos visando à busca de genótipos resistentes a *P. capsici* em abóboras (Henz & Lima, 1998; Henz & Lima, 1994; Henz *et al.*, 1994; Lima & Henz 1994; Lopes *et al.*, 1999) e pimentões (Matsuoka, 1984; Ribeiro *et al.*, 1997; Ribeiro *et al.*, 2003; Barksdale *et al.*, 1984; Bosland & Lindsey, 1991), havendo poucos programas de melhoramento visando estudos da reação em espécies de tomate (Paz Lima *et al.*, 2004).

Diferentes concentrações de inóculo demonstram resultados de imunidade e/ou suscetibilidade de genótipos de pimentão a *P. capsici*. Em genótipos de pimentão considerados suscetíveis, quando inoculados nas concentrações acima de  $10^4$  zoósporos.mL<sup>-1</sup>, nenhuma planta permaneceu viva; e das inoculações realizadas no campo em genótipos suscetíveis, escaparam da infecção na concentração de  $10^4$  zoósporos.mL<sup>-1</sup> (Reifschneider *et*

*al.*, 1986). Ansani & Matsuoka (1983) quando estudaram o efeito da concentração de inóculo na avaliação de genótipos, concluíram que  $10^4$  zoósporos.mL<sup>-1</sup> por planta é a quantidade necessária para causar a morte de plantas suscetíveis, sendo as concentrações superiores, recomendadas por Matsuoka (1984). Reifschneider *et al.* (1986), confirmaram os resultados das concentrações reduzidas, propondo os seguintes procedimentos para avaliação de resistência a *Phytophthora* em pimentão: 1) utilização de isolado com moderada agressividade; 2) isolados com abundante esporulação em meio de cultura; 3) utilização de três mL de suspensão de zoósporos na base das plantas; 4) utilização de plantas com 35 dias ou mais de idade, e 5) utilização de concentração de inóculo superior a  $10^4$  zoósporos.mL<sup>-1</sup> para casa de vegetação ou  $10^5$  zoósporos.mL<sup>-1</sup> para avaliação da resistência no campo.

No Brasil existem poucas opções de genótipos comerciais de pimentão, pimenta e cucurbitáceas que combinem boas características agrônômicas que apresentem níveis adequados de resistência. No mercado brasileiro de sementes de hortaliças, atualmente quatro empresas predominam, a saber: Sakata<sup>®</sup>, Agristar<sup>®</sup>, Seminis<sup>®</sup>, e Syngenta<sup>®</sup>. A empresa **Sakata**<sup>®</sup> comercializa o “Híbrido F<sub>1</sub> Martha R” e “Pimentão Porta enxerto Silver” que são cultivares de pimentão ditos resistentes e/ou tolerantes a *P. capsici*. Dentre todas as cultivares de abóbora e tomate disponibilizadas comercialmente esta empresa não oferece cultivares resistentes/tolerantes a *P. capsici*. A empresa **Agristar**<sup>®</sup> possui duas séries de cultivares, a “Top Seed Premium” e a “Top Seed Garden”, e as duas séries não apresentam cultivares de tomate a abóboras (incluindo abobrinhas) resistentes ou tolerantes a *P. capsici*. Já para pimentão na primeira série apresenta como principais cultivares resistentes “Konan F<sub>1</sub>” e “Konan R F<sub>1</sub>” e na segunda série as cultivares “All Big Tradicional” e “All Big Blue Line”. A empresa **Syngenta**<sup>®</sup> não possui cultivares de tomate e abóboras (incluindo abobrinhas) ditas resistentes ou tolerantes a *P. capsici*, já para pimentão as principais cultivares comercializadas são “Reinger” e “Nathalie”. E por fim, a empresa **Seminis**<sup>®</sup>, não apresenta nenhuma cultivar de abóbora, tomate e pimentão comercializados como resistentes ou tolerantes a *P. capsici*

(Syngenta, 2006; Sakata, 2006; Agristar, 2006 e Seminis, 2006). É importante citar que a informação de resistência ou tolerância apresentada pelas cultivares citadas acima, foram obtidas e divulgadas comercialmente pelas empresas.

### **Estudos de Resistência à *P. capsici* em pimentão**

Os fatores que afetam a resistência a *P. capsici* em pimentão foram estudados por muitos autores, tais como: idade da planta (Matsuoka, 1984), tipo de isolado (Polach & Webster, 1972), concentração de zoósporos (Ansani & Matsuoka, 1983) e método de inoculação, sendo estes fatores os principais agentes que explicam as respostas diferenciais das linhagens de pimentão (Reifschneider *et al.*, 1986).

O primeiro estudo de resistência a *P. capsici* foi realizado em pimentão por Kimble & Grogan (1960), mais tarde Guerrero-Moreno & Laborde (1980) e Matsuoka (1984) detectaram algumas fontes de resistência. Alguns destes materiais tiveram a resistência quebrada por isolados brasileiros (Reifschneider *et al.*, 1986). Café Filho & Duniway (1995b) mostraram que em condições muito favoráveis ao patógeno (excesso de irrigação), genótipos com resistência incompleta comportam-se como suscetíveis. Da mesma forma genótipos resistentes, inoculados no estágio juvenil (menos de 8 a 9 folhas), comportam-se como suscetíveis (Reifschneider *et al.*, 1986 e Café Filho & Duniway, 1996). No Brasil Kobori *et al.* (2000) avaliaram 11 linhagens de pimentão quanto à resistência a *P. capsici*, sendo que as linhagens AF-1914L, AF1916L, AF1947L e SCM 334 apresentaram os menores números de plantas sintomáticas nas mais altas concentrações de inóculo, sendo indicadas como potenciais porta-enxertos de híbridos em solos infestados por *P. capsici*.

Diversos trabalhos demonstraram que a resistência juvenil não ocorre em pimentão-suscetível, confirmando os resultados encontrados por Pochard & Chambonet (1971); Pochard *et al.* (1976) e Matsuoka (1984). Para pimentão as plantas são resistentes quando apresentam seis folhas (Pochard & Chambonet, 1971), ou oito folhas (Café Filho & Duniway, 1995) aos

40 dias após o plantio (Pochard *et al.*, 1976) e 31 dias após o plantio (Reifschneider *et al.*, 1986; Matsuoka, 1984). Ribeiro *et al.* (2003) relataram que a resistência a *P. capsici* genótipo-específica, não é hospedeira-específica em *Capsicum*.

Ortega *et al.* (2003) citaram o genótipo “Criollo de Morellos”, como boa fonte de resistência a *P. capsici* (linhagem SCN-334), sendo boa proposta para introgressão de genes em programas de melhoramento de pimentão.

Ribeiro *et al.* (1983) registraram que de 363 genótipos de *Capsicum*, nove de *C. annuum* e um de *C. parviflorum* foram classificados como resistentes.

Na China, Jianhua *et al.* (1998) estudaram a resistência de 1075 acessos de *Capsicum annuum* sendo identificados 77 genótipos altamente resistentes (5%) merecendo destaque os acessos Chaotian, Sweet pepper, Niujiao, Yangjiao, Xian, Jian e Shizi. Foram observadas diferenças significativas de resistência entre acessos de Niujiao originários de diferentes regiões geográficas.

Alao & Alegbejo (1999) relataram que, a resistência durável de genótipos a *P. capsici* pôde ser quebrada por um longo período de exposição da planta ao patógeno. Ao final da avaliação todas as linhas de pimentão locais foram suscetíveis ao patógeno com exceção do genótipo U-Kimba, que apresentou de 0-8,3% de mortalidade.

Atualmente existem muitos trabalhos de busca de genes de resistência, como uma ferramenta importante no melhoramento molecular, como exemplo, tem-se a busca de genes de resistência, como foram os trabalhos de Kim *et al.* (2004) que identificaram genes de resistência a *P. capsici* em retrocruzamentos de pimentão e como Egea-Gilabert *et al.* (2003) que identificaram genes de resistência a *P. capsici* em pimentão na Espanha.

No Brasil os principais centros de pesquisa sobre resistência de *Capsicum* a *P. capsici* são aqueles que detêm o maior número de acessos em suas coleções. Os principais grupos distribuem-se no Estado de São Paulo, Minas Gerais e Brasília. Em Brasília, A Embrapa

Hortaliças vem a 20 anos desenvolvendo linhas de *Capsicum* com resistência múltipla a doenças (Ribeiro *et al.*, 2003).

### **Estudos de Resistência a *P. capsici* em Tomate (*Lycopersicon* spp.)**

Segundo Kreutzer & Bryant (1946) existem mais de 100 variedades comerciais de tomate com resistência a podridão do fruto por *P. capsici*. O primeiro trabalho de avaliação da reação de genótipos de tomate a *P. capsici* foi realizado por Satour & Butler (1967). Mais recentemente, Hartman *et al.* (1991) avaliou a suscetibilidade de 14 linhagens de tomateiro a *P. capsici*.

No Brasil existem poucas avaliações da reação de genótipos de *Lycopersicon*, quanto a resistência a podridão do colo causada por *P. capsici*. Em muitos campos a incidência da doença é baixa, ocasionando um baixo nível de perdas causadas à cultura, principalmente quando comparadas aos efeitos da requeima. Contudo nas últimas safras de tomate industrial, irrigado com pivô central, tem ocasionado perdas expressivas na região do centro-oeste brasileiro.

### **Estudos de Resistência a *P. capsici* em Abóboras (*Cucurbita* spp.)**

Com relação às cultivares disponíveis no mercado brasileiro, além dos relatos de surtos da doença, somente é mencionada a resistência de algumas cultivares de abóbora e moranga, por exemplo, as cultivares “Menina Brasileira” e “Caravela” (*C. moschata*) são mais tolerantes a *P. capsici* do que as cultivares “Exposição” e “IAC Coroa” (*C. maxima*) (Poltronieri, 1986).

No Brasil, a doença é considerada uma das mais graves para as cucurbitáceas, sendo verificada perdas nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Santa Catarina e Distrito Federal (Cruz Filho & Pinto, 1982; Azevedo & Silva, 1986; Brune & Lopes, 1994). No país, estudos de resistência a *P. capsici* em todas as espécies comerciais de cucurbitáceas são

escassos, contudo Henz & Lima (1998) concluíram que a maior parte dos genótipos são suscetíveis, destacando cultivares de pepino como resistentes; Henz *et al.* (1994) que verificaram a resistência da polpa de frutos em genótipos de abóbora.

Nos Estados Unidos a resistência a *P. capsici* em *Cucurbita* foi estudada por Tompkins & Tucker (1941), Crossan *et al.* (1954), Chellemi & Sonoda (1983), Ristaino (1990), Kreutzer *et al.* (1940), e em *C. pepo* por McGrath *et al.* (1996).

No Japão, Kuginuki *et al.* (1986) e Kuginuki *et al.* (1994), e no Irã Alavi & Strange, 1982 estudaram a suscetibilidade de cucurbitáceas a *P. drechsleri* e Mansoori & Banihasheimi (1982) estudaram no Irã 116 cultivares de melão, pepino, abóboras e melancia quanto à suscetibilidade a *P. drechsleri* (outra importante espécie de *Phytophthora* que infecta cucurbitáceas), e concluíram que as espécies de *C. melo* foram mais suscetíveis, e *C. pepo* foram mais resistentes.

Informações a respeito da localização das fontes de resistência e a diversidade genética contida no germoplasma de abóboras e morangas (*Cucurbita maxima* e *C. moschata*) para resistência à murcha-de-fitóftora, são ainda muito limitadas, embora se saiba que a disponibilidade de fontes de resistência é muito restrita, especialmente em *C. maxima*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRISTAR® do Brasil Ltda. Disponível em: <<http://www.agristar.com.br>>, acesso em agosto de 2006.
- AGROFIT Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, Ministério da Agricultura. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>, acessado em novembro de 2006.
- ALAO, S.E.L. & ALEGBEJO, M.D. Screening of pepper lines for resistance to *Phytophthora capsici* in Northern Nigeria. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 19:105-108 1999.
- ALAVI, A. & STRANGE, R.N. The relative susceptibility of some cucurbits to an Iranian isolate of *Phytophthora drechsleri*. *Plant Pathology* 31:221-227 1982.
- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. 4<sup>th</sup> ed. New York. Wiley & Sons. 1996.
- ALLAGUI, M.B. & LEPOIVRE, P. Molecular and pathogenicity characteristics of *Phytophthora nicotianae* responsible for root necrosis and wilting of pepper (*Capsicum annuum* L.) in Tunisia. *European Journal of Plant Pathology* 106:887-894 2000.
- AMARAL, J.F. Requeima do pimentão. *O Biológico* 18:160-161 1952.
- ANDRÉS, J.L., RIVERA, A. & FERNÁNDEZ, J. *Phytophthora nicotianae* pathogenic to pepper in northwest Spain. *Journal of Plant Pathology* 85(2):91-98 2003.
- ANDRIVON, D. Nomenclature for pathogenicity and virulence: the need for precision. *Phytopathology* 83:889-890 1993.
- ANSANI, C. & MATSUOKA, K. Sobrevivência de *Phytophthora capsici* no solo. *Fitopatologia Brasileira* 8:269-276. 1983.
- ANSANI, C.V. Sobrevivência de *Phytophthora capsici* Leonian no solo. Viçosa: UFV, 1981. 45 p. Dissertação de Mestrado.
- APPIAH, A.A., FLOOD, J. ARCHER, S.A. & BRIDGE, P.D. Molecular analysis of the major *Phytophthora* species on cocoa. *Plant Pathology* 53(2):209-219 2004.
- ARAGAKI, M. & UCHIDA, J. Morphological distinctions between *Phytophthora capsici* and *P. tropicalis* sp. nov. *Mycologia* 93(1):137-145 2001.
- AZEVEDO, L.A.S. & OLIVEIRA, S.H.F. Utilização de fungicidas protetores no manejo de resistência de fungos. Boletim Técnico N.º. 01, FRAC-BR. Emagri Gráfica e Editora, Campinas/SP, 2003. 24p.
- AZEVEDO, L.A.S. & SILVA, L. Patogenicidade de *Phytophthora capsici* isolado de frutos de moranga híbrida (Tetsukabuto) a frutos de sete espécies de olerícolas. *Fitopatologia Brasileira* 11:1005-1008 1986.
- BARKSDALE, T.H., PAPAVIDAS, G.C. & JOHNSTON, S.A. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Disease* 68:506-509 1984.
- BENSON, D.M. Detection of *Phytophthora cinnamomi* in azalea with commercial serological assay kits. *Plant Disease* 75:478-482. 1991
- BERTHIER, Y., BRUCKART, W.L., CHABOUDEZ, P. LUSTER, D.G. Polymorphic patterns of ribosomal internal transcribe spacers in the biocontrol fungus *Puccinia carduorum* correlate with weed host origin. *Applied and Environmental Microbiology* 62:3037-3041 1996.
- BHAT, R.G., McBLAIN, B.A. & SCHMITTEHENNER, A.F. The inheritance of resistance to metalaxyl and to fluorophenylalanine in matings of homothallic *Phytophthora sojae*. *Mycological Research* 97(7):865-870 1993.
- BILES, C.L., WALL, M.M., WAUGH, M. PALMER, H. Relationship of *Phytophthora* fruit rot to fruit maturation and cuticle thickness of New Mexican-type peppers. *Phytopathology*. 83(6): 607-611 1993.

- BOSLAND, P.W. & LINDSEY, D.L. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper, *Capsicum annuum*. Plant Disease 75:1048-1050 1991.
- BRASIER, C.M. Current questions in *Phytophthora* systematics: the role of the population approach. In: LUCAS, J.A., SHATTOCK, D.S., SHAW, D.S. & COOKE, L.R. (Eds.) *Phytophthora*. Cambridge Univ. Press., Cambridge, U.K. 492 pp. 1991.
- BRASIER, C.M. Problems and prospects in *Phytophthora* research. In: ERWIN, D.C., BARTNICKI-GARCIA, S. & TSAO, P.H. (Eds.) *Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology and pathology*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn. pp. 351-364. 1983.
- BRUNE, S. & LOPES, J.F. Resistência de *Cucurbita maxima* a *Phytophthora capsici*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 29(2):341-344 1994.
- CAFÉ FILHO, A.C. & DUNIWAY, J.M. Dispersal of *Phytophthora capsici* and *P. parasitica* in furrow-irrigated rows of bell pepper, tomato and squash. Plant Pathology 44: 1025-1032 1995a.
- CAFÉ FILHO, A.C. & RISTAINO, J.B. Insensitivity to mefenoxam in *Phytophthora capsici* isolates on pepper and squash in North Carolina. Phytopathology 92: S11. 2002.
- CAFÉ FILHO, A.C., DUNIWAY, J.M. & R.M. DAVIS. Effects of the frequency of furrow irrigation on root and fruit rots of squash caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease 79: 39-44. 1995.
- CAFÉ FILHO, A.C. & DUNIWAY, J.M. Effect of location of drip irrigation emitters and position of *Phytophthora capsici* infections in roots on *Phytophthora* root rot of pepper. Phytopathology 86: 1364-1369. 1996.
- CAFÉ FILHO, A.C. & DUNIWAY, J.M. Effects of furrow irrigation schedules and host genotype on *Phytophthora* root rot of pepper. Plant Disease 79: 45-48. 1995b.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN L.V. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley & Sons. New York. pp. 532. 1990.
- CERQUEIRA, A.O., LUZ, E.D.M.N. & ROCHA, C.S.S. Caracterização morfológica e biométrica de alguns isolados de *Phytophthora* spp. da micoteca do centro de pesquisas de cacau. Fitopatologia Brasileira 24(2):114-119 1999.
- CHELLEMI, D.O.; SONODA, R.M. Outbreak of *Phytophthora capsici* on vegetable crops in Southeast Florida. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 96:69-71 1983.
- CHOWDAPPA, P., BRAYFORD, D., SMITH, J. & FLOOD, J. Molecular discrimination of *Phytophthora* isolates on cocoa and their relationship with coconut, black pepper and bell pepper isolates based on rDNA repeat and AFLP fingerprints. Current Science 84(9):1235-1238 2003.
- CLARK, M.C., LAWRENCE, C.H. PAGE, O.T. & HODGSON, W.A. Composition of DNA from *Phytophthora infestans*. Canadian Journal of Microbiology 14:482-483 1968.
- COOKE, D.E.L. & DUNCAN, J.M. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on ITS 1 e 2 sequences of the rDNA gene repeat. Mycological Research 101:667-677 1997.
- COOKE, D.E.L., DRENTH, A., DUNCAN, J.M., WAGELS, G. & BRASIER, C.M. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. Fungal Genetic and Biology 30:17-32 2000.
- CRAWFORD, A.R., BASSAM, B.J. DRENTH, A. MACLEAN, D.J. & IRWIN, J.A.G. Evolutionary relationships among *Phytophthora* species deduced from rDNA sequence analysis. Mycological Research 100:437-443 1996.
- CROSSAN, D.F., HAASIS, F.A. & ELLIS, D.E. *Phytophthora* blight of summer squash. Plant Disease Reporter, 38:557-559 1954.
- CRUZ FILHO, J. & PINTO, C.M.F. Doenças das cucurbitáceas induzidas por fungos e bactérias. Informe Agropecuário 8(85):38-50 1982.

- CRUZ, B.P.B. & SILVEIRA, A.P. Requeima do pimentão vem do solo. *Coopercotia* 22:37 1965.
- DELP, C.J. Coping with resistance to plant disease control agents. *Plant Disease* 64:652-658 1980.
- DICK, M.W. Phylum Oomycota. In: MARGULIS L., CORLISS J. O., MELKONIAN M. & CHAPMAN D. J., Boston: Jones and Bartlett Publishers. *Handbook of Protoctista* 33:661-685 1990.
- DUCAMP, M., NYASSE, S., GRIVET, L., THEVENIN, J.M., BLAHA, G., DESPREAUX, D. & CILAS, C. Genetic diversity of cocoa tree *Phytophthora* pathogens. Improvement of cocoa tree resistance to *Phytophthora* diseases. pp. 45-75 2004.
- EGEA-GILABERT, C., DICKINSON, M.J., BILOTTI, G. & CANDELA, M.E. Isolation of resistance gene analogs in pepper using modified AFLPs. *Biologia Plantarum* 47(1):27-32 2003.
- ENGLISH, J.T., LADAY, M., BAKONY, J., SCHOIELZ, J.E. & ERSEK, T. Phenotypic and molecular characterization of species hybrids derived from induced fusion of zoospores of *Phytophthora capsici* and *Phytophthora nicotianae*. *Mycological Research* 103(8):1003-1008 1999.
- ERWIN, D.C. & RIBEIRO, O.K. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota, 1996. 562 p.
- FALEIRO, F.G., LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O. & ROCHA, C.S.S. Uso de marcadores RAPD na classificação de isolados de *Phytophthora* spp. causadores da podridão parda do cacauzeiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 28(3):312-315 2003.
- FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Embrapa Cenargen, Brasília, DF, 1995. 220 pp.
- FIGUEIREDO, G., ALFENAS, A. & BROMMONSCHENKEL, S.H. Variabilidade isoenzimática de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* com diferentes níveis de virulência. *Arquivo de Biologia e Tecnologia* 36:793-808 1993.
- FORSTER, H., CUMMINGS, M.P. & COFFEY, M.D. Phylogenetic relationships of *Phytophthora* species based on ribosomal ITS I DNA sequence analysis with emphasis on Waterhouse groups V and VI. *Mycological Resources* 104(9):1055-1061 2000.
- FOSTER, H., COFFEY, M., ELWOOD, H. & SOGIN, M.L. Sequence analysis of the small subunit ribosomal RNA's of three zoosporic fungi and implications for fungal evolution. *Mycologia* 82:306-312 1990.
- GALINDO, A.J. & ZENTMYER, G.A. Genetics and cytology of *Phytophthora*. *Nature* 214:1356. 1967.
- GOODWIN, P.H., ENGLISH, J.T., NEHER, D.A., DUNIWAY, J.M. & KIRKPATRICK, B.C. Detection of *Phytophthora parasitica* from soil and host tissue with a species-specific DNA probe. *Phytopathology* 80:277-281 1990.
- GUBLER, W.D. & DAVIS, R.M. *Pythium* and *Phytophthora* damping-off and root rot. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L. & THOMAS, C.E. (Eds.). *Compendium of Cucurbit Diseases*. St. Paul: APS Press, 1996. pp.21-22.
- GUERRERO-MORENO, A. & LABORDE, J.A. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico, p.52-56, In: Sinop. IV<sup>th</sup> Meeting *Capsicum* Working Group of Eucarpia, Wageningen, The Netherlands, 14-16 Oct. 1980.
- HENZ, G.P. & LIMA, M.F. Avaliação de fatores que afetam a reação de *Cucurbita* spp. a *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira* 19(4):560-565 1994.
- HENZ, G.P. & LIMA, M.F. Resistência de plântulas de cultivares de cucurbitáceas à podridão-das-raízes causada por *Phytophthora capsici*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33(6):853-859 1998.
- HENZ, G.P., LOPES, J.F. & LIMA, M.F. Resistência da polpa de frutos em genótipos de abóbora a *Phytophthora capsici*. *Horticultura Brasileira* 12(1):52-55 1994.

- HO, H.H. Synoptic keys to the species of *Phytophthora*. Mycologia 73:705-714 1981.
- HO, H.H., LU, J. & GONG, L. *Phytophthora drechsleri* causing blight of *Cucumis* species in China. Mycologia 76:115-121 1984.
- HORTALIÇAS Embrapa Hortaliças. Disponível em: <[http://www.cnph.embrapa.br/paginas/hortalicas\\_em\\_numeros/hortalicas\\_em\\_numeros.htm](http://www.cnph.embrapa.br/paginas/hortalicas_em_numeros/hortalicas_em_numeros.htm)>, acessado em junho de 2006.
- HWANG, B.K., DeCOCK, A.W.A.M., BAHNWEG, G., PRELL, H. & HEITFUSS, R. Restriction fragment length polymorphism of mtDNA among *Phytophthora capsici* isolates on pepper (*Capsicum annuum*). Syst. Appl. Microbiol. 14:111-116. 1991
- INDEX FUNGORUM. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>>, acessado em 2006.
- IOANNOU, N. & GROGAN, R.G. Control of *Phytophthora* root rot of processing tomato with ethazol and metalaxyl. Plant Disease 68:429-435 1984.
- IRWIN, A.G., IRWIN, A.C., CAHILL, D.M. & DRENTH, A. *Phytophthora* in Australia. Australian Journal of Agricultural Research 46:1311-1337 1995.
- ISLAM, S.Z., BABADOOST, M., LAMBERT, K.N., NDEME, A. & FOULY, H.M. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from processing pumpkin in Illinois. Plant Disease 89(2): 191-197 2005.
- JIANHUA, L., YUHONG, Y., LIN, W. YEFAN, Z. Resistance to *Phytophthora* blight in hot pepper germoplasm. *Capsicum* and Eggplant Newsletter 14:64-65 1998.
- KAOSIRI, T. & ZENTMYER, G.A. Protein, esterase, and peroxidase patterns in the *Phytophthora palmivora* complex from cacao. Mycologia 72:988-1000. 1980.
- KELLAM, M.K. & ZENTMAYER, G.A. Natural occurrence of oospores of “*Phytophthora palmivora* MF4” (*P. capsici*) in cacao pods Brazil. Phytopathology 72:865. 1982.
- KIM, K.T., CHOI, H.S. CHAE, Y., OH, D.G. & KIM, B.D. Mapping QTL associated with *Phytophthora* root rot resistance in chilli (*Capsicum annuum*). Acta Horticulturae (637): 251-255 2004.
- KIMBLE, K.A. & GROGAN, R.G. Resistance to *Phytophthora* root rot in pepper. Plant Disease Report 44:872-873. 1960
- KOBORI, R.F., DELLA VECHIA, P.T., KUROSAWA, C. & SOLER, J.M.P. Avaliação da resistência de linhagens de *Capsicum annuum* quando inoculadas com três concentrações de inóculo de *Phytophthora capsici*. Summa Phytopatologica 26(1):77-71 2000.
- KREUTZER, W.A., BODINE, E.W. & DURRELL, L.D. Cucurbit diseases and rot of tomato fruit caused by *Phytophthora capsici*. Phytopathology 30:972-976 1940.
- KUGINUKI, Y., IGARASHI, I. & KANNO, T. Establishment of seedling test for resistance to *Phytophthora capsici* Leonian in *Cucurbita*. Cucurbit Genetic Cooperative 9:88-90 1986.
- KUGINUKI, Y., KAWAIDE, T. & KANNO, T. Screening methods for varietal differences in the resistance to *Phytophthora capsici* Leonian in *Cucurbita*. Bulletin of the National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea (Series A), 9:1-11 1994.
- KUNIMOTO, R.K., ARAGAKI, M., HUNTER, J.E. & KO, W.H. *Phytophthora capsici*, corrected name for the cause of *Phytophthora* blight of macadamia racemes. Phytopathology 66:546-548 1976.
- LAMOUR, K.H. & HAUSBECK, M.K. Investigating the spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan. Phytopathology 91(10):973-980 2001.
- LAMOUR, K.H. & HAUSBECK, M.K. The spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan and implications for disease management. Phytopathology 92(6):681-684 2002.
- LAMOUR, K.H. & HAUSBECK, M.K. Effect of crop rotation on the survival of *Phytophthora capsici* in Michigan. Plant Disease 87:841-845 2003.

- LEE, B.K., KIM, B.S., CHANG, S.W. & HWANG, B.K. Aggressiveness to pumpkin cultivars of isolates of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pepper. *Plant Disease* 85:497-500 2001.
- LEE, S.B. & TAYLOR, J.W. Molecular phylogeny of *Phytophthora* species. *Phytophthora*. Newsletter 17:24-25 1991.
- LEE, S.B. & TAYLOR, J.W. Phylogenetic relationships of five fungus-like *Phytophthora* species inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Molecular Biological Evolution* 9:636-653 1992.
- LEE, S.B., WHITE, T.J. & TAYLOR, J.W. Detection of *Phytophthora* species by oligonucleotide hybridization to amplified ribosomal DNA spacers. *Phytopathology* 83(2):177-181 1993.
- LEONIAN, L.H. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology* 12:401-408 1922.
- LIMA, M.F. & HENZ, G.P. Patogenicidade de isolados de *Phytophthora capsici* à abóbora e avaliação da resistência de genótipos de *Cucurbita* spp. *Horticultura Brasileira* 12(1):45-48 1994.
- LIU, B. Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis. CRC Press LLC, Flórida, 1977.
- LOPES, J.F., BRUNE, S. & HENZ, G.P. Metodologia de avaliação da resistência de germoplasma de abóboras e morangas a *Phytophthora capsici*. *Horticultura Brasileira* 17:30-32 1999.
- LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O., FALEIRO, F.G., DANTAS NETO, A., MATSUOKA, 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* 28(5):559-564 2003.
- LUZ, E.D.M.N., SANTOS, A.F., MATSUOKA, K. & BEZERRA, J.L. Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Livraria e Editora Rural Ltda., 2001.
- MANSOORI, B. & BANIHASHEIMI, Z. Evaluating cucurbit seedling resistance to *Phytophthora drechsleri*. *Plant Disease* 66(5):373-376 1982.
- MAO, Y. & TYLER, B.M. Genome organization of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Experimental Mycology* 15:283-294 1991.
- MARQUE, J.M., SOUZA, N.L. & KOBORI, R.F. Identificação de grupos de compatibilidade de *Phytophthora capsici* obtidos de pimentão (*Capsicum annuum*) e abóbora (*Curcubita moschata*). *Summa Phytopathologica* 253:269-271 1999.
- MATSUOKA K. Melhoramento de pimentão e pimenta visando à resistência a doenças fúngicas. Informe Agropecuário Belo Horizonte 10:49-52. 1984.
- MATSUOKA, K. & VANETTI, C.A. Murcha ou requeima do pimentão e podridão de fruto de abóbora causados por *Phytophthora capsici*. In: Luz, E.D.M.N., Santos, A.F., Matsuoka, K. & Bezerra, J.R. (Eds.) Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Livraria e Editora Rural Ltda 509-559 pp. 2001.
- MCGOVERN, R.J., JONES, J.P., MITCHELL, D.J., PLUIM, R.A. & GILREATH, P.R. Severe outbreak of *Phytophthora* blight and fruit rot of cucurbits in Florida. *Phytopathology* 83:1388. 1993.
- MCHAU, G.R.A. & COFFEY, M.D. Evidence for the existence of two subpopulations in *Phytophthora capsici* and a redescription of the species. *Mycological Research* 99(1):89-102 1995.
- MENDES, M.A.S., SILVA, V.L., DIANESE, J.C., FERREIRA, M.A.S.V., SANTOS, C.E.N., GOMES NETO, E., URBEN, A.F. & CASTRO, C. Fungos em Plantas no Brasil. Brasília. Embrapa-SPI/Embrapa Cenargen. 1998. 569p.
- MILLER, S.A., BHAT, R.G. & SCHMITTHENNER, A.F. Detection of *Phytophthora capsici* in pepper and cucurbit crops in Ohio with two commercial immunoassay kits. *Plant Disease* 78:1042-1046 1994.

- MILLER, S.A., MADDEN, L.V. & SCHMITTHENNER, A.F. Distribution of *Phytophthora* spp. in field soils determined by immunoassay. *Phytopathology* 87:101-107 1997.
- NEWHOOK, F.J., WATERHOUSE, G.M. & STAMPS, D.J. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. Kew, Commonwealth Mycological Institute. Mycological Papers 143. 1978.
- ORDONEZ, M.E., HOHL, H.R., VELASCO, J.A., RAMON, M.P., OYAZUN, P. J., SMART, C.D., FRY, W.E., FORBES, G.A. & ERSELIUS, L.J. A novel population of *Phytophthora*, similar to *P. infestans*, attacks wild *Solanum* species in Ecuador. *Phytopathology* 90(2):197-202 2000.
- ORTEGA, R.G., ARNEDO-ANDRES, M.S., ARTEGA, M.L. & GARCES-CLAVER, A.B. 'Serrano Criollo de Morelos', a good example of a land variety. *Capsicum and Eggplant Newsletter* no.22, pp. 25-26 2003.
- OTTOYA, M., MAYA, M. & PASTOR CORRALES, M. Molecular analysis of virulence evolution in the fungal bean pathogens *Colletotrichum lindemuthianum* and *Phaeoisariopsis griseola*. In: International Workshop of the *Phaseolus* beans Advanced Research Network, Cali, Colombia, CIAT, 1993.
- OUDEMANS, P. & COFFEY, M.D. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycological Research* 95:1025-1046 1991.
- OUDEMANS, P., FOSTERS, H. & COFFEY M.D. Evidence for distinct isozyme subgroups within *Phytophthora citricola* and close relationships with *P. capsici*. *Mycological Research* 98(2):189-199 1994.
- PALLOIX, A., DAUBEZE A.M. & POCHARD E. *Phytophthora* root rot of pepper - Influence of host genotype and pathogen strain on the inoculum density-disease severity relationships. *Journal of Phytopathology* 123: 25-33 1988.
- PANABIERES, F., MARAIS, A., TRENTIN, F., BONNET, P. & RICCI, P. Repetitive DNA polymorphism analysis as a tool for identifying *Phytophthora* species. *Phytopathology* 79:1105-1109 1989.
- PANE, A., AGOSTEO, G.E. & CACCIOLA, S.O. *Phytophthora* species causing crown and root rot of tomato in southern Italy. *Bulletin-OEPP* 30(2):251-255 2000.
- PAPAVIZAS, G. S., BOWERS, J. H. & JOHNSTON, S.A. Selective isolation of *Phytophthora capsici* from soils. *Phytopathology* 71:129-133. 1981.
- PARRA, G & RISTAINO, J. Insensitivity to Ridomil Gold (Mefenoxam) found among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight on bell pepper in North Carolina and New Jersey. *Plant Disease* 82(6):711. 1998.
- PARRA, G. & RISTAINO, J.B. Resistance to mefenoxam and metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight of bell pepper. *Plant Disease* 85(10):1069-1075 2001.
- PAZ LIMA, M.L., CAFÉ FILHO, A.C., BOITEUX, A.C., REIS, A., SATELIS, J.F. & LOPES, C.A. Reação de espécies de *Lycopersicon* a isolados dos dois grupos de compatibilidade de *Phytophthora capsici*. *Summa Phytopathologica* 30(1):110 2004.
- POCHARD, E., CLERJEAU, M. & PITRAT, M. La résistance du piment, *Capsicum annum* L. a *Phytophthora capsici* Léon. *Ann. Amélior. Plantes* 26(1):35-50 1976.
- POLACH, F.J. & WEBSTER, R.K. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 62:20-26 1972.
- POLTRONIERI, L.S. Produção de esporângio in vitro, patogenicidade em *Cucurbita* spp. e controle químico de *Phytophthora capsici*. Piracicaba: ESALQ, 1986. 83p. Dissertação de Mestrado.
- RÊGO, A.R. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Levantamento de grupos de compatibilidade de isolados de *Phytophthora capsici* Leonian, obtidos de abóbora (*Cucurbita maxima* Duch.X *Cucurbita moschata* Duch.), pimenta (*Capsicum annum* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). *Fitopatologia Brasileira* 7:55-61 1982.
- REIFSCHNEIDER, F. (Ed.) *Capsicum: pimentas e pimentões*. Embrapa, Brasília, DF, 2000. 113p.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., CAFÉ FILHO, A.C. & RÊGO, A.M. Factors affecting the expression of pepper resistance to *Phytophthora* blight in screening trials. *Plant Pathology* 35: 451-456. 1986.

- REIS, A., RIBEIRO, F.H.S., MAFFIA, L.A. & MIZUBUTI, E.S.G. Sensitivity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans* to commonly used fungicides in tomato and potato crops. *Plant Disease* 89:1279-1284 2005.
- REIS, A., SMART, C.D., FRY, W.E., MAFFIA, L.A. & MIZUBUTI, E.S.G. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from southern and southeastern Brazil from 1998 to 2000. *Plant Disease* 87(8):896-900 2003.
- RIBEIRO, C.S., LOBO Jr., M., HENZ, G.P. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Evaluation of *Capsicum* spp. genotypes for resistance to *Phytophthora capsici* in Brazil. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 22:125-126 2003.
- RIBEIRO, C.S., LOPES, CA & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Identification of sources of juvenile resistance in *Capsicum* spp. to *Phytophthora capsici*. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 16: 1011 1997.
- RIBEIRO, O.K. A sourcebook of the genus *Phytophthora*. Germany, Vaduz. J. Cramer. 417 p. 1978.
- RIBEIRO, O.K. Physiology of asexual reproduction and spore germination in *Phytophthora*. In: ERWIN, D.C., BARTNICKI-GARCIA, S. & TSAO, P. *Phytophthora*. The American Phytopathological Society 1983 pp.55-70.
- RISTAINO, J.B. & JOHNSTON, S.A. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease* 83(12):1080-1089 1999.
- RISTAINO, J.B. Intraspecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80(11):1253-1259 1990.
- RISTAINO, J.B., MADRITCH, M., TROUT, C.L. & PARRA, G. PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Applied and Environmental Microbiology* 68:948-954 1998.
- RIVEROS, F., SOTOMAYOR, R., RIVERA, V., SECOR, G. & ESPINOZA, B. Resistência de *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary a metalaxyl em cultivo de papas em el norte de Chile. *Agricultura Técnica do Chile* 63(2):117-124 2003.
- ROBERTS, P.D., McGOVERN, R.J., HERT, A., VAVRINA, C.S. & URS, R.R. *Phytophthora capsici* on tomato: survival, severity, age, variety, and insensitivity to mefenoxam. Disponível em: <<http://www.imok.ufl.edu/veghort/pubs/wokshop/roberts99.htm>>, Acessado em: outubro de 2003.
- ROBINSON, R.W. & DECKER-WALTERS, D.S. Cucurbits. CAB International, United Kingdom at the University Press Cambridge, 1999. 226p.
- SAKATA® Seed Sudamericana Ltda. Disponível em: <<http://www.sakata.com.br>>, acesso em agosto de 2006.
- SAREJANNI, J.A. La pourriture du collet des solanées cultivées et la classification du genre *Phytophthora* (A collar rot of cultivated solanum and the classification of the genus *Phytophthora*). *Annual Phytopathology* 3:35-52 1936.
- SATOUR, M.M. & BUTLER, E.E. A root and crown rot of tomato caused by *Phytophthora capsici* and *P. parasitica*. *Phytopathology* 57(5):510-515 1967.
- SBML Systematic Botany of Mycology, disponível em: <<http://nt.ars-grin.gov>>, consultado em 27/03/2006.
- SEMINIS® Vegetable Seeds. Disponível em: <<http://www.seminis.com.br>>, acesso em agosto de 2006.
- SHIVAS, R.G. Fungal and bacterial diseases of plants in Western Australia. *Journal Royal Soc. W. Australia* 72: 1-62 (6765) 1989.
- SILVA, J.B.C. & GIORDANO, L.B. Tomate para processamento industrial. Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 2000. 168p.
- SILVAR, C., MERINO, F. & DÍAZ, J. Diversity of *Phytophthora capsici* in northwest Spain: Analysis of virulence, metalaxyl response, and molecular characterization. *Plant Disease* 90:1135-1142 2006.

- STAMPS, D.J. *Phytophthora capsici*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. N°836. 2 p. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1985.
- STAMPS, D.J., WATERHOUSE, G.M. & STAMPS, D.J. Tabular key to species of *Phytophthora* the Bary. Mycological Papers 162 CAB International Wallingford, UK. 1990.
- STORCK, R. & ALEXOPOULOS, C.J. Deoxyribonucleic acid of fungi. Bacteriological Reviews 34:126-159 1970.
- SYNGENTA® Brasil. Disponível em: <<http://www.syngenta.com.br>>, acessado em agosto de 2006.
- TAMIETTI, G. & VALENTINO, D. Physiological characterization of a population of *Phytophthora capsici* Leon. from Northern Italy. Journal of Plant Pathology 83(3):199-205 2001.
- TOMPKINS, C.M. & TUCKER, C.M. Buckeye rot of tomato in California. Journal Agricultural Resources. 62:467-474. 1941.
- TOMPKINS, C.M. & TUCKER, C.M. *Phytophthora* rot of honeydew melon. Journal Agricultural Resources. 61:933-944. 1937.
- TRAVIS, S.E., MASCHINSKI, J. & KEIM, P. An analysis of genetic variation on *Astragalus cremnophylax* var *cremnophylax*, a critically endangered plant, using AFLP markers. Mol. Ecol. 5:735-745 1996.
- TSAO, P. H. The identities, nomenclature and taxonomy of *Phytophthora* isolates from black pepper. In: SARMA & T. PREMKUMAR, (Eds.) Diseases of Black Pepper. Pages 185-211 Proc. Int. Pepper Comm. Workshop on Black Pepper Diseases. Goa, India. Y.R. 1991.
- TSAO, P.H. & ALIZADEH, A. Recent advanced in the taxonomy and nomenclature of the so-called *P. palmivora* MF4 occurring on cocoa and other tropical crops. Proceedings 10<sup>th</sup> International Cocoa Research Conference. Santo Domingo 17-23 May 1987, pp. 441-445. 1988.
- UCHIDA, J.Y. & ARAGAKI, M. Occurrence of chlamydospores in *Phytophthora capsici*. Mycologia 77(5):832-835 1985.
- URBEN, A.F. *Phytophthora capsici* Leonian o agente etiológico da murcha de *Capsicum annum* L. em Minas Gerais. (Dissertação de mestrado) Viçosa, MG, 1980.
- VAN DER MERWE, M., WINFIELD, M.O., ARNOLD, G.M. & PARKER, J.S. Spatial and temporal aspects of genetic structure of *Junipepus communis* populations. Molecular Ecology 9:379-386 2000.
- VILGALYS, R. & GONZALES, D. Organization of ribosomal DNA in the basidiomycete *Thanatephorus praticola*. Current Genetics 18:277-280 1990.
- WATERHOUSE, G.M. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 80 p. Mycological Papers 92. 1963.
- WATERHOUSE, G.M. The genus *Phytophthora* de Bary. Diagnoses (or descriptions) and figures from the original papers. 2 Ed. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 59 p. Mycological Papers 122. 1970.
- WATERHOUSE, G.M., NEWHOOK, F.J. & STAMPS, J.D. Present criteria for classifications of *Phytophthora*. In: ERWIN, D.C. BARTNICK-GARCIA, S. & TSAO, P. *Phytophthora*. The American Phytopathological Society 1983. pp. 139-147.
- WHITE, T.J., BURNS, S.L. & TAYLOR, J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSK, J.J. WHITE, T.J. (Eds.) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press Inc, New York, p. 315-322, 1990.
- ZHANG, S., PANACCIONE, D.G. & GALLEGLY, M.E. Metalaxyl stimulation of growth of isolates of *Phytophthora infestans*. Mycologia 89(2):289-292 1997.
- ZHANG, Z.G., ZHANG, J.Y., ZHENG, X.B., YANG, Y.W. & KO, W.H. Molecular distinctions between *Phytophthora capsici* and *Phytophthora tropicalis* based on ITS sequences of ribosomal DNA. Phytopathology 152:358-364 2004.

ZHENG, F.C. & WARD, E. Variation within and between *Phytophthora* species from rubber and citrus trees in China, determined by polymerase chain reaction using RAPDs. *Journal of Phytopathology* 146(2/3):103-109 1998.

## **CAPÍTULO 1**

### **CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Phytophthora capsici* DE HORTALIÇAS**

## RESUMO DO CAPÍTULO 1

### Caracterização fenotípica e molecular de *Phytophthora capsici* de hortaliças.

A diversidade de isolados brasileiros de *Phytophthora* foi estudada usando-se marcadores fenotípicos e moleculares, assim como suas inter-relações. A partir de uma coleção de 193 isolados oriundos de pimentão, tomate, abóbora, berinjela, jiló, cacau, pimenta do reino, seringueira, originários das cinco regiões geográficas do Brasil, fez-se a caracterização morfológica das estruturas sexuais e assexuais dos isolados, identificação do grupo de compatibilidade, identificação da resistência a metalaxil, avaliação da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados em frutos de pimentão e em plântulas de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon* spp., bem como seqüenciamento das regiões ITS e do gene 5.8S. O esporângio de todos os isolados estudados foram piriformes clavados a limoniforme. O comprimento do pedicelo foi de 38 a 45  $\mu$ , as colônias mostraram-se com formato estrelar a rosiforme. A caracterização morfológica e fisiológica dos isolados demonstrou padrões de comportamentos para *P. capsici*, sendo observado que para alguns isolados o comportamento foi diferenciado. O grupo de compatibilidade mais frequente na coleção foi o A1. O grupo de compatibilidade A2 foi mais freqüente na região Sul do Brasil. No Brasil possivelmente não haja pressão de seleção tamanha a ponto de induzir nos campos de produção o cruzamento sexual nas espécies de *P. capsici* identificadas. A maioria dos isolados mostraram-se sensíveis a metalaxil sob baixas doses. As médias da concentração efetiva capaz de inibir o crescimento em 50% obtida para a maioria dos isolados foi de 1,39  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para o isolados classificados como sensíveis e 15,08  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para os isolados considerados de sensibilidade intermediária a metalaxil. É possível que isto se deva ao fato de que no Brasil metalaxil não ser utilizado indiscriminadamente para controle de oomicetos em lavouras. Isolados da região sul apresentaram-se como menos sensíveis a metalaxil, sendo muitos isolados ajustados na classe intermediária de sensibilidade. Todos os isolados analisados foram patogênicos em frutos de

pimentão, mas alguns isolados como os de seringueira mostraram sintomas menos evidentes. A agressividade em frutos de pimentão não foi um indicador da especificidade do isolado aos hospedeiros de origem. Todos os isolados inoculados foram virulentos em plântulas de pimentão, contudo apresentaram agressividades variáveis entre as cultivares de pimentão e tomate analisados. Os isolados foram altamente agressivos em genótipos de tomates incluindo isolados oriundos de pimentão. O isolado oriundo de pimenta-do-reino (Pci 8) foi virulento, contudo sua severidade foi menor em plântulas de pimentão e tomate. Os resultados da maioria das seqüências da região ITS 2 confirmaram dados morfológicos e moleculares, separando os isolados em três grupos: 1) *P. capsici*, 2) *P. nicotianae* e 3) *P. tropicalis*. A homologia de seqüências e a análise filogenética suporta a separação de *P. tropicalis*, *P. nicotianae* e *P. capsici*, nos isolados analisados, sendo assim considerados importantes táxons causadores de podridões do colo e frutos em hortaliças. A coleção de isolados foi caracterizada fisiologicamente e morfológicamente, ajustando-se as medidas obtidas com as medidas descritivas da espécie *P. capsici*; observou-se que a maioria dos isolados pertencem a um único grupo de compatibilidade, não realizando nos campos produtores a reprodução sexuada; a maioria dos isolados brasileiros são sensíveis a metalaxil; e a expressão da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados ocorre de forma diferenciada quando realizam-se testes de patogenicidade em frutos e plântulas; e por fim a análise de seqüência da região ITS permitiu separar os isolados em três grupos, confirmando para a maioria que se tratavam de isolados de *P. capsici*.

**Palavras-chaves:** murcha de fitofitora, abóbora, pimentão, tomate,

**ABSTRACT:**  
**Phenotypic and molecular characterization of *Phytophthora capsici* on plants.**

The diversity of Brazilian isolates of *Phytophthora* species obtained from many plants, was studied using phenotypical and molecular markers. A group of 193 isolates from sweet pepper, tomato, pumpkin, eggplant, jilo, cacao, black pepper, rubber, from five geographical regions of Brazil, were characterized in terms of their sexual and asexual structures, identification of mating types, metalaxyl resistance, evaluation of pathogenicity, aggressiveness and virulence of isolates on fruit of sweet pepper and seedlings of *Capsicum annuum* and *Lycopersicon* spp. and analysis sequence regions of ITS and gene 5,8S. The morphological standards of sporangial was piriform clavate and lemoniform, the size of pedicel was 38-45  $\mu\text{m}$ , the kind of grown mycelia was stelate to rosiform. Prevailing mating type frequency was A1, and the A2 mating type was more frequent on the Southern region.

Results indicate that sexual reproduction is presently rare in Brazil. Most isolates were sensitive to metalaxyl in low dosages. Effective dosage for 50% inhibition of mycelial growth was 1.39  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  for isolates classified as sensitive, and 15.08  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  for isolates grouped as of intermediate sensitivity to metalaxyl. No isolate was classified as resistant. High prevalence of sensitive isolates may be due to the fact that in Brazil metalaxyl was not as widely used as a single active principle against oomycetes, as in other countries were resistance is more commonly found. Southern region isolates were the least sensitive to metalaxyl. All isolates tested were pathogenic to sweet pepper fruits, but some (as the *Hevea brasiliensis* isolate) were less aggressive. Generally, however, aggressiveness to sweet pepper fruits had no relation to the host from which the isolate was originally found. All isolates were pathogenic to sweet pepper plantlets, but varied in their aggressiveness to pepper and tomato cultivars. All isolates were highly aggressive to tomato genotypes, including the isolates from sweet pepper. The isolate from *Piper nigrum* (Pci 8) was virulent to tomato and pepper

plantlets, but its aggressiveness was lower than the others. ITS 2 sequencing confirmed morphological data, separating the isolates in three taxa: 1) *P. capsici*, 2) *P. nicotianae* and 3) *P. tropicalis*. Sequence homology and phylogenetic analysis supported separation of *P. tropicalis*, *P. nicotianae* and *P. capsici*, and the majority of isolates was identified as *P. capsici*. All three species are classified as crown and fruit pathogens of vegetable crops. Pathogenicity, aggressiveness and virulence of isolates was different in fruits and plantlets.

**Key-words:** *Phytophthora* wilt, squash, sweet pepper, tomato, metalaxyl.

## 1.1. INTRODUÇÃO

A murcha de fitóftora causada por *Phytophthora capsici* (Classe Oomicetes) é uma das mais importantes doenças da cultura do pimentão (*Capsicum annuum*), ocasionando severas perdas econômicas no Brasil e no mundo. Devido à natureza polífaga da espécie muitos registros de novos hospedeiros são encontrados em literatura. Este patógeno infecta todos os órgãos vegetais podendo ser disseminado pela água de superfície no filoplano, via respingo de chuva e irrigação ou via água corrente oriunda da chuva ou irrigação. O patógeno possui ciclos de vida sexual e assexual, que podem ou não (mais freqüente) aparecerem conjuntamente nos campos produtores, resultando assim, uma imensa dificuldade de manejo. A doença possui distribuição espacial predominantemente agregada nos campos produtores e nos estágios iniciais diversos focos da doença podem ser observados (Ristaino & Johnston, 1999).

As principais revisões sobre o gênero de *Phytophthora* foram publicadas por Waterhouse (1963) e (1970); Newhook *et al.* (1978); Ribeiro (1978) e Stamps *et al.* (1990). Nestas revisões as espécies são classificadas com base em características morfológicas, tais como papilação e caducidade do esporângio; forma de agregação do anterídio e compatibilidade sexual; temperatura de crescimento e esporulação em cultura; especificidade a hospedeiros e alguns caracteres fisiológicos e patogênicos. Contudo existem muitas incertezas quanto a classificação morfológica na identificação de muitas espécies tal como nos complexos *P. megasperma* e *P. palmivora* (Zhang *et al.*, 2004).

Satur & Butler (1968) e Polach & Webster (1972), relataram alguma especificidade a planta hospedeira de isolados de *P. capsici* infectando pimentão e tomate. No entanto, trabalhos posteriores não confirmaram essas observações, mostrando uma natureza polífaga e cosmopolita da espécie.

Isolados de *Phytophthora* obtidos de cacau e pimenta do reino originalmente designados como *P. palmivora* MF4, foram renomeados como *P. capsici* de acordo com o

conceito de espécie (diferente de Leonian, 1922) de Alizadeh & Tsao (1985) e Mchau & Coffey (1995). Recentemente estes isolados juntamente com isolados de *P. capsici* de macadâmia, (Kunimoto *et al.*, 1976) foram separados daqueles isolados patogênicos de pimentão, tomate, berinjela e abóboras, descrevendo uma nova espécie denominada de *P. tropicalis* Aragaki et Ukida (Aragaki & Ukida, 2001). Esta nova espécie foi descrita com base na análise de isoenzimas e tamanho de pedicelos. O primeiro grupo de *P. capsici* possui esporângios mais largos, relação comprimento largura menor que 1,8, base do esporângio arredondada, ausência da produção de clamidósporos 35 °C, e é patogênico a *Capsicum*. O segundo grupo foi designado como uma espécie nova *Phytophthora tropicalis*, que distingue-se de *P. capsici* por possuir esporângio mais estreito e menor que 26 µm de diâmetro, e a relação C/L é maior que 1,8, a base do esporângio é cônica, há pouco crescimento de clamidósporos à 35 °C e apresenta fraca ou nenhuma virulência em *Capsicum*. Para a taxonomia clássica as características morfométricas de esporângios de *P. capsici* tem um significativo valor taxonômico para distinção de grupos dentro da espécie (Aragaki & Uchida, 2001). *Phytophthora tropicalis* e *P. capsici* possuem alguns atributos morfológicos e fisiológicos similares tais como esporângio com longo pedicelo, descíduos em água, o oogônio com anterídio anfígeno, os quais são produzidos heterotalicamente (Zhang *et al.*, 2004).

Embora limitados, estudos não constataram a ocorrência simultânea de grupos de compatibilidade de *P. capsici* em campos produtores do Brasil ficando restritos aos trabalhos de Rêgo & Reifschneider (1982) e Marque *et al.* (1999). English *et al.* (1999) citaram que a ocorrência simultânea de ambos os grupos de compatibilidade num mesmo campo produtor é pouco frequente, assim a variabilidade genética originária do cruzamento sexual é rara.

O uso de dados de seqüências de DNA ribossomal tem sido uma poderosa ferramenta para compreender a taxonomia e filogenia de *Phytophthora* intra (Crawford *et al.*, 1996 e Cooke *et al.*, 2000) e interespecífica (Lee & Taylor, 1992).

Neste capítulo os isolados de *P. capsici* oriundos de vários hospedeiros e regiões geográficas do Brasil, serão caracterizados com base em marcadores morfológicos e fisiológicos, identificação do grupo de compatibilidade, avaliação da sensibilidade a metalaxil, avaliação da patogenicidade, virulência e agressividade em frutos e plântulas de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon* sp., e seqüenciamento da região ITS do rDNA e 5.8S do rDNA.

## 1.2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 1.2.0. Isolados de *Phytophthora* spp.

Os 193 isolados oriundos de culturas monospóricas (82 de pimentão, 30 de tomate, 40 de abóbora, 21 de berinjela, 08 de cacau, 03 de jiló, 01 de pimenta do reino, 01 de mandioca, 01 de pepino, 02 de seringueira), identificados preliminarmente como *P. capsici*, fazem parte da Coleção de Fungos da Embrapa Hortaliças, em Brasília, Distrito Federal. A Tabela 1.1 mostra a origem e hospedeiras dos referidos isolados.

### 1.2.1. Caracterização morfológica e fisiológica

**Produção de esporângios (estruturas assexuais):** Os isolados foram cultivados em meio de tomate-ágar ([20%] - 6 g ágar, 1,5 g CaCO<sub>3</sub>, 100 mL suco de tomate Superbom Temperado, 400 mL de água destilada), em incubadora, 24 horas a 18 °C no escuro (Câmara incubadora Incubata SSU-R10Dm, Ikeda Rica), e nos seis dias subsequentes a 25±2 °C sob luz contínua (Câmara de crescimento com regulação de fotoperíodo e termoperíodo Eletrolab). Após este período preparou-se lâminas semi-permanentes. Para os isolados que não esporularam, depositou-se fragmentos de meio de cultura, contendo o micélio fúngico, em placas de Petri contendo suspensão de meio de cultura líquido (dois mL meio suco de cenoura (SC) e oito mL de água destilada e esterilizada (AD). As placas de Petri contendo a suspensão de suco de cenoura e os discos de micélio imersos na solução foram levadas para câmara de incubação (25±2 °C sob luz contínua) por um período de três dias. Nestas condições ocorreu farta produção de esporângios, sendo assim preparadas às lâminas semi-permanentes dessas estruturas assexuais.

**Produção de oogônios (estruturas sexuais):** Após pareamento em meio de tomate-ágar (sob luz contínua, a ±26 °C, pelo período de 7 a 10 dias) com isolados padrões (Pcp 42-A1 e Pct 2-A2), foram coletados os oogônios nas regiões onde ocorreu a produção dos gametângios e preparadas lâminas semi-permanentes.

**Morfologia e Morfometria de estruturas vegetativas e sexuais:** para cada isolado foram avaliados 50 esporângios em microscópio composto utilizando uma ocular micrométrica. Foram feitas medidas de comprimento (C) e a largura (L) de esporângios, o comprimento da papila ( $C_L$ ) e o comprimento do pedicelo ( $C_P$ ). Além disso, avaliou-se o formato dos esporângios, presença de papila, tipo de colônia, sendo depois calculada a relação comprimento/largura (C/L) do esporângio. Mediu-se também o diâmetro do oogônio ( $D_{og}$ ) e do oósporo (Dos). Cinquenta esporângios foram classificados quanto à forma com base em Erwin & Ribeiro (1996).

**Características fisiológicas “*in vitro*”:** Foi medido o diâmetro de colônia durante o período de 10 dias, em meio de cultura tomate-água com concentração de 20 % ( $ST_{20\%}$ ), a cada dois dias para posterior cálculo da taxa de crescimento entre isolados por regressão linear. O parâmetro área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) foi calculada para cada isolado (Shaner & Finney, 1977). Após 10 dias foi também observado o tipo de colônia formada pelo isolado (petalóide concêntrica, crisantêmica, rosiforme e estrelada – segundo Erwin & Ribeiro, 1996).

**Análise dos dados:** Para todos os dados, foram verificadas as premissas exigidas em testes paramétricos, tais como: a normalidade, presença de valores discrepantes (“*outliers*”) e homocedasticidade (Zar, 1999), antes da análise de variância usando-se o “*Statistical Analysis Systems*” (SAS Institute, Inc. Cary, NC.).

Fez-se teste de comparação de médias quando se rejeitou a hipótese de nulidade dos efeitos dos tratamentos. Os valores foram analisados utilizando os seguintes procedimentos do “*Statistical Analysis Systems*” (SAS Institute, Inc. Cary, NC.): PROC GLM para análise de variância, PROC DISCRIM, para análise discriminante e PROC PRINCOMP para análise de componentes principais visando separação e diferenciação dos isolados.

### **1.2.2. Identificação de grupos de compatibilidade**

Cento e trinta isolados oriundos de vários estados do Brasil foram pareados em meio de cultura suco de tomate temperado (STt) para observação dos cruzamentos intraespecíficos. O tipo de compatibilidade de cada isolado foi determinado “*in vitro*” com os isolados padrões Bahamas (A1) e KM (A2) (Tabela 1.1, isolados nº28 e nº 84). A área da placa de Petri contendo meio de cultura foi dividida em quatro partes equidistantes, em duas delas foram adicionados discos de micélio do isolado de grupo de compatibilidade desconhecido e nas outras duas foi depositado disco de micélio (6 mm) dos padrões A1 e A2, segundo Rêgo & Reifschneider (1982). Após sete a dez dias, observou-se a presença de oogônios na intersecção entre os micélios de tipo desconhecido e um dos padrões a seu lado. A formação de oogônios ocorre na intersecção entre duas culturas de isolados pertencentes ao mesmo grupo de compatibilidade. A confirmação foi feita com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

### **1.2.3 Resistência a metalaxil**

A sensibilidade a metalaxil foi avaliada em 96 isolados representativos de várias regiões do país e de diferentes plantas hospedeiras (Tabela 1.1). O teste foi realizado em lotes de oito isolados, transferindo discos de micélio (diâmetro de 10 mm) para placas de Petri contendo meio ST<sub>10%</sub> suplementado com doses crescentes (0; 0,1; 1; 10; 100 µg.ml<sup>-1</sup>) de metalaxil em delineamento inteiramente casualizado com duas repetições por concentração. A unidade experimental foi constituída de uma placa de cada isolado com cada concentração de fungicida. As placas foram incubadas a 22°C no escuro. Aos dois, quatro e seis dias de incubação (dai), foi mensurado o diâmetro da colônia (mm nas duas direções), e calculada a porcentagem de crescimento em relação ao diâmetro das placas controle (sem metalaxil). Foi também estimada a concentração efetiva de metalaxil capaz de inibir em 50% o crescimento micelial (EC<sub>50</sub>). O EC<sub>50</sub> foi calculado com base na porcentagem de crescimento de cada isolado nas diferentes concentrações do fungicida quando comparados ao crescimento nas

placas sem metalaxil, após regressão dos valores das porcentagens de crescimento (x) *versus* o log da concentração de fungicida (y).

Com base nos valores de  $EC_{50}$  e nas porcentagens de crescimento obtidos das concentrações de 10 e 100 ppm de metalaxil, os isolados foram classificados em três níveis de sensibilidade ao metalaxil segundo três critérios. O primeiro critério desenvolvido e adotado neste trabalho apresenta três classes: 1) sensíveis – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil com amplitude de 0 a 20 % do controle, 2) intermediários – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil de 20 a 80 % e 3) resistentes – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil acima de 80 %. No segundo critério, sugerido por Shattock *et al.* (1990), foram classificados em: 1) sensíveis – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil com amplitude de 0 a 10 % do controle, 2) intermediários – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil de 11 a 60% e 3) resistentes – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil acima de 60 %. No terceiro critério, baseado em Parra e Ristaino (2001), foram classificados em: 1) sensíveis – porcentagem de crescimento em 10 ppm de metalaxil com amplitude de 0 a 10 % do controle, 2) intermediários – porcentagem de crescimento em 10 ppm de metalaxil de 11 a 60% e 3) resistentes – quando sempre que a porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil acima de 60 % (desconsiderando as duas classes anteriores se esta for satisfeita).

**Análise dos dados:** calculou-se as porcentagens de crescimento para todas as dosagens de metalaxil, nas três avaliações realizadas em seis dias. Também calculou-se a área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) dos controles para caracterização dos isolados. A  $EC_{50}$  foi calculada através de análise de regressão.

#### **1.2.4. Avaliação da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados.**

A patogenicidade, agressividade e virulência (*sensu* Andrivon, 1993), foram estimadas em dois experimentos de inoculação em frutos de pimentão e em plântulas de representantes de grupos de resistência de pimentão e tomate.

#### **1.2.4.1 Agressividade em frutos de pimentão**

Frutos de pimentão verde oriundos do comércio local, de formato cônico e alongado, sofreram perfurações de dois mm de diâmetro e 10 mm de profundidade, aos quais foi submetido o inóculo constituído por discos de micélio de seis mm de diâmetro. Os frutos inoculados foram incubados à temperatura ambiente em recipientes fechados forrados com papel de filtro e contendo um chumaço de algodão umedecido, formando assim uma câmara úmida. Foram realizadas três repetições por isolado, sendo cada repetição constituída por um fruto, em um único ponto de inoculação. Foi avaliado diariamente o comprimento (C) da lesão durante o período de seis dias após a inoculação (dai), contudo os cinco lotes de avaliação foram avaliados com intervalos diferenciados: lote 1 avaliados de 1 a 5 dai, lote 2 avaliados durante os dias 1, 2, 3, 5 e 7 dai, lote 3, 4 e 6 foram avaliados durante os dias 1, 2, 3, 4 e 6 dai.

Os fatores analisados foram os isolados e os dias de avaliação, utilizando como variável o comprimento da lesão e área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL). O cálculo da área abaixo da curva seguiu metodologia sugerida por Campbell & Maden (1990). Utilizando o programa SAS *for Windows*, através da análise multivariada dos valores de comprimento de lesão (mm), aos seis dias de avaliação (considerados como variáveis), utilizando a medida de similaridade UPGMA, e utilizando procedimento PROC “*fast class*” separou-se os isolados em grupos de reação, e com auxílio dos valores de AACPL os isolados foram classificados em AA-altamente agressivos, MA-moderadamente agressivos e FA-fracamente agressivos.

#### **1.2.4.2 Agressividade e virulência em plântulas de pimentão e tomate.**

Os genótipos de pimentão utilizados foram CNPH 148 (“Criollo de Morellos”, resistente), CNPH 192 (“Yolo Wonder”; suscetível) e CNPH 173 (derivado de Criollo de Morellos, de resistência intermediária) e os de tomate foram CNPH 409 (*Lycopersicon pennellii* - suscetível), CNPH 410 (*Lycopersicon chilense* – de resistência intermediária) e

Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* - resistente), cultivados em bandejas de poliestireno, com substrato Plantmax<sup>®</sup>, em casa-de-vegetação. Mudanças apresentando 40 dias após o semeio para pimentão e 25 dias para tomate, foram inoculadas via deposição no colo de plântulas de três mL de suspensão ( $5.10^4$  zoósporos.mL<sup>-1</sup>) de cada isolado avaliado. A incidência da doença foi avaliada aos 2, 4 e 6 dai através da contagem no número de plântulas que apresentavam sintomas pelo número total de plantas avaliadas na repetição (duas repetições). Utilizaram-se cinco cultivares, com duas repetições compostas de cinco unidades experimentais totalizando 50 plantas a serem testadas por isolado.

**Preparo do inóculo:** o inóculo utilizado consistiu de uma suspensão de zoósporos. Para a obtenção de zoósporos adicionou-se água em placas contendo “esporulação” abundante do patógeno (crescimento a luz contínua, placas não vedadas para oxigenação), representada por micélio e esporângios. Estas foram colocadas à temperatura de 6 °C (geladeira) por duas horas, e logo após foram depositadas deixadas à temperatura ambiente, por 30 minutos. Os zoósporos foram filtrados com o uso de gaze. A concentração dos mesmos foi estimada com o uso de hemocitômetro e produzindo uma suspensão com concentração de  $5.10^4$  zoósporos.mL<sup>-1</sup>, segundo Ansani & Matsuoka (1983), Matsuoka (1984) e Reifschneider *et al.* (1986). Para quantificação ao hemocitômetro, apanhou-se uma pequena fração da suspensão de zoósporos e aqueceu-se a alíquota para impedir a motilidade durante a leitura.

**Variáveis e parâmetros medidos:** A incidência e severidade dos sintomas em plântulas foram avaliadas a partir de dois dias após a inoculação (dai), a cada dois dias por um período de três semanas. A severidade foi estimada utilizando uma escala que varia de 0-4 onde, 0 = sem sintomas, planta vigorosa, 1 = raízes ligeiramente escurecidas, pequeno escurecimento do caule, plantas vigorosas, 3 = pequenas lesões no caule, raízes escurecidas, com sintomas no caule, redução do diâmetro do colo verificando-se pequeno colapso ou torção basal, planta sob a posição vertical, 5 = caule colapsado, caído, 7 = caule colapsado contendo grandes lesões, planta com sintoma de murcha, 9 = plantas mortas (Escala

modificada de Bosland & Lindsey, 1991). Ao final dos experimentos as plântulas sintomáticas foram submetidas ao re-isolamento do patógeno para verificação da presença de *P. capsici*.

**Análise dos dados:** Foi realizada ANOVA fatorial utilizando o procedimento PROC GLM, dos fatores isolados, genótipos e interação. Em seguida para os casos em que se rejeitou a hipótese de nulidade fez-se o teste Tukey para comparação das médias a 5% de probabilidade.

### **1.2.5 Caracterização molecular utilizando seqüenciamento da região ITS 1, 5.8 S e ITS 2 do rDNA.**

#### **Preparação do micélio**

Oitenta isolados (listados na Tabela 1.18. e descritos na Tabela 1.1), foram cultivados em meio suco de tomate, sob luz contínua num período de sete dias. Fragmentos do meio de cultura contendo micélio (aproximadamente 1 x 1 x 2 mm) foram retirados da margem de culturas, aos sete dias de idade, sendo adicionados em Erlemeyers contendo meio de cultura líquido de ervilha (100 g de ervilha, 1,5 g CaCO<sub>3</sub> e 1 L água destilada), num volume de 100 mL por Erlemeyer de 250 mL. Após incubação por um período de 10 dias o micélio foi coletado, retirado assepticamente e congelado a -70°C para conservação e posterior extração de DNA.

#### **Extração de DNA**

O DNA de cada isolado foi obtido segundo protocolo modificado CTAB. Inicialmente cerca de 5 mg de micélio congelado foi triturado em nitrogênio líquido. O micélio triturado foi colocado num microtubo contendo 600 µL de CTAB 2X (2 µL de β-mercaptoetanol.L<sup>-1</sup>) pré-aquecido (65 °C ± 2°C). Agitou-se a mistura para homogeneização, e logo após o micélio triturado permaneceu por 10 min em banho-maria (65-°C ± 2°C). Em seguida os microtubos foram retirados do banho-maria e mergulhados em água de temperatura ambiente para esfriar durante o período de três minutos para depois serem levados para uma capela, onde se adicionou 600 µL de clorofórmio:isoamilalcool (24:1) antes de serem vigorosamente agitados.

A preparação foi então centrifugada a 12.000 rpm pelo período de 5 min. Após a centrifugação, formaram-se duas fases, retirando-se 450 µL da fase superior, que foi transferida para outro microtubo contendo 300 µL de iso-propanol. A mistura foi agitada lentamente, e em seguida centrifugou-se a 12.000 rpm pelo período de 13 minutos. O sobrenadante foi descartado, permanecendo ao fundo do microtubo um precipitado que foi lavado cuidadosamente com álcool a 70 %. As paredes do microtubo foram secas em estufa a 37°C pelo período de 10 minutos. Por fim adicionou-se 100 µL de tampão TE permanecendo o tubo por uma noite na geladeira (6 °C) para ressuspensão do precipitado. Após este período os microtubos foram mantidos no freezer (-20°C).

### **Amplificação do DNA**

Antes de retirada do DNA do freezer, preparou-se uma mistura para a reação de PCR que constituiu-se de tampão para Taq Polymerase (Invitrogen), MgCl<sub>2</sub> 2mM, dNTPs (0,2mM de cada), 0,5 µM de cada primer (ITS4 e ITS6), 40 ng de DNA e 1 unidade de Taq Polimerase (Invitrogen). A região amplificada pelos primers ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') e ITS 6 (5'GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG3') encontra-se ilustrada na Figura 3. A reação de PCR seguiu os ciclos: desnaturaçãõ 94 °C por 30 segundos, anelamento 57 °C por 1 min e extensão 72 °C por 3 min. Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 2 %, corados com brometo de etídio, e o tamanho do produto foi determinado por comparação com o peso molecular do marcador. O produto da amplificação de aproximadamente 900 bp (Figura 1.10). foi seqüenciado diretamente da reação de PCR.

### **Seqüenciamento**

A mistura usada na reação de seqüenciamento consistiu de 2 µL de BigDye versão 3.1(Applied Biosystems®), 3µL de tampão para BigDye, 1 nM de cada um dos primers (ITS 4 ou ITS 6), 1 µL de DNA (20 ng) e 13 µL de água destilada e deionizada. Foi feito o sequenciamento nas duas direções. Os ciclos do PCR do seqüenciamento foram: desnaturaçãõ 96 °C por 45'', anelamento 57 °C por 30'' e extensão 60 °C 4'.

## **Análise de Sequência**

O alinhamento das seqüências obtidas foi realizado utilizando-se os programas SeqMan e MegAlign (Lasegene, Madison-WI). Foram incluídas nas análises seqüências de *Phytophthora* disponíveis no Gene Bank.

Após análise utilizando-se o programa PAUP versão beta 4.0 foram gerados dois dendrogramas de agrupamento com base nas similaridades das seqüências amplificadas (700 bases). O primeiro dendrograma foi gerado utilizando a região ITS 1, 5,8 S e ITS 2 e o segundo gerado a partir do final da região do gene 5,8S e ITS 2. Sequências idênticas foram agrupadas (Tabela 1.18) e apenas um representante é mostrado nos dendrogramas.

Os acessos do GeneBank foram **Tropicalis antho Brazil** (DQ087414, a planta hospedeira de origem foi *Anthurium andraeanum*, *P. tropicalis* originário do Brasil), **Infestans potato** (AY922974, a planta hospedeira de origem foi *Solanum tuberosum*, *P. infestans*, origem geográfica não determinada), **Nicotianae N tabacum** (AJ854295, a planta hospedeira de origem foi *Nicotiana tabacum*, *P. nicotianae*, originário da Itália), **C. annuum Mexico** (AY726623, a planta hospedeira de origem foi *Capsicum annuum*, *P. capsici*, e originário do México).

**Tabela 1.1.** Características dos isolados de *Phytophthora capsici* utilizados na caracterização e estudos de filogenia molecular.\*

Ordem	Código	Procedência	Município/UF	Data Coleta
<b>Pcp - Isolados de Pimentão (<i>Capicum annuum</i>)</b>				
1	Pcp 01	N/D	N/D	N/D
2	<b>Pcp 03</b>	N/D	N/D	N/D
3	Pcp 04	N/D	N/D	N/D
4	Pcp 05	N/D	N/D	N/D
5	Pcp 06	N/D	N/D	N/D
6	Pcp 07	N/D	N/D	N/D
7	Pcp 08	CNPH	Gama-DF	N/D
8	Pcp 10	N/D	N/D	N/D
9	Pcp 15	N/D	N/D	N/D
10	<b>Pcp 16</b>	N/D	N/D	N/D
11	Pcp 17	N/D	N/D	N/D
12	Pcp 18	CNPH	Gama-DF	<b>1/5/1997</b>
13	<b>Pcp 20</b>	<b>Vargem Bonita</b>	<b>Núcleo Bandeirante-DF</b>	<b>17/6/1905</b>
14	Pcp 24	N/D	N/D	N/D
15	Pcp 25	N/D	N/D	N/D
16	<b>Pcp 26</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>23/6/1905</b>
17	<b>Pcp 29</b>	<b>Sítio Antônio</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>1/3/2002</b>
18	Pcp 30	Sítio Antônio	Gama-DF	1/3/2002
19	Pcp 31	Sítio Antônio	Gama-DF	1/3/2002
20	Pcp 32	Sítio Antônio	Gama-DF	1/3/2002
21	Pcp 33	Sítio Antônio	Gama-DF	1/3/2002
22	Pcp 34	Sítio Antônio	Gama-DF	1/3/2002
23	Pcp 35	Sítio Antônio	Gama-DF	1/3/2002
24	<b>Pcp 38</b>	N/D	<b>Pelotas -RS</b>	<b>1/3/2002</b>
25	<b>Pcp 39</b>	N/D	<b>Pelotas -RS</b>	<b>1/3/2002</b>
26	Pcp 40	N/D	Santo Amaro do Imp-SC	<b>1/2/2002</b>
27	<b>Pcp 41</b>	<b>N/D</b>	<b>Sto.Amaro da Imper.-SC</b>	<b>1/2/2002</b>
28	<b>Pcp 42*</b>	<b>UFV</b>	<b>Tocantins-MG</b>	<b>1/1/2002</b>
29	<b>Pcp 43</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>1/3/2002</b>
30	<b>Pcp 46</b>	<b>Sakata-Kobori</b>	<b>Lins-SP</b>	<b>1/8/1997</b>
31	<b>Pcp 47</b>	<b>Sakata-Kobori</b>	<b>Bragança Paulista-SP</b>	<b>1/4/1998</b>
32	Pcp 48	N/D	N/D	N/D
33	Pcp 52	N/D	N/D	N/D
34	<b>Pcp 53</b>	N/D	N/D	N/D
35	<b>Pcp 55</b>	<b>Sakata-Kobori</b>	<b>Cotia-SP</b>	<b>1/1/2001</b>
36	<b>Pcp 56</b>	<b>Sakata-Kobori</b>	<b>Itapetininga-SP</b>	<b>1/1/2001</b>
37	<b>Pcp 59</b>	<b>Sakata-Kobori</b>	<b>Brag.Paulista-SP</b>	<b>1/1/2001</b>
38	<b>Pcp 60</b>	<b>Sakata-Kobori</b>	<b>Ubatuba-SP</b>	<b>1/1/2001</b>
39	Pcp 61	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
40	<b>Pcp 62</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>1/6/2002</b>
41	Pcp 63	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
42	Pcp 64	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
43	Pcp 65	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
44	Pcp 66	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
45	Pcp 67	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
46	Pcp 68	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
47	Pcp 69	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
48	Pcp 70	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
49	Pcp 71	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>
50	Pcp 71	Ponte Alta	Gama-DF	<b>1/6/2002</b>

Ordem	Código	Procedência	Município/UF	Data Coleta
51	<b>Pcp 72</b>	<b>Ceilândia</b>	<b>Ceilândia-DF</b>	<b>1/2/2002</b>
52	Pcp 73	N/D	SP	N/D
53	Pcp 74	N/D	SP	N/D
54	<b>Pcp 75</b>	N/D	<b>SP</b>	N/D
55	<b>Pcp 76</b>	<b>SP</b>	<b>SP</b>	<b>17/6/2003</b>
56	<b>Pcp 77</b>	N/D	<b>UnB</b>	N/D
57	<b>Pcp 78</b>	<b>Planaltina</b>	<b>Taquara-DF</b>	<b>1/2/2003</b>
58	Pcp 79	Planaltina	Taquara-DF	<b>1/2/2003</b>
59	<b>Pcp 80</b>	N/D	<b>Goianápolis-GO</b>	<b>1/4/2003</b>
60	Pcp 81	campo	Vargem Bonita-DF	<b>1/8/2003</b>
61	<b>Pcp 82</b>	<b>campo</b>	<b>Vargem Bonita-DF</b>	<b>1/8/2003</b>
62	<b>Pcp 83</b>	<b>campo</b>	<b>Vargem Bonita-DF</b>	<b>1/8/2003</b>
63	<b>Pcp 86</b>	<b>Fuchs</b>	Brazilândia-MG	<b>1/8/2003</b>
64	Pcp 87	Fuchs	Brazilândia-MG	<b>1/8/2003</b>
65	<b>Pcp 88</b>	<b>Clínica esalq</b>	<b>Piracicaba-SP</b>	<b>1/8/2003</b>
66	<b>Pcp 89</b>	<b>Fuchs</b>	<b>Brasília de Minas-MG</b>	<b>1/8/2003</b>
67	<b>Pcp 94</b>	N/D	N/D	N/D
68	Pcp 95	N/D	N/D	N/D
69	Pcp 96	N/D	N/D	N/D
70	Pcp 97	Fuchs	Brasília de Minas-MG	<b>1/7/2003</b>
71	<b>Pcp 98</b>	<b>Fuchs</b>	<b>Brasília de Minas-MG</b>	<b>1/9/2003</b>
72	<b>Pcp 99</b>	<b>Fuchs</b>	<b>Brasília de Minas-MG</b>	<b>1/9/2003</b>
73	<b>Pcp 100</b>	N/D	<b>Pinheiro Machado-RS</b>	<b>1/11/2003</b>
74	Pcp 101	N/D	Pipiripau-DF	<b>1/2/2004</b>
75	<b>Pcp 102</b>	N/D	<b>Pipiripau-DF</b>	<b>1/2/2004</b>
76	Pcp 103	N/D	Pipiripau-DF	<b>1/2/2004</b>
77	<b>Pcp 104</b>	<b>campo</b>	<b>Porto Belo-SC</b>	<b>1/11/2004</b>
78	Pcp 105	campo	Porto Belo-SC	<b>1/11/2004</b>
79	<b>Pcp 105</b>	N/D	<b>Barbacena-MG</b>	<b>1/3/2005</b>
80	Pcp 106	N/D	Barbacena-MG	<b>1/3/2005</b>
81	Pcp 107	N/D	Santo Amaro-SC	<b>1/4/2005</b>
82	<b>Pcp 108</b>	N/D	<b>PR</b>	<b>1/4/2005</b>
<b>Pct - Isolados de Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)</b>				
83	<b>Pct-01</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>fev/02</b>
84	<b>Pct-02</b>	<b>Tocantins-MG</b>	<b>Tocantins-MG</b>	<b>jan/98</b>
85	<b>Pct-03</b>	<b>Rural</b>	<b>Piracanjuba-GO</b>	<b>mai/02</b>
86	Pct-04	Rural	Piracanjuba-GO	mai/02
87	<b>Pct-05</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>abr/02</b>
88	Pct-06	N/D	Inhumas-GO	6/fev
89	<b>Pct-07</b>	N/D	<b>Inhumas-GO</b>	<b>6/fev</b>
90	<b>Pct-08</b>	N/D	<b>Paulínea-SP</b>	<b>2002</b>
91	Pct-09	Natal	Rio Preto-DF	jan/03
92	<b>Pct-10</b>	<b>Natal</b>	<b>Rio Preto-DF</b>	<b>jan/03</b>
93	Pct-11	Natal	Rio Preto-DF	jan/03
94	Pct-12	Natal	Rio Preto-DF	jan/03
95	Pct-13	Natal	Rio Preto-DF	jan/03
96	Pct-14	Natal	Rio Preto-DF	jan/03
97	Pct-15	Natal	Rio Preto-DF	jan/03
98	Pct-16	<b>Ponte Alta</b>	Gama-DF	jan/03
99	<b>Pct-17</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>jan/03</b>
100	<b>Pct-19</b>	<b>Ponte Alta</b>	<b>Gama - DF</b>	<b>2000</b>

**Tabela 1.1.** Continuação

Ordem	Código	Procedência	Município/UF	Data Coleta
101	Pct 20	N/D	Silvania-GO	ago/03
102	Pct 21	N/D	Silvania-GO	ago/03
103	Pct 22	N/D	Silvania-GO	ago/03
104	<b>Pct 23</b>	N/D	<b>Silvania-GO</b>	<b>ago/03</b>
105	Pct 24	N/D	Silvania-GO	ago/03
106	Pct25	N/D	Silvania-GO	ago/03
107	<b>Pct26</b>	N/D	<b>Piracanjuba-GO</b>	<b>mar/04</b>
108	Pct27	N/D	Piracanjuba-GO	mar/04
109	<b>Pct 28</b>	<b>campo</b>	<b>Piracanjuba-GO</b>	<b>mai/04</b>
110	<b>Pct 29</b>	<b>campo</b>	<b>Morrinhos-GO</b>	<b>mai/04</b>
111	Pct 30	campo	Morrinhos-GO	mai/04
112	Pct 32	campo	Morrinhos-GO	mai/04
<b>Pca - Isolados de Abóboras (<i>Cucurbita maxima</i>, <i>C. moschata</i>)</b>				
113	<b>Pca-1</b>	<b>Campo/CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>mar/02</b>
114	Pca-2	Campo/CNPH	Gama-DF	mar/02
115	<b>Pca-3</b>	<b>Campo/CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>mar/02</b>
116	<b>Pca-04</b>	<b>CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>abr/02</b>
117	Pca-05	CNPH	Gama-DF	abr/02
118	Pca-06	CNPH	Gama-DF	abr/02
119	Pca-07	CNPH	Gama-DF	abr/02
120	Pca-08	CNPH	Gama-DF	abr/02
121	<b>Pca-09</b>	<b>Pipiripau</b>	<b>Planaltina-DF</b>	<b>abr/02</b>
122	Pca-09	N/D	N/D	abr/02
123	Pca-10	Pipiripau	Planaltina-DF	abr/02
124	<b>Pca-11</b>	<b>CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>mai/02</b>
125	Pca-12	CNPH	Gama-DF	mai/02
126	<b>Pca-13</b>	<b>Campo</b>	<b>Paracatu-MG</b>	<b>mai/02</b>
127	<b>Pca-14</b>	<b>Kobori</b>	<b>Bragança Paulista-SP</b>	<b>mai/02</b>
128	<b>Pca-15</b>	<b>CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>mai/02</b>
129	<b>Pca-16</b>	<b>PADEF</b>	<b>Cristalina – GO</b>	<b>fev/03</b>
130	Pca-17	PADEF	Cristalina – GO	fev/03
131	Pca-18	PADEF	Cristalina – GO	fev/03
132	Pca-19	PADEF	Cristalina – GO	fev/03
133	Pca-20	PADEF	Cristalina – GO	fev/03
134	<b>Pca-21</b>	<b>PADEF</b>	<b>Paracatu-MG</b>	<b>fev/03</b>
135	<b>Pca 22</b>	<b>CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>jan/03</b>
136	<b>Pca 23</b>	<b>CNPH</b>	<b>Gama-DF</b>	<b>jan/03</b>
137	<b>Pca 24</b>	<b>PADEF</b>	<b>Cristalina-GO</b>	<b>jan/03</b>
138	<b>Pca 25</b>	<b>PADEF</b>	<b>Cristalina-GO</b>	<b>jan/03</b>
139	<b>Pca 26</b>	<b>Extra Asa Norte</b>	<b>DF</b>	<b>abr/03</b>
140	Pca 27	Extra Asa Norte	DF	abr/03
141	Pca 28	Extra Asa Norte	DF	abr/03
142	Pca 29	Extra Tag.	Paracatu-MG	abr/03
143	Pca 30	Extra Tag.	Paracatu-MG	abr/03
144	<b>Pca31</b>	<b>Canteiro casa veg.</b>	<b>Vargem Bonita-DF</b>	<b>jul/04</b>
145	Pca32	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
146	Pca33	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
147	Pca34	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
148	Pca35	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
149	Pca36	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
150	Pca37	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04

Ordem	Código	Procedência	Município/UF	Data Coleta
151	Pca38	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
152	Pca39	Canteiro casa veg.	Vargem Bonita-DF	jul/04
<b>Pcbe - Isolados de Berinjela (<i>Solanum melongena</i>)</b>				
153	<b>Pcbe-2</b>	<b>N/D</b>	<b>Cristalina-GO</b>	<b>jul/02</b>
154	<b>Pcbe-3</b>	<b>Faz. Júlio</b>	<b>Chã Grande-PE</b>	<b>ago/02</b>
155	Pcbe-4	Faz. Júlio	Chã Grande-PE	ago/02
156	Pcbe-5	Faz. Júlio	Chã Grande-PE	ago/02
157	Pcbe-6	Faz. Júlio	Chã Grande-PE	ago/02
158	Pcbe-7	Faz. Júlio	Chã Grande-PE	ago/02
159	<b>Pcbe-8</b>	<b>Superm. Extra</b>	<b>Brasília-DF</b>	<b>out/02</b>
160	<b>Pcbe-9</b>	<b>Feirinha V. Dimas</b>	<b>Taguatinga-DF</b>	<b>fev/03</b>
161	Pcbe-10	Feirinha V. Dimas	Taguatinga-DF	fev/03
162	Pcbe-11	Feirinha V. Dimas	Taguatinga-DF	fev/03
163	<b>Pcbe-12</b>	<b>Extra</b>	<b>Taguatinga-DF</b>	<b>mar/03</b>
164	Pcbe-13	Extra	Taguatinga-DF	mar/03
165	<b>Pcbe14</b>	<b>PA</b>	<b>Belém-PA</b>	<b>abr/02</b>
166	<b>Pcbe15</b>	<b>Campo prod.Flores</b>	<b>Brazlândia-DF</b>	<b>jul/04</b>
167	<b>Pcbe16</b>	<b>Produtor</b>	<b>Santo Amaro-SC</b>	<b>nov/04</b>
168	Pcbe17	Produtor	Santo Amaro-SC	nov/04
169	<b>Pcbe18</b>	<b>Campo produtor</b>	<b>PortoBelo-SC</b>	<b>dez/04</b>
170	Pcbe19	Campo produtor	PortoBelo-SC	dez/04
171	Pcbe20	Campo produtor	PortoBelo-SC	dez/04
172	Pcbe 22	Campo produtor	PortoBelo-SC	dez/04
173	<b>Pcbe 23</b>	<b>Superm.</b>	<b>Samambaia-DF</b>	<b>abr/05</b>
<b>Pcc - Isolados de Cacau (<i>Theobroma cacao</i>)</b>				
174	<b>Pcc 1</b>	<b>PA</b>	<b>UFPA (PA)</b>	<b>N/D</b>
175	<b>Pcc 2</b>	<b>BA</b>	<b>UnB/Leila (BA)</b>	<b>N/D</b>
176	<b>Pcc 3</b>	<b>Ceplac</b>	<b>Itabuna-BA</b>	<b>2000</b>
177	<b>Pcc 5</b>	<b>PA</b>	<b>Pará</b>	<b>2002</b>
178	<b>Pcc 12</b>	<b>Itabuna</b>	<b>Itabuna-BA</b>	<b>N/D</b>
179	<b>Pcc 13</b>	<b>N/D</b>	<b>Canavieira/BA</b>	<b>N/D</b>
180	<b>Pcc 14</b>	<b>N/D</b>	<b>Bujaru/PA</b>	<b>N/D</b>
181	<b>Pcc 15</b>	<b>N/D</b>	<b>Guaratinga/BA</b>	<b>N/D</b>
<b>Pci - Isolado de Pimenta do Reino (<i>Piper nigrum</i>)</b>				
182	<b>PCi 8</b>	<b>PA</b>	<b>PA</b>	<b>2002</b>
<b>Pcm - Isolados de Mandioca (<i>Manihot esculenta</i>)</b>				
183	<b>PCm-14</b>	<b>N/D</b>	<b>Paraíba</b>	<b>N/D</b>
184	<b>PCm-22</b>	<b>N/D</b>	<b>Fortaleza-CE</b>	<b>1985</b>
185	<b>PCm-23</b>	<b>N/D</b>	<b>Manaus-AM</b>	<b>1985</b>
<b>Pepe-Isolado de Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)</b>				
186	<b>Pepe 1</b>	<b>Superm.</b>	<b>Brasília-DF</b>	<b>fev/03</b>
187	<b>Pepe 2</b>	<b>Extra</b>	<b>Taguatinga-DF</b>	<b>abr/03</b>
188	<b>Pepe3</b>	<b>Extra</b>	<b>Taguatinga-DF</b>	<b>abr/03</b>
<b>Pcj - Isolados de Jiló (<i>Solanum gilo</i>)</b>				
189	<b>Pcj1</b>	<b>CNPH</b>	<b>Gama/DF</b>	<b>jan/04</b>
190	Pcj2	N/D	Brasília/DF	jan/04
191	<b>Pcj3</b>	<b>N/D</b>	<b>Brasília/DF</b>	<b>jan/04</b>
<b>Pcs - Isolados de Seringueira (<i>Hevea brasiliensis</i>)</b>				
192	Pcs1	Peciolo clone 2261	Valença-BA	N/D
193	Pcs2	Peciolo clone fx4098	Ituberá-BA	N/D

### 1.3. RESULTADOS

#### 1.3.1. Caracterização morfológica e fisiológica

A amplitude de variação do comprimento dos esporângios (C) dos isolados foi de 14,4-124,0 (46,2)  $\mu\text{m}$ . A largura (L) foi de 9,0-62,5 (25)  $\mu\text{m}$  e a relação C:L 0,8-4(1,9) indicando alto grau de variabilidade das estruturas assexuais entre isolados (Anexo 1.1). Diferenças significativas foram observadas entre as médias de C, L e relação C/L de 79 isolados ( $F_{78, 3871}=190,39$ ,  $F_{78, 3871}=60,91$  e  $F_{78, 3871}=18,30$  respectivamente) da mesma espécie merecendo destaque as médias do isolado oriundo de pimentão, Pcp 33 que teve as maiores médias de C de 92,2  $\mu\text{m}$  e de L de 50,91  $\mu\text{m}$  (Anexo 1.2), diferindo significativamente dos demais isolados. As médias de C dos isolados variaram de 1,30 a 2,60 vezes maiores que a L (Anexo 1.2).

A morfologia mais freqüente dos esporângios oriundos de pimentão foi piriforme clavado e navicular em isolados de pimentão, tomate e abóbora (Tabela 1.6.). Observou-se que todos os isolados analisados eram papilados.

A maior parte dos isolados apresentaram micélio hábito prostrado (raso), com tipos de colônia variando de rosiforme ou petalóide, estrelada a cotonosa. Isolados de cacau classificados previamente como *P. capsici*, apresentavam colônias cotonosas de micélio elevado, diferindo das características de *P. capsici* que possui micélio prostrado e aéreo (Tabela 1.4). Para os isolados de pimentão, tomate e cacau o tipo de colônia mais freqüente foi estrelado, para abóbora o tipo mais freqüente foi o rosiforme, contudo merece destaque o isolado de pimentão Pcp 3 que teve micélio aéreo diferente dos demais isolados de pimentão (Tabela 1.4).

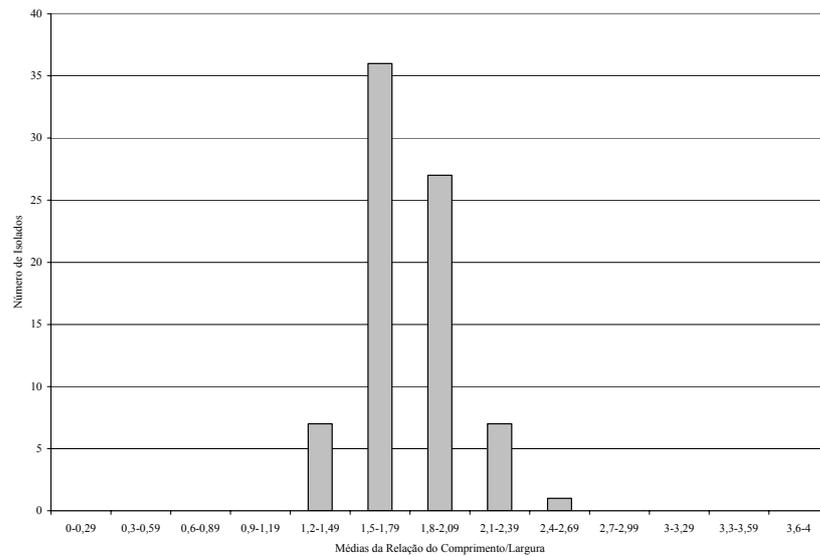
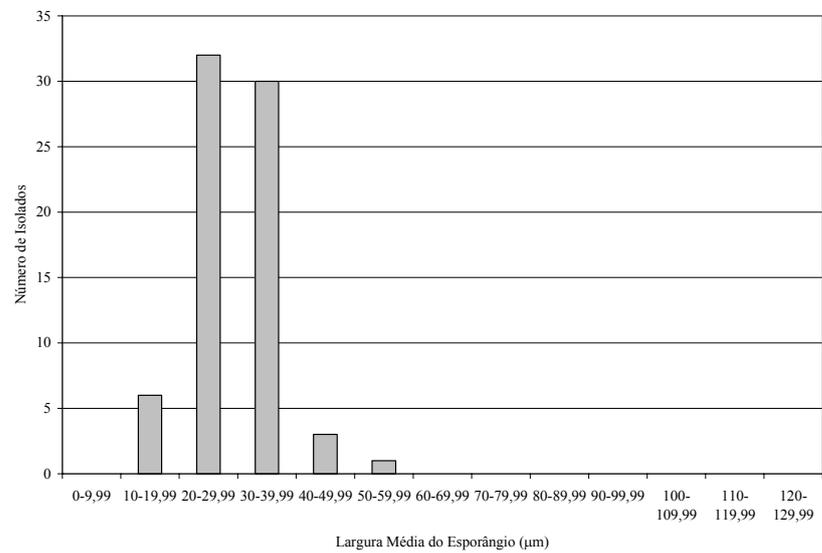
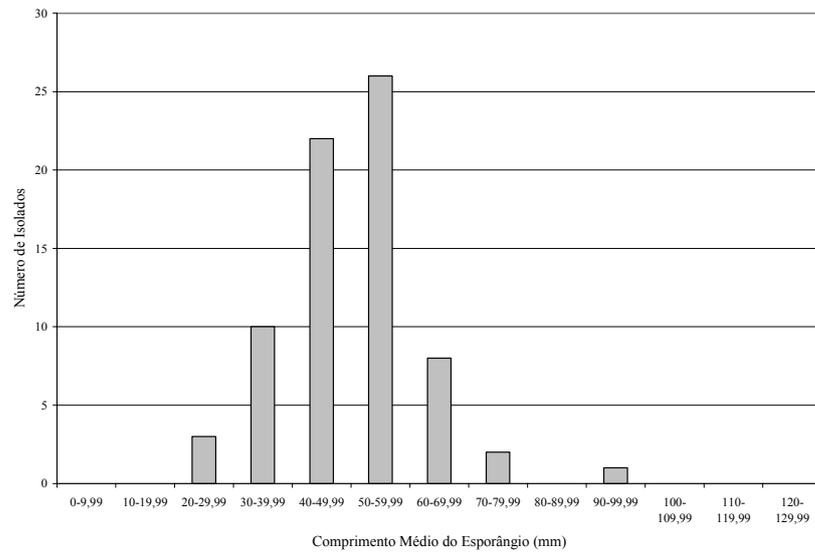
A maior parte dos isolados mostraram comprimento de esporângio variando de 40-60  $\mu\text{m}$ , largura de 20-39,9  $\mu\text{m}$  e relação C/L 1,5-2,09 (Anexo 1.1) (Figura 1.1).

Os esporângios dos espécimes estudados eram papilados, com raros isolados mostrando-se semi-papilados, ou multipapilados, com duas a três papilas. Os esporângios

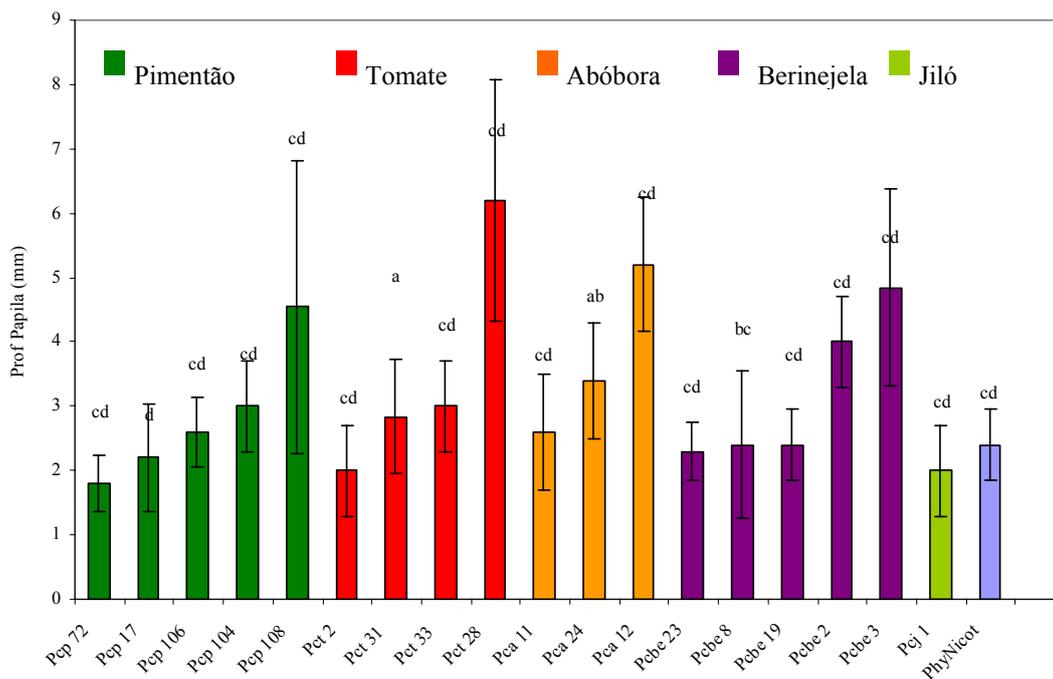
mostraram alta caducidade, com isolados liberando esporângios sem pedicelo e outros com pedicelos de tamanho variável.

As características dimensionais dos esporângios não mostraram qualquer relação com a hospedeira de origem (Tabela 1.1). Das populações de isolados analisados a tendência central de C, L e C:L teve as amplitudes de 28-108  $\mu\text{m}$ , 13,3- 51,4  $\mu\text{m}$  e 1-2,6  $\mu\text{m}$ . (Anexo 1.2)

Apenas o isolado Pcp 3 oriundo de pimentão, produziu a estrutura de resistência - clamidósporo, em cultura.



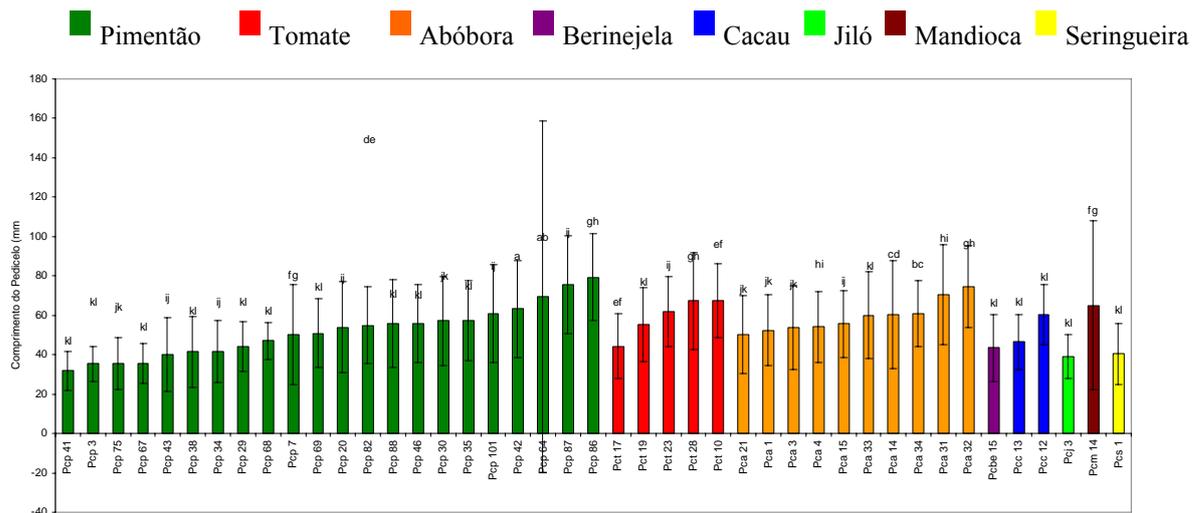
**Figura 1.1.** Distribuição de freqüência de comprimento (C), largura (L) e relação C:L entre 72 isolados de *Phytophthora* oriundos de hortaliças.



**Figura 1.2.** Médias  $\pm$  desvios padrões da profundidade de papila dos isolados de *P. capsici* oriundos de pimentão, tomate, abóboras, berinjela, jiló e um pertencente ao *P. nicotianae* (Phyt. Nicot).

Não existiu nenhuma tendência que relacionasse a profundidade da papila com a especificidade dos isolados, contudo o isolado oriundo de tomate Pct 28 teve a maior média de profundidade de papila entre os isolados avaliados (Figura 1.2). As médias da profundidade de papila nos isolados de pimentão variaram de 1,8 a 4,5  $\mu\text{m}$ , nos isolados de tomate variaram de 2,0 a 6,2  $\mu\text{m}$ , nos isolados de abóbora variaram de 2,6 a 5,2  $\mu\text{m}$ , e nos isolados de berinjela variaram de 2,8 a 4,8 (Figura 1.2.).

Para uma mesma planta hospedeira, alguns isolados apresentaram profundidade de papila bastante proeminente como no caso de Pcp 108 (4,5  $\mu\text{m}$ ), Pct 28 (6,2  $\mu\text{m}$ ), Pca 12 (5,2  $\mu\text{m}$ ) e Pcbe 3 (4,8  $\mu\text{m}$ ) diferindo-se significativamente dos demais isolados analisados (Figura 1.2.).



**Figura 1.3.** Médias  $\pm$  desvios padrões do comprimento do pedicelo de isolados de *Phytophthora capsici*.\*

Na Figura 1.3 observa-se que não há correlação entre comprimento de pedicelo e os hospedeiros originais dos isolados. Contudo merecem destaque os isolados Pcp 41 (31,9  $\mu$ m) e Pcp 46 (79,3  $\mu$ m), ambos oriundos de pimentão, como sendo os que apresentaram os menores e maiores comprimentos dos pedicelos. O isolados Pca 3 foi o isolado que apresentou a tendência central entre as médias dos comprimentos de pedicelo por possuir o valor médio de 53,8  $\mu$ m.

O comprimento do pedicelo variou de 32  $\mu$ m (isolado de pimentão Pcp 41) a 79,3  $\mu$ m (isolado de pimentão Pcp 86), não havendo nenhuma tendência que explicasse especialização planta hospedeira de origem-isolado (Figura 1.3.).

**Tabela 1.2.** Distribuição da frequência relativa (%) das amplitudes dos comprimentos do pedicelo dos diferentes isolados e suas hospedeiras.

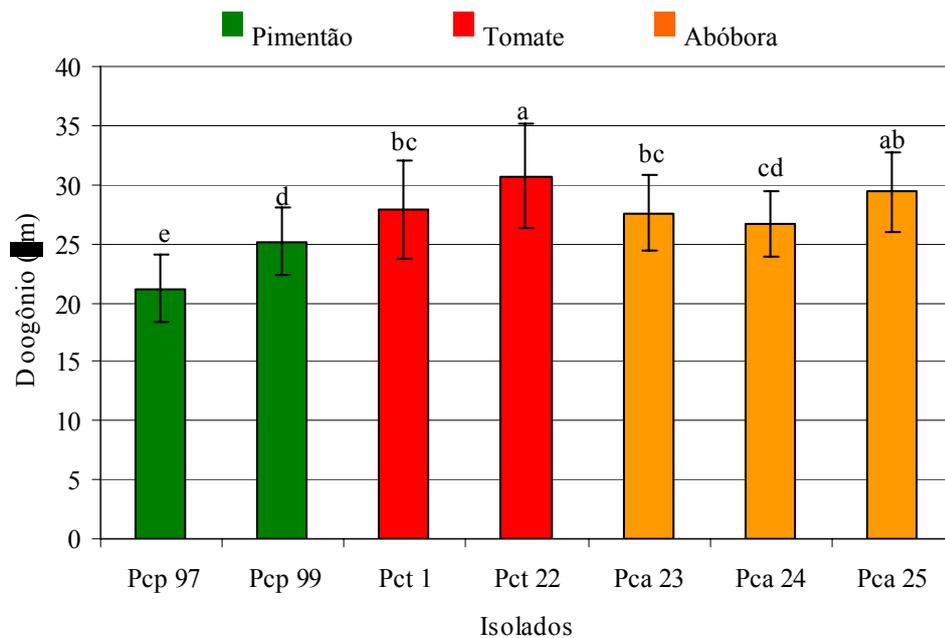
Isolados	Amplitudes						
	12-28	29-37	38-45	46-53	54-62	63-75	76-171
<b>Geral</b>	10,3	12,5	<b>19,5</b>	15,3	12,3	14,7	15,4
<b>Pimentão</b>							
<b>Pcp 3</b>	<b>28,6</b>	<b>28,6</b>	<b>28,6</b>	10,2	0,0	0,0	4,1
<b>Pcp 7</b>	<b>26,5</b>	6,1	8,2	8,2	22,5	14,3	14,3
<b>Pcp 20</b>	6,1	10,2	<b>36,7</b>	6,1	8,2	18,4	14,3
<b>Pcp 29</b>	14,3	0,0	<b>50,0</b>	20,0	12,3	0,0	3,5
<b>Pcp 30</b>	14,3	4,1	16,3	16,3	4,1	<b>26,5</b>	18,4
<b>Pcp 34</b>	26,5	10,2	<b>34,7</b>	8,2	12,3	2,0	6,1
<b>Pcp 35</b>	6,1	2,0	<b>28,6</b>	18,4	14,3	12,2	18,4
<b>Pcp 38</b>	<b>28,6</b>	18,4	22,5	16,3	2,1	2,0	10,2
<b>Pcp 41</b>	<b>44,9</b>	20,4	24,5	8,1	0,0	0,0	2,1
<b>Pcp 42</b>	0,0	8,2	18,4	16,3	18,4	14,3	<b>24,5</b>
<b>Pcp 43</b>	28,5	24,5	<b>32,7</b>	14,3	0,0	0,0	0,0
<b>Pcp 46</b>	6,1	2,0	<b>30,6</b>	16,3	6,1	22,5	16,3
<b>Pcp 64</b>	2,0	<b>20,4</b>	18,4	16,3	14,3	14,3	14,3
<b>Pcp 67</b>	24,5	<b>40,8</b>	20,4	10,2	2,0	2,0	0,0
<b>Pcp 68</b>	0,0	8,2	32,7	<b>36,7</b>	20,4	2,0	0,0
<b>Pcp 69</b>	6,1	16,3	14,3	<b>26,5</b>	12,2	14,3	10,2
<b>Pcp 75</b>	26,5	<b>42,9</b>	14,3	8,2	6,1	0,0	2,0
<b>Pcp 82</b>	8,2	6,1	22,4	16,3	10,2	<b>24,5</b>	12,2
<b>Pcp 86</b>	0,0	2,0	2,0	12,3	4,1	32,7	<b>46,9</b>
<b>Pcp 87</b>	2,0	4,1	6,1	8,2	3,1	25,5	<b>51,0</b>
<b>Pcp 88</b>	2,0	<b>20,4</b>	16,3	18,4	10,2	18,4	14,3
<b>Pcp 101</b>	6,1	6,1	4,1	<b>24,5</b>	12,2	<b>24,5</b>	22,5
<b>Tomate</b>							
<b>Pct 10</b>	0,0	4,1	0,0	22,5	<b>28,8</b>	12,1	32,7
<b>Pct 17</b>	12,2	<b>24,5</b>	18,4	20,4	6,1	14,3	4,1
<b>Pct 19</b>	4,1	8,2	<b>24,5</b>	14,3	16,3	20,4	12,2
<b>Pct 23</b>	4,1	4,1	12,3	10,2	4,1	<b>49,0</b>	16,3
<b>Pct 28</b>	0,0	0,0	20,4	8,2	22,5	<b>24,5</b>	<b>24,5</b>
<b>Abóbora</b>							
<b>Pca 1</b>	6,12	14,3	16,3	16,3	16,3	<b>22,45</b>	8,2
<b>Pca 3</b>	2,0	16,3	20,4	<b>22,5</b>	16,3	14,3	8,2
<b>Pca 4</b>	10,2	20,4	<b>28,6</b>	7,4	16,3	8,2	8,9
<b>Pca 14</b>	2,1	4,1	<b>34,7</b>	10,2	8,2	16,3	24,4
<b>Pca 15</b>	4,1	4,1	12,3	<b>36,8</b>	20,4	12,3	10,0
<b>Pca 21</b>	<b>24,5</b>	6,1	12,3	<b>24,5</b>	12,2	6,1	14,3
<b>Pca 31</b>	4,1	4,1	16,3	24,5	16,3	8,2	<b>26,5</b>
<b>Pca 32</b>	0,0	0,0	0,0	40,8	0,0	<b>57,1</b>	2,0
<b>Pca 33</b>	6,1	4,1	6,1	<b>28,6</b>	20,4	16,3	18,4
<b>Pca 34</b>	4,1	4,1	4,1	20,4	<b>24,5</b>	22,5	20,4
<b>Berinjela</b>							
<b>Pcbe 15</b>	12,2	24,5	<b>28,6</b>	12,2	12,3	6,1	4,1
<b>Jiló</b>							
<b>Pcj 3</b>	20,4	24,5	<b>30,6</b>	16,3	6,0	0,0	2,1
<b>Cacau</b>							
<b>Pcc 12</b>	8,2	0,0	0,0	26,5	18,4	<b>40,8</b>	6,1
<b>Pcc 13</b>	10,2	10,2	24,5	<b>26,5</b>	18,4	6,1	4,1
<b>Mandioca</b>							
<b>Pcm 14</b>	8,2	<b>30,6</b>	8,2	6,1	6,1	18,4	22,5
<b>Seringueira</b>							
<b>Pcs 1</b>	<b>32,7</b>	8,2	26,5	12,2	8,2	12,2	0,0

A amplitude de comprimento do pedicelo para os isolados variou de 12 a 171  $\mu\text{m}$ ; com predominância nas classes 38-45  $\mu\text{m}$  (19,5%), seguido de 46-53  $\mu\text{m}$  (15,3%) ou 76-171  $\mu\text{m}$  (15,4 %) (Tabela 1.2).

Dos 22 isolados de pimentão a classe de maior frequência foi 38-45  $\mu\text{m}$  (7 isolados), com três isolados apresentando predominância de pedicelos muito longos (76-171  $\mu\text{m}$ ) e outros três com pedicelos muito curtos (12-28  $\mu\text{m}$ ). Entre os isolados de tomate e de abóbora predominaram aqueles com pedicelos acima de 45  $\mu\text{m}$ . Os dois isolados de berinjela e jiló apresentaram pedicelos predominantemente entre 38 e 45  $\mu\text{m}$ . Os isolados de cacau apresentaram pedicelos geralmente acima de 45  $\mu\text{m}$  (Tabela 1.2). Os isolados de mandioca e seringueira apresentaram pedicelos curtos, i.e., menos que 38  $\mu\text{m}$  (Tabela 1.2).

Dentre as sete classes de comprimento de pedicelo a maior frequência foi à classe 38-45  $\mu\text{m}$  com cerca de 20 % dos isolados. Quando analisamos por hospedeiros as amplitudes mais frequentes foram para pimentão, 38-45  $\mu\text{m}$  (sete isolados), para tomate 63-75  $\mu\text{m}$  (dois isolados), para abóbora, 46-53  $\mu\text{m}$  (quatro isolados), para berinjela e jiló, 38-45  $\mu\text{m}$  (dois isolados), (Tabela 1.2).

Ao observar a distribuição das frequências de todos os isolados, as maiores frequências por isolado distribuem-se em três classes de amplitudes que abrangem a amplitude de 29-53  $\mu\text{m}$  (Tabela 1.2.).



**Figura 1.4.** Médias  $\pm$  desvio padrão do diâmetro (D) do oogônio de isolados de pimentão, tomate e abóbora.

O isolado de tomate Pct 22 teve a maior média do diâmetro do oogônio em relação aos demais, não diferindo estatisticamente do isolado Pca 25. O isolado de pimentão Pcp 97 teve o menor diâmetro de oogônio entre os isolados avaliados (Figura 1.4).

**Tabela 1.3.** Porcentagem de incidência dos formatos dos esporângios de diferentes isolados *Phytophthora capsici* oriundos de pimentão.

Isolado	Piriforme Clavado-Ovóide	Esférico ou globoso	Limoniforme-Naviculado	Limoniforme	Piri-forme	Elipsóide	Obpiri-forme	Presença de Bipapilação	Formatos Distorcidos
<b>Isolados de Pimentão</b>									
Pcp 3	8				92				
Pcp 08				30	70				
Pcp 17				100					
Pcp 30				100					
Pcp 31				100					
Pcp 33			100						
Pcp 34		16		84					
Pcp 35				94					6
Pcp 38				94	6				
Pcp 41			8	90				2	
Pcp 42				88		10		2	
Pcp 43		6		94					
Pcp 46				100					
Pcp 47			90	10					
Pcp59			88	12					
Pcp 60		60		14	26				
Pcp 62		20		72	8				
Pcp 63		30		50	18				2
Pcp 64							100		
Pcp 65				100					
Pcp 66				50	10	40			
Pcp 67				100					
Pcp 69				100					
Pcp 70				96	4				
Pcp 72		70			30				
Pcp 75		22		72	6				
Pcp 76				44	48				8
Pcp 82				100					
Pcp 83				94				6	
Pcp 86			100						
Pcp 87				100					
Pcp 97	100								
Pcp 98			100						
Pcp 101				100					
Pcp 102		6				94			
Pcp 104					100				
Pcp 106				86	14				
Pcp 108						100			
<b>Isolados de Tomate</b>									
Pct 1				100					
Pct 2					100				
Pct 7				12	88				
Pct 10			100						
Pct 17				100					
Pct 19				80	20				
Pct 23			100						
Pct 28						100			
Pct 31	100								
Pct 33		26		74					

<b>Isolados de Abóbora</b>				
Pca 1			100	
Pca 3				100
Pca 4			92	8
Pca 11				100
Pca 12				100
Pca 14			100	
Pca 15	60			40
Pca 21		38	30	32
Pca 24				100
Pca 31	100			
Pca 32			100	
Pca 33			100	
Pca 34				100
Pca 35		18	82	
<b>Isolados de Berinjela</b>				
Pcbe 2	20			80
Pcbe 8	6		10	84
Pcbe 15		100		
Pcbe 19				100
Pcbe 23	94			12
<b>Isolados de Jiló</b>				
Pcj 1				100
Pcj 3		100		
Pcj 7			100	
<b>Isolados de Cacau</b>				
Pcc 1	6		38	56
Pcc 12			100	
<b>Isolados de Seringueira</b>				
Pcs 1			100	
<b>Isolados de Mandioca</b>				
Pcm 14		80		20

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.

\*\* Formatos baseados em ilustrações contidas em Erwin & Ribeiro (1996).

Houve uma variação da classificação dos formatos de esporângios sendo os formatos mais freqüentes (Tabela 1.3.) os tipos limoniforme (mais observado) e piriforme.

Visualmente o formato do esporângio apresentou estreita relação com a dimensão das papilas, pois esporângios mais esféricos apresentam profundidade de papila reduzida.

**Tabela 1.4.** Padrão morfológico das colônias e tipo de micélio dos isolados de *Phytophthora capsici*.

<b>Cód.*</b>	<b>Padrão de Colônia</b>	<b>Altura do micélio</b>	<b>Cód.*</b>	<b>Padrão de Colônia</b>	<b>Altura do micélio</b>
<b>Pimentão</b>			<b>Jiló</b>		
Pcp 3	Cotonoso	Aéreo	Pcj 2	Concêntrico, Crisantêmico	Prostrado
Pcp 10	Estrelada/Rosiforme	Prostrado	Pcj 3	Rosiforme, Estrelado	Aérea, Prostrado
Pcp 17	Rosiforme	Prostrado	Pcj 1	Cotonoso	Aéreo
Pcp 29	Cotonoso	Aéreo	<b>Cacau</b>		
Pcp 41	Estrelado	Prostrado	Pcc 14	Estrelado	Prostrado
Pcp 42	Estrelado	Prostrado	Pcc 5	Estrelado	Aérea
Pcp 47	Cotonoso	Aéreo	Pcc 13	Concêntrico	Aérea
Pcp 59	Cotonoso	Aéreo	Pcc 14	Estrelado	Prostrado
Pcp 65	Cotonoso	Prostrado	Pcc 5	Crisantêmico	Aérea
Pcp 72	Rosiforme/Estrelado	Prostrado	Pcc 5	Cotonoso/Estrelado	Aérea
Pcp 75	Estrelado	Prostrado			
Pcp 82	Estrelado	Prostrado			
Pcp 83	Estrelado	Prostrado			
Pcp 101	Rosiforme	Prostrado			
Pcp 103	Petalóide/Rosiforme	Prostrado			
Pcp 106	Rosiforme	Prostrado			
Pcp 108	Estrelado	Prostrado			
<b>Pimenta (<i>Capsicum</i> sp.)</b>					
Pepi 1	Rosiforme	Prostrado			
<b>Tomate</b>					
Pct 1	Estrelado	Prostrado			
Pct 2	Petalóide/Cotonoso	Prostrado			
Pct 19	Estrelado	Aéreo			
Pct 28	Estrelado	Prostrado			
Pct 31	Petalóide	Prostrado			
Pct 33	Petalóide/Estrelado	Aéreo			
<b>Abóbora</b>					
Pca 1	Petalóide	Prostrado			
Pca 3	Rosiforme	Prostrado			
Pca 11	Rosiforme/Estrelado	Prostrado			
Pca 12	Rosiforme	Prostrado			
Pca 24	Rosiforme	Prostrado			
<b>Berinjela</b>					
Pcbe 8	Estrelado	Prostrado			
Pcbe 2	Estrelado	Prostrado			
Pcbe 19	Estrelado	Prostrado			
Pcbe 23	Cotonoso	Aéreo			

O padrão da colônia não variou em função da planta hospedeira, porém isolados de qualquer um dos hospedeiros mostraram predominantemente micélio prostrado (Tabela 1.4.).

**Tabela 1.5.** Progresso do crescimento micelial expresso pela área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e taxa de crescimento de isolados de *Phytophthora* em meio suco de tomate (St).

Isolados	2 dai (mm)	4 dai (mm)	6 dai (mm)	AACCM	TC (mm.dia <sup>-1</sup> )	Isolados	2 dai (mm)	4 dai (mm)	6 dai (mm)	AACCM	TC (mm.dia <sup>-1</sup> )					
												Pimentão				
Pcp 60	62	88	90	478	7	Pct 24	47,25	76,75	80,75	405,5	8,4					
Pcp 64	51	85	90	457	8,5	Pct 03	55,25	90,5	92	474	9,2					
Pcp 34	53,25	86,5	88	454	8,7	Pct17	50	83,25	88	437,75	9,5					
Pcp 67	50,75	80	85,5	427	8,7	Pct 22	45,5	77,25	83,75	406,5	9,6					
Pcp 63	52	83,75	87	442,25	8,8	Pct 15	48	77,25	88	415,75	10					
Pcp 70	53	82,75	88	442,25	8,8	Pct 03	47	85	88	437	10,3					
Pcp 66	50	85,5	87	446,5	8,9	Pct 17	48	90	89	455	10,3					
Pcp 75	51	86,5	87,5	449	9,1	Pct 02	43	81,25	86	415,75	10,8					
Pcp 53	49,25	82,75	86,5	433,25	9,3	Pct 20	44	73	88	395	11					
Pcp 72	44	63	83	360	9,8	Pct 11	43,75	79	88	412,5	11,1					
Pcp 62	47,25	77	86,5	412	9,8	Pct 23	45,5	76	90	409	11,1					
Pcp 33	48	86	90	444	10,5	Pct 01	44,5	85,5	89,5	435	11,3					
Pcp 29	47,75	87,5	90	448	10,6	Pct 21	43,75	82,25	89,5	423,75	11,4					
Pcp 69	47,25	86,75	90	444,75	10,7	Pct 23	44,25	78,75	90	414,75	11,4					
Pcp 31	44	83	87	424	10,8	Pct 22	41,75	64,25	88	364,25	11,6					
Pcp 73	47	77,5	90	416,5	10,8	Pct 27	31	57,5	78,5	313	11,9					
Pcp 35	46	84,25	90	434,75	11	Pct21	41	66,75	90	372,25	12,3					
Pcp 103	34,75	67	79	349,5	11,1	Pct23	40,75	70,25	90	382,25	12,3					
Pcp 68	45	78,5	90	415,5	11,3	Pct20	40,5	72	90	387	12,4					
Pcp 03	44,75	75	90	404,5	11,3	Pct 19	37	76,25	87,5	390,25	12,6					
Pcp 30	44,75	86,25	90	438,25	11,3	<b>Média</b>					<b>11,1</b>					
Pcp 20	44,5	88,75	90	445,25	11,4	<b>Abóbora</b>										
Pcp 06	44,25	77,25	90	410,25	11,4	Pca 24	135,3	72	85,25	571,75	12,5					
Pcp 97	44,25	71	90	391,5	11,4	Pca 4	52,25	85,5	87,75	448,75	8,9					
Pcp 38	39,25	73,5	85,5	384,5	11,6	Pca 22	42	74	81,75	387,75	9,9					
Pcp 06	43,25	83	90	425,5	11,7	Pca 1	44,75	75,25	85,5	400,75	10,2					
Pcp 85	42,5	69,25	89,3	382	11,7	Pca14	48	75	90	411	10,5					
Pcp 83	41	81	88	413	11,8	Pca 23	41,75	63,75	84,25	359	10,6					
Pcp 41	33	59,25	80,3	324	11,8	Pca 24	44,5	81	87,5	419,5	10,8					
Pcp 76	30	56,5	77,3	306,75	11,8	Pca 21	40,75	72,5	85	384	11,1					
Pcp 42	42,75	81	90	418,5	11,8	Pca 25	40,5	65,25	87,75	364,5	11,8					
Pcp 08	42	81	90	417	12	<b>Média</b>					<b>10,6</b>					
Pcp 92	42	71,75	90	389,25	12	<b>Jiló</b>										
Pcp 99	41,5	87	90	434	12,1	Pej 3	38	63	79	344	10,3					
Pcp 16	41,25	85,5	90	429	12,2	Pej 2	37,5	59,5	79	332,5	10,4					
Pcp 42	40,75	78,75	90	407,75	12,3	<b>Média</b>					<b>10,3</b>					
Pcp 82	40,75	83,75	90	422,75	12,3	<b>Cacau</b>										
Pcp 97	40,5	71	90	384	12,4	Pcc 12	40,5	68,25	76,25	362	8,9					
Pcp 83	40,25	80,5	90	412	12,4	Pcc 5	37	67,5	79	355,5	10,5					
Pcp 17	38,25	69	89	372,5	12,7	Pcc 14	36,75	75	79	377,5	10,6					
Pcp 47	39	75,5	90	394,5	12,8	<b>Média</b>					<b>10</b>					
Pcp 100	41	71,5	92	388,5	12,8	*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1; TC - taxa de crescimento obtida a partir do coeficiente angular entre os valores do diâmetro de colônia e os dias de avaliação.										
Pcp 59	38	78,5	90	401,5	13											
Pcp 86	37	64,5	89,5	357	13,1											
Pcp 87	36,5	67,25	90	364,75	13,4											
Pcp 98	30,25	69,25	90	358,25	14,9											
Pcp 101	0	62,5	79	266,5	19,8											
<b>Média</b>					<b>11,4</b>											

O pico de crescimento dos isolados ocorreu em 2-4 dias de incubação (dai), e para a maioria dos isolados o diâmetro de colônia formado, tem a amplitude de 0 a 30 mm. Após 4-6 dai os isolados cresceram em média de 0 a 10 mm. Isolados como Pcp 72 têm crescimento distribuído entre os dias de incubação, não apresentando picos de crescimento nos primeiros dias (Tabela 1.5.).

Os isolados de pimentão apresentaram amplitudes de AACPCM de 324,0-453,5(418,2) [Pcp41-Pcp31(Pcp42)], os isolados de tomate 313,0-437,7(410,1) [Pct27-Pct17(Pct11)] e os isolados de abóbora tiveram 359,0-571,7 (384,7) [Pca23-Pca24(Pca22)]. Dos isolados de pimentão o Pcp 31 e o Pcp 41 tiveram as maiores (453,5) e menores (324,0) AACPCM, respectivamente, indicando a variação na atividade fisiológica em meio de cultura. Os isolados que tiveram a maior AACPCM foram Pca 24 (505,8), Pcp 20 (445,3) e Pcp 69 (444,8) (Tabela 1.5.).

O isolado mais recentemente incorporado à coleção (Pcp 101) apresentou as maiores taxas de crescimento (Tabela 1.5.).

A taxa de crescimento média entre os isolados foi de 11,2 mm.dia<sup>-1</sup>. Os isolados de pimentão apresentaram amplitudes de taxa de crescimento de 10,5-9,8(11,4) [Pcp33-Pcp62(Pcp6)], os isolados de tomate 8,4-12,6(11,1) [Pct24-Pct19(Pct27)] e os isolados de abóbora tiveram 8,9-12,5(10,6) [Pca4-Pca24(Pca23)]. As médias de taxa de crescimento dos isolados pelos seus hospedeiros foram de 11,4 mm.dia<sup>-1</sup> para isolados de pimentão, 11,1 mm.dia<sup>-1</sup> para isolados de tomate, 10,6 mm.dia<sup>-1</sup> para isolados de abóbora, 10,3 mm.dia<sup>-1</sup> para isolados de jiló, 10,0 mm.dia<sup>-1</sup> para isolados de cacau (Tabela 1.5.).

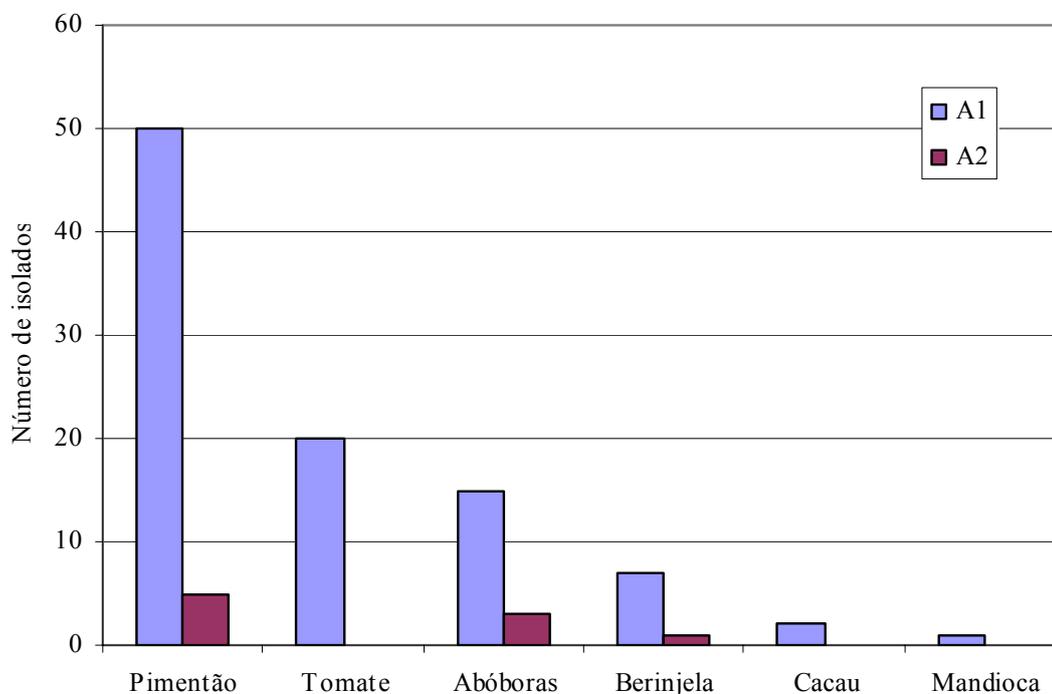
As inúmeras avaliações realizadas neste item do capítulo tiveram a finalidade de caracterização adequada de *P. capsici* e a identificação de elementos de diferenciação morfológica dentro da espécie em estudo.

Todas essas informações relacionadas à atividade fisiológica dos isolados foram estudadas de forma a demonstrar aspectos peculiares dos isolados. Alguns isolados possuem

comportamentos fisiológicos diferenciados em meio de cultura, caracterizando e demonstrando a variabilidade dentro da espécie *P. capsici*.

### 1.3.2 Identificação de grupos de compatibilidade

Detectou-se maior frequência de isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade (GC) A1, 83 %, e 17 % do grupo de compatibilidade A2. Esta distribuição foi mantida para isolados de todos os hospedeiros de origem.



**Figura 1.5.** Distribuição dos grupos de compatibilidade de 104 isolados de *Phytophthora* por hospedeira de origem.

Dos 104 isolados analisados, 95 isolados pertencem ao GC A1 e o restante pertence ao GC A2. Dos isolados de pimentão, 50 pertencem ao GC A1 e 05 pertencem ao grupo A2, em tomate 20 pertencem ao grupo A1 e nenhum isolado pertence ao grupo A2, em abóboras 15 são A1 e 3 são A2, em berinjela 7 são A1 e 1 são A2 (Figura 1.5 e Tabela 1.6).

A Tabela 1.6 discrimina a distribuição dos GC por Estado brasileiro.

**Tabela 1.6.** Distribuição por hospedeiro do número de isolados em grupos de compatibilidade nos estados brasileiros.

Hospedeiros	Estados	Número de Isolados	
		A1	A2
DF	Pimentão	41	0
	Tomate	10	0
	Abóbora	10	1
	Berinjela	1	1
		<b>62</b>	<b>2</b>
GO	Tomate	8	0
	Abóbora	4	0
	Berinjela	1	0
		<b>13</b>	<b>0</b>
SP	Pimentão	6	3
	Tomate	1	0
	Abóbora	0	1
		<b>7</b>	<b>4</b>
MG	Pimentão	3	1
	Tomate	1	0
	Abóbora	1	1
		<b>5</b>	<b>2</b>
SC	Pimentão	0	1
PE	Berinjela	5	0
PB	Mandioca	1	0
BA	Cacau	2	0
<b>Total</b>		<b>95</b>	<b>9</b>

Dos isolados coletados no DF, 62 pertencem ao GC A1 e apenas dois isolados pertencem ao GC A2. Nos estados de GO, PE e PB todos os isolados (13, 5 e 1 respectivamente) pertencem ao grupo de compatibilidade A1. No estado de SP há maior equilíbrio entre os grupos de compatibilidade com sete isolados do grupo de compatibilidade A1 e quatro A2. Em SC o único isolado examinado pertenceu ao grupo de compatibilidade A2. Todos os isolados de tomate independente do Estado de origem, pertencem ao grupo de compatibilidade A1. Embora não tenha sido observada grande frequência de GC A2 esta ocorreu principalmente em isolados oriundos de pimentão do Estado de SP. O Estado onde se

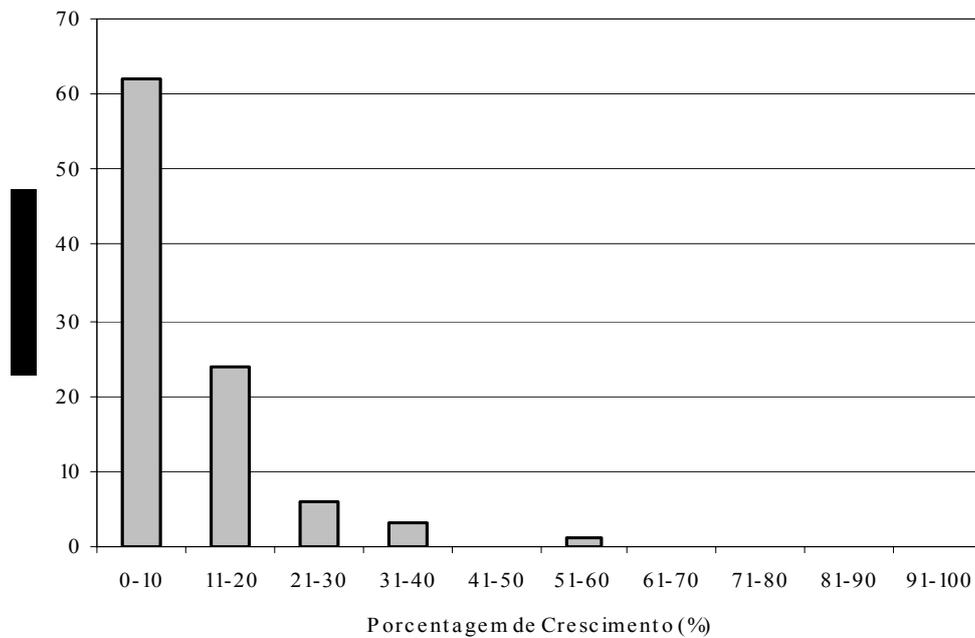
tem maior número de isolados identificados é o DF. Nesta região o GC A1 é predominante (60,78%) (Tabela 1.7).

Independente da hospedeira e do Estado de origem a frequência do número de isolados pertencente ao grupo de compatibilidade A1 foi constante (Figura 1.6). Embora o número seja pequeno, representantes dos grupos de compatibilidade A2 estão presentes nas regiões Centro-oeste, Sudeste e Sul do Brasil.

### **1.3.3 Identificação de grupos de resistência a metalaxil**

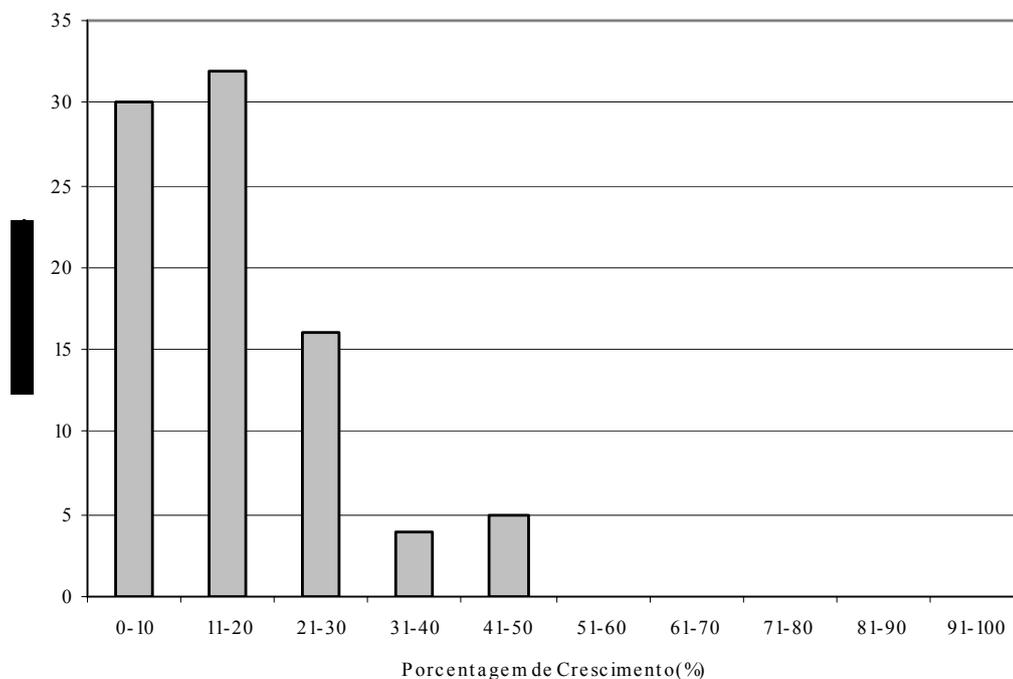
Após seis dias de incubação na concentração de 100 ppm, 62 isolados de um total de 92, tiveram crescimento correspondente a 0-10 % da testemunha sem fungicida (Figura 1.6.). A média da  $EC_{50}$  para os isolados sensíveis foi de  $1,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , variando entre 0,001 e  $5,9 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , e para os isolados intermediários foi de  $15,085 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (variação de 29,116 a  $3,574 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). A maioria dos isolados foi classificada como sensível, poucos como intermediários e nenhum isolado foi considerado resistente a metalaxil, de acordo com os três critérios estudados (critério desenvolvidos neste trabalho, critério de Parra & Ristaino, 2001 e critério de Shattock *et al.*, 1990 – maiores informações verificar no item 1.2.3 em materiais e métodos).

O critério denominado de critério dois (modificado de Shattock *et al.*, 1990) foi o que melhor diferenciou os isolados analisados quanto à sensibilidade a metalaxil (Tabela 1.7).



**Figura 1.6.** Distribuição de freqüência das amplitudes das porcentagens de crescimento de 92 isolados de *Phytophthora capsici* após seis dias de incubação em meio de cultura contendo 100 ppm de metalaxil.

A maioria dos isolados (mais de 60 %) cresceram no máximo 10 % do diâmetro da cultura em meio sem fungicida, quando cultivados na presença de 100 ppm de metalaxil (Figura 1.6), demonstrando a alta sensibilidade dos isolados.



**Figura 1.7.** Distribuição de freqüência das amplitudes das porcentagens de crescimento de 92 isolados de *Phytophthora capsici* após seis dias de incubação em meio de cultura contendo 10 ppm de metalaxil.

Em meio com metalaxil a 10 ppm, os 62% dos isolados se agruparam em duas classes, tal como 0-10 e 10-20 % de crescimento, quando comparados com a testemunha sem fungicida (Figura 1.7).

Assim, os isolados em teste foram distribuídos nos seguintes grupos de reação: sensíveis – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil com amplitude de 0 a 10 %, intermediários – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil de 11 a 60% e resistentes – porcentagem de crescimento em 100 ppm de metalaxil acima de 60 %.

**Tabela 1.7.** Sensibilidade de isolados de *Phytophthora* a metalaxil expressa pela porcentagem de crescimento (% Cresc.) em meio de cultura contendo 100 ppm de metalaxil, comparado ao meio testemunha sem o fungicida e pelo EC<sub>50</sub> (concentração do produto capaz de inibir 50 % do crescimento) e classificação da sensibilidade segundo três critérios (Cr1, Cr2 e Cr3) diferentes de classificação (S- sensível, I-intermediário e R-resistente).

Ord	Isolados*	% Cresc.	EC <sub>50</sub> µg ia.mL <sup>-1</sup>	Classificação			Ord	Isolados*	% Cresc.	EC <sub>50</sub> µg ia.mL <sup>-1</sup>	Classificação		
				Cr 1	Cr 2	Cr 3					Cr 1	Cr 2	Cr 3
<b>Pimentão</b>						<b>Pimentão</b>							
1	Pcp 17	11	0.0353	S	I	S	50	Pcp 64	5	0.00	S	S	S
2	Pcp 66	11	0.0474	S	I	S	51	Pcp 70	14	0.00	S	I	S
3	Pcp 41	9	0.0573	S	S	S	<b>Tomate</b>						
4	Pcp87	0	0.1472	S	S	S	52	Pct 10	6	0.2143	S	S	S
5	Pcp 103	2	0.1666	S	S	S	53	Pct 15	8	0.2254	S	S	S
6	Pcp86	8	0.2335	S	S	S	54	Pct 11	19	0.2743	S	I	S
7	Pcp87	5	0.3335	S	S	S	55	Pct 13	4	0.343	S	S	S
8	Pcp 10	3	0.3586	S	S	S	56	Pct 12	7	0.3617	S	S	S
9	Pcp98	2	0.3754	S	S	S	57	Pct22	5	0.385	S	S	S
10	Pcp 85	3	0.3807	S	S	S	58	Pct21	3	0.3856	S	S	S
11	Pcp 72	21	0.3857	I	I	S	59	Pct 22	0	0.4043	S	S	S
12	Pcp 76	10	0.4395	S	I	S	60	Pct 21	6	0.4247	S	S	S
13	Pcp 59	3	0.539	S	S	S	61	Pct 20	6	0.6023	S	S	S
14	Pcp 8	2	0.5811	S	S	S	62	Pct 24	0	0.6568	S	S	S
15	Pcp 62	6	0.7481	S	S	S	63	Pct23	7	0.663	S	S	S
16	Pcp 63	6	0.7537	S	S	S	64	Pct20	9	0.8573	S	S	S
17	Pcp99	7	0.912	S	S	S	65	Pct 26	7	11.318	S	S	S
18	Pcp 102	1	0.9546	S	S	S	66	Pct 17	10	11.928	S	S	S
19	Pcp 67	10	0.9667	S	S	S	67	Pct 23	10	16.225	S	S	S
20	Pcp92	11	0.9897	S	I	S	68	Pct 19	17	1.71	S	I	S
21	Pcp 101	6	1.005	S	S	S	69	Pct 03	12	17.676	S	I	S
22	Pcp 83	3	10.521	S	S	S	70	Pct 17	8	21.198	S	S	S
23	Pcp 16	2	11.686	S	S	S	71	Pct 02	6	27.447	S	S	S
24	Pcp 38	10	1.263	S	S	S	72	Pct 03	8	28.958	S	S	S
25	Pcp 83	2	12.686	S	S	S	73	Pct 01	8	31.429	S	S	S
26	Pcp 60	8	13.183	S	S	S	<b>Abóbora</b>						
27	Pcp 69	12	16.706	S	I	S	74	Pca 22	4	0.0124	S	S	S
28	Pcp97	12	18.239	S	I	S	75	Pca 23	8	0.0562	S	S	S
29	Pcp 31	11	18.789	S	I	S	76	Pca 22	2	0.3376	S	S	S
30	Pcp 29	12	19.843	S	I	S	77	Pca 25	7	0.5555	S	S	S
31	Pcp 82	7	20.329	S	S	S	78	Pca 4	5	0.8142	S	S	S
32	Pcp 34	15	21.518	S	I	S	79	Pca 24	2	11.641	S	S	S
33	Pcp 30	0	21.592	S	S	S	80	Pca 24	7	12.958	S	S	S
34	Pcp97	11	2.193	S	I	S	81	Pca 1	5	1.582	S	S	S
35	Pcp 68	7	2.295	S	S	S	82	Pca 3	31	40.646	I	I	I
36	Pcp 34	17	24.416	S	I	S	83	Pca 14	12	4.891	S	I	S
37	Pcp 53	16	2.6	S	I	S	84	Pca 21	25	11.76	I	I	I
38	Pcp 33	15	27.106	S	I	S	<b>Cacau</b>						
39	Pcp 3	30	30.618	I	I	S	85	Pcc 14	0	0.0011	S	S	S
40	Pcp 42	11	31.836	S	I	S	86	Pcc 14	4	0.2392	S	S	S
41	Pcp 75	8	33.684	S	S	S	87	Pcc12	2	0.2405	S	S	S
42	Pcp 31	19	3.877	S	I	S	88	Pcc 5	0	0.7527	S	S	S
43	Pcp 100	22	39.486	I	I	S	89	Pcc 15	13	0.9483	S	I	S
44	Pcp 42	8	40.777	S	S	S	<b>Pimenta do Reino</b>						
45	Pcp 6	17	40.785	S	I	S	90	Pci 8	7	0.6287	S	S	S
46	Pcp 6	15	4.492	S	I	S	<b>Jiló</b>						
47	Pcp 35	17	58.755	S	I	S	91	Pcj 2	0	0.2901	S	S	S
48	Pcp 20	33	29.12	I	I	I	92	Pcj 3	3	0.2023	S	S	S
49	Pcp 47	30	3.57	I	I	I							

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1; Critério 1 critério proposto neste trabalho, baseado nos posteriores, Critério 2 Shattock *et al.*, 1990, Critério 3 Parra & Ristaino, 2001.

No primeiro critério de classificação, 7,6% dos isolados tiveram sensibilidade intermediária, e nenhum isolado foi classificado como resistente, logo 92,4 % foram classificados como sensíveis a metalaxil. No segundo critério, 33,7 % dos isolados foram classificados como sensibilidade intermediária, e novamente nenhum isolado foi resistente, logo 66,3 % foram classificados como sensíveis. E por fim, no terceiro critério, 4,3 % dos isolados foram classificados com sensibilidade intermediária, nenhum foi resistente e 95,7 % foram classificados como sensíveis. Assim o critério que mostrou maior diversidade de sensibilidade ao metalaxil foi o critério 2, devido apresentar maior número de isolados classificados como intermediários, desta forma as classes apresentadas no Critério 2 foram adotados como as classes que representam os isolados (Tabela 1.7).

Levando em consideração o segundo critério de classificação dos isolados oriundos de pimentão quanto a sensibilidade a metalaxil, observou-se que 47 % de todos os isolados testados, foram classificados como intermediários. Já para os isolados oriundos de tomate, abóbora e cacau as porcentagens foram de 9 %, 27 % e 20 %, respectivamente. Não houve ocorrência de isolados intermediários apenas sensíveis para os isolados de jiló e pimenta do reino (Tabela 1.7). Se no futuro forem detectadas populações resistentes a metalaxil nestes hospedeiros provavelmente este advento pode estar associado a isolados oriundos de pimentão.

As amplitudes de  $EC_{50}$  para os isolados sensíveis e intermediários para o segundo critério foram de 0,0353-29,12  $\mu\text{g ia.mL}^{-1}$  e 0,0011-4,077  $\mu\text{g ia.mL}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 1.7).

Os isolados que tiveram os maiores valores de  $EC_{50}$  foram Pcp 20 (29,12) e Pca 21 (11,76), ou seja, as concentrações de 29,12  $\mu\text{g ia.mL}^{-1}$  e 11,76  $\mu\text{g ia.mL}^{-1}$  representam as concentrações do fungicida capazes de inibir em 50% o crescimento destes isolados de *Phytophthora* (Tabela 1.7).

As  $EC_{50}$  variaram em cada critério devido serem calculadas de forma independente (observar no item 1.2.3 de materiais e métodos) sendo apresentadas simultaneamente com os critérios com o objetivo de um parâmetro auxiliar de classificação.

#### **1.3.4 Patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados.**

##### **Avaliação em frutos de pimentão**

Aos seis dias após a inoculação todos os isolados atingiram cobertura total em comprimento dos frutos de pimentão, independente dos hospedeiros de origem. A largura da lesão variou muito pouco nos dias de avaliação, assim a relação comprimento largura da lesão sempre foi superior a 2, ao formato do fruto. Para os isolados oriundos de seringueira e os isolados pouco agressivos a relação foi de 1:1. O sentido de crescimento e ordenação das células do mesocarpo dos frutos de pimentão podem explicar o fato da lesão se desenvolver predominantemente em comprimento.

Os isolados de seringueira apresentaram pequena evolução da lesão, durante o período avaliado, deste modo ele se apresentou como um isolado pouco agressivo (Tabela 1.10).

Foi observada certa diversidade de expressão de sintomas nos frutos, onde isolados fracamente agressivos formaram sintomas de apodrecimento sem formação de micélio prostrado abundante, formação de lesão de coloração chocolate. Essa diversidade foi relacionada com hospedeiro de origem para os isolados Pcc13 (AACPL = 19, 8), Pcs1 (AACPL = 3,4) e Pcs2 (AACPL = 57,5) (Tabela 1.16). Isolados altamente agressivos sobre a lesão apresentavam abundância da formação de micélio aéreo sobre a superfície do tecido. Em contraste em alguns casos observaram-se abundante esporulação esporangial como por exemplo, nos isolados Pca 1 (AACPD 318,2), Pcp 101 (AACPD 347,0) e Pct 25 (AACPD 314,0).

**Tabela 1.8.** Área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no primeiro lote de avaliação.

<b>Isolados</b>	<b>Grupos de Reação<sup>1</sup></b>	<b>AACPL</b>
<b>Pcp 62</b>	Fracamente Agressivo	100,7
<b>Pct17</b>	Fracamente Agressivo	101,2
<b>Pcp75</b>	Moderadamente Agressivo	116,7
<b>Pcp100</b>	Moderadamente Agressivo	124,2
<b>Pcp63</b>	Altamente Agressivo	127,0
<b>Pcp72</b>	Altamente Agressivo	131,2
<b>Pca24</b>	Moderadamente Agressivo	131,8
<b>Pcp31</b>	Moderadamente Agressivo	132,3
<b>Pcp99</b>	Altamente Agressivo	132,3
<b>Pct24</b>	Moderadamente Agressivo	133,3
<b>Pcp65</b>	Altamente Agressivo	134,0
<b>Pcp64</b>	Moderadamente Agressivo	134,5
<b>Pct03</b>	Altamente Agressivo	137,5
<b>Pcp66</b>	Altamente Agressivo	140,3
<b>Pcp72</b>	Altamente Agressivo	141,5
<b>Pcp60</b>	Altamente Agressivo	147,2
<b>Pca22</b>	Altamente Agressivo	148,5
<b>Pcp67</b>	Altamente Agressivo	148,7
<b>Pcp70</b>	Altamente Agressivo	149,5
<b>Pcp88</b>	Altamente Agressivo	149,7
<b>Pct13</b>	Altamente Agressivo	153,3
	FA	02
<b>Totais</b>	MA	06
	AA	13

<sup>1</sup>Segundo análise de agrupamento utilizando o procedimento “fast class” do SAS.

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.

No primeiro lote de avaliação a maior parte dos isolados foram classificados como AA (FA:MA:AA=2:6:13) em frutos de pimentão, sendo os seis isolados que desenvolveram as maiores AACPL oriundos de tomate (Pct 13), pimentão (Pcp 88, Pcp 70, Pcp 67 e Pcp 60), abóbora (Pca 22). Os isolados FA foram oriundos de pimentão (Pcp 62) e tomate (Pct 17) (Tabela 1.8).

**Tabela 1.9.** Área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no segundo lote de avaliação.

<b>Isol</b>	<b>Grupos de Reação<sup>1</sup></b>	<b>AACPL</b>
<b>Pcp 73</b>	Fracamente Agressivo	253,8
<b>Pct 23</b>	Fracamente Agressivo	269,7
<b>Pcp 41</b>	Fracamente Agressivo	282,5
<b>Pcp 62</b>	Moderadamente Agressivo	307,9
<b>Pcp 38</b>	Moderadamente Agressivo	312,3
<b>Pca 23</b>	Moderadamente Agressivo	342,7
<b>Pct 20</b>	Moderadamente Agressivo	362,7
<b>Pca 25</b>	Altamente Agressivo	388,3
<b>Pcp 34</b>	Altamente Agressivo	398,5
<b>Pcp 68</b>	Altamente Agressivo	414,8
	FA	03
<b>Totais</b>	MA	04
	AA	03

<sup>1</sup>Segundo análise de agrupamento utilizando o procedimento “fast class” do SAS.

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.; FA-fracamente agressivos, MA-moderadamente agressivos, AA-altamente agressivos.

No segundo lote de avaliação, três isolados foram classificados como AA, sendo dois isolados de pimentão (Pcp 68 e Pcp 34) e um oriundo de abóbora (Pca 25). Os isolados FA foram oriundos de pimentão (Pcp 73 e Pcp 41), e tomate (Pct 23) (Tabela 1.9).

A AACPL relativa para a média de FA foi de 268,7, para MA foi de 331,4, e finalmente para AA foi de 400,6, sendo que os isolados FA apresentaram valores de AACPL 1,5 vezes menor que os isolados AA.

**Tabela 1.10.** Área abaixo da curva de progresso do comprimento lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no terceiro lote de avaliação.

<b>Isolados</b>	<b>Grupos de Reação<sup>1</sup></b>	<b>AACPL</b>
<b>Pcs 1</b>	Fracamente Agressivo	3,45
<b>Pcc 13</b>	Fracamente Agressivo	19,8
<b>Pcp 17</b>	Fracamente Agressivo	20,0
<b>Pcs 2</b>	Fracamente Agressivo	57,5
<b>Pca 3</b>	Moderadamente Agressivo	178,5
<b>Pca 21</b>	Moderadamente Agressivo	248,8
<b>Pcc 14</b>	Moderadamente Agressivo	256,8
<b>Pcp 62</b>	Altamente Agressivo	284,8
<b>Pcp 42</b>	Altamente Agressivo	297,8
<b>Pcc 12</b>	Altamente Agressivo	307,0
<b>Pca 4</b>	Altamente Agressivo	308,5
<b>Pcp 103</b>	Altamente Agressivo	309,2
<b>Pct 25</b>	Altamente Agressivo	314,0
<b>Pct 22</b>	Altamente Agressivo	315,8
<b>Pcc 15</b>	Altamente Agressivo	316,0
<b>Pca 1</b>	Altamente Agressivo	318,2
<b>Pci 8</b>	Altamente Agressivo	323,7
<b>Pca 11</b>	Altamente Agressivo	328,8
<b>Pcp 102</b>	Altamente Agressivo	328,8
<b>Pca 15</b>	Altamente Agressivo	345,2
<b>Pcp 101</b>	Altamente Agressivo	347,0
<b>Pcc 5</b>	Altamente Agressivo	351,7
<b>Pcj 7</b>	Altamente Agressivo	368,0
	FA	04
<b>Totais</b>	MA	03
	AA	16

<sup>1</sup>Segundo análise de agrupamento utilizando o procedimento “fast class” do SAS.

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1; FA-fracamente agressivos, MA-moderadamente agressivos, AA-altamente agressivos.

No terceiro lote de avaliação a maior parte dos isolados foram classificados como AA (4:3:16) em frutos de pimentão devido os valores de incidência apresentados. Este fato foi induzido pelo fato da análise ter sido feita de forma conjunta com isolados de cacau, seringueira e um isolado de pimentão (isolados de fraca agressividade). Quatro isolados foram FA, sendo um oriundo de seringueira (Pcs 1), cacau (Pcc 13), pimentão (Pcp 17) e seringueira (Pcs 2). Tem-se dois isolados de cacau um Pcc13 e Pcc5, ambos antagonistas quanto a

agressividade em frutos de pimentão, pois respectivamente foram os extremos de maior e menor valores de AACPL. (Tabela 1.10).

A AACPL relativa para a média de FA foi de 24,6, para MA foi de 228,0 e finalmente para AA foi de 322,8, sendo que os isolados FA apresentaram valores de AACPL 13 vezes menor que os isolados AA (maior variabilidade de agressividade ligada ao isolado).

**Tabela 1.11.** Área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no quarto lote de avaliação.

<b>Isolados</b>	<b>Grupos de Reação<sup>1</sup></b>	<b>AACPL</b>
<b>Pcp 56</b>	Fracamente Agressivo	120,0
<b>Pcp 07</b>	Fracamente Agressivo	147,7
<b>Pcp 46</b>	Fracamente Agressivo	160,8
<b>Pcp 97</b>	Fracamente Agressivo	162,3
<b>Pcp 16</b>	Moderadamente Agressivo	165,8
<b>Pcp 08</b>	Moderadamente Agressivo	184,7
<b>Pcp 39</b>	Moderadamente Agressivo	189,7
<b>Pcp 20</b>	Moderadamente Agressivo	190,3
<b>Pcp 100</b>	Moderadamente Agressivo	194,2
<b>Pcp 43</b>	Altamente Agressivo	216,3
<b>Pcp 82</b>	Altamente Agressivo	221,8
<b>Pcp 87</b>	Altamente Agressivo	223,5
<b>Pcp 88</b>	Altamente Agressivo	235,7
<b>Pcp 35</b>	Altamente Agressivo	246,0
<b>Pcp 98</b>	Altamente Agressivo	253,5
	FA	04
<b>Totais</b>	MA	05
	AA	06

<sup>1</sup>Segundo análise de agrupamento utilizando o procedimento “fast class” do SAS.

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.; FA-fracamente agressivos, MA-moderadamente agressivos, AA-altamente agressivos.

No quarto lote de avaliação, todos os isolados foram oriundos de pimentão, e distribuíram-se nos três grupos de reação (4:5:6). A AACPL relativa para a média de FA foi de 147,7, para MA foi de 185,0, e finalmente para AA foi de 233,0, sendo que os isolados FA apresentaram valores de AACPL 1,6 vezes menor que os isolados AA (Tabela 1.11).

**Tabela 1.12.** Área abaixo da curva de progresso do comprimento da lesão (AACPL) em frutos verdes de pimentão e classificação dos isolados em três grupos de reação a agressividade no quinto lote de avaliação.

<b>Isolados</b>	<b>Grupos de Reação<sup>1</sup></b>	<b>AACPL</b>
<b>Pcp 16</b>	Fracamente Agressivo	225,0
<b>Pcm 14</b>	Moderadamente Agressivo	276,8
<b>Pcp 86</b>	Moderadamente Agressivo	282,3
<b>Pcp 20</b>	Moderadamente Agressivo	299,8
<b>Pcc 1</b>	Moderadamente Agressivo	303,3
<b>Pcbe 15</b>	Moderadamente Agressivo	304,3
<b>Pcp 3</b>	Moderadamente Agressivo	312,8
<b>Pca 31</b>	Moderadamente Agressivo	319,0
<b>Pca 25</b>	Altamente Agressivo	347,8
<b>Pcbe 9</b>	Altamente Agressivo	349,5
<b>Pca 39</b>	Altamente Agressivo	357,8
<b>Pca 33</b>	Altamente Agressivo	365,0
<b>Pcp 83</b>	Altamente Agressivo	365,8
<b>Pcp 98</b>	Altamente Agressivo	366,5
<b>Pcp 43</b>	Altamente Agressivo	369,5
<b>Pcp 82</b>	Altamente Agressivo	373,5
<b>Pca 12</b>	Altamente Agressivo	373,8
<b>Pca 35</b>	Altamente Agressivo	379,0
<b>Pcbe 8</b>	Altamente Agressivo	391,2
<b>Pca 34</b>	Altamente Agressivo	399,5
<b>Pcj 3</b>	Altamente Agressivo	662,2
	FA	01
<b>Totais</b>	MA	07
	AA	13

<sup>1</sup>Segundo análise de agrupamento utilizando o procedimento “fast class” do SAS.

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.; FA-fracamente agressivos, MA-moderadamente agressivos, AA-altamente agressivos.

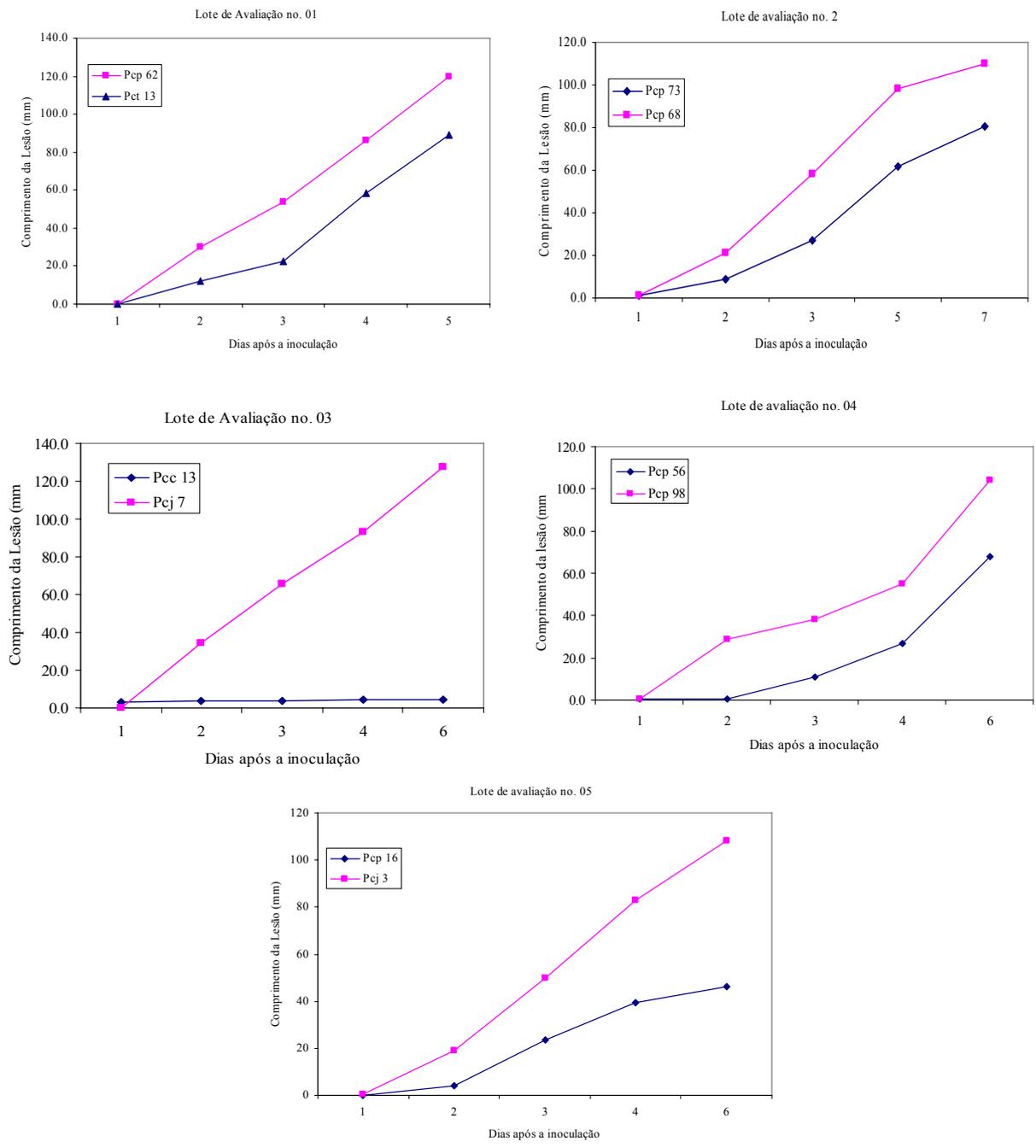
No quinto lote de avaliação, a maior parte dos isolados inoculados em frutos de pimentão, foram classificados como AA (1:7:13), merecendo destaque o isolado oriundo de jiló (Pcj 3), que teve valores de AACPL 1,6 vezes maior que outro isolado AA (Pca 34). Um isolado apenas foi classificado como FA, sendo oriundo de pimentão (Pcp 16) (Tabela 1.12).

A AACPL relativa para a média de FA foi de 225,0, para MA foi de 299,8, e finalmente para AA foi de 392,4, sendo que o isolado FA apresentaram valores de AACPL 1,7 vezes menor que os isolados AA.

Todos os isolados foram patogênicos em frutos de pimentão inclusive isolados de seringueira, cacau, pimenta do reino, hospedeiras reconhecidamente tropicais e de designação taxonômica transitória.

Comparando os três últimos lotes que tiveram as AACPL avaliadas sobre o mesmo período, estes tiveram os menores AACPL (1-120) sendo estes duas a três vezes menores que as maiores AACPL (368-662,2) (Tabelas 10, 11 e 12). Merece destaque no quinto lote de avaliação (Tabela 1.12) os isolado Pcj 3 que em relação aos demais obtiveram o maior valor de AACPL.

A Figura 1.8 demonstra o progresso da lesão de isolados representantes das reações AA e FA de cada lote, onde os isolados AA (Pcp 88, Pcj 7, Pcp 98 e Pca 34) apresentam maiores AACPL superiores que os isolados FA (Pcp 62, Pcs 1, Pcp 56 e Pcp 16).



**Figura 1.8.** Progresso do comprimento da lesão (mm) dos isolados com maiores e menores áreas abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) nos cinco lotes de avaliação.

**Patogenicidade, agressividade e virulência de isolados em plântulas de *C. annuum* e *Lycopersicon* spp.**

Ficaram melhores ajustadas as variáveis de incidência e severidade com a transformação log (x+10) estabelecendo-se assim as premissas dos testes paramétricos (incidência  $t=60,12^{**}$ ; severidade  $t=178,38^{**}$ ).

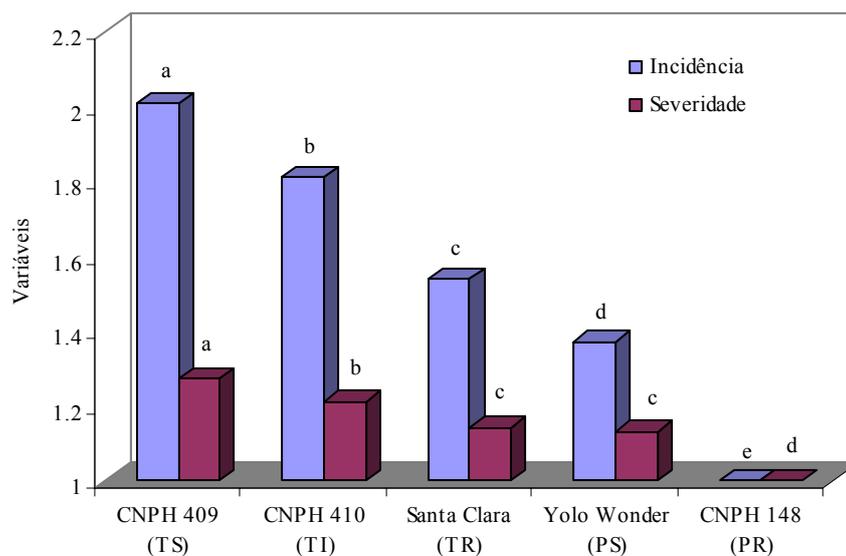
A variável incidência transformada por log (x+10) relaciona-se com a variável severidade em 80 %, e esta explicação é significativa a 1% de probabilidade ( $r=0,8002^{**}$ ).

Para os fatores isolados, genótipos e interação isolados-genótipos, rejeitou-se a hipótese de nulidade ( $P_{\sim}0,05$ ), tanto na variável incidência e quanto na variável severidade transformadas ( $F_{64,65}=16,57^{**}$ [isolados],  $F_{64,65}=13,86^{**}$ [genótipos] e  $F_{48,65}=5,35^{**}$ [interação isolados-genótipos], respectivamente para a variável incidência;  $F_{12,65}=14,22^{**}$ [isolados],  $F_{4,65}=116,21^{**}$ [genótipos] e interação  $F_{48,65}=5,24^{**}$ [interação isolados-genótipos], respectivamente para a variável severidade).

**Tabela 1.13.** Médias de incidência e severidade transformados dos isolados inoculados em genótipos resistentes, intermediários e suscetíveis de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon esculentum*.

Isolados	Hospedeiros	Incidência*	Severidade*
Pcp 104	Pimentão	1,8 a	1,2 a
Pct 1	Tomate	1,73 ab	1,19 ab
Pcp 31	Pimentão	1,7 ab	1,21 a
Pcp 65	Pimentão	1,69 ab	1,21 a
Pct 3	Tomate	1,66 ab	1,19 ab
Pct 19	Tomate	1,65 ab	1,19 ab
Pcbe 15	Berinjela	1,62 ab	1,07 c
Pcc 1	Cacau	1,59 ab	1,16 ab
Pcbe 19	Berinjela	1,58 ab	1,05 c
Pcbe 8	Berinjela	1,5 b	1,13 bc
Pcp 17	Pimentão	1,21 c	1,05 c
Pci 8	Pimenta do Reino	1,21 c	1,16 ab
Pcc 5	Cacau	1,2 c	1,16 ab
<b>CV</b>		<b>10,49</b>	<b>4,2</b>

\* Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey ( $P_{\sim}0,05$ )



**Figura 1.9.** Médias de incidência e severidade nos genótipos de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon* spp (TS-tomate suscetível, TI-tomate intermediário, TR-tomate resistente, PS-pimentão suscetível e PR-pimentão resistente).

Neste teste, a virulência de todos os isolados nos genótipos de pimentão e tomate indicou que nos genótipos de tomate apresentaram as maiores incidências da doença e maiores áreas de tecido lesionado, confirmando maior suscetibilidade de *Lycopersicon* spp. em comparação com *Capsicum annuum* (Figura 1.9).

Ao observar o efeito dos isolados em todos os genótipos merece destaque o isolado Pcp 104 e os isolados Pcp 17, Pci 8 e Pcc 5 que apresentaram as maiores e menores médias de incidência e severidade da doença (Tabela 1.13). Isto pode indicar certa especialização dos isolados quanto a sua virulência em cultivares de *C. annuum* e *Lycopersicon* spp. O mesmo isolado que é virulento em pimentão, pode se comportar de forma similar em cultivares de tomate que apresentem graus de suscetibilidade diferenciados.

O isolado Pcp 104 possivelmente tenha sua virulência potencializada pelo fato de ser recém coletado do campo (coletado em 2004) (Tabelas 1.1 e 1.13).

Os isolados de cacau (Pcc 5) e pimenta do reino (Pci 8) foram patogênicos aos grupos de resistência de *C. annuum* e *Lycopersicon* spp. (Tabela 1.13), contudo foram os menos

agressivos nos genótipos testados, sugerindo assim que a origem da planta hospedeira pode atuar na expressão da doença, sendo um elemento importante para que o patógeno possa expressar o seu potencial “máximo” de agressividade.

**Tabela 1.14.** Médias da incidência e severidade transformadas ( $\log(x+10)$ ) dos genótipos de *Capsicum annuum* e *Lycopersicon* spp.

<b>Genótipos</b>	<b>Incidência</b>	<b>Severidade</b>
CNPH 409 (TS)	2.01 a	1.27 a
CNPH 410 (TI)	1.81 b	1.21 b
Santa Clara (TR)	1.54 c	1.14 c
Yolo Wonder (PS)	1.37 d	1.13 c
CNPH 148 (PR)	1 e	1 d
CV	10,49	4,00

TS - tomate suscetível, TI - tomate intermediário, TR - tomate resistente, PS – pimentão suscetível, PR – pimentão resistente.

Dos cinco genótipos utilizados para avaliar a patogenicidade, o genótipo de tomate CNPH 409 (*Lycopersicon pennellii*) foi o genótipo mais suscetível aos isolados utilizados no experimento. Por outro lado o genótipo CNPH 148 (*C. annuum*), amplamente conhecido e citado em literatura pela imunidade a *P. capsici*, não foi infectado por nenhum isolado testado, confirmando a estabilidade de sua imunidade em relação a *P. capsici* (Tabela 1.14).

Os grupos de resistência dos genótipos foram confirmados com a inoculação de todos os isolados oriundos de várias hospedeiras, contudo os genótipos de *Lycopersicon* spp. foram em geral mais suscetíveis do que os de *Capsicum* sp.

No experimento, os isolados oriundos de pimentão se destacaram por apresentarem maior agressividade nos hospedeiros testados. E estes isolados expressaram sua maior agressividade em genótipos de *Lycopersicon* spp. Assim, a virulência dos isolados pode ser preservada tanto para genótipos de pimentão como para genótipos de tomate, variando seu grau dependendo do nível de resistência que apresente a hospedeira.

**Tabela 1.15.** Incidência de murcha de fitóftora (valores originais) causada pelos isolados de pimentão, berinjela, tomate, pimenta e cacau em cultivares de tomate e pimentão aos seis dias após a inoculação.

Isolados	Pimentão (I)		Pimentão (II)		Tomate (I)			Tomate (II)		
	CNPH 148	Yolo Wonder	CNPH 148	Yolo Wonder	Santa Clara	CNPH 410	CNPH 409	Santa Clara	CNPH 410	CNPH 409
Pcp 31	0	100	0	20	60	100	10	20	100	100
Pcp 104	0	100	0	40	100	100	100	100	100	100
Pct 19	0	60	0	60	40	100	80	0	100	100
Pcp 17	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100
Pcp 65	0	40	0	20	20	100	100	100	100	100
Pcbe 19	0	0	0	0	40	100	80	100	100	100
Pci 8	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100
Pcbe 8	0	0	0	0	20	60	100	25	100	100
Pct 3	0	20	0	0	100	100	100	80	100	100
Pcbe 15	0	0	0	20	67	100	100	40	100	100
Pcc 5	0	0	0	0	0	0	50	0	20	50
Pcc 1	0	50	0	75	0	100	100	0	100	100

\* I e II representam as repetições dos genótipos de tomate e pimentão.

A incidência da doença causada pelos isolados no último dia de avaliação foi muito abreviada, indicando uma maior agressividade dos isolados em genótipos de tomate do que nos de pimentão. Merecem destaque os isolados que foram virulentos em pimentão – origem de pimentão Pcp 31, Pcp 104, Pcp 65, origem de tomate Pct 3, Pct 19 e origem de cacau Pcc 1 (Tabela 1.15).

De todos os genótipos de pimentão e tomate utilizados para avaliação da virulência a incidência da doença foi maior no genótipo CNPH 409 (*L. pennellii*) (Tabela 1.15).

**Tabela 1.16.** Severidade de murcha de fitóftora (valores originais) causada pelos isolados de pimentão, berinjela, tomate, pimenta e cacau em cultivares de tomate e pimentão aos seis dias após a inoculação.

Isolados	Pimentão (I)		Pimentão (II)		Tomate (I)			Tomate (II)		
	CNPH 148	Yolo Wonder	CNPH 148	Yolo Wonder	Santa Clara	CNPH 410	CNPH 409	Santa Clara	CNPH 410	CNPH 409
Pcp 31	0	8.6	0	5	9	9	9	7	9	9
Pcp 31	0	8	0	8	9	7	9	9	9	9
Pcp 104	0	8	0	0	9	9	9	0	9	9
Pct 19	0	0	0	0	0	0	8.3	0	0	9
Pcp 17	0	9	0	3	9	9	9	9	9	9
Pcp 65	0	0	0	0	8	6	9	7	8	9
PcBe 19	0	0	0	0	0	0	8	0	0	9
Pci 8	0	0	0	0	9	8	9	9	8.5	9
Pcbe 8	0	9	0	0	9	9	9	9	9	9
Pct 3	0	0	0	9	7	8	9	9	9	9
Pcbe 19	0	0	0	0	0	0	9	0	5	9
Pcc 5	0	9	0	8	0	9	9	0	8	9
Pcc 1	0	9	0	8	0	8	9	0	8.5	9

\* I e II representam as repetições dos genótipos de tomate e pimentão.

A área lesionada causada pelos isolados foi muito menor em genótipos de pimentão do que em tomate. O genótipo CNPH 148 (pimentão) se destacou como exemplo de imunidade aos isolados de *P. capsici* de diferentes hospedeiros de origem. Os genótipos comerciais de tomate “Santa Clara” classificados previamente como resistentes, apresentaram notas de severidade variando de 7 a 9 que correspondem a sintomas apresentando grandes lesões, com caules colapsados, planta murcha à morta (Tabela 1.16).

### 1.3.5. Caracterização molecular utilizando seqüenciamento da região ITS 1, 5.8S e ITS 2 do rDNA.

O produto da amplificação obtido através de PCR com os primers ITS4 e ITS 6 resultaram num fragmento de  $\pm 900$  bp para todos os isolados de *Phytophthora* analisados (Figura 1.10). Alguns isolados apresentavam ainda pequenas variações no tamanho do fragmento amplificado. Isolados pertencentes a gêneros diferentes de *Phytophthora* apresentaram bandas inespecíficas provavelmente devido ao não ajuste dos ciclos da reação de PCR (Figura 1.10).

Quarenta e sete isolados de *Phytophthora* de diversas procedências geográficas e hospedeiras foram avaliados. O resultado do alinhamento das seqüências pelo método Clustal mostrou que algumas seqüências são idênticas (tabela 1.17). Estas seqüências foram agrupadas e apenas um representante do grupo foi submetido à análise filogenética.

**Tabela 1.17.** Agrupamento de seqüências idênticas via alinhamento pelo método Clustal.

Isolado	Seqüência	Hospedeiro	Espécie	Origem
Pepi 8	AJ299734	<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>P. tropicalis</i>	Hawaii
Pcbe 8	AJ854284	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>P. capsici</i>	Itália
Pcp 82	AJ854285	<i>Capsicum annuum</i>	<i>P. capsici</i>	Itália
Pcp 38, Pcp 62, Pcc 12, Pct 19, Pct 2, Pct 7	AJ854287	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>P. capsici</i>	Itália
Pej 1, Pco 17, Phy 1,	AJ854296	<i>Citrus clementinae</i>	<i>P. nicotianae</i>	Itália
Pyt 29	AY598667	N/D	<i>Pythium cucurbitacearum</i>	Canadá
Pcbe 3, Pcbe 9, Pca 21, Pca 24, Pca 3, Pca 33, Pcp 106, → Pcp 16, Pcp 20, Pcp 29, Pcp 39, Pcp 42, Pcp 60, Pcp 72, Pcp 83, Pcp 88, Pcp 98, Pcc 1, Pct 10, Pct 28, Pct 29, Pct 3, Pct 17, Pct 32, Pct 30, Pct 31	AY726623	<i>Capsicum annuum</i>	<i>P. capsici</i>	México
Pcp 3	AY833528	N/D	<i>P. nicotianae</i>	Inglaterra
Pcbe 23	AY833527	N/D	<i>P. nicotianae</i>	N/D
Pcc 14	DQ464055	<i>Theobroma cacao</i>	<i>P. capsici</i>	Brasil
Pca 11, Pca 12	DQ464056	<i>Capsicum annuum</i>	<i>P. capsici</i>	EUA
Pcp 41	DQ464037	<i>Theobroma cacao</i>	<i>P. capsici</i>	EUA
Pcp 47, Pcp 86	DQ069293	<i>Cucurbita sp.</i>	<i>P. capsici</i>	Inglaterra
Total de Isolados	47			

Os isolados de pimentão Pcp 29-(A1, DF), Pcp 60-(A1, SP), Pcp 62-(A1, DF), P83-(A1, DF), P88 (A1, SP), P98-(N/D, MG), P104-(N/D, SC), tomate T2-(A2, MG), Pct3-(A1, GO), Pct 30-(N/D, GO), abóbora Ca3-(N/D, DF), Ca21-(a1, MG), Pca 21a (A1, MG), Ca35a (N/D, DF), e berinjela Pcbe 3 (A1, PE) tiveram a seqüência idêntica a um isolado identificado como *P. capsici*, oriundo de pimentão, localizado no México (GeneBank AY726623, Tabela 1.17). Estes isolados de seqüências idênticas não apresentaram nenhum padrão com relação

ao grupo de compatibilidade nem quanto à distribuição geográfica nos Estados brasileiros, ficando distribuídos nas regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-oeste (Tabela 1.17).

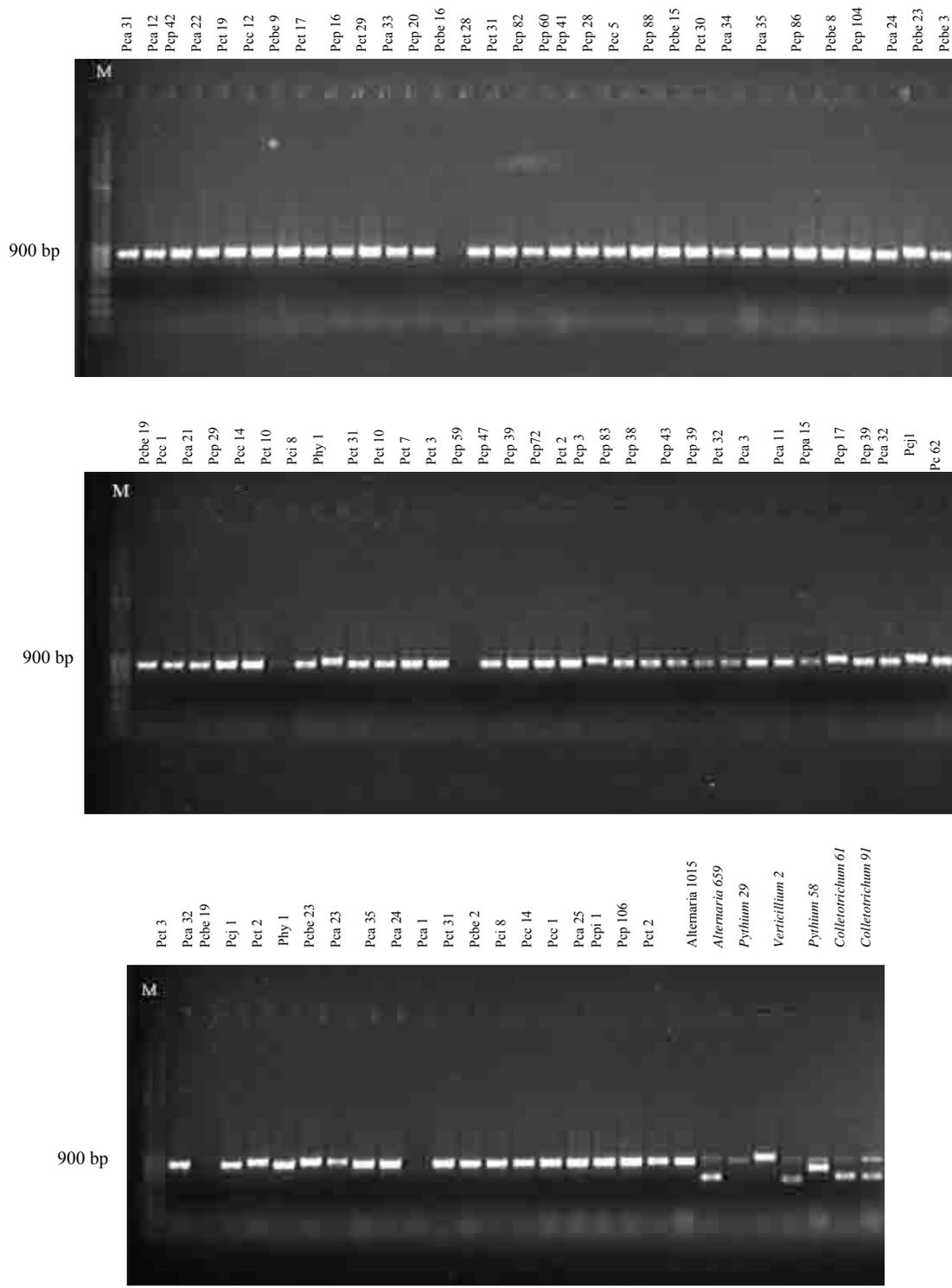
No grupo Capsici observou-se diferenças de 1 a 4 nucleotídeos. Este grupo contém isolado que são originários de várias partes do Brasil, indicando que a variabilidade encontrada é reduzida dentro deste grupo. O isolado do GeneBank de *P. infestans* apresentou diferença de 8 nucleotídeos do final da região 5,8S e ITS 2 com o grupo Capsici. O grupo Tropicalis diferenciou-se do grupo Capsici em até 1 nucleotídeo (Figura 1.11). O número de polimorfismos encontrados nos genes ribossomais é bastante reduzido devido ao fato deste ser uma molécula com funções essenciais na célula (Weider *et al.*, 2005).

**Tabela 1.18.** Agrupamentos e sub-agrupamentos de seqüências do final da região 5,8S e região ITS 2 de isolados de *Phytophthora* analisados e dos isolados do Gene Bank.

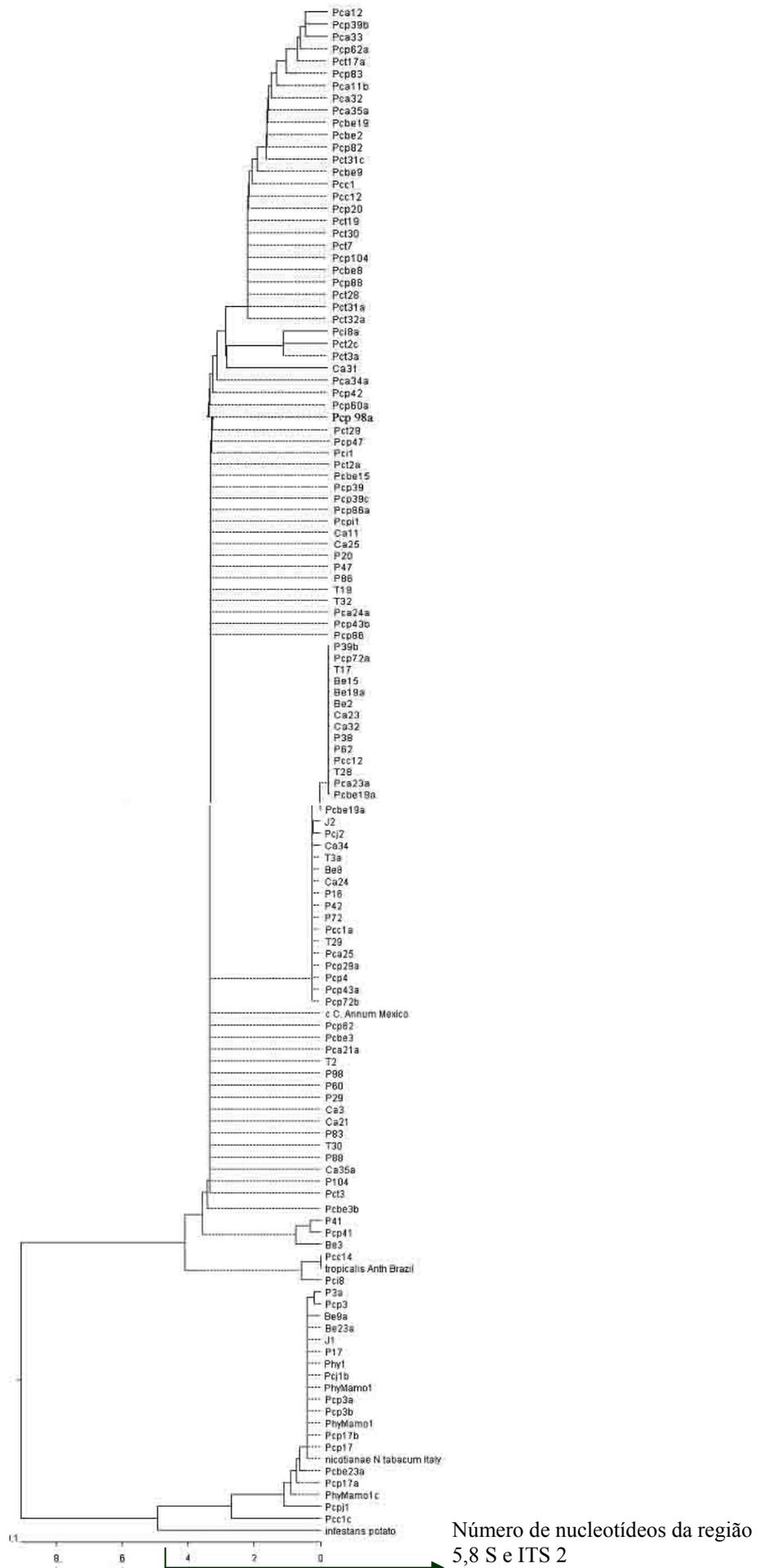
<b>Isolados</b>	<b>Grupo</b>	<b>Nº. Isolados por Sugrupos</b>
C-1) Pca 12, Pcp 39b, Pca 33.	Capsici	3
C-2) Pcp 62a.	Capsici	1
C-3) Pct 17a.	Capsici	1
C-4) Pcp 83.	Capsici	1
C-5) Pca 11b.	Capsici	1
C-6) Pca 32.	Capsici	1
C-7) Pca 35a.	Capsici	1
C-8) Pcbe 19.	Capsici	1
C-9) Pcbe 2.	Capsici	1
C-10) Pcp 82.	Capsici	1
C-11) Pct 31c.	Capsici	1
C-12) Pcbe 9.	Capsici	1
C-13) Pcc1, Pcc 12, Pcp 20, Pct 19, Pct 30, Pct 7, Pcp 104, Pcbe 8, Pcp 88, Pct 28, Pct 31a, Pct 32a.	Capsici	12
C-14) Pci8a.	Capsici	1
C-15) Pct 2c.	Capsici	1
C-16) Pct 3a.	Capsici	1
C-17) Pca 31.	Capsici	1
C-18) Pca 34a.	Capsici	1
C-19) Pcp 42.	Capsici	1
C-20) Pcp60a, Pcp 98a, Pct 29, Pcp 47, Pci 1, Pct 2a, Pcbe 15, Pcp 39, Pcp 39c, Pcp 86a, Pcp 1, Ca 11, Ca 25, P20, P47, P86, T19, T32, Pca 24a, Pcp 43b, Pcp 86,	Capsici	21
C-21) P39b, Pcp 72a, T17, Be15, Be 19a, Be 2, Ca23, Ca32, P38, P62, Pcc12, T 28, Pca23a, Pcbe 19a	Capsici	15
C-22) J2, Pcj2, Ca34, T3a, Be8, Ca24, P16, P42, P72, Pcc 1a, T29, Pca 25, Pcp 29a, Pcp 4, Pcp 43 a, Pcp 72b.	Capsici	16
C-23) C annum Mexico, Pcp 62, Pcp 62, Pcbe 3, Pca 21a, T2, P98, P60, P29, Ca3, Ca21, P83, T30, P88, Ca35a, P104, Pct3.	Capsici	17
C-24) Pcbe3b.	Capsici	1
C-25) P41, Pcp41.	Capsici	2
C-26) Be3.	Capsici	1
T-1) Pcc14, tropicalis Anth Brazil.	Tropicalis	2
T-2) Pci 8.	Tropicalis	1
N-1) P3a, Pcp 3.	Nicotianae	2
N-2) Be9a, Be23a, J1, P17, Phy1, Pcj1b, PhyMamo1, Pcp 3a, Pcp3b, Phymamo1, Pcp17b, Pcp 17, nicotianae N tabacum Itália.	Nicotianae	13
N-3) Pcbe 23a.	Nicotianae	1
N-4) Pcp 17a.	Nicotianae	1
N-5) PhyMamo 1c	Nicotianae	5
N-6) Pcpj1	Nicotianae	6
1) Pcc1c (separou-se de todos os isolados)	Capsici	1
1) infestans potato	Infestans	1

Com base na seqüência do final do gene 5,8S e ITS 2 do rDNA observou-se que alguns isolados tiveram as seqüências idênticas nessa região (seqüência mais variável), merecendo destaque o subgrupo 20 que apresentou o maior número de isolados com seqüências idênticas (21 isolados) representados por isolados oriundos de pimentão, pimenta, tomate, abóbora e berinjela (Tabela 1.18).

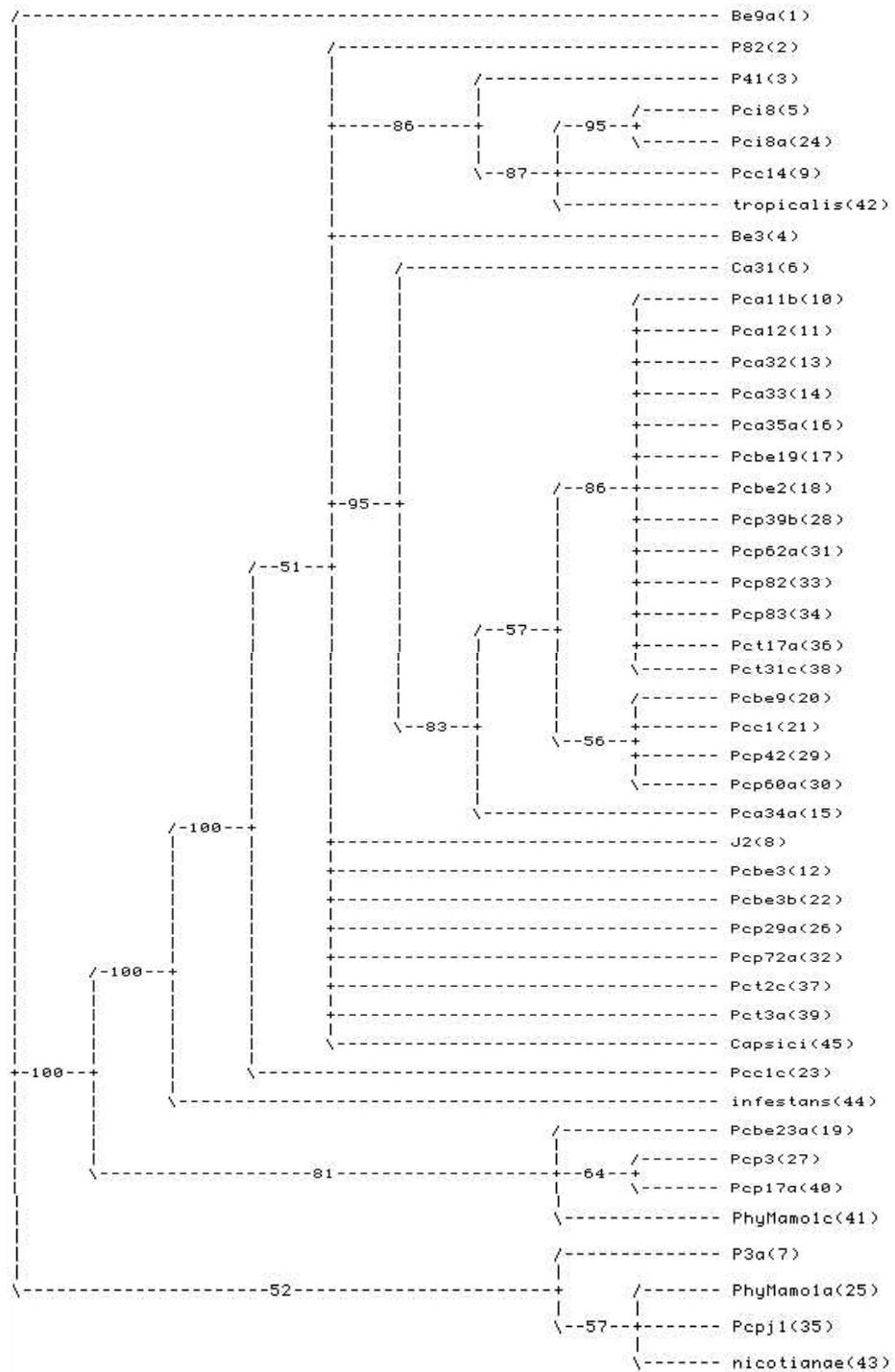
No grupo Capsici que representa a maioria dos isolados que são originários de várias partes do Brasil, suas seqüências dos subgrupos se diferenciaram de 1 a 4 nucleotídeos indicando que *P. capsici* nos diferentes Estados e macroregiões apresenta diferenças da região ITS 2 em até quatro nucleotídeos. O isolado do GeneBank de *P. infestans* apresentou diferença de 8 nucleotídeos do final da região 5,8S e ITS 2 com o grupo Capsici. O grupo Tropicalis diferenciou-se do grupo Capsici em até 1 nucleotídeo (Figura 1.11).



**Figura 1.10.** Gel de agarose do produto de PCR de alguns isolados de *Phytophthora* e alguns outros gêneros fúngicos analisados, utilizando os primers universais ITS 4 e ITS 6 do rDNA.



**Figura 1.11.** Agrupamento de isolados de *Phytophthora* de hortaliças baseado no alinhamento da porção final do gene 5,8S e a região ITS 2 pelo método Clustal.



**Figura 1.12.** Consenso de 1000 árvores obtidas por parsimônia e baseada na sequência das regiões ITS 1 e 2 e o gene 5,8 S (A porcentagem após 1000 repetições pelo método Bootstrap é dada em cada clade).

**Tabela 1.19.** Resumo dos caracteres morfológicos, biológicos e moleculares dos isolados de *Phytophthora* analisados\*.

Ord.	Código	GC	C	L	Rel C:L	C ped Méd	Taxa Cresc mm.dia <sup>-1</sup>	EC <sub>50</sub>	Reação Metalaxil	PF	Espécie Gene Bank	POS	H.O.
<b>Pcp - Isolados de Pimentão (<i>Capsicum annuum</i>)</b>													
1	Pcp 01	A1											
2	Pcp 03	A1	43.4±6.3	20.0±2.4	2.2±0.4	35,3	11.3	30.618	Intermediária	MA	<i>nicotiana e</i>	Inglaterra	N/D
3	Pcp 04	A1											
4	Pcp 05	A1											
5	Pcp 06	A2					11.7	40.785	Intermediária				
6	Pcp 07	NP	55.0±8.2	34.1±4.6	1.6±.14	50,1				FA			
7	Pcp 08	A1	33.8±4.8	19.6±1.7	1.7±0.3		12.0	0.5811	Sensível	FA			
8	Pcp 10	N/D	45.1±6.5	24.9±3.3	1.8±0.4			0.3586	Sensível				
9	Pcp 15	A1											
10	Pcp 16	A1	48.1±6.3	29.8±3.4	1.6±0.2		12.2	11.686	Sensível	FA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
11	Pcp 17	A1					12.7	0.0353	Intermediária	FA			
12	Pcp 18	A1											
13	Pcp 20	A1	44.0±5.5	30.6±4.6	1.5±0.2	54,0	11.4	29.12	Intermediária	MA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
14	Pcp 24	A1											
15	Pcp 25	A2	42.6±9.4	22.1±3.6	2.0±0.5								
16	Pcp 26	A1											
17	Pcp 29	A1	42.4±5.8	19.5±2.5	2.2±0.4	44,3	10.6	19.843	Intermediária		<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
18	Pcp 30	A1	79.9±9.6	42.4±5.6	1.9±0.4	57,1	11.3	21.592	Sensível				
19	Pcp 31	A1	65.5±8.0	34.2±3.8	1.9±0.3		10.8	18.789	Intermediária	MA			
20	Pcp 32	A1											
21	Pcp 33	A1	92.2±11.0	50.9±5.8	1.8±0.3		10.5	27.106	Intermediária				
22	Pcp 34	NP	43.1±6.2	21.9±3.3	2.0±0.4	41,7	9.5	21.518	Intermediária	AA			
23	Pcp 35	A1	58.6±6.7	33.6±3.7	1.8±0.2	57,4	11.0	58.755	Intermediária	AA			
24	Pcp 38	A1	36.0±4.3	21.0±2.9	1.7±0.3	41,6	11.6	1.263	Sensível	MA	<i>capsici</i>	Itália	<i>C. pepo</i>
25	Pcp 39	A2								FA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
26	Pcp 40	A2											
27	Pcp 41	NP	28.0±5.8	13.3±2.4	2.2±0.5	32,0	11.8	0.0573	Sensível	FA	<i>capsici</i>	EUA	<i>T. cacao</i>
28	Pcp 42	A1	60.3±8.9	28.3±3.1	2.2±0.4	63,3	12.3	31.836	Intermediária	MA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
29	Pcp 43	N/D	50.1±7.4	33.1±5.6	1.5±0.1	39,9				AA			
30	Pcp 46	N/D	59.0±6.7	33.5±4.2	1.8±0.2	56,0				FA			
31	Pcp 47	A2	28.9±4.1	14.2±2.1	2.1±0.4		12.8	3.57	Intermediária		<i>capsici</i>	Inglaterra	<i>Cucurbita sp.</i>
32	Pcp 48	N/D											
33	Pcp 52	N/D											
34	Pcp 53						9.3	2.6	Intermediária				
35	Pcp 55	A2											
36	Pcp 56	A1								FA			
37	Pcp 59	A2	57.2±11.7	25.9±4.6	2.2±0.5		13.0	0.539	Sensível				
38	Pcp 60	A1	46.2±7.5	31.9±3.9	1.5±0.2		7,0	13.183	Sensível	AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
39	Pcp 61	A1	35.8±5.1	21.3±2.1	1.7±0.3								
40	Pcp 62	A1	33.1±4.6	22.0±3.1	1.5±0.3		9.8	0.7481	Sensível	MA-FA	<i>capsici</i>	Itália	<i>C. pepo</i>
41	Pcp 63	A1	64.7±13.0	25.4±3.0	2.6±0.6		8.8	0.7537	Sensível	AA			
42	Pcp 64	A1	28.9±5.2	20.7±2.3	1.4±0.3	69,3	8,5	0.001	Sensível	MA			
43	Pcp 65	A1	34.7±3.8	20.9±3.1	1.7±0.3					AA			
44	Pcp 66	A1	34.7±5.8	23.3±3.1	1.6±0.3		8.9	0.0474	Intermediária	AA			
45	Pcp 67	A1	37.7±8.3	23.2±3.6	1.7±0.5	35,4	8,7	0.9667	Sensível	AA			
46	Pcp 68	A1				47,1	11.3	2.295	Sensível	AA			
47	Pcp 69	A1	46.1±6.7	23.7±2.6	2.0±0.3	51,0	10.7	16.706	Intermediária				
48	Pcp 70	A1	50.0±6.2	29.9±4.2	1.7±0.3		8.8	0.0001	Intermediária	AA			
49	Pcp 71	A1											
50	Pcp 71	A1											

51	Pcp 72	A1						9.8	0.3857	Intermediária	AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
52	Pcp 73	A1						10.8			FA			
53	Pcp 74	A1												
54	Pcp 75	A1	36.7±9.3	22.8±2.5	1.6±0.4	35,3		9.1	33.684	Sensível	MA			
55	Pcp 76	A2	63.0±8.8	36.8±4.6	1.7±0.3			11.8	0.4395	Intermediária				
56	Pcp 77	A1												
57	Pcp 78	A1												
58	Pcp 79	N/D												
59	Pcp 80	N/D												
60	Pcp 81	N/D												
61	Pcp 82	NP	52.2±6.9	28.9±2.7	1.8±0.2	54,8		12.3	20.329	Sensível	AA	<i>capsici</i>	Itália	<i>C. annuum</i>
62	Pcp 83	A1	56.9±8.0	32.4±4.0	1.8±0.3			12.4	10.521	Sensível	AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
63	Pcp 86	A2	50.0±3.4	20.9±2.6	2.4±0.1	79,3		13.1	0.2335	Sensível	MA	<i>capsici</i>	Inglaterra	<i>Cucurbita</i> sp.
64	Pcp 87	A2	54.1±6.1	30.2±3.6	1.8±0.2	75,6		13.3	0.1472	Sensível	AA			
65	Pcp 88	A1	53.0±6.3	33,5±3.4	1.6±0.2	56,0					AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
66	Pcp 89	A2												
67	Pcp 94	NP												
68	Pcp 95	NP												
69	Pcp 96	NP												
70	Pcp 97	A1	52.6±6.4	38.2±3.2	1.4±0.1			12.4	18.239	Intermediária	FA			
71	Pcp 98	NP	58.7±5.5	34.3±3.8	1.7±0.2			14.9	0.3754	Sensível	AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
72	Pcp 99	A1	67.9±9.2	31.5±3.9	2.2±0.3			12.1	0.912	Sensível	AA			
73	Pcp 100	NP						12.8	39.486	Intermediária	MA			
74	Pcp 101	NP	59.0±7.9	38.4±4.9	1.5±0.2	60,8		19.8	1.005	Sensível	AA			
75	Pcp 102	NP							0.9546	Sensível	AA			
76	Pcp 103	NP						11.1	0.1666	Sensível	AA			
77	Pcp 104	N/D												
78	Pcp 105	N/D												
79	Pcp 105	N/D												
80	Pcp 106	N/D										<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
81	Pcp 107	N/D												
82	Pcp 108	N/D												

**Pct - Isolados de Tomate (*Lycopersicon esculentum*)**

83	PCt-01	N/D	56.3±6.5	40.3±4.9	1.5±0.3			11.3	31.429	Sensível				
84	PCt-02	A2						10.8	27.447	Sensível		<i>capsici</i>	Itália	<i>C. pepo</i>
85	PCt-03	A1						10.3	17.676	Intermediária	AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
86	PCt-04	A1												
87	PCt-05	N/D												
88	PCt-06	N/D												
89	PCt-07	N/D	62.2±6.7	46.3±3.2	1.6±0.2			9.5				<i>capsici</i>	Itália	<i>C. pepo</i>
90	PCt-08	A2												
91	PCt-09	A1												
92	PCt-10	A1	51.2±6.3	27.5±3.6	1.9±0.2	67,5		11.0	0.2143	Sensível		<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
93	PCt-11	A1						11.1	0.2743	Intermediária				
94	PCt-12	A1						10.9	0.3617	Sensível				
95	PCt-13	A1						11.9	0.343	Sensível	AA			
96	PCt-14	A1												
97	PCt-15	A1						10.0	0.2254	Sensível	AA			
98	PCt-16	A1												
99	PCt-17	A1	53.7±6.3	28.6±3.6	1.9±0.2	44,4		10.3	11.928	Sensível	FA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
100	PCt-19	A1	47.5±5.5	35.5±4.0	1.3±0.2	55,2		12.6	1.71	Intermediária		<i>capsici</i>	Itália	<i>C. pepo</i>
101	Pct 20	A1						12.4	0.6023	Sensível	MA			
102	Pct 21	A1						12.3	0.3856	Sensível				
103	Pct 22	A1						11.6	0.385	Sensível	AA			
104	Pct 23	A1	65.9±11.0	31.8±4.9	2.1±0.3	62,0		12.3	0.663	Sensível	FA			
105	Pct 24	A1						8.4	0.6568	Sensível	MA			
106	Pct25	A1									AA			

107	Pct26	NP						11.318	Sensível				
108	Pct27	NP					11.9						
109	Pct 28	NP	50.9±6.4	33.8±5.3	1.5±0.2	67,3					<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
110	Pct 29	NP									<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
111	Pct 30	NP											
112	Pct 32	NP											

**Pca - Isolados de Abóboras (*Cucurbita maxima*, *C. moschata*)**

113	Pca-1	N/D	47.2±5.0	27.4±4.0	1.7±0.2	52,4	10.2	1.582	Sensível	AA			
114	Pca-2	N/D											
115	Pca-3	N/D	44.7±5.0	27.5±3.4	1.6±0.2	53,8		40.646	Intermediária	MA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
116	Pca 4	A1	43.4±3.3	28.3±2.5	1.5±0.1	54,0	8.9	0.8142	Sensível	AA			
117	Pca-05	N/D											
118	Pca-06	N/D											
119	Pca-07	A1											
120	Pca-08	A1											
121	Pca-09	A1											
122	Pca-09	A1											
123	Pca-10	A1											
124	Pca-11	A1								AA	<i>capsici</i>	EUA	<i>C. annuum</i>
125	Pca-12	A1								AA	<i>capsici</i>	EUA	<i>C. annuum</i>
126	Pca-13	A2											
127	Pca-14	A2	55.7±5.5	28.9±3.9	1.9±0.2	60,2	10.5	4.891	Intermediária				
128	Pca-15	A1	49.8±5.3	29.4±2.7	1.7±0.2	55,6				AA			
129	Pca-16	A1											
130	Pca-17	A1											
131	Pca-18	N/D											
132	Pca-19	A1											
133	Pca-20	A1											
134	Pca-21	A1	47.6±9.3	34.2±4.9	1.4±0.2	50,2	11.1	11.76	Intermediária	MA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
135	Pca 22	A2					9.8	0.0124	Sensível	AA			
136	Pca 23	N/D					10.6	0.0562	Sensível	MA			
137	Pca 24	NP	56.0±9.3	34.9±2.6	1.6±0.3		12.5	12.958	Sensível	MA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
138	Pca 25	NP					11.8	0.5555	Sensível	AA			
139	Pca 26	N/D											
140	Pca 27	N/D											
141	Pca 28	NP											
142	Pca 29	NP											
143	Pca 30	NP									<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
144	Pca31	NP	50.8±4.1	31.5±4.1	1.6±0.2	70,6				MA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
145	Pca32	NP	47.7±5.9	30.1±3.0	1.6±0.2	74,5					<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
146	Pca33	NP	50.1±6.6	31.1±4.4	1.6±0.2	60,1				AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
147	Pca34	NP	50.5±5.2	31.4±3.6	1.6±0.1	61,0				AA			
148	Pca35	N/D	47.6±4.6	30.0±3.0	1.6±0.2					AA			
149	Pca36	N/D											
150	Pca37	N/D											
151	Pca38	N/D											
152	Pca39	N/D								AA			

**Pcbe - Isolados de Berinjela (*Solanum melongena*)**

153	Pcbe-2	A1											
154	Pcbe-3	A1									<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
155	Pcbe-4	A1											
156	Pcbe-5	A1											
157	Pcbe-6	A1											
158	Pcbe-7	A1											
159	Pcbe-8	A2								AA	<i>capsici</i>	Itália	<i>L. esculentum</i>
160	Pcbe-9	A1								AA	<i>capsici</i>	México	<i>C. annuum</i>
161	Pcbe-10	N/D											



## 1.4. DISCUSSÃO

### 1.4.1. Caracterização morfológica e fisiológica

**Dimensões do esporângio e oósporo:** As dimensões do esporângio dos isolados oriundos de pimentão foram de 124,0-17,40(50,0) x 62,0-9,0(28,5)  $\mu\text{m}$ , de tomate 150,2-38,1(65,9) x 76,2-8,3(38,1)  $\mu\text{m}$  e de abóbora foram 149,2-27,3(53,8) x 52,5-6,8(31,9)  $\mu\text{m}$ . Nenhum padrão de dimensão esporangial demonstrou especificidade morfométrica quanto aos hospedeiros de origem (Tabela 1.2), sendo observado que as dimensões se enquadram com padrões verificados da *P. capsici* (Tabela 1). Vários fatores podem afetar a morfologia esporangial desde o conteúdo do meio de cultura, aeração, luminosidade, além de características genéticas (Erwin & Ribeiro, 1996). Zhang *et al.* (2004) ressaltaram que as características morfológicas de isolados de *Phytophthora* são altamente influenciadas pelo ambiente, desta forma a variabilidade morfológica dentro da mesma espécie é um fato previsível e também já observado. Ristaino (1990) também não observou qualquer relação entre comprimento do esporângio e diâmetro do oogônio com a planta hospedeira de origem.

O padrão para *P. capsici* quanto a relação C:L é de valores superiores a 1,7 segundo Uchida & Aragaki (1985) como apresentado para a maioria das médias dos isolados aqui estudados (Figura 1.1 e Anexo 1.1)

A análise do formato dos esporângios dos isolados representados nesta coleção revelou uma variabilidade morfológica semelhante à observada por Mchau e Coffey (1995).

A grande amplitude de variação do comprimento de pedicelo entre os isolados é fato conhecido e taxonomicamente aceitável para *P. capsici*, também foi observado por Ristaino (1990). Newhook *et al.* (1978) com base nas características de pedicelo distribuíram as espécies de *Phytophthora* nos seguintes grupos: 1. de pedicelo curto (menos que 5  $\mu\text{m}$ ) e largo forma morfológica 1 (*P. palmivora* MF1, *P. infestans* e *P. cactorum*); de pedicelo intermediário (5 a 20  $\mu\text{m}$ ) fino e com conteúdo protoplasmático (*P. botriosa*, *P. colocasiae*, *P. megakarya* (= *P. palmivora* MF3); e de pedicelo longo acima de 20  $\mu\text{m}$  (*P. hibernalis*, *P.*

*palmivora* MF4 e *P. capsici*). Assim, segundo esta característica os isolados aqui analisados estão enquadrados (maioria) no grupo dos isolados com pedicelo longo, típicos de *P. capsici*. Alguns isolados mostraram pedicelos menores (12-28 µm), como é o caso de alguns oriundos de pimentão : isolados Pcp 7, Pcp 38, Pcp 41 e Pcs 1 oriundo de seringueira.

Apenas um isolado de pimentão (Pcp 3, Figura 2F) produziu clamidósporos em meio de cultura, repetindo observação feita por Leonian (1922). Ristaino (1990) ressaltou que isolados de pimentão e abóbora não produzem clamidósporos em meio de cultura, contudo Alizadeh & Tsao (1985) citaram que é abundante em isolados de *P. capsici* oriundos de pimenta-do-reino, cacau e macadâmia. Uchida e Aragaki (1985) relataram a ocorrência de clamidósporos em isolados de *P. capsici* oriundos de não solanáceas (exceção isolados de berinjela), e advertiram que a produção estaria condicionada pelo método de cultivo e condições especiais do meio. Este isolado (Pcp 3) em análise molecular da região ITS 2 foi identificado como sendo *P. nicotianae* – outra espécie de *Phytophthora* causando podridão do colo em pimentão. Deste modo, os resultados obtidos apóiam a descrição original de Leonian (1922) quanto ao fato de ausência de clamidósporo produzido por isolados de *P. capsici*. A ausência de clamidósporos é uma característica importante de isolados de *P. capsici* de hortaliças pimentão, tomate e abóboras, e em outras hospedeiras principalmente as perenes é variável, sendo produzidos apenas por alguns isolados (Aragaki & Uchida, 2001). A presença de clamidósporos de isolados oriundos de campos de pimentão, pode sugerir que se trata de um isolado de *P. nicotinae*, espécie de *Phytophthora* também causadora da murcha-de-fitóftora para a cultura em outros países.

Alguns isolados possuem padrões de crescimento micelial diferente daquele normalmente mostrado por *P. capsici*. Um dos casos foi o do isolado Pcp 3 que apresentou tipo de colônia cotonosa e micélio aéreo. Os isolados que apresentaram colônia aérea (que não é um padrão típico para *P. capsici*) foram os isolados de pimentão Pcp 3, Pcp 29, Pcp 47, Pcp 59, os isolados de tomate Pct 19, Pct 33, de berinjela Pcbe 23, de jiló Pcj3, Pcj 1, de

cacau Pcc5 e Pcc 13, resultando numa indicação preliminar de que possivelmente possa se tratar espécies diferentes à *P. capsici* (Tabela 1.5), como foi confirmado para o isolado de Pcp3 que foi identificado molecularmente como sendo *P. nicotianae*. A espécie *P. capsici* possui micélio rasteiro e tipo de colônia rosiforme, já *P. nicotianae* possui micélio aéreo e tipo de colônia não rosiforme como observado por English *et al.* (1999). Até o momento a ocorrência de *P. nicotianae* em cultivos de pimentão estava geograficamente localizada na Tunísia (Allagui & Lepoivre, 2000) e Espanha (Andrés *et al.*, 2003), sendo esta uma primeira constatação de *P. nicotianae* em pimentão no Brasil.

Waterhouse *et al.* (1983) citaram que as espécies *P. syringae*, *P. porri*, *P. primulae*, *P. infestans* e *P. phaseoli* apresentam taxas de crescimento em meio de cultura muito lentas, ao contrário do que ocorre com *P. capsici*. Todos os isolados analisados tiveram amplitudes de 7 a 19,8 mm.dia<sup>-1</sup>, sendo no caso dos isolados de pimentão 8,4 a 12,6 mm.dia<sup>-1</sup>, para isolados de tomate 8,4 a 12,6 mm.dia<sup>-1</sup>, isolados de abóbora de 8,9 a 11,8 mm.dia<sup>-1</sup>, jiló 10,3 a 10,4 mm.dia<sup>-1</sup> e cacau 8,9 a 10,6 mm.dia<sup>-1</sup> compatíveis as taxas de crescimento de *P. capsici*, descritas por Mickovska (1981) que foram de 11-12 mm.dia<sup>-1</sup> (Tabela 1.6).

A variação da AACCM e as taxas de crescimento são as esperadas e não foi detectada tendência que explicasse especialização, contudo apenas observou-se variabilidade dos isolados utilizando estes marcadores fenotípicos.

A coleção de isolados foi caracterizada fisiológica e morfológicamente, ajustando-se as medidas obtidas com as medidas descritivas da espécie *P. capsici*.

Deste modo a maioria dos isolados de *Phytophthora* analisados foram identificados com base em critérios morfológicos descritos para *P. capsici*, restando para alguns isolados de comportamento morfológico diferenciados o uso de ferramentas moleculares.

#### **1.4.2. Identificação de grupos de compatibilidade**

Nesta coleção foram encontrados 93 isolados pertencentes ao GC A1 e 9 isolados pertencentes ao GC A2. Estes resultados confirmam a prevalência de A1 observada por Rêgo & Reifschneider (1982), que analisaram 23 isolados, em sua maioria da região Centro Oeste (Brasil). Marque *et al.* (1999) detectaram dois isolados de cada GC de *P. capsici*.

A produção de oogônios pode variar quanto ao tipo de parental (isolado padrão) utilizado (English *et al.*, 1999), sendo importante frisar que alguns isolados da coleção (exemplo: Pcp 7, Pcp 41, Pcp 82, Pcp 94, Pct 28, Pci 8, Pcbe 23, Pcc 14, Pcj 1, Pcs 1 ) foram estéreis sexualmente, pois não realizaram cruzamentos, nem tão pouco produziam oogônios. Vinte e um por cento dos isolados não produziram oogônios quando pareados com padrões pertencentes a ambos os grupos de compatibilidade. Neste trabalho o heterotalismo foi um fenômeno observado em 54,9 % dos isolados de *Phytophthora*, pois estes formaram oogônios em cruzamentos *in vitro*.

Segundo Rêgo & Reifschneider (1982) a distribuição de grupos de compatibilidade estaria mais relacionada com a região geográfica de origem dos isolados, do que com as hospedeiras, o que foi confirmado neste estudo. Isolados obtidos de pimentão, e procedentes de várias regiões, classificaram-se em grupos de compatibilidade diferentes, sugerindo que os grupos de compatibilidade estão distribuídos de acordo por região. No Distrito Federal a quase totalidade dos isolados pertencem ao grupo A1, confirmando os levantamentos de Rêgo & Reifschneider (1982).

No entanto, Silvar *et al.* (2006) em 16 isolados de *P. capsici* analisados da Espanha não identificaram nenhum isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A2. Lamour & Hausbeck (2003) no Estado do Michigan, EUA, observaram em campos de produção de cucurbitáceas e tomateiro durante os anos de 1998, 1999, 2000 e 2001, a proporção de 1:1 quanto a frequência de grupos de compatibilidade.

Ademais, a ocorrência de ambos os grupos de compatibilidade num mesmo campo produtor, é freqüente na América do Norte (Lamour & Hausbeck, 2001; Parra & Ristaino, 2001), Europa e Ásia, fato ainda não registrado na América do Sul.

A espécie *P. capsici* é predominantemente uma espécie heterotática, no entanto em muitos cruzamentos (21,2 % dos isolados) não se observaram o cruzamento entre os isolados testados (Tabela 1.19). Em lavouras de tomate - hospedeira menos suscetível, a ocorrência e desenvolvimento de reprodução sexuada entre populações vizinhas de patógenos não é um fator preponderante.

Por fim, observou-se neste estudo que os isolados de mesmo campo pertencem a um único grupo de compatibilidade, não ocorrendo nos campos produtores a reprodução sexuada, informação importante para manejo e controle da doença.

#### **1.4.3. Identificação de grupos de resistência a metalaxil**

A resistência a metalaxil para *P. capsici* é amplamente relatada em literatura, onde a molécula é utilizada em muitos países no controle da murcha de fitóftora. É possível que a não detecção de populações resistentes neste estudo, e a baixa freqüência de populações intermediárias, seja devido ao pouco uso do produto no Brasil, principalmente para a cultura do pimentão. Quarenta e sete por cento dos isolados de pimentão e 13,6 % dos isolados oriundos de tomate, mostraram sensibilidade intermediária a metalaxil.

Outro fator que deve estar dificultando a seleção de isolados resistentes no Brasil é o fato de metalaxil ser comercializado em formulações mistas com outros princípios ativos, o que poderia estar dificultando a seleção de estirpes resistentes (Azevedo & Oliveira, 2003).

Parra & Ristaino (1998) registraram que 50 % dos isolados de *P. capsici* testados oriundos de plantas de vários campos produtores de New Jersey (EUA) e North Carolina (EUA) foram classificados como insensíveis a metalaxil e mfenoxam, resultado antagônico ao encontrado neste estudo, onde a maior quantidade dos isolados (66,3%) foi classificada

como sensível. Também McGovern *et al.* (1993) mostraram que isolados de *P. capsici* provenientes de vários hospedeiros variaram quanto ao nível de reação a metalaxil.

A elevada frequência de isolados de *P. capsici* tolerantes a metalaxil também foi constatada na Espanha (Silvar *et al.*, 2006). Lamour & Hausbeck (2003) observaram que 60 por cento dos isolados tiveram reação de insensibilidade ou resposta intermediária ao mefenoxam, concluindo que o uso de mefenoxam não é uma medida de controle químico eficaz, pois os oósporos persistem nos campos por dois anos entre plantios de cucurbitáceas e tomateiro. A insensibilidade a metalaxil e a mefenoxam de isolados de *P. capsici* e *P. parasitica* foi observada por vários autores (Davidse *et al.*, 1991; Ferrin & Rohde, 1992; Lamour e Hausbeck, 2001; Parra & Ristaino, 2001 e Café Filho & Ristaino, 2002).

Este é o primeiro estudo de caracterização e identificação da sensibilidade “*in vitro*” de isolados brasileiros de *Phytophthora* de hortaliças (*P. capsici*) a metalaxil onde os resultados parciais deste estudo foram recentemente publicados (Paz Lima *et al.*, 2004).

A maioria dos isolados brasileiros foram sensíveis a metalaxil sendo esta informação importante a ponto de julgar que as medidas de controle químico aplicadas para controle da doença no Brasil, não tem selecionado populações de *P. capsici* resistentes, como são observados em muitos países.

#### **1.4.4. Patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados.**

##### **Avaliação em frutos de pimentão**

A análise multivariada dividiu os isolados em três grupos de reação com base nos dados temporais de comprimento de lesão permitindo verificar o comportamento e a maior ou menor agressividade dos isolados nos lotes de avaliação. Em nenhum dos cinco lotes ficou caracterizada especificidade do isolado a hospedeira.

Aragaki & Uchida (2001) ressaltaram que a patogenicidade de *P. capsici* em plantas pimentão é uma característica taxonômica importante, valendo a pena ressaltar que esta

ocorreu em isolados inoculados em frutos de pimentão. Possivelmente a agressividade dos isolados é maior em frutos do que em plantas.

A sintomatologia em frutos de pimentão foi bastante peculiar, como foi o caso dos isolados oriundos de seringueira que provocaram lesões pequenas e de coloração chocolate e de progresso da lesão bastante lento perante os demais. Possivelmente devido o isolado possuir especificidade para infecção em plantas de seringueira. Desta forma, o isolado foi virulento para pimentão, contudo apresentou menor agressividade quando comparado com isolados oriundos de outros hospedeiros.

O isolado Pcp1 8, isolado de plantas de pimenta do reino, foi identificado preliminarmente como *P. tropicalis* (Paz Lima *et al.*, 2006), e este não foi virulento em plântulas de pimentão (infectando apenas plântulas de tomate), comportamento patogênico também relatado por Aragaki & Uchida (2001) para plântulas de pimentão inoculados por *P. tropicalis*. Contudo houve um comportamento diferenciado do isolado em frutos de pimentão, sendo este classificado como altamente agressivo.

No primeiro lote não houve correlação entre agressividade e o hospedeiro de origem, pois os isolados de pimentão tiveram agressividades similares aos isolados de tomate inoculados. Uma das formas de se separar *P. capsici* de outras espécies pertencentes ao complexo (*P. palmivora* MF4, *P. tropicalis*) é através da patogenicidade do isolado em plantas de pimentão (infecção na região do colo), o mesmo desdobramento não pode ser dado para patogenicidade em frutos de pimentão devido inespecificidade apresentada.

Os isolados classificados como AA foram muito freqüentes variando de 30 a 70% nos lotes avaliados (Tabelas 1.14 a 1.18). Os isolados Pcj 7, Pct 13, Pca 34, Pcp 98, Pcp 68 (amplitude AACPD = 153,3 a 414,8) destacaram-se como os mais agressivos em seus respectivos lotes.

Isolados oriundos de diferentes hospedeiros foram classificados como AA, não havendo especificidade da agressividade associado à hospedeira de origem. A especificidade

ligada ao isolado (independente do hospedeiro de origem) pode desenvolver através do cruzamento de espécies (resultando híbridos) modificando assim seu ciclo de hospedeiros e sua virulência, como foi observado por English *et al.* (1999) para *P. capsici* e *P. nicotianae*.

Com uma perspectiva futura seria importante repetir estas avaliações de agressividade com alguns dos isolados que se destacaram em seus lotes, dando ênfase os isolados de cacau, seringueira e pimentão identificados como fracamente agressivos no terceiro lote de avaliação confrontando-os com os demais. Também é importante ressaltar que em alguns isolados AA em um lote de avaliação podem ser classificados como MA em outro lote.

De acordo com Café Filho *et al.* (1995), a maioria das cucurbitáceas cultivadas parecem ser suscetíveis a *P. capsici*, particularmente ao ataque em raízes e frutos de abóbora. Em ensaios especiais, os frutos de abóbora como *C. pepo* (abobrinha) apresentam maior suscetibilidade a infecção pelo patógeno, do que frutos cultivares de abóbora como menina rajada (*C. moschata*), que possui a polpa mais firme e resistente, sendo uma linha para estudos em programas de melhoramento visando à obtenção de cultivares com polpas firmes e possivelmente resistentes a *P. capsici*.

### **Avaliação em plântulas de representantes de grupos de resistência**

No final do período de incubação, ou seja, quatro dias após a inoculação, Reifschneider *et al.* (1986) observaram o aparecimento dos primeiros sintomas de *P. capsici* em cultivares suscetíveis de pimentão. Nesta avaliação aos dois dias foram observados sintomas em genótipos resistentes de tomate e o período de incubação foi mais curto para os genótipos de tomate acessos CNPH 409 (*L. pennellii*) e CNPH 410 (*L. chilense*).

É importante destacar o isolado Pci 8, oriundo de pimenta do reino, que em sequenciamento da região ITS foi identificado como *P. tropicalis* (Paz Lima *et al.*, 2006), apresentou a menor virulência quando inoculado em plântulas de grupos de resistência de pimentão e tomate, confirmando os resultados apresentados por Aragaki e Uchida (2001) que relataram que *P. tropicalis* é fracamente agressivo ou não virulento em plantas de pimentão.

O isolado Pcp 104, oriundo de pimentão, coletado em Porto Belo, SC, que foi altamente agressivo em genótipos de tomate e pimentão desenvolvendo elevados valores de incidência e severidade.

Alaggui & Lepoivre (2000) relataram que isolados de *P. nicotianae* oriundos de lavouras de pimentão da Tunísia, espécie bastante incidente em lavouras de pimentão, foram altamente agressivos em plantas de pimentão, fracamente agressivos em tomate e berinjela, e não virulentos em plantas de fumo, levando a considerar que os isolados de *P. nicotianae* de pimentão são mais especializados a plantas de pimentão do que os isolados de *P. capsici* oriundos do Brasil. Nesta coleção, também observou-se ocorrência de *P. nicotianae* em pimentão em baixa frequência, tal como observou-se a ocorrência de *P. tropicalis* em pimenta do reino.

A suscetibilidade dos genótipos de tomate foi superior à dos genótipos de pimentão, também registradas por Reifschneider *et al.* (1986), pois tiveram o período de incubação mais curtos (dois dias), abaixo dos quatro dias para pimentão e o isolado Pct 1 merece destaque por sua elevada agressividade nos genótipos de pimentão e tomate.

A especialização de isolados de *P. capsici* plantas de pimentão e abóbora foi relatada por Ristaino (1990) e Lee *et al.* (2001).

Todos os isolados de pimentão, tomate, berinjela e cacau testados foram patogênicos ao pimentão (cultivar suscetível), confirmando a patogenicidade de isolados de *P. capsici* como foi observado por Ristaino (1990). Nesta avaliação, a baixa agressividade de *P. capsici* foi observada para isolados de berinjela em genótipos de pimentão e tomate. Já Ristaino (1990) observou esta baixa agressividade para isolados de abóbora em genótipos de pimentão. A patogenicidade de isolados de *P. capsici* de cucurbitáceas em pimentão e em cucurbitáceas já foi verificada por Crossan (1954), Kreutzer *et al.* (1940) e Tompkins & Tucker, (1937) não se verificando especificidade dos isolados. A agressividade, virulência e patogenicidade estão

ligadas às características biológicas do isolado e não do hospedeiro de origem, grupo de compatibilidade, entre outros marcadores.

A expressão da patogenicidade, agressividade e virulência dos isolados ocorreu de forma diferenciada quando realizaram-se testes de patogenicidade em frutos e plântulas, demonstrando que existem duas linhas importantes a serem consideradas em programas de melhoramento, onde por um lado tem-se busca de plantas resistentes a doença e outra, busca de frutos com resistência a doença.

#### **1.4.5 Caracterização molecular utilizando seqüenciamento da região ITS 1, 5.8S e ITS do rDNA.**

No Brasil a identificação molecular de isolados *P. capsici* resume-se aos estudos feitos pelos pesquisadores pertencentes ao CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira) com os trabalhos de Faleiro *et al.* (2003) e Luz *et al.* (2003) e o grupo da Unesp-Botucatu com o trabalho de Rosa *et al.* (2003).

Os ensaios de PCR utilizando primers derivados de seqüências do rDNA, foram úteis para identificação a nível de gênero dos isolados de pimentão, abóbora, tomate e outros, pois utilizando os primers universais ITS4 e ITS 6 (abrangendo regiões ITS 1 e 2 e gene 5,8S). Foi considerado um isolado pertencente ao gênero *Phytophthora* aquele que produziu bandas em gel de agarose do tamanho de 900 bp como observado neste trabalho (Figura 1.10), e também encontrado por Chowdappa *et al.* (2003), os mesmos primers (ITS 4 e ITS 6) foram utilizados por Camele *et al.* (2005).

Alagui & Lepoivre (2000) relataram que a região ITS 1 amplificada pela reação de PCR produziu fragmentos de dois tamanhos onde o tamanho de 270 bp era específico de *P. capsici* e 310 bp identificava *P. nicotianae*, isolado também encontrado nesta coleção.

A análise das seqüências do rDNA permitiu registrar pela primeira vez no Brasil a ocorrência de *P. nicotianae* em pimentão, causando podridão do colo, fato já registrado na

China, Índia, Itália, Japão, Coréia, Ilhas Mauritanas, Porto Rico, Estados Unidos (SBML, 2006) e Tunísia (Allagui & Lepoivre, 2000).

Estudos mais aprofundados sobre a região ITS 2 resultaram na construção de primers espécie específicos para *P. capsici* como relatado por Ristaino & Johnston (1999) referindo-se ao primer Pcap.

Neste trabalho, as sequências da região ITS 2 apresentaram maiores diferenças entre sequências de isolados de *Phytophthora* analisados, e esta variabilidade maior também foi observada por Camele *et al.* (2005).

Todos os isolados oriundos de pimentão foram classificados como *P. capsici* (maioria) e *P. nicotianae* (isolado Pcp 03). Alagui & Lepoivre (2000) relataram muitos isolados de *P. nicotianae* causando podridão do colo de pimentão na Tunísia, fato não registrado no Brasil.

Luz *et al.* (2003) relataram que nos anos 70 e início da década de 80, *P. capsici* foi responsável pela perda de inúmeras plantações de pimenta do reino na Bahia, e nesta avaliação um isolado de pimenta do reino foi identificado como *P. tropicalis*. E no mesmo período, *P. capsici* predominou como agente etiológico da podridão parda do cacau no Espírito Santo e na Bahia, contudo houve em novos levantamentos constatando a presença de três outras espécies, dificultando a diagnose. Tal como *P. capsici* de cacau, é importante o monitoramento de populações a fim de elucidar a ocorrência e frequência de aparecimento de outras espécies como *P. tropicalis* e *P. nicotianae* em hortaliças causando podridão do colo.

Oudemans & Coffey (1991) também observaram nos isolados de *P. capsici* o surgimento de três subgrupos, o primeiro chamado de CAP1 agrupa a maior parte dos isolados oriundos de solanáceas anuais e cucurbitáceas (neste estudo, grupo de isolados brasileiros foi chamado de grupo Capsici – Tabela 1.18), tal como alguns isolados de pimenta do reino e cacau, que foram originalmente identificados como *P. palmivora* MF4 (Kaosiri & ZentMyer, 1980). O grupo CAP2 agrupou isolados oriundos de hospedeiros tropicais, tal como pimenta do reino (neste estudo o grupo foi chamado Tropicalis = Tabela 1.18), cacau,

mamão, macadâmia e seringueira e isolados oriundos do Hawai identificados como *P. tropicalis*. O grupo CAP3 contém o menor nível de diversidade incluindo isolados brasileiros de cacau - neste caso os isolados analisados não tiveram semelhanças os descritos por Oudemans & Coffey (1991) sendo classificados como Grupo Nicotianae por terem maior similaridade (Porcentagem de identidade) de suas seqüências com *P. nicotianae*.

Zhang *et al.*, (2004) ao comparar seqüências da região ITS 1 e ITS 2 do rDNA de isolados de *P. capsici*, *P. tropicalis*, *P. nicotianae* e *P. palmivora* (as três primeiras espécies identificadas neste trabalho) concluíram que *P. palmivora* e *P. nicotianae* possuem comprimentos diferentes dessa região. Os isolados pertencentes aos grupos de compatibilidade A1 e A2 de *P. capsici* diferenciaram-se em apenas um nucleotídeo nesta região, e os isolados de *P. tropicalis* apresentam 10 diferentes nucleotídeos entre seus grupos de compatibilidade. Neste trabalho os isolados de *P. capsici* diferenciaram-se em 5 nucleotídeos (Figura 1.11) com relação aos isolados de *P. tropicalis*. A análise filogenética apoiou a separação de *P. tropicalis*, *P. capsici* e *P. nicotianae*, com base em homologia de seqüências nos isolados analisados. Em relação às três espécies identificadas, *P. tropicalis* é a espécie mais próxima de *P. capsici* (Figura 1.12).

Esta análise de seqüência da região ITS permitiu separar os isolados em três grupos, confirmando para a maioria que se tratavam de isolados de *P. capsici*, e que os marcadores fenotípicos podem para muitos casos serem utilizados para identificação de espécies de *Phytophthora*.

A maioria das seqüências analisadas da região ITS 2 esclareceu algumas indicações mostradas por critérios morfológicos e moleculares, confirmando que existia uma maior freqüência dos isolados como sendo *P. capsici*, além de serem identificados *P. nicotianae* e *P. tropicalis* em isolados oriundos de hortaliças. A análise filogenética suporta a separação de *P. tropicalis* e *P. capsici*, sugerindo que *P. tropicalis* está em processo de evolução representando uma transição dentro de *P. capsici*.

## 1.6. LITERATURA CITADA

- ALAO, S.E.L. & ALEGBEJO, M.D. Screening of pepper lines for resistance to *Phytophthora capsici* in Northern Nigeria. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 19:105-108. 1999.
- ALIZADEH, A. & TSAO, P.H. Effect light on sporangium formation, morphology, ontogeny and caducity of *Phytophthora capsici* and “*P. palmivora*” MF4 isolates from black pepper and other hosts. *Transactions British Mycological Society* 85:47-69. 1985.
- ALLAGUI, M.B. & LEPOIVRE, P. Molecular and pathogenicity characteristics of *Phytophthora nicotianae* responsible for root necrosis and wilting of pepper (*Capsicum annuum* L.) in Tunisia. *European Journal of Plant Pathology* 106:887-894 2000.
- ANDRÉZ, J.L., RIVERA, A. & FERNÁNDEZ, J. *Phytophthora nicotianae* pathogenic to pepper in northwest Spain. *Journal of Plant Pathology* 85(2):91-98 2003.
- ANSANI, C. & MATSUOKA, K. Sobrevivência de *Phytophthora capsici* no solo. *Fitopatologia Brasileira* 8:269-276. 1983.
- ARAGAKI, M. & UCHIDA, J. Morphological distinctions between *Phytophthora capsici* and *P. tropicalis* sp. *Nov. Mycologia* 93(1):137-145 2001.
- AZEVEDO, L.A.S. & OLIVEIRA, S.H.F. Utilização de fungicidas protetores no manejo de resistência de fungos. *Bol. Téc. N.º. 01, FRAC-BR. Emogri Gráfica e Editora, Campinas/SP, 2003. 24p.*
- BOSLAND, P.W. & LINDSEY, D.L. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper, *Capsicum annuum*. *Plant Disease*, v.75, p.1048-1050, 1991.
- CAFÉ FILHO, A.C. & DUNIWAY, J.M. Dispersal of *Phytophthora capsici* and *P. parasitica* in furrow-irrigated rows of bell pepper, tomato and squash. *Plant Pathology* 44: 1025-1032. 1995.
- CAFÉ FILHO, A.C. & J.B. RISTAINO. Insensitivity to mefenoxam in *Phytophthora capsici* isolates on pepper and squash in North Carolina. *Phytopathology* 92: S11. 2002.
- CAFÉ FILHO, A.C., DUNIWAY, J.M. & R.M. DAVIS. Effects of the frequency of furrow irrigation on root and fruit rots of squash caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Disease* 79: 39-44. 1995.
- CAMELE, I., MARCONE, C. & CRISTINZIO, G. Detection and identification of *Phytophthora* species in southern Italy by RFLP and sequence analysis of PCR-amplified nuclear ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology* 113:1-14. 2005.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN L.V. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons. New York. pp. 532.1990.
- CHOWDAPPA, P., BRAYFORD, D., SMITH, J. & FLOOD, J. Molecular discrimination of *Phytophthora* isolates on cocoa and their relationship with coconut, black pepper and bell pepper isolates based on rDNA repeat and AFLP fingerprints. *Current Science* 84(9):1235-1238 2003.
- COOKE, D.E.L. & DUNCAN, J.M. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on ITS 1 e 2 sequences of the rDNA gene repeat. *Mycological Resources* 101:667-677. 1997.
- CRAWFORD, A.R., BASSAM, B.J. DRENTH, A. MACLEAN, D.J. IRWIN, J.A.G. Evolutionary relationships among *Phytophthora* species deduced from rDNA sequence analysis. *Mycological Research* 100:437-443 1996.
- CROSSAN, D.F., HAASIS, F.A. & ELLIS, D.E. *Phytophthora* blight of summer squash. *Plant Disease Reporter*, 38:557-559 1954.
- DAVIDSE, L.C., VAN DEN BERG-VELTUIS, G.C.M., MANTEL, B.C. & JESPERS, A.B.K. Phenylamides and *Phytophthora*. 349-360 in: *Phytophthora*. Lucas, J.A. Shattock, D. Shaw, S. & Cooke, L.R. (Eds) British Mycological Society. St Paul. Mn. 1991.

- ENGLISH, J.T., LADAY, M., BAKONY, J., SCHOIELZ, J.E. & ERSEK, T. Phenotypic and molecular characterization of species hybrids derived from induced fusion of zoospores of *Phytophthora capsici* and *Phytophthora nicotianae*. *Mycological Resources* 103(8):1003-1008. 1999.
- ERWIN, D.C. & RIBEIRO, O.K. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota, 1996. 562 p.
- FALEIRO, F.G., LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O. & ROCHA, C.S.S. Uso de marcadores RAPD na classificação de isolados de *Phytophthora* spp. causadores de podridão parda do cacauzeiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 28(3):312-315. 2003.
- FERRIN, D.M. & ROHDE, R.G. *In vivo* expression of resistance to metalaxyl by a nursery isolate of *Phytophthora parasitica* from *Catharanthus roseus*. *Plant Disease* 76:89-84 1992.
- KAOSIRI, T. & ZENTMYER, G.A. Protein, esterase, and peroxidase patterns in the *Phytophthora palmivora* complex from cacao. *Mycologia* 72:988-1000. 1980.
- KREUTZER, W.A., BODINE, E.W. & DURRELL, L.D. Cucurbit diseases and rot of tomato fruit caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 30:972-976. 1940.
- KUNIMOTO, R.K., ARAGAKI, M., HUNTER, J.E. & KO, W.H. *Phytophthora capsici*, corrected name for the cause of *Phytophthora* blight of macadamia racemes. *Phytopathology* 66:546-548 1976.
- LAMOUR, K.H. & HAUSBECK, M.K. Effect of crop rotation on the survival of *Phytophthora capsici* in Michigan. *Plant Disease* 87:841-845 2003.
- LAMOUR, K.H. & HAUSBECK, M.K. Mefenoxam insensitivity and the sexual stage of *Phytophthora capsici* in Michigan cucurbit fields. *Phytopathology* 90:396-400. 2001.
- LEE, B.K., KIM, B.S., CHANG, S.W. & HWANG, B.K. Aggressiveness to pumpkin cultivars on isolates of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pepper. *Plant Disease* 85:497-500 2001.
- LEE, S.B. & TAYLOR, J.W. Phylogenetic relationships of five fungus-like *Phytophthora* species inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Molecular Biological Evolution* 9:636-653 1992.
- LEONIAN, L.H. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology* 12:401-408. 1922.
- LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O., FALEIRO, F.G., DANTAS NETO, A., MATSUOKA, 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* 28(5):559-564 2003.
- MARQUE, J.M., SOUZA, N.L. & KOBORI, R.F. Identificação de grupos de compatibilidade de *Phytophthora capsici* obtidos de pimentão (*Capsicum annuum*) e abóbora (*Curcubita moschata*). *Summa Phytopathologica* 253:269-271. 1999.
- MATSUOKA K Melhoria de pimentão e pimenta visando à resistência a doenças fúngicas. *Informe Agropecuário Belo Horizonte* 10:49-52. 1984.
- MCGOVERN, R.J., JONES, J.P., MITCHELL, D.J., PLUIM, R.A. & GILREATH, P.R. Severe outbreak of *Phytophthora* blight and fruit rot of cucurbits in Florida. *Phytopathology* 83:1388. 1993.
- MCHAU, G.R.A. & COFFEY, M.D. Evidence for the existence of two subpopulations in *Phytophthora capsici* and a redescription of the species. *Mycological Resources* 99(1):89-102. 1995.
- MICKOVSKA, V. Effect of different temperatures on the growth of colonies of *P. capsici* Leonian. *Zastita bilja* 32(4):367-374 1981.
- NEWHOOK, F.J., WATERHOUSE, G.M. & STAMPS, D.J. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. Kew, Commonwealth Mycological Institute. *Mycological Papers* 143. 1978.
- OUDEMANS, P. & COFFEY, M.D. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycological Resources*. 95:1025-1046. 1991.

- PARRA, G & RISTAINO, J. Insensitivity to Ridomil Gold (Mefenoxam) found among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight on bell pepper in North Carolina and New Jersey. *Plant Disease* 82(6):711. 1998.
- PARRA, G. & RISTAINO, J.B. Resistance to mefenoxam and metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight of bell pepper. *Plant Disease* 85(10):1069-1075. 2001.
- PAZ LIMA, M.L., FONSECA, M.E.N., BOITEUX, L.S., REIS, A., SILVA, P. LOPES, C.A. & CAFÉ FILHO, A.C. Identificação de *Phytophthora tropicalis* em pimenta do reino utilizando a região ITS E o gene 5.8S rDNA. *Summa Phytopatologica* 32(suplemento):S83. 2006.
- PAZ LIMA, M.L., REIS, A., BOITEUX, L.S., VARGAS, A.M., JESUS, S.I., LOPES, C.A. & CAFÉ FILHO, A.C. Sensibilidade de isolados brasileiros de *Phytophthora capsici* a metalaxyl. *Fitopatologia Brasileira* 29(suplemento):s103. 2004.
- POLACH, F.J. & WEBSTER, R.K. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 62:20-26. 1972.
- RÊGO, A.R. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Levantamento de grupos de compatibilidade de isolados de *Phytophthora capsici* Leonian, obtidos de abóbora (*Cucurbita máxima* Duch.X *Cucurbita moschata* Duch.), pimenta (*Capsicum annuum* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). *Fitopatologia Brasileira* 7:55-61. 1982.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; CAFÉ FILHO, A.C. & RÊGO, A.M. Factors affecting the expression of pepper resistance to *Phytophthora* blight in screening trials. *Plant Pathology* 35: 451-456. 1986.
- RIBEIRO, O.K. A sourcebook of the genus *Phytophthora*. Germany, Vaduz. J. Cramer. 417 p. 1978.
- RISTAINO, J.B. & JOHNSTON, S.A. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease* 83(12):1080-1089 1999.
- RISTAINO, J.B. Intraspecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80(11):1253-1259 1990.
- ROSA, D.D., MARQUE, J.M., FENILLE, R.C., SOUZA, N.L. & KURAMAE, E.E. Análise filogenética de *Phytophthora capsici* Leonian do Estado de São Paulo baseada na seqüência de nucleotídeos da região ITS-5.8S rDNA. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 25(2):429-434 2003.
- SATOUR, M.M. & BUTLER, E.E. Comparative morphological and Physiological studies of the progenies from intraespecific matings of *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 58(2):183-192 1968.
- SBML Systematic Botany of Mycology, disponível em: <<http://nt.ars-grin.gov>>, consultado em 27/03/2003.
- SHANER, G. & FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67(8):1051-1056. 1977.
- SHATTOCK, R.C., SHAW, D.S., FYFE, A.M., DUNN, J.R., LONEY, K.H. & SHATTOCK, J.A. Phenotypes of *Phytophthora infestans* collected in England and Wales from 1985 to 1988. Mating type, response to metalaxyl and isoenzyme analysis. *Plant Pathology* 39:242-248. 1990.
- SILVAR, C., MERINO, F. & DÍAZ, J. Diversity of *Phytophthora capsici* in northwest Spain: Analysis of virulence, metalaxyl response, and molecular characterization. *Plant Disease* 90:1135-1142 2006.
- STAMPS, D.J., WATERHOUSE, G.M., NEWHOOK, F.J. & HALL, G.S. Revised tabular key to the genus *Phytophthora*. Wallingford, CAB International. *Mycological Papers* 162. 1990.
- TOMPKINS, C.M. & TUCKER, C.M. *Phytophthora* rot of honeydew melon. *Journal Agricultural Resources*. 61:933-944. 1937.
- UCHIDA, J.Y. & ARAGAKI, M. Occurrence of chlamydospores in *Phytophthora capsici*. *Mycologia* 77(5):832-835. 1985.
- WATERHOUSE, G.M. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 80 p. *Mycological Papers* 92. 1963.

WATERHOUSE, G.M. The genus *Phytophthora* de Bary. Diagnoses (or descriptions) and figures from the original papers. 2 ed. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 59 p. Mycological Papers 122 1970.

WATERHOUSE, G.M., NEWHOOK, F.J. & STAMPS, D.J. Present criteria for classification of *Phytophthora* In: Erwin, D.C., Bartnic-Garcia, S. & Tsao P.H. (Eds.) *Phytophthora*, its biology, taxonomy, ecology and pathology. St. Paul, Minnesota, American Phytopathological Society. pp.139-147. 1983.

ZAR, J.H. Biostatistical analysis. 4<sup>th</sup> Edition. Prentice Hall Upper Saddle River, New Jersey, 1999 pp. 663.

ZHANG, Z.G., ZHANG, J.Y. , ZHENG, X.B., YANG, Y.W. & KO, W.H. Molecular distinctions between *Phytophthora capsici* and *Ph. tropicalis* based on ITS sequences of ribosomal DNA. *Phytopathology* 152:358-364 2004.

## 1.7. ANEXOS

**Anexo 1.1** Comprimento (C), largura (L) e relação C/L dos esporângios de isolados de *Phytophthora* oriundos de pimentão, tomate, abóbora, berinjela, jiló, cacau, mandioca e seringueira (médias  $\pm$  desvio padrão).

Or.	Isolados*	Hospedeiros	C $\mu$ m	L $\mu$ m	C/L
1	Pcp3	Pimentão	43.4 $\pm$ 6.3	20.0 $\pm$ 2.4	2.2 $\pm$ 0.4
2	Pcp7	Pimentão	55.0 $\pm$ 8.2	34.1 $\pm$ 4.6	1.6 $\pm$ .14
3	Pcp8	Pimentão	33.8 $\pm$ 4.8	19.6 $\pm$ 1.7	1.7 $\pm$ 0.3
4	Pcp10	Pimentão	45.1 $\pm$ 6.5	24.9 $\pm$ 3.3	1.8 $\pm$ 0.4
5	Pcp16	Pimentão	48.1 $\pm$ 6.3	29.8 $\pm$ 3.4	1.6 $\pm$ 0.2
6	Pcp20	Pimentão	44.0 $\pm$ 5.5	30.6 $\pm$ 4.6	1.5 $\pm$ 0.2
7	Pcp20	Pimentão	45.6 $\pm$ 6.0	27.4 $\pm$ 3.2	1.7 $\pm$ 0.2
8	Pcp25	Pimentão	42.6 $\pm$ 9.4	22.1 $\pm$ 3.6	2.0 $\pm$ 0.5
9	Pcp29	Pimentão	42.4 $\pm$ 5.8	19.5 $\pm$ 2.5	2.2 $\pm$ 0.4
10	Pcp30	Pimentão	79.9 $\pm$ 9.6	42.4 $\pm$ 5.6	1.9 $\pm$ 0.4
11	Pcp31	Pimentão	65.5 $\pm$ 8.0	34.2 $\pm$ 3.8	1.9 $\pm$ 0.3
12	Pcp33	Pimentão	92.2 $\pm$ 11.0	50.9 $\pm$ 5.8	1.8 $\pm$ 0.3
13	Pcp34	Pimentão	43.1 $\pm$ 6.2	21.9 $\pm$ 3.3	2.0 $\pm$ 0.4
14	Pcp35	Pimentão	58.6 $\pm$ 6.7	33.6 $\pm$ 3.7	1.8 $\pm$ 0.2
15	Pcp38	Pimentão	36.0 $\pm$ 4.3	21.0 $\pm$ 2.9	1.7 $\pm$ 0.3
16	Pcp41	Pimentão	28.0 $\pm$ 5.8	13.3 $\pm$ 2.4	2.2 $\pm$ 0.5
17	Pcp42	Pimentão	60.3 $\pm$ 8.9	28.3 $\pm$ 3.1	2.2 $\pm$ 0.4
18	Pcp43	Pimentão	50.1 $\pm$ 7.4	33.1 $\pm$ 5.6	1.5 $\pm$ 0.1
19	Pcp46	Pimentão	59.0 $\pm$ 6.7	33.5 $\pm$ 4.2	1.8 $\pm$ 0.2
20	Pcp47	Pimentão	28.9 $\pm$ 4.1	14.2 $\pm$ 2.1	2.1 $\pm$ 0.4
21	Pcp59	Pimentão	57.2 $\pm$ 11.7	25.9 $\pm$ 4.6	2.2 $\pm$ 0.5
22	Pcp60	Pimentão	46.2 $\pm$ 7.5	31.9 $\pm$ 3.9	1.5 $\pm$ 0.2
23	Pcp62	Pimentão	35.8 $\pm$ 5.1	21.3 $\pm$ 2.1	1.7 $\pm$ 0.3
24	Pcp63	Pimentão	33.1 $\pm$ 4.6	22.0 $\pm$ 3.1	1.5 $\pm$ 0.3
25	Pcp64	Pimentão	64.7 $\pm$ 13.0	25.4 $\pm$ 3.0	2.6 $\pm$ 0.6
26	Pcp65	Pimentão	28.9 $\pm$ 5.2	20.7 $\pm$ 2.3	1.4 $\pm$ 0.3
27	Pcp66	Pimentão	34.7 $\pm$ 3.8	20.9 $\pm$ 3.1	1.7 $\pm$ 0.3
28	Pcp67	Pimentão	34.7 $\pm$ 5.8	23.3 $\pm$ 3.1	1.6 $\pm$ 0.3
29	Pcp68	Pimentão	37.7 $\pm$ 8.3	23.2 $\pm$ 3.6	1.7 $\pm$ 0.5
30	Pcp68	Pimentão	70.9 $\pm$ 11.1	39.8 $\pm$ 6.9	1.8 $\pm$ 0.2
31	Pcp69	Pimentão	46.1 $\pm$ 6.7	23.7 $\pm$ 2.6	2.0 $\pm$ 0.3
32	Pcp70	Pimentão	50.0 $\pm$ 6.2	29.9 $\pm$ 4.2	1.7 $\pm$ 0.3
33	Pcp75	Pimentão	36.7 $\pm$ 9.3	22.8 $\pm$ 2.5	1.6 $\pm$ 0.4
34	Pcp76	Pimentão	63.0 $\pm$ 8.8	36.8 $\pm$ 4.6	1.7 $\pm$ 0.3
35	Pcp82	Pimentão	52.2 $\pm$ 6.9	28.9 $\pm$ 2.7	1.8 $\pm$ 0.2
36	Pcp83	Pimentão	56.9 $\pm$ 8.0	32.4 $\pm$ 4.0	1.8 $\pm$ 0.3
37	Pcp86	Pimentão	50.0 $\pm$ 3.4	20.9 $\pm$ 2.6	2.4 $\pm$ 0.1
38	Pcp87	Pimentão	54.1 $\pm$ 6.1	30.2 $\pm$ 3.6	1.8 $\pm$ 0.2
39	Pcp88	Pimentão	53.0 $\pm$ 6.3	33.5 $\pm$ 3.4	1.6 $\pm$ 0.2
40	Pcp97	Pimentão	52.6 $\pm$ 6.4	38.2 $\pm$ 3.2	1.4 $\pm$ 0.1
41	Pcp98	Pimentão	58.7 $\pm$ 5.5	34.3 $\pm$ 3.8	1.7 $\pm$ 0.2
42	Pcp99	Pimentão	67.9 $\pm$ 9.2	31.5 $\pm$ 3.9	2.2 $\pm$ 0.3
43	Pcp101	Pimentão	59.0 $\pm$ 7.9	38.4 $\pm$ 4.9	1.5 $\pm$ 0.2
44	Pct01	Tomate	56.3 $\pm$ 6.5	40.3 $\pm$ 4.9	1.5 $\pm$ 0.3
45	Pct10	Tomate	51.2 $\pm$ 6.3	27.5 $\pm$ 3.6	1.9 $\pm$ 0.2
46	Pct17	Tomate	53.7 $\pm$ 6.3	28.6 $\pm$ 3.6	1.9 $\pm$ 0.2
47	Pct19	Tomate	47.5 $\pm$ 5.5	35.5 $\pm$ 4.0	1.3 $\pm$ 0.2
48	Pct23	Tomate	65.9 $\pm$ 11.0	31.8 $\pm$ 4.9	2.1 $\pm$ 0.3
49	Pct28	Tomate	50.9 $\pm$ 6.4	33.8 $\pm$ 5.3	1.5 $\pm$ 0.2
50	Pct7	Tomate	62.2 $\pm$ 6.7	46.3 $\pm$ 3.2	1.6 $\pm$ 0.2
51	Pca1	Abóbora	47.2 $\pm$ 5.0	27.4 $\pm$ 4.0	1.7 $\pm$ 0.2
52	Pca3	Abóbora	44.7 $\pm$ 5.0	27.5 $\pm$ 3.4	1.6 $\pm$ 0.2
53	Pca4	Abóbora	43.4 $\pm$ 3.3	28.3 $\pm$ 2.5	1.5 $\pm$ 0.1
54	Pca14	Abóbora	55.7 $\pm$ 5.5	28.9 $\pm$ 3.9	1.9 $\pm$ 0.2

55	Pca15	Abóbora	49.8±5.3	29.4±2.7	1.7±0.2
56	Pca21	Abóbora	47.6±9.3	34.2±4.9	1.4±0.2
57	Pca24	Abóbora	56.0±9.3	34.9±2.6	1.6±0.3
58	Pca31	Abóbora	50.8±4.1	31.5±4.1	1.6±0.2
59	Pca32	Abóbora	47.7±5.9	30.1±3.0	1.6±0.2
60	Pca33	Abóbora	50.1±6.6	31.1±4.4	1.6±0.2
61	Pca34	Abóbora	50.5±5.2	31.4±3.6	1.6±0.1
62	Pca35	Abóbora	47.6±4.6	30.0±3.0	1.6±0.2
63	Pbel15	Berinjela	52.9±5.1	33.0±3.8	1.6±0.1
64	Pcc1	Cacau	44.1±5.5	34.3±5.6	1.3±0.3
65	Pcc12	Cacau	57.5±8.2	32.6±5.1	1.8±0.2
66	Pcc13	Cacau	34.8±4.5	19.3±2.5	1.8±0.3
67	Pcc13	Cacau	32.8±5.0	18.5±2.8	1.8±0.3
68	Pcj3	Jiló	56.5±5.6	29.2±3.7	2.0±0.3
69	Pcm14	Mandioca	59.0±7.6	30.7±4.5	1.9±0.2
70	Pcs1	Seringueira	41.7±5.7	24.7±2.9	1.7±0.2
71	Pcs1	Seringueira	50.4±7.8	23.8±3.52	2.1±0.4

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.

**Anexo 1.2.** Médias (valores originais) do comprimento ( $\mu\text{m}$ ), largura ( $\mu\text{m}$ ) e relação C:L de isolados de *Phytophthora*\*.

<b>Isolado</b>	<b>C</b>	<b>Isolado</b>	<b>L</b>	<b>Isolado</b>	<b>C:L</b>
<b>Pca 12</b>	108,4 a	<b>Pcp 33</b>	51,4 a	<b>Pca 12</b>	2,6 a
<b>Pct 31</b>	107,5 a	<b>Pca 12</b>	50,6 ab	<b>Pcp 64</b>	2,6 a
<b>Pct 33</b>	105,9 a	<b>Pct 33</b>	50,4 ab	<b>Pcp 59</b>	2,4 ab
<b>Pcp 33</b>	92,3 b	<b>Pct 31</b>	50,0 ab	<b>Pct 33</b>	2,4 bc
<b>Pcp 30</b>	79,9 c	<b>Pct 7</b>	46,2 bc	<b>Pcp 3</b>	2,2 cd
<b>Pcp 68</b>	70,9 d	<b>Pct 2</b>	44,6 cd	<b>Pct 31</b>	2,2 cd
<b>Pcp 99</b>	67,9 de	<b>Pcp 30</b>	42,4 de	<b>Pcp 29</b>	2,2 cd
<b>Pct 23</b>	65,9 ef	<b>Pct 1</b>	40,3 ef	<b>Pcp 41</b>	2,2 de
<b>Pcp 31</b>	65,5 fg	<b>Pcp 68</b>	39,7 fg	<b>Pcs 1</b>	2,1 ef
<b>Pcp 64</b>	64,7 gh	<b>Pcp 101</b>	38,4 gh	<b>Pct 23</b>	2,1 fg
<b>Pcp 76</b>	63,1 hi	<b>Pcp 97</b>	38,3 gh	<b>Pcp 42</b>	2,1 gh
<b>Pct 7</b>	62,2 ij	<b>Pcp 76</b>	36,8 hi	<b>Pcp 34</b>	2,1 gh
<b>Pcp 42</b>	60,4 jk	<b>Pcbe 3</b>	36,5 ij	<b>Pcp 99</b>	2,1 gh
<b>Pcp 46</b>	59,5 kl	<b>Pcp 17</b>	35,8 jk	<b>Pcp 47</b>	2,1 hi
<b>Pcm 14</b>	59,1 lm	<b>Pct 19</b>	35,5 kl	<b>Pca 34</b>	2,0 ij
<b>Pcp 101</b>	59,0 mn	<b>Pca 24</b>	36,0 lm	<b>Pcp 31</b>	2,0 ij
<b>Pcp 98</b>	58,7 no	<b>Pcbe 8</b>	35,0 lm	<b>Pcp 68</b>	2,0 ij
<b>Pcp 35</b>	58,6 no	<b>Pcc 1</b>	34,3 mn	<b>Pcj 3</b>	2,0 jk
<b>Pcp 75</b>	57,4 op	<b>Pca 21</b>	34,3 mn	<b>Pcp 25</b>	2,0 jk
<b>Pcp 59</b>	57,2 pq	<b>Pcp 98</b>	34,3 mn	<b>Pcp 69</b>	2,0 jk
<b>Pcp 83</b>	57,0 qr	<b>Pca 7</b>	34,2 mn	<b>Pcm 14</b>	2,0 jk
<b>Pcj 3</b>	56,5 rs	<b>Pcp 31</b>	34,1 mn	<b>Pcp 87</b>	2,0 jk
<b>Pct 1</b>	56,3 rs	<b>Pct 28</b>	33,8 mn	<b>Pcc 13a</b>	1,9 jk
<b>Pca 24</b>	56,1 rs	<b>Pcp 35</b>	33,6 no	<b>Pcp 98</b>	1,9 jk
<b>Pca 14</b>	55,7 rs	<b>Pcp 46</b>	33,6 no	<b>Pcp 68</b>	1,9 jk
<b>Pca 07</b>	55,2 st	<b>Pcp 88</b>	33,5 op	<b>Pct 17</b>	1,9 jk
<b>Pct 2</b>	55,0 st	<b>Pcp 43</b>	33,1 op	<b>Pcp 35</b>	1,9 jk
<b>Pcp 87</b>	54,1 tu	<b>Pcbe 15</b>	32,9 op	<b>Pct 10</b>	1,9 jk
<b>Pct 17</b>	53,7 uv	<b>Pcc 12</b>	32,6 op	<b>Pcp 10</b>	1,9 kl
<b>Pcp 88</b>	53,0 vw	<b>Pcp 83</b>	32,4 op	<b>pcp 46</b>	1,9 kl

<b>Pcbe 15</b>	53,0	vw	<b>Pcp 60</b>	31,9	pq	<b>Pcp 30</b>	1,9	kl
<b>Pcp 97</b>	56,6	wx	<b>Pct 23</b>	31,8	pq	<b>Pcp 83</b>	1,9	kl
<b>Pcp 82</b>	52,2	wx	<b>Pca 31</b>	31,6	pq	<b>Pcp 20</b>	1,9	kl
<b>Pcbe 3</b>	52,0	xy	<b>Pcp 99</b>	31,5	qr	<b>Pcp 33</b>	1,9	kl
<b>Pct 10</b>	51,1	yz	<b>Pca 34</b>	31,4	qr	<b>Pca 1</b>	1,9	kl
<b>pct 28</b>	51,0	yz	<b>Pca 33</b>	31,1	qr	<b>Pca 15</b>	1,9	kl
<b>Pca 31</b>	51,0	za	<b>Pcbe 23</b>	31,0	qr	<b>Pcc 12</b>	1,9	lm
<b>Pca 34</b>	51,0	ab	<b>Pcm 14</b>	30,8	rs	<b>Pcp 82</b>	1,9	lm
<b>Pcs 1</b>	50,4	ab	<b>Pcp 20</b>	30,5	st	<b>Pca 34</b>	1,9	lm
<b>Pcp 43</b>	50,1	cb	<b>Pcp 87</b>	30,3	st	<b>Pcp 8</b>	1,8	lm
<b>Pca 33</b>	50,1	cd	<b>Pca 32</b>	30,2	tu	<b>Pcp 76</b>	1,8	lm
<b>Pcp 70</b>	50,0	cd	<b>Pca 35</b>	30,1	tu	<b>Pca 33</b>	1,8	mn
<b>Pca 15</b>	50,0	de	<b>Pcp 16</b>	30,0	tu	<b>Pcp 7</b>	1,8	mn
<b>Pcp 16</b>	48,2	ef	<b>Pcp 70</b>	30,0	tu	<b>Pca 34</b>	1,8	mn
<b>Pcbe 8</b>	48,0	ef	<b>Pca 15</b>	29,5	uv	<b>Pcs 1a</b>	1,8	mn
<b>Pca 32</b>	47,7	ef	<b>Pcj 3</b>	29,2	vw	<b>Pcp 70</b>	1,8	mn
<b>Pca 35</b>	47,6	ef	<b>Pca 14</b>	29,0	wx	<b>Pcc 13</b>	1,8	mn
<b>Pca 21</b>	47,5	ef	<b>Pcp 82</b>	28,9	xy	<b>Pcp 38</b>	1,8	no
<b>Pct 19</b>	47,4	ef	<b>Pct 17</b>	28,7	xy	<b>Pcbe 15</b>	1,8	no
<b>Pca 1</b>	47,1	ef	<b>Pca 4</b>	28,4	xy	<b>Pcp 16</b>	1,8	no
<b>Pcp 60</b>	46,2	ef	<b>Pcp 42</b>	28,4	xy	<b>Pca 35</b>	1,7	op
<b>Pcp 69</b>	46,1	ef	<b>Pca 3</b>	27,6	xy	<b>Pcp 62</b>	1,7	op
<b>Pcp 20</b>	45,6	fg	<b>Pct 10</b>	27,6	xy	<b>Pca 31</b>	1,7	pq
<b>Pcp 10</b>	45,0	fg	<b>Pcp 20</b>	27,5	xy	<b>Pca 4</b>	1,7	pq
<b>Pca 3</b>	44,7	fg	<b>Pca 1</b>	27,4	ya	<b>Pcp 67</b>	1,7	pq
<b>Pcp 68</b>	44,1	gh	<b>Pcp 59</b>	25,9	ab	<b>Pca 32</b>	1,7	pq
<b>Pcp 17</b>	44,0	gh	<b>Pcp 64</b>	25,4	bc	<b>Pcp 66</b>	1,7	pq
<b>Pcp 20</b>	44,0	gh	<b>Pcp 10</b>	24,8	cd	<b>Pct 7</b>	1,7	pq
<b>Pcc 1</b>	44,0	gh	<b>Pcs 1a</b>	24,7	cd	<b>Pcp 101</b>	1,7	qr
<b>Pcp 3</b>	43,4	hi	<b>Pcj 1</b>	24,1	de	<b>Pcp 88</b>	1,6	rs
<b>Pca 4</b>	43,3	hi	<b>Pcp 69</b>	23,7	de	<b>Pca 24</b>	1,6	rs
<b>Pcp 34</b>	43,1	hi	<b>Pcs 1</b>	23,7	de	<b>Pct 1</b>	1,6	st
<b>Pcp 25</b>	42,6	ij	<b>Pcp 67</b>	23,3	de	<b>Pcp 75</b>	1,6	st
<b>Pcp 29</b>	42,4	jk	<b>Pcp 68</b>	22,9	de	<b>Pcp 43</b>	1,6	st
<b>Pcs 1a</b>	41,7	jk	<b>Pcp 75</b>	22,8	de	<b>Pcp 63</b>	1,5	tu
<b>Pcbe 23</b>	38,9	kl	<b>Pcp 25</b>	22,1	de	<b>Pct 28</b>	1,5	tu
<b>Pcp 67</b>	37,3	kl	<b>Pcp 63</b>	22,1	de	<b>Pcp 60</b>	1,4	uv
<b>Pcp 75</b>	36,7	kl	<b>Pcp 34</b>	21,8	de	<b>Pcp 20</b>	1,4	uv
<b>Pcp 38</b>	36,0	kl	<b>Pcp 62</b>	21,3	de	<b>Pcp 65</b>	1,3	uv
<b>Pcp 62</b>	35,8	kl	<b>Pcp 38</b>	21,0	de	<b>Pcbe 3</b>	1,3	uv
<b>Pcc 13a</b>	34,9	lm	<b>Pcp 66</b>	21,0	de	<b>Pca 21</b>	1,3	uv
<b>Pcp 66</b>	34,8	lm	<b>Pcp 65</b>	20,7	de	<b>Pcbe 8</b>	1,2	uv
<b>Pcp 8</b>	33,7	mn	<b>Pcp 3</b>	20,0	ef	<b>Pcj 1</b>	1,2	uv
<b>Pcp 63</b>	33,0	mn	<b>Pcp 8</b>	20,0	ef	<b>Pcc 1</b>	1,2	uv
<b>Pcj 1</b>	33,0	mn	<b>Pcp 29</b>	19,5	ef	<b>Pcp 97</b>	1,2	uv
<b>Pcc 13</b>	32,8	mn	<b>Pcc 13a</b>	19,3	fg	<b>Pct 19</b>	1,1	uv
<b>Pcp 47</b>	28,9	mn	<b>Pcc 13</b>	18,4	fg	<b>Pct 2</b>	1,1	uv
<b>Pcp 65</b>	28,9	mn	<b>Pcp 47</b>	14,3	fg	<b>Pcbe 23</b>	1,0	v
<b>Pcp 41</b>	28,0	n	<b>Pcp 41</b>	13,3	g	<b>Pcp 47</b>	1,0	v
<b>CV</b>	15,52			23,89			30,45	

\*Médias seguidas de mesma letra ao teste Tukey a 5% de probabilidade não diferem entre si.

**Anexo 1.3.** Profundidade da papila de alguns isolados de *Phytophthora*.

<b>Isolados *</b>	<b>Profundidade da Papila (<math>\mu\text{m}</math>)**</b>
Pct 28	6,2 a
Pca 12	5,2 ab
Pcbe 3	4,8 bc
Pcp 108	4,5 cd
Pcbe 2	4,0 cd
Pca 24	3,4 cd
Pcp 104	3,0 cd
Pct 33	3,0 cd
Pct 31	2,8 cd
Pca 11	2,6 cd
Pcp 106	2,6 cd
Pcbe 19	2,4 cd
Phyt Nicot	2,4 cd
Pcbe 8	2,4 cd
Pcbe 23	2,3 cd
Pcp 17	2,2 cd
Pcj 1	2,0 cd
Pct 2	2,0 cd
Pcp 72	1,8 d
CV	18,2

\*Informações sobre local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1. \*\*Médias seguidas de mesma letra ao teste Tukey a 5% de probabilidade não diferem entre si.

**Anexo 1.4.** Médias do comprimento do pedicelo dos esporângios de *Phytophthora*.

<b>Ordem</b>	<b>Isolados</b>	<b>Comprimento do Pedicelo** (µm)</b>
1	Pcp 86	79,3 a
2	Pcp 87	75,6 ab
3	Pca 32	74,5 bc
4	Pca 31	70,6 cd
5	Pcp 64	69,3 de
6	Pct 10	67,5 ef
7	Pct 28	67,3 ef
8	Pcm 14	65,1 fg
9	Pcp 42	63,3 fg
10	Pct 23	62,0 gh
11	Pca 34	61,0 gh
12	Pcp 101	60,8 gh
13	Pcc 12	60,3 hi
14	Pca 14	60,2 hi
15	Pca 33	60,1 hi
16	Pcp 35	57,4 ij
17	Pcp 30	57,1 ij
18	Pcp 46	56,0 ij
19	Pcp 88	56,0 ij
20	Pca 15	55,6 ij
21	Pct 19	55,2 ij
22	Pcp 82	54,8 ij
23	Pca 4	54,0 jk
24	Pcp 20	54,0 jk
25	Pca 3	53,8 jk
26	Pca 1	52,4 jk
27	Pcp 69	51,0 jk
28	Pca 21	50,2 kl
29	Pcp 7	50,1 kl
30	Pcp 68	47,1 kl
31	Pcc 13	46,5 kl
32	Pct 17	44,4 kl
33	Pcp 29	44,3 kl
34	Pcbe 15	43,6 kl
35	Pcp 34	41,7 kl
36	Pcp 38	41,6 kl
37	Pcs 1	40,6 kl
38	Pcp 43	39,9 kl
39	Pcj 3	39,1 kl
40	Pcp 67	35,4 kl
41	Pcp 75	35,3 kl
42	Pcp 3	35,3 kl
43	Pcp 41	32,0 kl
CV		25,2

\*Local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.\*\*Médias seguidas de mesma letra ao teste Tukey a 5% de probabilidade não diferem entre si.

**Anexo 1.5.** Comparação das médias dos diâmetros dos oósporos de isolados de tomate pimentão e abóbora.

<b>Isolados</b>	<b>Diâmetro do oósporo** (µm)</b>	
Pct 22	30,7 a	
Pca 25	29,4 ab	
Pct 1	27,9 bc	
Pca 23	27,6 bc	
Pca 24	26,7 cd	
Pcp 99	25,17 d	
Pcp 97	21,2 e	
CV		18,2

\*Local de coleta, município e estado de origem e data de coleta dos isolados encontram-se descritos na Tabela 1.1.\*\*Médias seguidas de mesma letra ao teste Tukey a 5% de probabilidade não diferem entre si.

**CAPÍTULO 2**  
**EXPRESSÃO E PROSPECÇÃO DA RESISTÊNCIA EM**  
***CUCURBITACEAE E SOLANACEAE***

## **RESUMO DO CAPÍTULO 2**

### **Expressão e prospecção da resistência em *Cucurbitaceae* e *Solanaceae*.**

A resistência genética às doenças de plantas é uma das estratégias mais importantes para redução do uso de agrotóxicos nos cultivos agrícolas. Existem muitos estudos ligados ao patossistema *P. capsici*-pimentão, contudo no Brasil existem poucos estudos de *P. capsici* ligados a tomate e abóboras. Os objetivos deste capítulo foram: identificar a resistência de genótipos de *Lycopersicon* spp., *Cucurbita* spp. e *Cucumis melo*, determinar o efeito do estágio fenológico na expressão da resistência e identificar novas hospedeiras a *Phytophthora capsici*. Um grupo de 152 genótipos de *Lycopersicon* spp., 376 genótipos de *Cucurbita* spp. e 74 genótipos de *Cucumis melo* foram inoculados com dois isolados dos grupos de compatibilidade A1 e A2. Devido à dificuldade de se avaliar todos os genótipos ao mesmo tempo, a avaliação de cada espécie foi feita em lotes. Estes genótipos foram inoculados com 3 ml de uma suspensão na concentração de  $5.10^4$  de zoósporos no colo das plântulas. Foi avaliada a incidência da doença em três períodos de leitura. Em outros experimentos foram analisadas as reações de 41 cultivares comerciais de abóboras, abobrinha, melancia, melão, tomate e pimentão inoculadas com *P. capsici* aos 10, 20, 30 e 40 dias de idade. Por fim, foi analisada a suscetibilidade de 19 acessos de cucurbitáceas e solanáceas nativas quanto a um isolado de *P. capsici*. Observou-se a reação diferencial dos genótipos de *Lycopersicon* e *Cucurbita* aos isolados pertencentes aos dois grupos de compatibilidade de *P. capsici*. A resistência associada à *Lycopersicon*, foi separada por espécie, sendo a susceptibilidade encontrada com maior frequência nos acessos de *L. peruvianum* e a resistência nos acessos de *L. esculentum*. Não foram detectados níveis adequados de resistência nos acessos de *Cucurbita*, necessitando selecionar novos genótipos e re-avaliação da resistência. Possivelmente, a expressão da resistência a *P. capsici* em genótipos de abóboras é mais influenciada pelo ambiente. Dentre às espécies de cucurbitáceas avaliadas (*C. moschata*, *C. maxima*, *C. pepo* e *Cucumis melo*) os acessos de *C. melo* mereceram destaque pela maior frequência de genótipos resistentes. Entre as três espécies de *Cucurbita* avaliadas, a espécie

*C. moschata* apresentou maior número de genótipos resistentes (R). O período mais crítico para infecção de *P. capsici* em genótipos de pimentão, tomate, abóbora, melancia e melão foi de 10 a 15 dias após o plantio. Aos 10 dias após o plantio (dap) os genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas tiveram em sua maioria classificação no grupo de reação Suscetível-S (69%), aos 20 dap a resistência se distribuiu entre as classes R (40%) e S (44%), e, por fim a partir dos 20 dias, 56% dos genótipos foram classificados como R à *P. capsici*. As novas hospedeiras classificadas como suscetíveis à inoculação artificial de *P. capsici* foram *Sicana odorifera* (Croá), *Nicandra physaloides* (físalis), *Capsicum praetermissum* (pimenta cumari), *Cyphomandra betacea* (tomate de árvore), *Solanum paniculatum* (jurubeba bahiana) e *Solanum americanum* (Maria pretinha). Neste trabalho observou-se maior variabilidade de expressão dos graus de resistência em genótipos e *Lycopersicon* do que em *Cucurbita*; observou-se também o efeito diferencial na expressão da resistência em cucurbitáceas e identificou-se novos hospedeiros a *P. capsici*.

**Palavras chave:** *Capsicum annum*, *Lycopersicon spp.*, *Cucurbita moschata*, *C. maxima*, *Cucumis melo*, *C. pepo*, hospedeiros, resistência, suscetibilidade, idade, período de incubação, seleção, reação.

## ABSTRACT

### Prospection and expression of resistance on *Cucurbitaceae* and *Solanaceae*.

The genetically resistance of plant disease is an element more important to reduce the use agrotoxic on country produce. The objective of chapter was to identify the resistance of genotypes of *Lycopersicon* spp., *Cucurbita* spp. and *Cucumis melo* against *Phytophthora capsici* and also identify new hosts and determine the effect to plant age on the expression of resistance to *Phytophthora capsici*. In this study, 152 genotypes of *Lycopersicon*, 376 genotypes of *Cucurbita* and 74 genotypes of *C. melo* were inoculated with 2 *P. capsici* isolates from compatibility groups A1 and A2. Inoculation was by deposition of a 3 mL zoospore suspension of  $5.10^4$  zoospores/mL next to the plantlet crown. Disease incidence was evaluated at three points in time. In other experiments, the reaction of 41 commercial cultivars of *Cucurbita*, *Citrullus lanatus*, *C. melo*, *Lycopersicon* and *Capsicum annuum* inoculated 10, 20, 30 and 40 days after planting was examined. Finally, the susceptibility of 19 accesses of native *Cucurbitaceae* and *Solanaceae* were studied. Reaction of *Lycopersicon* to *P. capsici* was differentiated by host species: *L. peruvianum* genotypes were mostly susceptible, while *L. esculentum* genotypes were more frequently resistant. Significant levels of resistance were not detected among *Cucurbita* accesses, and apparently, the expression of resistance against *P. capsici* in *Cucurbita* varies with the environment. Among all *Cucurbitaceae* studied, the genus *Cucumis* had most genotypes resistant to *P. capsici*. Among the three *Cucurbita* species evaluated, *C. moschata* had the higher number of resistant genotypes. Most critical period for *P. capsici* infection of all hosts studied was 10-15 days after planting (dap). When inoculated 10 dap, commercial cucurbitaceous and solanaceous genotypes were usually (69%) classified as susceptible (S); at 20 dap genotypes were more evenly distributed as resistant (R, 40%) and S (44%); finally, after 30 dap, 56% of the genotypes were classified as R. New hosts of *P. capsici* identified in this study, following artificial inoculation are *Sicana odorifera*, *Nicandra*

*physaloides*, *Capsicum praetermissum*, *Cyphomandra betacea*, *Solanum paniculatum* and *Solanum americanum*.

**Keys words:** *Capsicum annum*, *Lycopersicon* spp., *Cucurbita moschata*, *C. maxima*, *Cucumis melo*, *C. pepo*, hospedeiros, resistência, suscetibilidade, idade, período de incubação, seleção, reação.

## 2.1 INTRODUÇÃO

No cultivo do pimentão, tomate e abóbora tem ocorrido perdas severas de produção devido epidemias causadas por *Phytophthora capsici* Leonian. Este oomiceto é um patógeno de solo com ampla gama de hospedeiros que incluem espécies cultivadas, nativas, plantas de hábito de crescimento herbáceo ou arbóreo em várias famílias botânicas. Dentre os inúmeros hospedeiros as solanáceas e cucurbitáceas, são as famílias de maior importância econômica, sendo também as mais afetadas por *P. capsici*. (Erwin & Ribeiro, 1996 e Matsuoka & Vanetti, 2001). Erwin & Ribeiro (1996) relataram 48 espécies de hospedeiras pertencentes à diferentes família botânicas, representadas por abacate, alfafa, algodão, abóbora, baunilha, berinjela, cacau, cebola, cenoura, citrus, datura, ervilha, espinafre, feijão fava, figo, fumo, girassol, linho, melão, maçã, macadâmia, melancia, quiabo, pêra, pepino, pimentão, pimenta do reino, tomate. A distribuição geográfica destas ocorrências abrangem países como a Argentina, Brasil, Bolívia, República de Camarões, Coréia, China, Espanha, EUA, França, Indonésia, Irã, Itália, Japão, Porto Rico, Sérvia, Taiwan, Tailândia, União Soviética e Venezuela.

No Brasil a murcha-de-fitóftora em pimentão já foi relatada em SP, MG, GO, SC, e DF (Azevedo & Silva, 1986; Brune *et al.*, 1990). A excessiva umidade, drenagem inadequada do solo e alta temperatura favorecem o início e a disseminação da doença (Tompkins & Tucker, 1941). O patógeno sobrevive no solo e em restos culturais, como micélio e esporângios, até 120 dias e como oósporos até um ano (Ansani, 1981). A identificação de fontes de resistência e a incorporação desta resistência em programas de melhoramento é a medida de controle mais eficiente para esta doença.

Kimble & Grogan (1960) relataram pela primeira vez um material resistente a *P. capsici* em pimentão. Mais tarde Pochard & Chambonnet (1971), Guerrero-Moreno & Laborde (1980) e Matsuoka (1984) reportaram outras fontes de resistência. Alguns destes materiais tiveram a resistência quebrada (Reifschneider *et al.*, 1986). Café Filho & Duniway (1995) mostraram que em condições muito favoráveis ao patógeno obtidos por excesso de

irrigação, genótipos com resistência incompleta comportam-se como suscetíveis. Alao & Alegbejo (1999), indicaram que a resistência durável de genótipos a *P. capsici* pode ser quebrada por um longo período de exposição da planta ao patógeno. Ao final da avaliação, todas as linhas de pimentão locais foram suscetíveis ao patógeno com exceção do genótipo U-Kimba, que apresentou de 0-8,3% de porcentagem de mortalidade.

Os trabalhos de identificação de fontes de resistência em *Capsicum* encontram-se registrados por Ortega *et al.* (2003), que indicaram o genótipo “Criollo de Morellos” como sendo uma boa fonte de resistência a *P. capsici* (linhagem SCN-334) importante para introgressão de genes em programas de melhoramento de pimentão. Ribeiro *et al.* (2003) registraram que entre 363 genótipos de *Capsicum*, nove de *C. annuum* e um de *C. parviflorum* foram classificados como resistentes. Na China, Jianhua *et al.* (1998) estudaram a resistência de 1075 acessos de *Capsicum annuum* sendo identificados 77 genótipos altamente resistentes (5%) merecendo destaque os acessos Chaotian, Sweet pepper, Niujiào, Yangjiào, Xian, Jian e Shizi; e ainda foram observadas diferenças significativas de resistência entre acessos de Niujiào originários de diferentes regiões geográficas.

Das principais cultivares de pimentão e tomate comercializadas no Brasil, é muito comum encontrar cultivares resistentes a mais de uma doença (*Phytophthora*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Stemphyllium* e viroses). Já para abóboras, o lançamento de cultivares com resistência a doença não é um alvo tão explorado pelos programas de melhoramento genético, com exceção das cultivares com resistência a oídio e viroses.

Os grupos de pesquisa para resistência de *Capsicum* a *P. capsici* no Brasil distribuem-se no Estado de São Paulo, Minas Gerais e Brasília. Em Brasília, a Embrapa Hortaliças vem a 20 anos desenvolvendo linhas de *Capsicum* com resistência múltiplas a doenças, liberando linhagens resistentes para o Brasil e outros países (Ribeiro *et al.*, 2003). Em contraste, linhas de pesquisas de *Lycopersicon* e *Cucurbita* com resistência a *P. capsici* no Brasil são incipientes.

Ansani & Matsuoka (1983), Polach & Webster (1972), Ortega & Español (1983) Reifschneider *et al.* (1986), Pochard & Chambonnet (1971), Matsuoka (1984), Pochard *et al.*, (1976) evidenciaram tipo de isolado, concentração de zoósporos e método de inoculação como um dos principais fatores que afetam a expressão da resistência a *P. capsici* em pimentão. A importância e o relacionamento desses fatores foram pouco estudados para outros patossistemas de *P. capsici* envolvendo *Lycopersicon* spp., *Cucurbita* spp. e outros.

Diversos trabalhos demonstram que a resistência juvenil é rara em pimentão, que apresenta aumento de suscetibilidade em idades muito jovens, mesmo para materiais parcialmente resistentes (Matsuoka 1984). Para pimentão as plantas são resistentes quando apresentam seis folhas, ou oito folhas (Café Filho & Duniway, 1995b) aos 40 dias após o plantio (Pochard *et al.*, 1976) e 31 dias após o plantio (Reifschneider *et al.*, 1986; Matsuoka, 1984). Ribeiro *et al.* (2003) relataram que a resistência a *P. capsici* em *Capsicum* não é espécie hospedeira-específica, e sim genótipo-específica. O efeito da idade e/ou resistência juvenil não foi relatada (Paz Lima *et al.*, 2004) para cultivares de cucurbitáceas e solanáceas. Roberts *et al.* (2003) avaliaram a resistência de cinco cultivares de tomate a *P. capsici*, onde a suscetibilidade foi reduzida durante o período de avaliação de 6 a 12 semanas.

Os hospedeiros mais suscetíveis a *P. capsici* encontram-se principalmente em lavouras de pimentão, cucurbitáceas e com menor importância, cultivos de tomate. E nessas a suscetibilidade é maior nos primeiros estádios de desenvolvimento. A podridão dos frutos, está intimamente relacionada ao contato da superfície do fruto ao solo e quanto quanto mais terra for a polpa do fruto (ou raiz e caule), maior é a tendência de suscetibilidade. Frutos de pimentão, abobrinha de moita apresentam-se como mais suscetíveis se compararmos com abóbora menina seca e chuchu devido à maior maciez da polpa.

Dentre as doenças ocasionadas por *Phytophthora* em tomate estão classicamente atribuídos a espécie *P. infestans* que é o agente causal da requeima. Algumas podridões de frutos que são ocasionadas por duas espécies, *P. capsici* e *P. parasitica*, já a podridão do colo

de plântulas está atribuída a *P. capsici*. Satour & Butler (1967) ao avaliarem a reação de 13 genótipos de espécies diferentes de tomate não identificou nenhuma resistência a *P. capsici*. O genótipo mais resistente foi o “Agriset” onde menos que 10 % das plantas foram infectadas por *P. capsici* as seis semanas de idade.

No Brasil, estudos de resistência a *P. capsici* em espécies comerciais de cucurbitáceas são escassos (Henz & Lima, 1998). Entre os trabalhos existentes encontram-se o de Henz & Lima (1994) que estudaram os fatores que afetam a reação de resistência/suscetibilidade de *Cucurbita* spp.; os trabalhos de Lima & Henz (1994) que realizaram avaliações da patogenicidade de isolados sob genótipos de *Cucurbita*; Lopes *et al.* (1999) que desenvolveram uma metodologia de avaliação da resistência de germoplasma de abóboras e morangas; Henz & Lima (1998) estudaram a resistência à podridão-das-raízes em plântulas de 63 cultivares de cucurbitáceas (abóbora, moranga, abobrinha, mogango, pepino, melão e melancia) e concluíram que a maior parte dos genótipos são suscetíveis, destacando cultivares de pepino como resistentes; Henz *et al.* (1994) que verificaram a resistência da polpa de frutos em genótipos de abóbora; Brune & Lopes (1994) estudaram a resistência exclusiva de genótipos de *C. maxima*; Azevedo & Silva (1986) estudaram a resistência a um isolado de abóbora em frutos de sete espécies de olerícolas e, Poltronieri (1986) estudou a patogenicidade em espécies de *Cucurbita*. Informações a respeito da diversidade genética para resistência à murcha-de-fitóftora em germoplasma de abóboras e morangas (*Cucurbita maxima* e *C. moschata*) são ainda muito limitadas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência de genótipos de *Cucurbita* spp., *Lycopersicon* spp. e *Cucumis melo*, identificar novas hospedeiras e descrever a resistência a dois isolados de *P. capsici* provenientes de pimentão em hospedeiras comerciais sob diferentes idades de plantio.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.0 Produção de inóculo e inoculação

**Indução a liberação de zoósporos:** adicionou-se 10 ml de água em placas de Petri contendo culturas de *P. capsici* cultivadas a luz contínua, por seis dias para indução da formação de esporângios. Em seguida, placas foram colocadas em geladeira sob temperatura de 6 °C por duas horas. Após isso, deixaram-se as placas sob temperatura ambiente por 30'. Os zoósporos foram filtrados com uma gase, resultando assim numa suspensão.

**Quantificação e inoculação dos zoósporos:** apanhou-se uma pequena fração da suspensão, aqueceu-se para impedir a motilidade, sendo em seguida quantificados com o auxílio do hematocítômetro. Diluiu-se a suspensão para concentração de  $5.10^4$  zoósporos.ml<sup>-1</sup> e inoculou-se as plantas, adicionando-se em cada uma, 3 ml de suspensão no colo (Reifschneider *et al.*, 1986). Trinta minutos antes da inoculação as plantas foram regadas.

**Unidade experimental:** Dada a grande quantidade de genótipos a serem testados de *Lycopersicon* spp, *Cucurbita* spp. e *Cucumis melo* (itens 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3. e 2.2.5), e a pequena e variável quantidade de sementes/genótipo disponíveis para execução os experimentos, estes foram executados utilizando apenas uma unidade experimental, representada por cinco plantas cultivadas em um mesmo vaso contendo 3 L de solo esterilizado. Desta forma, na ausência de repetições necessárias para análise paramétrica para distinção dos genótipos, os dados foram analisados por análise multivariada, utilizando como variáveis os valores de incidência das inúmeras datas de avaliação realizadas nos lotes.

#### 2.2.1. Reação de genótipos de *Lycopersicon* spp. à *Phytophthora capsici*

Estes genótipos foram avaliados em telados, da Estação Experimental de Biologia, da Universidade de Brasília em dois ensaios realizados separadamente (lote 1 e lote 2). Um vaso contendo cinco plantas foi inoculado via de rega (descrição feita logo acima) com o isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1 (Pcp 65) e o outro com o isolado A2 (Pcp 25). O

experimento foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado, constituído de 152 genótipos, dois tipos de isolados, totalizando 304 tratamentos e/ou 304 unidades experimentais. Os genótipos são representados pelas seguintes espécies: *L. esculentum* (65), *L. peruvianum* (65), *L. pimpinellifolium* (6), *L. chilense* (1), *L. hirsutum* (14) e *L. pennelli* (1). Algumas plantas pertencentes a outras famílias botânicas foram incluídas nas avaliações, incluindo o controle representado por *Capsicum annuum*.

A variável medida foi à incidência da doença (número de plantas mortas/total [5]) a partir do sexto dia, com intervalos de um dia, durante um período de três avaliações. Logo após, os genótipos foram separados em três grupos de reação (resistentes-R, intermediários-I e suscetíveis-S) pela análise de agrupamento, pela a medida de similaridade UPGMA, utilizando o procedimento “Fastclass” do SAS *for windows*.

### **2.2.2 Reação de genótipos de *Cucurbita* spp. a *P. capsici***

Num delineamento inteiramente casualizado, contendo uma unidade experimental constituída de cinco plantas/vaso, em condições controladas de casa de vegetação, foram analisadas as reações de 371-376 genótipos (264 (A1) e 269 (A2) *C. maxima*, 93 *C. moschata*, oito *C. pepo* e seis genótipos de espécie não determinada), sendo divididos em quatro lotes de avaliação. No **primeiro** lote de avaliação foram analisados 95 genótipos de *Cucurbita* (37 *C. maxima*, 50 *C. moschata* e 06 de identificação não determinada) aos 5º, 7º e 12º. dai, sendo inoculados com ambos os grupos de compatibilidade, e separados os genótipos em três grupos de reação (resistente-R, intermediário-I e suscetível-S). No **segundo** lote foram analisados 66 genótipos de *Cucurbita* (62 *C. maxima* e 04 *C. moschata*) ao 10º, 14º e 19º. dai, sendo inoculados com apenas o isolado A1, e separados os genótipos em dois grupos de reação (R e S). No **terceiro** lote, alguns genótipos inoculados com o grupo de compatibilidade A1 morreram, deste modo foram analisados 52 genótipos de *Cucurbita* (50 *C. maxima* e 02 *C. moschata*) inoculados com grupo de compatibilidade A1 e 65 genótipos (63 *C. maxima* e 02 *C. moschata*) inoculados com o grupo de compatibilidade A2, ao 2º, 4º e 6º dai, e separados

os genótipos em três grupos de reação (R e S). No **quarto** lote de avaliação foram analisados 150 genótipos de *Cucurbita* (105 *C. maxima*, 37 *C. moschata* e 08 *C. pepo*) ao 2º, 4º, 6º, 8º, 10º, 12º e 19º dai, sendo inoculados com um isolados (A1), e estes genótipos foram separados em três grupos de reação (R, I e S). O métodos de separação dos genótipos em todos os lotes de avaliação foi utilizando a medida de similaridade UPGMA, através do procedimento “Fast class” do SAS *for windows*.

### **2.2.3. Reação de genótipos de melão (*Cucumis melo*) a *P. capsici***

As reações de 74 genótipos foram avaliadas em condições controladas de casa de vegetação, num delineamento inteiramente casualizado, contendo uma repetição. Os genótipos foram inoculados (isolado Pcp 65, GC A1) aos 15 dias após o plantio (dap). O processo de inoculação e indução da liberação de zoósporos, quantificação e concentração de inóculo, encontra-se descritos logo acima. A incidência da doença foi avaliada ao 3º, 5º, 7º, 12º, 17º e 21º dias após a inoculação (dai) totalizando seis avaliações. Os genótipos foram separados em três grupos de reação (R, I e S) pela análise de agrupamento utilizando a medida de similaridade UPGMA, pelo procedimento “Fastclass” do SAS *for windows*.

### **2.2.4 Efeito da idade de plantas em cultivares comerciais de cucurbitáceas e solanáceas na resistência a *P. capsici*.**

Foram avaliadas as reações de 41 cultivares comerciais de abóbora (*Cucurbita* sp. – 16), abobrinha (*C. pepo* – 6), melancia (*Citrullus lanatus* – 01), melão (*Cucumis melo* - 07), tomate (*Lycopersicon esculentum*- 10) e pimentão (*Capsicum annum* - 01) em telado protegido da Estação Experimental de Biologia. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, apresentando 41 cultivares comerciais, quatro idades de plantio, com cinco repetições (cinco plantas por vasos), sendo constituído de 164 tratamentos, totalizando 820 unidades experimentais. Foram realizadas inoculações em cultivares comerciais aos 10, 20, 30 e 40 dias após a semeadura. Foram realizadas três avaliações da incidência da doença, com intervalos de sete dias. Os dados de incidência foram transformados por  $\sqrt{(x+10)}$ . Realizou-se teste ANOVA e após rejeitar-se a hipótese de

nulidade, fez-se o teste de comparação de médias. E através da análise multivariada, utilizando o procedimento “Fast class” separou-se as cultivares por grupo de reação em três classes (resistentes-R, intermediários-I e suscetíveis-S), por idade após o plantio.

#### **2.2.5. Círculo de hospedeiros pertencentes às famílias *Cucurbitaceae* e *Solanaceae*.**

Foi avaliado em casa de vegetação da Embrapa Hortaliças a reação de 19 acessos pertencentes às famílias *Solanaceae* e *Cucurbitaceae* (descrições Tabela), inoculados com um isolado de *P. capsici* (Pcp 65-A1). Foram inoculados sete genótipos de melão, um de melancia, três de lobeira, um de pimenta, um de tomate de árvore, um de croá, um de abóbora, um de maria preteinha, dois de pepino e um de fisalis. Avaliou-se separadamente jurubeba bahiana (*Solanum paniculatum*) sendo incluso para a avaliação. Os procedimentos de preparo do inóculo e inoculação encontram-se citados inicialmente. O experimento foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado, contendo 19 tratamentos e uma repetição (representada por cinco plantas por vaso), inoculados via de rega (três mL.planta<sup>-1</sup>) com o isolado Pcp 65 (A1). Foi avaliado a incidência da doença (número de plantas mortas/total [5]) ao primeiro, quinto, oitavo, 12º e 27º dai. Os genótipos foram separados em três grupos de reação (resistentes-R, intermediários-I e suscetíveis-S), através da análise de agrupamento utilizando a medida de similaridade UPGMA, pelo procedimento “Fastclass” do SAS *for windows*.

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Reação de genótipos de *Lycopersicon* spp. à *Phytophthora capsici*.

A maioria dos genótipos de *Lycopersicon* spp. foram distribuídos em dois grandes grupos de reação quando inoculados com os isolados A1 e A2 (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1.** Suscetibilidade do primeiro lote de avaliação de genótipos de *Lycopersicon* spp ao grupo de compatibilidade A1 e A2.

Or	Genótipos	Grupo de compatibilidade A1					Grupo de compatibilidade A2				
		2 dai	4 dai	6 dai	Grau de R	Grupos de Reação	2 dai	4 dai	6 dai	Grau de R	Grupos de Reação
1	CNPH 17	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
2	CNPH 19	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
3	CNPH 201	0	60	100	2	Intermediária	20	60	100	2	Intermediária
4	CNPH 313	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
5	CNPH 374	40	100	100	3	Suscetível	40	100	100	3	Suscetível
6	CNPH 382	0	0	0	1	Resistente	0	40	0	1	Resistente
7	CNPH 390	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
8	CNPH 402	0	0	0	1	Resistente	0	20	0	1	Resistente
9	CNPH 409	100	100	100	3	Suscetível	66	100	100	3	Suscetível
10	CNPH 410	25	75	100	2	Intermediária	50	100	100	3	Suscetível
11	CNPH 416	0	0	40	1	Resistente	0	40	40	2	Intermediária
12	CNPH 418	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
13	CNPH 419	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
14	CNPH 420	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
15	CNPH 421	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
16	CNPH 423	0	20	40	1	Resistente	0	0	40	1	Resistente
17	CNPH 499	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
18	CNPH 504	0	0	20	1	Resistente	0	20	20	1	Resistente
19	CNPH 602	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
20	CNPH 610	0	40	60	2	Intermediária	0	0	60	2	Intermediária
21	CNPH 624	0	100	100	2	Intermediária	33	66	100	3	Suscetível
22	CNPH 638	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
23	CNPH 643	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
24	CNPH 649	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
25	CNPH 783	0	100	100	2	Intermediária	0	20	100	2	Intermediária
26	CNPH 784	0	100	100	2	Intermediária	0	80	100	2	Intermediária
27	CNPH 786	0	100	100	2	Intermediária	0	40	100	2	Intermediária
28	CNPH 789	0	60	100	2	Intermediária	0	60	100	2	Intermediária
29	CNPH 797	100	100	100	3	Suscetível	0	100	100	3	Suscetível
30	CNPH 798	0	40	80	2	Intermediária	0	20	80	2	Intermediária
31	CNPH 899	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
32	CNPH 900	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
33	CNPH 929	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
34	CNPH 931	0	80	80	2	Intermediária	0	80	80	2	Intermediária
35	CNPH 933	0	40	100	2	Intermediária	20	25	100	2	Intermediária
36	CNPH 935	0	20	60	2	Intermediária	0	0	60	2	Intermediária

37	CNPH 936	0	60	80	2	Intermediária	0	60	80	2	Intermediária
38	CNPH 937	20	60	80	2	Intermediária	40	80	80	3	Suscetível
39	CNPH 939	0	80	80	2	Intermediária	0	80	80	2	Intermediária
40	CNPH 940	0	100	100	2	Intermediária	0	25	100	2	Intermediária
41	CNPH 941	0	20	80	2	Intermediária	0	60	80	2	Intermediária
42	CNPH 981	40	60	60	2	Intermediária	0	20	60	2	Intermediária
43	CNPH 1040	0	20	20	1	Resistente	0	40	20	1	Resistente
44	CNPH 1121	0	0	0	1	Resistente	0	20	0	1	Resistente
45	CNPH 1124	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
46	CNPH 1143	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
47	CNPH 1194	0	60	60	2	Intermediária	0	60	60	2	Intermediária
48	CNPH 1277	0	60	60	2	Intermediária	0	25	60	2	Intermediária
49	CNPH 1394	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
50	Brh 1,2	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
51	Bhrs	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
52	Ciba	0	50	50	2	Intermediária	0	20	50	2	Intermediária
53	Drica	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
54	Floradade	0	0	0	1	Resistente	66	100	100	3	Suscetível
55	H7996	0	0	0	1	Resistente	0	20	20	1	Resistente
56	Ipa 5	0	0	0	1	Resistente	0	0	20	1	Resistente
57	Melancia	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
58	Ohio	0	0	0	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
59	Phylippio	0	25	25	1	Resistente	0	33	33	1	Resistente
60	<i>Physalis</i>	0	25	25	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
61	Pimenta Pimentão	33	75	100	2	Intermediária	0	0	40	1	Resistente
62	679	60	100	100	3	Suscetível	0	80	100	2	Intermediária
63	Ponderosa	0	0	20	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
64	Rutgers	0	20	20	1	Resistente	0	0	0	1	Resistente
65	Santa Clara	0	0	20	1	Resistente	0	20	20	1	Resistente
66	Yoshimatsu	0	0	0	1	Resistente	0	0	40	1	Resistente
67	CNPH 534	20	20	20	1	Resistente	0	0	20	1	Resistente

Dai – dias após a inoculação; Grau de R – grau de reação.

Neste lote observou-se que para 100 % de incidência, aos quatro dias de incubação, os genótipos que tiveram os menores períodos de incubação (2 dai) foram CNPH 409, CNPH 797, seguidos por CNPH 374 (4 dai) (Tabela 2.1).

Observou-se uma reação diferencial genótipos-isolados, onde 82,9 % dos genótipos tiveram a mesma classificação no grupo de reação, com os isolados dos dois grupos de compatibilidade. Esta pequena variação pode ser devida a uma série de fatores como a condição ambiental prevalente durante a execução de cada teste ou até mesmo esta variação

de virulência seja devido um caráter genótipo-isolado, que seria a hipótese inicial do trabalho (Tabela 2.1).

Neste primeiro lote avaliado observou-se que a maioria dos genótipos de *Lycopersicon* spp. foram classificados como resistentes aos dois isolados (A1 [41/67] e A2 [40/67]) de *P. capsici* (Tabelas 2.1 e 2.2).

**Tabela 2.2.** Distribuição dos genótipos de *Lycopersicon* nos grupos de reação inoculados com isolados de grupo de compatibilidade A1 e A2 no lote 1.

GC	Resistentes (R)	Intermediários (I)	Suscetíveis (S)
A1	CNPH 17, CNPH 19, CNPH 313, CNPH 382, CNPH 390, CNPH 402, CNPH 416, CNPH 418, CNPH 419, CNPH 420, 421, 423, 499, 504, 602, 638, 643, 649, 899, 900, 929, 1040, 1121, 1124, 1143, 1394, BRH 123, Bhrs 2,3, Drica, Floradade, H7996, Ipa 5, Melancia, Ohio, Phylippino, <i>Physalis</i> , Ponderosa, Rutgers, Santa Clara, Yoshimatsu, 534.	201, 410, 610, 624, 783, 784, 786, 789, 798, 931, 933, 935, 936, 937, 939, 940, 941, 981, 1194, 1277, Ciba, Pimenta.	374, 409, 797, Pimenta 679.
	<b>61%</b>	<b>33%</b>	<b>6%</b>
A2	17, 19, 313, 382, 390, 402, 418, 419, 420, 421, 423, 499, 504, 602, 638, 643, 649, 899, 900, 929, 1040, 1121, 1124, 1143, 1394, Brh123, Bhrs 2,3, Drica, H7996, Ipa 5, melancia, Ohio, Phylippino, <i>Physalis</i> , Pimenta, Ponderosa, Rutgers, Santa Clara, Yoshimatsu, 534	201, 416, 610, 783, 784, 786, 789, 798, 931, 933, 935, 936, 939, 940, 941, 981, 1194, 1277, Ciba, Pimenta 679,	374, 409, 410, 624, 797, 937, Floradade,
	<b>60 %</b>	<b>30%</b>	<b>10%</b>

GC – grupo de compatibilidade; números dos genótipos correspondem da códigos da coleção de germoplasma da Embrapa Hortaliças (CNPH).

As porcentagens de genótipos classificados como resistentes, intermediários e suscetíveis a *P. capsici* quando inoculados com isolado A1 foram de 61 %, 33 % e 6%, respectivamente. Quando inoculados com o isolado A2 foram de 60%, 30 % e 10%. Desta forma as porcentagens de ocorrências se mantiveram similares, porém não iguais, resultando em um coeficiente de correlação entre as reações dos grupos de compatibilidade no valor de  $r = 0,829$  (Tabela 2.2.).

Uma evidência da diversidade de comportamento dos materiais para cada GC é dada pelo genótipo “Floradade” que quando inoculado com A1 foi classificado como R, contudo

quando inoculado como A2 foi classificado como S. Já “CNPH 416” que foi classificado como R quando inoculado com A1 foi classificado como I quando inoculado com isolado A2. Os genótipos “CNPH 410”, “CNPH 624” e “CNPH 937” foram classificados como I quando inoculados com A1, contudo quando inoculados com isolado A2 foram classificados como S. E por fim, o “Pimentão 679” foi classificado como S quando inoculado com o isolado A1 e quando inoculado com o isolado A2 foi classificado como I (Tabela 2.2.). A repetição do experimento com alguns genótipos que apresentaram reação diferencial é necessária para confirmação da reação ligada ao tipo de isolado.

**Tabela 2.3.** Distribuição das espécies de *Lycopersicon* e outras plantas incorporadas no estudo, nos grupos de reação quando inoculados com o grupo de compatibilidade A1 e A2 no lote 1\*.

GC	Espécies	Resistentes	Intermediários	Suscetíveis	T
A1	<i>L. esculentum</i>	17, 19, 313, 390, 499, 504, 638, 643, 649, 899, 900, 1143, 1394, BRH 123, Bhrs, Drica, Floredade, H7996, Ipa 5, Ohio, Phylippino, Ponderosa, Ruthgers, Santa Clara, Yoshimatsu,	624, 1194,		27
	<i>L. peruvianum</i>	402, 602,	201, 610, 783, 784, 786, 798, 931, 933, 935, 936, 937, 939, 940, 941, 981, 1277,	374, 797,	20
	<i>L. pimppinnellifolium</i>	382, 418, 419, 1040, 1124,	789,		6
	<i>L. chilense</i>		410,		1
	<i>L. hirsuton</i>	416, 420, 421, 423, 929, 1121,			6
	<i>L. pennelli</i>			409	1
	<i>S. melongena</i>		Cica,		1
	<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia,			1
	<i>Physalis physalodes</i>	Physalis,			1
	<i>Capsicum chinense</i>		Pimenta.	Pimenta 679	2
<b>Total</b>		40	22	4	<b>66</b>
A2	<i>L. esculentum</i>	17, 19, 313, 390, 499, 504, 638, 643, 649, 899, 900, 1143, 1394, brh123, bhrs, drica, h7996, ipa 5, ohio, Phylippino, Ponderosa, Ruthgers, Santa Clara, Yoshimatsu,		624, Floredade,	27
	<i>L. peruvianum</i>	402, 602,	201, 610, 783, 784, 786, 798, 931, 933, 935, 936, 939, 940, 941, 981, 1194, 1277,	374, 797, 937,	20
	<i>L. pimppinnellifolium</i>	382, 418, 419, 1040, 1124,	789,		6
	<i>L. chilense</i>			410,	1
	<i>L. hirsuton</i>	420, 421, 423, 929, 1121,	416,		6
	<i>L. pennelli</i>			409,	1
	<i>S. melongena</i>		Cica,		1
	<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia,			1
	<i>Physalis physalodes</i>	Physalis,			1
	<i>Capsicum chinense</i>	Pimenta,	Pimenta 679,		2
<b>Total</b>		39	20	7	<b>66</b>

\*Números citados na tabela acima correspondem a números de ordem da coleção do CNPH; GC = grupo de compatibilidade; T= totais.

Neste primeiro lote foi testado, o maior número de representantes de *Lycopersicon* pertencem às espécies *L. esculentum* (20) e *L. peruvianum* (27) (Tabela 2.3.). Quando inoculados com os isolados A1 e A2, o maior número de genótipos resistentes encontram-se dentro da espécie *L. esculentum* (Tabela 2.3.).

**Tabela 2.4.** Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de *Lycopersicon* inoculados com isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A1 e A2 pertencentes no segundo lote.

Or	Genótipos	Grupo de Compatibilidade A1				Grupo de Compatibilidade A2					
		2 dai	4 dai	6 dai	Grau de R	Grupos de Reação	2 dai	4 dai	6 dai	Grau de R	Grupos de Reação
	Pim. Casca										
1	dura Ikeda	100	100	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
2	Viradouro	0	20	20	2	Resistente	40	60	60	2	Intermediário
3	Floradade	20	40	40	2	Resistente	0	60	60	2	Intermediário
4	Yoshimatsu	0	0	20	2	Resistente	20	20	20	3	Resistente
5	CNPH 4	50	75	75	3	Intermediário	50	100	100	1	Suscetível
6	CNPH 6	0	20	20	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
7	CNPH 7	20	20	20	2	Resistente	20	40	40	3	Resistente
8	CNPH 23	20	20	20	2	Resistente	0	60	60	2	Intermediário
9	CNPH 24	0	50	50	2	Resistente	0	0	80	3	Resistente
10	CNPH 30	0	0	0	2	Resistente	0	25	50	3	Resistente
11	CNPH 37	20	20	20	2	Resistente	40	60	60	2	Intermediário
12	CNPH 40	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
13	CNPH 45	20	20	40	2	Resistente	20	40	40	3	Resistente
14	CNPH 57	0	20	20	2	Resistente	40	40	60	2	Intermediário
15	CNPH 67	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
16	CNPH 93	0	20	20	2	Resistente	0	50	50	2	Intermediário
17	CNPH 095	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
18	CNPH 101	0	100	100	3	Intermediário	0	80	100	2	Intermediário
19	CNPH 102	0	0	0	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
20	CNPH 113	20	20	20	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
21	CNPH 117	0	0	0	2	Resistente	20	20	20	3	Resistente
22	CNPH 151	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
23	CNPH 156	0	0	0	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
24	CNPH 181	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
25	CNPH 182	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
26	CNPH 184	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
27	CNPH 202	0	0	20	2	Resistente	60	80	100	1	Suscetível
28	CNPH 268	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
29	CNPH 315	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
30	CNPH 387	20	20	20	2	Resistente	0	20	40	3	Resistente
31	CNPH 398	0	0	0	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
32	CNPH 399	0	40	40	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
33	CNPH 402	100	100	100	1	Suscetível	40	100	100	2	Intermediário
34	CNPH 404	40	60	60	3	Intermediário	60	60	80	2	Intermediário
35	CNPH 417	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
36	CNPH 420	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
37	CNPH 424	0	0	0	2	Resistente	20	20	20	3	Resistente
38	CNPH 487	0	20	20	2	Resistente	20	20	20	3	Resistente
39	CNPH 488	0	0	0	2	Resistente	20	60	60	2	Intermediário
40	CNPH 513	33	33	67	2	Resistente	100	100	100	1	Suscetível
41	CNPH 515	50	100	100	3	Intermediário	100	100	100	1	Suscetível

42	CNPH 605	40	80	80	3	Intermediário	100	100	100	1	Suscetível
43	CNPH 610	40	40	40	2	Resistente	60	100	100	1	Suscetível
44	CNPH 780	80	100	100	1	Suscetível	40	100	100	2	Intermediário
45	CNPH 781	60	100	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
46	CNPH 782	20	80	100	3	Intermediário	100	100	100	1	Suscetível
47	CNPH 783	60	60	100	1	Suscetível	80	100	100	1	Suscetível
48	CNPH 785	100	100	100	1	Suscetível	60	100	100	1	Suscetível
49	CNPH 786	40	40	50	2	Resistente	100	100	100	1	Suscetível
50	CNPH 787	40	60	80	3	Intermediário	80	100	100	1	Suscetível
51	CNPH 796	0	0	0	2	Resistente	20	20	20	3	Resistente
52	CNPH 800	50	50	100	3	Intermediário	100	100	100	1	Suscetível
53	CNPH 864	20	20	20	2	Resistente	80	80	100	1	Suscetível
54	CNPH 928	0	0	0	2	Resistente	0	20	20	3	Resistente
55	CNPH 932	60	80	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
56	CNPH 934	60	80	80	1	Suscetível	60	100	100	1	Suscetível
57	CNPH 842	75	75	75	1	Suscetível	60	100	100	1	Suscetível
58	CNPH 946	80	80	100	1	Suscetível	60	80	100	1	Suscetível
59	CNPH 947	80	80	100	1	Suscetível	75	100	100	1	Suscetível
60	CNPH 948	100	100	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
61	CNPH 979	0	100	100	3	Intermediário	33	67	100	2	Intermediário
62	CNPH 980	50	75	100	3	Intermediário	50	100	100	1	Suscetível
63	CNPH 1033	100	100	100	1	Suscetível	50	50	100	2	Intermediário
64	CNPH 1034	100	100	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
65	CNPH 1035	80	100	100	1	Suscetível	75	75	100	1	Suscetível
66	CNPH 1036	100	100	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
67	CNPH 1112	0	0	20	2	Resistente	40	40	40	3	Resistente
68	CNPH 1122	33	33	33	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
69	CNPH 1123	33	33	33	2	Resistente	40	40	40	3	Resistente
70	CNPH 1434	100	100	100	1	Suscetível	80	100	100	1	Suscetível
71	CNPH 1436	40	100	100	3	Intermediário	100	100	100	1	Suscetível
72	CNPH 1438	100	100	100	1	Suscetível	67	100	100	1	Suscetível
73	CNPH 1440	0	100	100	3	Intermediário	50	50	100	2	Intermediário
74	CNPH 1445	20	20	40	2	Resistente	40	80	100	2	Intermediário
75	CNPH 1447	0	0	100	2	Resistente	75	100	100	1	Suscetível
76	CNPH 1452	67	100	100	1	Suscetível	20	100	100	2	Intermediário
77	CNPH 1459	0	0	0	2	Resistente	0	0	0	3	Resistente
78	CNPH 1461	100	100	100	1	Suscetível	75	100	100	1	Suscetível
79	CNPH 1462	67	67	67	1	Suscetível	80	80	100	1	Suscetível
80	CNPH 1464	80	80	100	1	Suscetível	60	100	100	1	Suscetível
81	CNPH 1465	80	80	100	1	Suscetível	80	80	100	1	Suscetível
82	CNPH 1466	100	100	100	1	Suscetível	100	100	100	1	Suscetível
83	CNPH 1467	80	100	100	1	Suscetível	50	100	100	1	Suscetível
84	CNPH 1470	40	40	40	2	Resistente	100	100	100	1	Suscetível
85	CNPH 1471	40	100	100	3	Intermediário	100	100	100	1	Suscetível

Dai – dias após a inoculação; CNPH Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças.

Os genótipos pimentão Casca Dura Ikeda (controle), e os de *Lycopersicon* - CNPH 948, CNPH 1034 e CNPH 1036, foram os mais suscetíveis no lote testado, pois tiveram incidência de 100 %, quando inoculados pelos dois isolados testados, no primeiro dia de avaliação (dois dai) (Tabela 2.4.).

Ao compararmos a classe de reação dos genótipos perante os isolados testados notou-se que 21,7 % dos isolados tiveram a mesma classificação no grupo de reação, obviamente a variação foi de 78,3 %. Esta grande variação pode ser devido ao ambiente ou mesmo a variação de virulência (Tabela 2.4.). Neste segundo lote composto de outros genótipos (diferentes do lote 1) de *Lycopersicon* a variação foi muito superior ao primeiro, provavelmente os componentes do triângulo da doença atuaram mais efetivamente na expressão da resistência.

Neste segundo lote de avaliação, observou-se que os genótipos de *Lycopersicon* ficaram distribuídos em duas classes que foram os genótipos resistentes (A1 [47/85] e A2 [33/85]) e suscetíveis (A1 [25/85] e A2 [36/85]) quando inoculados com os grupos de compatibilidade A1 e A2 de *P. capsici* (Tabela 2.4.).

**Tabela 2.5.** Distribuição dos genótipos nos grupos de reação inoculados com isolados de grupo de compatibilidade A1 e A2 de *P. capsici* no segundo lote de avaliação.

GC	Resistentes	Intermediários	Suscetíveis
<b>A1</b>	Viradouro, Floradade, Yoshimatsu, 006, 007, 023, 024, 030, 037, 040, 045, 057, 067, 093, 095, 102, 113, 117, 151, 156, 181, 182, 184, 202, 268, 315, 387, 398, 399, 417, 420, 424, 487, 488, 513, 610, 786, 796, 864, 928, 1112, 1122, 1123, 1445, 1447, 1459, 1470.	004, 101, 404, 515, 605, 782, 787, 800, 979, 980, 1436, 1440, 1471.	Pim Ikeda, 402, 780, 781, 783, 785, 932, 934, 942, 946, 947, 948, 1033, 1034, 1035, 1036, 1434, 1438, 1452, 1461, 1462, 1464, 1465, 1466, 1467.
	55%	15%	30%
<b>A2</b>	Yoshimatsu, 006, 007, 024, 030, 040, 045, 067, 095, 102, 113, 117, 151, 156, 181, 182, 184, 268, 315, 387, 398, 399, 417, 420, 424, 487, 796, 928, 1112, 1122, 1123, 1459,	Viradouro, Floradade, 023, 037, 057, 093, 101, 402, 404, 488, 780, 979, 1033, 1440, 1445, 1452,	Pim. Ikeda, 004, 202, 513, 515, 605, 610, 781, 782, 783, 785, 786, 787, 800, 864, 932, 934, 942, 946, 947, 948, 980, 1034, 1035, 1036, 1434, 1436, 1438, 1447, 1461, 1462, 1464, 1465, 1466, 1467, 1470, 1471,
	39%	19%	42%

GC – grupo de compatibilidade; números dos genótipos correspondem aos códigos da coleção de germoplasma da Embrapa Hortaliças (CNPB).

As porcentagens de ocorrência de genótipos classificados como resistentes, intermediários e suscetíveis a *P. capsici* quando inoculados com isolado A1 foram de 55 %, 15 % e 30 %, respectivamente, quando inoculados com o isolado A2 foram de 39 %, 19 % e 42 %, respectivamente. Desta forma as porcentagens de ocorrências mais frequentes se distribuíram entre os genótipos resistentes e suscetíveis quando inoculados com ambos os isolados, demonstrando uma alta diversidade de reação dos genótipos aos isolados. O baixo coeficiente de correlação “r” não explica a diversidade de reação, sendo consequência da diversidade ( $r = 0,217$ ) (Tabela 2.5.). Quando observamos uma frequência maior de genótipos resistentes quando inoculamos com o isolado A1 e maior frequência de genótipos suscetíveis

quando inoculados com isolado A2, indicando uma possível reação diferencial ligada ao isolado de grupo de compatibilidade contrastante.

Os genótipos que não foram classificados na mesma classe de reação quando inoculados pelos dois isolados foram os genótipos “Viradouro”, “Floradade”, “CNPH 4”, “23”, “37”, “57”, “93”, “202”, “402”, “488”, “513”, “515”, “605”, “610”, “780”, “782”, “786”, “787”, “800”, “864”, “980”, “1033”, “1436”, “1445”, “1447”, “1452”, “1470” e “1471” (Tabela 2.5.).

**Tabela 2.6.** Distribuição das espécies de *Lycopersicon* e outras plantas incorporadas no estudo, nos grupos de reação quando inoculados com o grupo de compatibilidade A1 e A2 no segundo lote de avaliação\*.

GC	Espécies	Resistentes	Intermediários	Suscetíveis	T
A1	<i>Capsicum annuum</i>			Pim Ikeda,	1
	<i>L. esculentum</i>	Viradouro, Floradade, Yoshimatsu, 006, 007, 023, 024, 030, 037, 040, 045, 057, 067, 093, 113, 117, 151, 156, 181, 182, 184, 202, 268, 315, 387, 398, 399, 487, 488,	004, 404, 979, 980,	946, 947, 948,	36
	<i>L. peruvianum</i>	095, 102, 513, 610, 786, 796, 864, 1123, 1445, 1447, 1459, 1470.	101, 515, 782, 787, 800, 1436, 1440, 1471.	402, 780, 781, 783, 785, 932, 934, 942, 1035, 1036, 1434, 1438, 1452, 1461, 1462, 1464, 1465, 1466, 1467.	39
	<i>L. hirsutum</i>	417, 420, 424, 928, 1112, 1122,	605,	1034,	8
	<i>L. glandulosum</i>			1033,	1
<b>Total</b>		47	13	25	<b>84</b>
A2	<i>Capsicum annuum</i>			Pim. Ikeda,	1
	<i>L. esculentum</i>	Yoshimatsu, 006, 007, 024, 030, 040, 045, 067, 113, 117, 151, 156, 181, 182, 184, 268, 315, 387, 398, 399, 487,	Viradouro, Floradade, 023, 037, 057, 093, 404, 488, 979,	004, 202, 946, 947, 948, 980,	36
	<i>L. peruvianum</i>	095, 102, 796, 1123, 1459,	101, 402, 780, 1440, 1445, 1452,	513, 515, 610, 781, 782, 783, 785, 786, 787, 800, 864, 932, 934, 942, 1035, 1036, 1434, 1436, 1438, 1447, 1461, 1462, 1464, 1465, 1466, 1467, 1470, 1471,	39
	<i>L. hirsutum</i>	417, 420, 424, 928, 1112, 1122,		605, 1034,	8
	<i>L. glandulosum</i>		1033,		1
<b>Total</b>		32	16	37 (85)	<b>84</b>

\*Números citados na tabela acima correspondem a números de ordem da coleção do CNPH; GC – grupo de compatibilidade; T = totais.

Neste segundo lote de avaliação, o maior número de acessos encontram-se distribuídos em *L. esculentum* (36) e *L. peruvianum* (39) (Tabela 2.6.). Quando inoculados com os isolados A1 o maior número de genótipos encontrados foram classificados como resistentes, merecendo destaque espécie *L. esculentum*. Quando inoculamos os isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A2, o maior número de genótipos classificados como suscetíveis, pertencem a espécie *L. peruvianum* (Tabela 2.6.).

Observou-se nesta segunda avaliação, que os genótipos apresentaram menores períodos de incubação, assim a expressão de sintomas foi observada mais antecipadamente na segunda avaliação de lote do que no primeiro lote, indicando uma maior agressividades dos isolados nos genótipos avaliados.

A reação diferencial dos isolados no segundo lote de avaliação foi muito superior em relação ao primeiro lote. Vários fatores relacionados ao patógeno, ambiente e o própria planta hospedeira, podem explicar esta variação diferencial, não podendo assim se destacar um motivo pontual e decisivo que explique esta variação.

O número de genótipos no primeiro lote, classificados como resistentes (R) e suscetíveis (S), inoculados com os isolados A1 e A2, foi de 41 e 40 para R, e 04 e 07 para S. E o número de genótipos no segundo lote, sob as mesmas condições, foi de 47 e 32 para R e 25 e 27 para S. A maior frequência de genótipos com respostas R e S foi observada nas espécies *L. esculentum* e *L. peruvianum*, respectivamente.

Pela quantidade de genótipos suscetíveis, e pela reação diferencial o isolado A2 foi mais agressivo no segundo lote de avaliação, a mesma consideração não pode ser dada para os genótipos do primeiro lote de avaliação.

### 2.3.2 Reação de genótipos de *Cucurbita* spp. a *Phytophthora capsici*.

**Tabela 2.7.** Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de *Cucurbita maxima* e *C. moschata* inoculados com isolados de *P. capsici* pertencentes ao grupo de compatibilidade A1 e A2 pertencentes no primeiro lote.

Ord	Genótipos	Espécie	Grupo de compatibilidade A1					Grupo de compatibilidade A2				
			5 dai	7 dai	12 dai	Graus de Reação	Grupos de Reação	5 dai	7dai	12 dai	Graus de Reação	Grupos de Reação
1	Bag 88-0400	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
2	Mam 513	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	50,0	3	Intermediário	0,0	100,0	100,0	1	Intermediário
3	Mam 139	<i>C. maxima</i>	0	0	66,6	3	Intermediário	0,0	0,0	60,0	3	Resistente
4	Mam 121	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	0,0	0,0	0,0	3	Resistente
5	Bag 88-0172	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	0,0	0,0	0,0	3	Resistente
6	Mam 041	<i>C. maxima</i>	0,0	25,0	50,0	1	Resistente	0,0	0,0	0	3	Resistente
7	Bag 88-0085	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	75,0	100,0	100,0	2	Suscetível
8	Mam 567	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	0,0	0,0	50,0	3	Resistente
9	Bag 88-0083	<i>C. maxima</i>	0,0	50,0	50,0	1	Resistente	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
10	Bag 0081 ?	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
11	Bag 88-0211	<i>C. maxima</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
12	Bag 88-0179	<i>C. maxima</i>	50,0	50,0	50,0	1	Resistente	0,0	0,0	0,0	3	Resistente
13	Mam 0140	<i>C. maxima</i>	40,0	40,0	60,0	1	Resistente	20,0	60,0	60,0	1	Intermediário
14	Bag 88-0034	<i>C. maxima</i>	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
15	Bag 88-0035	<i>C. maxima</i>	0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
16	Mam 141	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
17	Mam 144	<i>C. maxima</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
18	Bag 88-0084	<i>C. maxima</i>	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
19	Bag 88-0065	<i>C. maxima</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
20	Bag 88-0088	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	100,0	100,0	1	Intermediário
21	Mam 574	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	50,0	3	Resistente
22	Bag 88-0082	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
23	Mam 88-513	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
24	Bag 88-0177	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
25	Mam 086 Phy	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	0,0	3	Resistente
26	Bag 88-0623	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
27	Bag 88-0375	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
28	Bag 88-0090	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0	0	100,0	2	Suscetível
29	Bag 88-0099	<i>C. maxima</i>	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
30	Bag 88-0087	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
31	Bag 88-0037	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
32	Bag 88-0643	<i>C. maxima</i>	0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
33	Mam 0670	<i>C. maxima</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
34	Bag 89-0664	<i>C. maxima</i>	50,0	50,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
35	Bag 88-0053	<i>C. maxima</i>	60,0	100,0	100,0	2	Suscetível	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
36	Bag 88-0032	<i>C. maxima</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
37	Bag 88-0089	<i>C. maxima</i>	0	0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
38	Bag 90-746	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
39	Bag 88-0008	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
40	Man 167	<i>C. moschata</i>	0,0	0	0	3	Resistente	0,0	0	0	3	Resistente
41	Bag 88-0021	<i>C. moschata</i>	50	50	100	3	Intermediário	50,0	50,0	100,0	1	Intermediário
42	Bag 88-0031	<i>C. moschata</i>	0,0	50,0	100,0	3	Intermediário	0	100,0	100,0	2	Suscetível
43	Bag 89-0660	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	0,0	0,0	0,0	3	Resistente
44	Mam 164	<i>C. moschata</i>	0,0	0	0	3	Intermediário	0,0	50,0	100,0	1	Intermediário
45	Bag 88-0020	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	60,0	60,0	80,0	2	Suscetível
46	Bag 89-0683	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	50,0	3	Intermediário	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário

47	Bag 97-1871	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	50,0	3	Intermediário	0,0	0	0	3	Resistente
48	Bag 88-0014	<i>C. moschata</i>	0,0	50,0	100,0	3	Intermediário	50,0	50,0	50,0	1	Intermediário
49	Bag 98-2436	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	0,0	50,0	100,0	1	Intermediário
50	Bag 88-0052	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	100,0	3	Intermediário	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
51	Bag 88-0019	<i>C. moschata</i>	0,0	0	0	3	Intermediário	0,0	0	100,0	1	Intermediário
52	Bag 88-0075	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	50,0	3	Intermediário	50,0	50,0	100,0	1	Intermediário
53	Bag 88-0605	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	50,0	3	Intermediário	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
54	Bag 88-0012	<i>C. moschata</i>	0,0	60,0	100	1	Resistente	50,0	50,0	100,0	1	Intermediário
55	Bag 90-0750	<i>C. moschata</i>	0,0	50,0	50,0	1	Resistente	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
56	Bag 88-0017	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	20,0	1	Resistente	0,0	50,0	100,0	1	Intermediário
57	Bag 88-0011	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
58	Mam 577	<i>C. moschata</i>	0,0	20,0	40,0	1	Resistente	0,0	0,0	50,0	3	Resistente
59	Mam 095	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	0,0	50,0	50,0	1	Intermediário
60	Bag 98-2377	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	0,0	100,0	100,0	1	Intermediário
61	Bag 88-0627	<i>C. moschata</i>	0,0	25,0	25,0	1	Resistente	0,0	0	100,0	1	Intermediário
62	Mam 576	<i>C. moschata</i>	0,0	0,0	0,0	1	Resistente	0,0	50,0	50,0	1	Intermediário
63	Bag 88-0007	<i>C. moschata</i>	40,0	40,0	40,0	1	Resistente	0,0	40,0	100,0	1	Intermediário
64	Bag 98-2454	<i>C. moschata</i>	50,0	50,0	50,0	1	Resistente	0,0	50,0	50,0	1	Intermediário
65	Mam 0142	<i>C. moschata</i>	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
66	Bag 88-0015	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
67	Bag 88-0013	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
68	Bag 88-0036	<i>C. moschata</i>	0	0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
69	Bag 88-0018	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0	100,0	1	Intermediário
70	Mam 508	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
71	Bag 90-0747	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
72	Bag 88-0009	<i>C. moschata</i>	0	0	100,0	2	Suscetível	0	0	100,0	2	Suscetível
73	Bag 88-0025	<i>C. moschata</i>	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível	20,0	100,0	100,0	1	Intermediário
74	Bag 88-0023	<i>C. moschata</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	50,0	100,0	100,0	2	Suscetível
75	Bag 88-0016	<i>C. moschata</i>	0	0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	40,0	3	Resistente
76	Mam 740	<i>C. moschata</i>	80,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	0,0	3	Resistente
77	Bag 88-0022	<i>C. moschata</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
78	Bag 88-0024	<i>C. moschata</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
79	Bag 98-2460	<i>C. moschata</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	50,0	100,0	1	Intermediário
80	Bag 88-2459	<i>C. moschata</i>	50,0	50,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
81	bag 88-0074	<i>C. moschata</i>	50,0	50,0	100,0	2	Suscetível	0,0	100,0	100,0	1	Intermediário
82	Bag 96-1547	<i>C. moschata</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	100,0	100,0	1	Intermediário
83	Bag 89-0659	<i>C. moschata</i>	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
84	Bag 88-0127	<i>C. moschata</i>	50,0	50,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
85	Bag 88-0051	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	50,0	50,0	50,0	1	Intermediário
86	Bag 88-0589	<i>C. moschata</i>	50,0	50,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
87	Bag 96-1546	<i>C. moschata</i>	0,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
89	90-91 Phyt Selecionado	N/D	20,0	20,0	20,0	1	Resistente	0,0	0,0	100,0	1	Intermediário
90	047 Phyt	N/D	40,0	40,0	40,0	1	Resistente	20,0	40,0	60,0	1	Intermediário
94	136 Phyt	N/D		40,0	40,0	1	Resistente	0,0		50,0	3	Resistente
88	010 Phyt	N/D	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	80,0	100,0	100,0	2	Suscetível
91	015 Phyt	N/D	60,0	80,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
92	156 Phyt	N/D	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
93	045 Phyt	N/D	80,0	80,0	100,0	2	Suscetível	100,0	100,0	100,0	2	Suscetível
95	92-038 Phyt	N/D	40,0	100,0	100,0	2	Suscetível	80,0	100,0	100,0	2	Suscetível
			Resistente		21/95	22,1 %			15/95	15,8 %		
			Intermediário		52/95	23,2 %			33/95	34,7 %		
			Suscetível		22/95	54,7 %			47/95	49,5 %		
<i>C. moschata</i>		Resistente	11/50		22%		<i>C. moschata</i>		Resistente	6/50	12%	
		Intermediário	16/50		32%				Intermediário	27/50	54%	
		Suscetível	23/50		46%				Suscetível	17/50	34%	
<i>C. maxima</i>		Resistente	8/37		21.60%		<i>C. maxima</i>		Resistente	8/37	21.60%	

Intermediário	5/37	13.50%	Intermediário	4/37	10.80%
Suscetível	24/37	64.90%	Suscetível	25/37	67.60%

Dai – dias após a inoculação; Bag Banco ativo de germoplasma; Mam melhoramento de abóbora e moranga; Ord – ordem.

Neste primeiro lote de avaliação 22 % e 15,6 % dos genótipos foram classificados como resistentes quando inoculados com o isolado de *P. capsici* pertencente ao grupo de compatibilidade A1 e A2, respectivamente. Observou-se que a grande maioria dos genótipos foram classificados como suscetíveis (54,7% A1 e 49,5% A2) a *P. capsici* quando inoculados com isolados pertencentes a ambos os grupos de compatibilidade (Tabela 2.7.).

Houve bastante reação diferencial dos genótipos perante os isolados, não havendo correlação significativa neste primeiro lote de avaliação entre os graus de reação e os isolados. Contudo os genótipos que concomitantemente foram classificados como resistentes aos isolados (A1 e A2) foram Mam 041, Mam 577, Mam 567, Bag 88-179, e 136 Phyt. Através da incidência da doença, verificou-se entre os genótipos que o isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A2 foram mais agressivos neste primeiro lote de avaliação de *Cucurbita*.

A não infecção por nenhum dos isolados nos genótipos, pode ser considerada como uma reação de imunidade, e esta foi observada para o genótipo Man 167. Houve reação diferencial observada para alguns genótipos que foram classificados como sensíveis quando inoculados com o isolado A1, contudo quando inoculados com o isolado A2 não apresentaram incidência da doença para os genótipos Man 121, Bag 88-0172, Mam 041, Bag 88-0179, Mam 086. Já a reação diferencial ficou marcada para alguns genótipos que foram classificados como suscetíveis quando inoculados com o isolado A2, contudo quando inoculados com o isolado A1 não apresentaram incidência da doença para os genótipos Bag 88-0085, Bag 0081, Bag 88-0211, Man 164, Bag 88-0011, Mam 095, Bag 98-2377, Mam 576.

A porcentagem de ocorrência de genótipos suscetíveis foi sempre maior do que os genótipos intermediários e resistentes, para as espécies *C. moschata* (A1-46% e A2-49,5%) e *C. maxima* (A1-64,9% e A2-67%) (Tabela 2.7).

**Tabela 2.8.** Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de *Cucurbita maxima* e *C. moschata* inoculados com isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1 no segundo lote de avaliação.

Ord	Genótipos	Espécies	10 dai	14 dai	19 dai	Graus de Reação	Grupos de Reação
1	Bag 880394	<i>C. maxima</i>	0	100	100	2	Resistente
2	Bag 880393	<i>C. maxima</i>	0	100	100	2	Resistente
3	Bag 880435	<i>C. maxima</i>	0	100	100	2	Resistente
4	Bag 880356	<i>C. maxima</i>	43	100	100	2	Resistente
5	Bag 880356	<i>C. maxima</i>	43	100	100	2	Resistente
6	Bag 890689	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
7	Bag 880195	<i>C. maxima</i>	80	100	100	1	Suscetível
8	Bag 880189	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
9	Bag 890690	<i>C. maxima</i>	86	87	100	1	Suscetível
10	Bag 880395	<i>C. maxima</i>	75	75	100	1	Suscetível
11	Bag 880392	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
12	Bag 880391	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
13	Bag 880390	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
14	Bag 880389	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
15	Bag 880429	<i>C. maxima</i>	75	100	100	1	Suscetível
16	Bag 880424	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
17	Bag 880114	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
18	Bag 880104	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
19	Bag 880106	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
20	Bag 880113	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
21	Bag 880109	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
22	Bag 880115	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
23	Bag 880374	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
24	Bag 880100	<i>C. maxima</i>	86	100	100	1	Suscetível
25	Bag 880111	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
26	Bag 880101	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
27	Bag 880162	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
28	Bag 880161	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
29	Bag 880091	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
30	Bag 880097	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
31	Bag 880098	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
32	Bag 880434	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
33	Bag 880066	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
34	Bag 920829	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
35	Bag 890666	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
36	Bag 880076	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
37	Bag 920849	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
38	Bag 880354	<i>C. maxima</i>	71	100	100	1	Suscetível
39	Bag 880027	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
40	Bag 880355	<i>C. maxima</i>	88	100	100	1	Suscetível
41	Bag 890667	<i>C. maxima</i>	67	100	100	1	Suscetível

42	Bag 900756	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
43	Bag 880374	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
44	Bag 880100	<i>C. maxima</i>	86	100	100	1	Suscetível
45	Bag 880111	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
46	Bag 880101	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
47	Bag 880162	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
48	Bag 880161	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
49	Bag 880091	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
50	Bag 880097	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
51	Bag 880098	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
52	Bag 880434	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
53	Bag 880066	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
54	Bag 920829	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
55	Bag 890666	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
56	Bag 880076	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
57	Bag 920849	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
58	Bag 880354	<i>C. maxima</i>	71	100	100	1	Suscetível
59	Bag 880027	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
60	Bag 880355	<i>C. maxima</i>	88	100	100	1	Suscetível
61	Bag 890667	<i>C. maxima</i>	67	100	100	1	Suscetível
62	Bag 900756	<i>C. maxima</i>	100	100	100	1	Suscetível
63	Bag 880107	<i>C. moschata</i>	75	100	100	1	Suscetível
64	Bag 880102	<i>C. moschata</i>	0	100	100	2	Resistente
65	Bag 880042	<i>C. moschata</i>	0	100	100	2	Resistente
66	Bag 880042	<i>C. moschata</i>	0	100	100	2	Resistente
					7/66	10.60%	
Resistente					59/66	89.40%	
					3/4	75%	
<i>C. moschata</i> Resistente					1/4	25%	
					5/62	8%	
<i>C. maxima</i> Resistente					57/62	92%	
<i>C. maxima</i> Suscetível							

Dai – dias após a inoculação; Bag Banco ativo de germoplasma;

Neste segundo lote de avaliação também observou-se uma maior porcentagem de genótipos classificados como suscetíveis (89,4 %) (Tabela 2.8).

Ao analisar o progresso da incidência da doença, os genótipos classificados como resistentes foram os que tiveram os menores períodos de incubação. Vale a pena ressaltar que 100 % dos genótipos avaliados, neste lote, foram infectados por *P. capsici*, não sendo encontrada reação de imunidade ou elevada resistência (Tabela 2.8).

Dos quatro genótipos de *C. moschata* avaliados 75% foram classificados como resistentes. Já para *C. maxima* 92% dos genótipos foram classificados como suscetíveis,

indicando a necessidade de testes mais aprofundados para verificar se *C. moschata* apresenta mais genes de resistência que *C. maxima* (Tabela 2.8).

**Tabela 2.9.** Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de *Cucurbita maxima* e *C. moschata* inoculados com isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A1 e A2 pertencentes no terceiro lote.

Or	Genótipos	Espécie	Grupo de Compatibilidade A1					Grupo de Compatibilidade A2						
			2 dai	4 dai	6 dai	Grau de Reação	Grupo de Reação	Genótipos	Espécie	2 dai	4 dai	6 dai	Grau de Reação	Grupo de Reação
1	Bag 920856	<i>C. maxima</i>	50	50	100	1	Intermediário	Bag 880163	<i>C. maxima</i>	13	63	88	1	Intermediário
2	Bag 880170	<i>C. maxima</i>	20	60	100	1	Intermediário	Bag 880192	<i>C. maxima</i>	0	38	88	1	Intermediário
3	Bag 880188	<i>C. maxima</i>	25	63	100	1	Intermediário	Bag 880194	<i>C. maxima</i>	0	57	100	1	Intermediário
4	Bag 95-0888	<i>C. maxima</i>	25	75	100	1	Intermediário	Bag 880188	<i>C. maxima</i>	0	57	75	1	Intermediário
5	Bag 950901	<i>C. maxima</i>	0	75	88	1	Intermediário	Bag 880204	<i>C. maxima</i>	13	88	100	1	Intermediário
6	Bag 880174	<i>C. maxima</i>	29	86	100	1	Intermediário	Bag 880713	<i>C. maxima</i>	0	67	100	1	Intermediário
7	Bag 880213	<i>C. maxima</i>	25	75	75	1	Intermediário	Bag 950901	<i>C. maxima</i>	25	100	100	1	Intermediário
8	Bag 880246	<i>C. maxima</i>	25	75	100	1	Intermediário	Bag 880174	<i>C. maxima</i>	33	63	100	1	Intermediário
9	Bag 88-0301	<i>C. maxima</i>	33	89	100	1	Intermediário	Bag 880213	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário
10	Bag 88-0302	<i>C. maxima</i>	14	86	86	1	Intermediário	Bag 880246	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário
11	Bag 88-0309	<i>C. maxima</i>	43	86	86	1	Intermediário	Bag 88-0300	<i>C. maxima</i>	0	86	100	1	Intermediário
12	Bag 880297	<i>C. maxima</i>	20	70	100	1	Intermediário	Bag 88-0306	<i>C. maxima</i>	29	100	100	1	Intermediário
13	Bag 880421	<i>C. maxima</i>	25	88	100	1	Intermediário	Bag 890688	<i>C. maxima</i>	0	67	100	1	Intermediário
14	Bag 880397	<i>C. maxima</i>	33	89	100	1	Intermediário	Bag 890691	<i>C. maxima</i>	11	44	100	1	Intermediário
15	Bag 880398	<i>C. maxima</i>	0	86	100	1	Intermediário	Bag 890693	<i>C. maxima</i>	0	67	89	1	Intermediário
16	Bag 880218	<i>C. maxima</i>	25	100	100	1	Intermediário	Bag 890692	<i>C. maxima</i>	0	56	78	1	Intermediário
17	Bag 98-2478	<i>C. maxima</i>	11	100	100	1	Intermediário	Bag 880401	<i>C. maxima</i>	25	88	88	1	Intermediário
18	Bag 880414	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário	Bag 880397	<i>C. maxima</i>	0	11	100	1	Intermediário
19	Bag 880416	<i>C. maxima</i>	0	89	100	1	Intermediário	Bag 880398	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário
20	Bag 880419	<i>C. maxima</i>	0	75	100	1	Intermediário	Bag 880399	<i>C. maxima</i>	0	11	100	1	Intermediário
21	Bag 880422	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário	Bag 880217	<i>C. maxima</i>	13	100	100	1	Intermediário
22	Bag 880225	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário	Bag 880218	<i>C. maxima</i>	0	80	100	1	Intermediário
23	Bag 880227	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário	Bag 880416	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário
24	Bag 880230	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário	Bag 880431	<i>C. maxima</i>	25	50	100	1	Intermediário
25	Bag 88-0468	<i>C. maxima</i>	22	78	100	1	Intermediário	Bag 880419	<i>C. maxima</i>	0	29	100	1	Intermediário
26	Bag 890895	<i>C. maxima</i>	0	50	67	2	Resistente	Bag 880396	<i>C. maxima</i>	0	67	100	1	Intermediário
27	Bag 880173	<i>C. maxima</i>	33	33	100	2	Resistente	Bag 880422	<i>C. maxima</i>	25	50	100	1	Intermediário
28	Bag 880163	<i>C. maxima</i>	25	38	88	2	Resistente	Bag 880227	<i>C. maxima</i>	0	63	100	1	Intermediário
29	Bag 880192	<i>C. maxima</i>	0	50	100	2	Resistente	Bag 880230	<i>C. maxima</i>	17	33	100	1	Intermediário
30	Bag 880194	<i>C. maxima</i>	17	33	100	2	Resistente	Bag 88-0468	<i>C. maxima</i>	0	33	100	1	Intermediário
31	Bag 880204	<i>C. maxima</i>	25	50	100	2	Resistente	Bag 98-2521	<i>C. maxima</i>	0	67	100	1	Intermediário
32	Bag 880713	<i>C. maxima</i>	0	0	100	2	Resistente	Bag 98-2518	<i>C. maxima</i>	0	60	100	1	Intermediário
33	Bag 88-0306	<i>C. maxima</i>	0	40	80	2	Resistente	Bag 98-2515	<i>C. maxima</i>	11	100	100	1	Intermediário
34	Bag 890688	<i>C. maxima</i>	13	50	100	2	Resistente	Bag 98-0474	<i>C. maxima</i>	13	75	100	1	Intermediário
35	Bag 890691	<i>C. maxima</i>	0	56	100	2	Resistente	Bag 88-0473	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário
36	Bag 890693	<i>C. maxima</i>	0	44	100	2	Resistente	Bag 88-0472	<i>C. maxima</i>	0	56	100	1	Intermediário
37	Bag 890692	<i>C. maxima</i>	0	22	89	2	Resistente	Bag 88-0471	<i>C. maxima</i>	0	44	100	1	Intermediário
38	Bag 880401	<i>C. maxima</i>	14	43	100	2	Resistente	Bag 88-0470	<i>C. maxima</i>	0	50	88	1	Intermediário
39	Bag 880399	<i>C. maxima</i>	11	44	100	2	Resistente	Bag 880220	<i>C. maxima</i>	0	100	100	1	Intermediário
40	Bag 880217	<i>C. maxima</i>	25	13	100	2	Resistente	Bag 98-2494	<i>C. maxima</i>	0	71	100	1	Intermediário
41	Bag 880431	<i>C. maxima</i>	0	50	100	2	Resistente	Bag 88-0479	<i>C. maxima</i>	29	86	100	1	Intermediário
42	Bag 880396	<i>C. maxima</i>	0	56	100	2	Resistente	Bag 88-0476	<i>C. maxima</i>	11	78	100	1	Intermediário
43	Bag 880165	<i>C. maxima</i>	75	75	75	3	Suscetível	Bag 880173	<i>C. maxima</i>	20	20	20	3	Resistente
44	Bag 950906	<i>C. maxima</i>	50	75	88	3	Suscetível	Bag 88-0299	<i>C. maxima</i>	13	25	75	3	Resistente
45	Bag 880210	<i>C. maxima</i>	50	100	100	3	Suscetível	Bag 880421	<i>C. maxima</i>	1	56	11	3	Resistente
46	Bag 880212	<i>C. maxima</i>	57	71	100	3	Suscetível	Bag 98-2482	<i>C. maxima</i>	0	14	43	3	Resistente
47	Bag 88-0299	<i>C. maxima</i>	57	75	100	3	Suscetível	Bag 890895	<i>C. maxima</i>	38	100	100	2	Suscetível
48	Bag 88-0300	<i>C. maxima</i>	50	90	100	3	Suscetível	Bag 920856	<i>C. maxima</i>	100	100	100	2	Suscetível
49	Bag 88-0307	<i>C. maxima</i>	100	100	100	3	Suscetível	Bag 880170	<i>C. maxima</i>	63	75	88	2	Suscetível
50	Bag 98-2510	<i>C. maxima</i>	83	100	100	3	Suscetível	Bag 880165	<i>C. maxima</i>	75	75	100	2	Suscetível
51	Bag 880169	<i>C. moschata</i>	25	63	75	1	Intermediário	Bag 95-0888	<i>C. maxima</i>	50	88	100	2	Suscetível
52	Bag 880176	<i>C. moschata</i>	33	83	100	1	Intermediário	Bag 950906	<i>C. maxima</i>	63	100	100	2	Suscetível
	Resistente				15/52	32.70%		53 Bag 880210	<i>C. maxima</i>	75	100	100	2	Suscetível
	Intermediário				8/52	15.40%		54 Bag 880212	<i>C. maxima</i>	50	100	100	2	Suscetível
	Suscetível				27/52	66.20%		55 Bag 88-0301	<i>C. maxima</i>	44	89	100	2	Suscetível
	<i>C. moschata</i>	Intermediário			2/2	100%		56 Bag 88-0302	<i>C. maxima</i>	78	89	100	2	Suscetível
	<i>C. maxima</i>	Resistente			17/50	34%		57 Bag 88-0307	<i>C. maxima</i>	88	100	100	2	Suscetível
		Intermediário			26/50	52%		58 Bag 88-0309	<i>C. maxima</i>	75	88	100	2	Suscetível
		Suscetível			7/50	14%		59 Bag 880297	<i>C. maxima</i>	38	100	88	2	Suscetível
								60 Bag 98-2478	<i>C. maxima</i>	43	86	100	2	Suscetível
								61 Bag 98-2510	<i>C. maxima</i>	100	86	100	2	Suscetível
								62 Bag 880414	<i>C. maxima</i>	67	100	100	2	Suscetível
								63 Bag 880225	<i>C. maxima</i>	50	100	100	2	Suscetível
								64 Bag 880169	<i>C. moschata</i>	29	86	100	1	Intermediário
								65 Bag 880176	<i>C. moschata</i>	50	75	100	2	Suscetível
								Resistente				3/65	4.60%	
								Intermediário				43/65	66.20%	
								Suscetível				19/65	29.20%	
								<i>C. moschata</i>	Resistente					
									Intermediário			1/2	50%	
									Suscetível			1/2	50%	
								<i>C. maxima</i>	Resistente			4/65	6%	
									Intermediário			43/65	66%	
									Suscetível			18/65	28%	

Dai – dias após a inoculação;

Bag Banco ativo de germoplasma;

Neste primeiro lote de avaliação 32,7 % e 4,6 % dos genótipos foram classificados como resistentes quando inoculados com o isolado de *P. capsici* pertencente ao grupo de compatibilidade A1 e A2, respectivamente. Observou-se que a grande maioria dos genótipos foram classificados como suscetíveis (66,2%), quando inoculados com o grupo de compatibilidade A1, havendo resultado diferenciado para os genótipos inoculados com o isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A2, sendo a maioria classificado como sendo intermediários (66,2%). Vale a pena lembrar que 13 genótipos não foram avaliados quando inoculados com o grupo de compatibilidade A1, sendo a frequência calculada com base nas reações dos genótipos existentes (52 A1 e 65 A2) (Tabela 2.9).

Todos os genótipos foram infectados pelos isolados obtendo incidências da doença aos 3 dias 67-100% (A1) e 20-100% (A2), respectivamente (Tabela 2.9). Não observou-se deste modo reação de imunidade entre os genótipos.

O genótipo que concomitantemente foi classificado como resistente aos isolados (A1 e A2) foi Bag 890895. Aparentemente a agressividade dos isolados pertencentes aos grupos de compatibilidade A1 e A2 não foi diferenciada neste terceiro lote de avaliação (Tabela 2.9).

Houve pequena reação diferencial em alguns genótipos que foram classificados como suscetíveis quando inoculados com o isolado A1, contudo quando inoculados com o isolado A2 foram classificados em outro grupo de reação (diferente de S) sendo representados por Bag 88-0299 e Bag 88-0300. Os genótipos que foram classificados como suscetíveis quando inoculados pelos dois grupos de compatibilidade foram Bag 880165, Bag 950906, Bag 880210, Bag 880212, Bag 980307, Bag 98-2510 (Tabela 2.9).

Para a espécie *C. maxima* houve maior porcentagem de ocorrência de genótipos intermediários (A1-52% e A2-66%) (Tabela 2.9).

**Tabela 2.10.** Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de *Cucurbita maxima* e *C. moschata* inoculados com isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1 no quarto lote de avaliação.

Ord	Genótipos	Espécie	2 dai	4 dai	6 dai	8 dai	10 dai	12 dai	19 dai	28 dai	Graus de Reação	Grupos de Reação
1	Bag 910781	<i>C. maxima</i>	0	0	67	67	67	67	67	67	2	Intermediário
2	Bag 88-01	<i>C. maxima</i>	0	0	25	25	50	50	100	100	2	Intermediário
3	Bag 88-01	<i>C. maxima</i>	50	50	50	50	100	100	100	100	2	Intermediário
4	Bag 88-01	<i>C. maxima</i>	0	0	50	50	50	50	50	100	2	Intermediário
5	Bag 95-1055	<i>C. maxima</i>	0	0	40	60	80	100	100	100	2	Intermediário
6	Bag 95-1350	<i>C. maxima</i>	0	0	60	80	100	100	100	100	2	Intermediário
7	Bag 95-1349	<i>C. maxima</i>	0	0	60	60	60	60	60	100	2	Intermediário
8	Bag 951347	<i>C. maxima</i>	0	0	60	80	100	100	100	100	2	Intermediário
9	Bag 88-0289	<i>C. maxima</i>	0	25	50	50	75	75	100	100	2	Intermediário
10	Bag 88-0274	<i>C. maxima</i>	0	0	20	100	100	100	100	100	2	Intermediário
11	Bag 88-0275	<i>C. maxima</i>	0	20	40	60	80	100	100	100	2	Intermediário
12	Bag 88-0278	<i>C. maxima</i>	0	20	60	60	100	100	100	100	2	Intermediário
13	Bag 88-0283	<i>C. maxima</i>	0	0	40	60	60	60	100	100	2	Intermediário
14	Bag 95-1024	<i>C. maxima</i>	0	0	80	80	100	100	100	100	2	Intermediário
15	Bag 951020	<i>C. maxima</i>	0	0	50	75	100	100	100	100	2	Intermediário
16	Bag 951351	<i>C. maxima</i>	0	20	67	67	67	67	100	100	2	Intermediário
17	Bag 95-1354	<i>C. maxima</i>	0	0	60	100	100	100	100	100	2	Intermediário
18	Bag 88-0296	<i>C. maxima</i>	0	0	20	20	60	100	100	100	2	Intermediário
19	Bag 88-0284	<i>C. maxima</i>	0	0	40	40	100	100	100	100	2	Intermediário
20	Bag 88-01	<i>C. maxima</i>	0	0	20	20	40	40	100	100	2	Intermediário
21	Bag 88-01	<i>C. maxima</i>	0	0	60	80	100	100	100	100	2	Intermediário
22	Bag 951099	<i>C. maxima</i>	0	0	40	60	80	100	100	100	2	Intermediário
23	Bag 88-0314	<i>C. maxima</i>	0	0	60	100	100	100	100	100	2	Intermediário
24	Bag 890672	<i>C. maxima</i>	0	20	60	80	100	100	100	100	2	Intermediário
25	Bag 98-2463	<i>C. maxima</i>	0	20	60	80	100	100	100	100	2	Intermediário
26	Bag 890666	<i>C. maxima</i>	0	0	20	20	60	60	80	80	2	Intermediário
27	Bag 920840	<i>C. maxima</i>	0	0	20	60	60	80	80	100	2	Intermediário
28	Bag 920840	<i>C. maxima</i>	0	40	60	60	60	80	100	100	2	Intermediário
29	Bag 910810	<i>C. maxima</i>	0	0	50	100	100	100	100	100	2	Intermediário
30	Bag 920840	<i>C. maxima</i>	0	0	60	100	100	100	100	100	2	Intermediário
31	Bag 89-0680	<i>C. maxima</i>	0	20	40	33	40	60	60	80	2	Intermediário
32	Bag 89-0673	<i>C. maxima</i>	0	0	25	25	100	100	100	100	2	Intermediário
33	Bag 88038	<i>C. maxima</i>	0	0	60	60	80	80	80	100	2	Intermediário
34	Bag 89-0674	<i>C. maxima</i>	0	0	80	80	100	100	100	100	2	Intermediário
35	Bag 89-0672	<i>C. maxima</i>	0	0	20	60	100	100	100	100	2	Intermediário
36	Bag 89-0663	<i>C. maxima</i>	0	20	40	60	100	100	100	100	2	Intermediário
37	Bag 89-0661	<i>C. maxima</i>	0	40	40	60	60	80	80	80	2	Intermediário
38	Bag 88-0493	<i>C. maxima</i>	0	40	60	60	100	100	100	100	2	Intermediário
39	Bag 88-0491	<i>C. maxima</i>	0	20	80	80	80	80	80	100	2	Intermediário
40	Bag 88-0488	<i>C. maxima</i>	0	0	20	60	60	60	60	80	2	Intermediário
41	Bag 88-0487	<i>C. maxima</i>	0	20	40	40	100	100	100	100	2	Intermediário
42	Bag 88-0486	<i>C. maxima</i>	0	40	60	60	100	100	100	100	2	Intermediário
43	Bag 88-0480	<i>C. maxima</i>	0	40	60	60	80	100	100	100	2	Intermediário
44	Bag 88037	<i>C. maxima</i>	0	20	40	80	100	100	100	100	2	Intermediário
45	Bag 88038	<i>C. maxima</i>	0	20	80	80	80	80	100	100	2	Intermediário
46	Bag 88-0001	<i>C. maxima</i>	0	20	33	33	33	100	100	100	2	Intermediário
47	Bag 89066	<i>C. maxima</i>	0	0	40	40	40	40	40	60	3	Resistente
48	Bag 88-0291	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0	0	0	0	40	3	Resistente
49	Bag 88-0290	<i>C. maxima</i>	0	0	0	20	40	60	60	60	3	Resistente
50	Bag 88-0010	<i>C. maxima</i>	0	0	20	20	20	60	80	80	3	Resistente

51	Bag 920850	<i>C. maxima</i>	0	0	0	25	50	50	50	75	3	Resistente
52	Bag 920830	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0	0	0	67	67	3	Resistente
53	Bag 920831	<i>C. maxima</i>	0	0	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
54	Bag 88-01	<i>C. maxima</i>	0	0	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
55	Bag 951348	<i>C. maxima</i>	0	20	80	80	100	100	100	100	1	Suscetível
56	Bag 88-0286	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
57	Bag 88-0276	<i>C. maxima</i>	0	40	80	80	80	80	80	80	1	Suscetível
58	Bag 88-0282	<i>C. maxima</i>	0	20	80	80	100	100	100	100	1	Suscetível
59	Bag 95-1023	<i>C. maxima</i>	0	0	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
60	Bag 95-1016	<i>C. maxima</i>	0	0	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
61	Bag 951021	<i>C. maxima</i>	0	80	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
62	Bag 88-0293	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
63	Bag 88-0295	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
64	Bag 88-0292	<i>C. maxima</i>	0	40	75	100	100	100	100	100	1	Suscetível
65	Bag 951099	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
66	Bag 890672	<i>C. maxima</i>	0	40	80	80	100	100	100	100	1	Suscetível
67	Bag 890674	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
68	Bag 880318	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
69	Bag 88-0316	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
70	Bag 88-0313	<i>C. maxima</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
71	Bag 88-0311	<i>C. maxima</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
72	Bag 890672	<i>C. maxima</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
73	Bag 890672	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
74	Bag 88-0319	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
75	Bag 88-0320	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
76	Bag 88-0321	<i>C. maxima</i>	0	60	80	80	80	80	100	100	1	Suscetível
77	Bag 88-0323	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
78	Bag 88-0353	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
79	Bag 98-2456	<i>C. maxima</i>	0	40	80	80	80	100	100	100	1	Suscetível
80	Bag 98-2464	<i>C. maxima</i>	0	0	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
81	Bag 88035	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
82	Bag 910780	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
83	Bag 920830	<i>C. maxima</i>	0	0	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
84	Bag 89-0681	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
85	Bag 88038	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
86	Bag 89-676	<i>C. maxima</i>	0	20	86	86	86	90	90	100	1	Suscetível
87	Bag 89-0671	<i>C. maxima</i>	0	20	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
88	Bag 89-0669	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
89	Bag 890662	<i>C. maxima</i>	0	60	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
90	Bag 89-0658	<i>C. maxima</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
91	Bag 88-0492	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
92	Bag 88-0494	<i>C. maxima</i>	0	40	80	80	100	100	100	100	1	Suscetível
93	Bag 88-0498	<i>C. maxima</i>	0	60	60	80	100	100	100	100	1	Suscetível
94	Bag 88-0500	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
95	Bag 88-0489	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
96	Bag 88-0485	<i>C. maxima</i>	0	40	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
97	Bag 88-0482	<i>C. maxima</i>	0	0	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
98	Bag 920830	<i>C. maxima</i>	0	20	60	100	100	100	100	100	1	Suscetível
99	Bag 88037	<i>C. maxima</i>	0	20	60	100	100	100	100	100	1	Suscetível
100	Bag 88037	<i>C. maxima</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
101	Bag 88037	<i>C. maxima</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
102	Bag 88038	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
103	Bag 88035	<i>C. maxima</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
104	Bag 88037	<i>C. maxima</i>	0	40	80	80	80	100	100	100	1	Suscetível
105	Bag 88038	<i>C. maxima</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
106	Bag 88-009	<i>C. moschata</i>	0	0	25	25	25	100	100	100	2	Intermediário
107	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	0	40	80	80	80	80	100	2	Intermediário

108	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	0	0	20	20	60	100	100	2	Intermediário
109	Bag 88009	<i>C. moschata</i>	0	40	40	40	40	100	100	100	2	Intermediário
110	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	0	40	40	40	60	60	100	2	Intermediário
111	Bag 88013	<i>C. moschata</i>	0	0	60	100	100	100	100	100	2	Intermediário
112	Bag 951095	<i>C. moschata</i>	0	20	80	80	80	80	100	100	2	Intermediário
113	Bag 951098	<i>C. moschata</i>	0	20	80	80	80	80	100	100	2	Intermediário
114	Bag 90074	<i>C. moschata</i>	0	40	60	60	60	60	100	100	2	Intermediário
115	Bag 88009	<i>C. moschata</i>	0	0	67	67	100	100	100	100	2	Intermediário
116	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	20	50	63	67	100	100	100	2	Intermediário
117	Bag 88-0010	<i>C. moschata</i>	0	0	20	20	20	20	100	100	3	Resistente
118	Bag 88007	<i>C. moschata</i>	0	0	0	20	20	60	60	100	3	Resistente
119	Bag 880007	<i>C. moschata</i>	0	0	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
120	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	0	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
121	Bag 88012	<i>C. moschata</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
122	Bag 88013	<i>C. moschata</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
123	Bag 88016	<i>C. moschata</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
124	Bag 951097	<i>C. moschata</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
125	Bag 951098	<i>C. moschata</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
126	Bag 951097	<i>C. moschata</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
127	Bag 900774	<i>C. moschata</i>	0	40	75	75	100	100	100	100	1	Suscetível
128	Bag 951091	<i>C. moschata</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
129	Bag 951091	<i>C. moschata</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
130	Bag 951092	<i>C. moschata</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
131	Bag 951094	<i>C. moschata</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
132	Bag 951096	<i>C. moschata</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
133	Bag 88006	<i>C. moschata</i>	0	40	60	80	100	100	100	100	1	Suscetível
134	Bag 88012	<i>C. moschata</i>	0	80	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
135	Bag 89072	<i>C. moschata</i>	0	60	80	100	100	100	100	100	1	Suscetível
136	Bag 951097	<i>C. moschata</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
137	Bag 951097	<i>C. moschata</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
138	Bag 890774	<i>C. moschata</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
139	Bag 920774	<i>C. moschata</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
140	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
141	Bag 88009	<i>C. moschata</i>	0	40	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
142	Bag 88036	<i>C. moschata</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
143	Bag 88-03	<i>C. pepo</i>	0	0	60	80	80	100	100	100	2	Intermediário
144	Bag 88-03	<i>C. pepo</i>	0	0	20	20	60	80	100	100	2	Intermediário
145	Bag 88-03	<i>C. pepo</i>	0	0	0	20	60	60	60	100	2	Intermediário
146	Bag 920841	<i>C. pepo</i>	0	0	40	60	100	100	100	100	2	Intermediário
147	Bag 88-03	<i>C. pepo</i>	0	60	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
148	Bag 88003	<i>C. pepo</i>	0	20	100	100	100	100	100	100	1	Suscetível
149	Bag 910788	<i>C. pepo</i>	0	40	75	88	100	100	100	100	1	Suscetível
150	Bag 88-03	<i>C. pepo</i>	0	40	80	80	80	80	80	100	1	Suscetível
									8/150	5%		
Resistente									61/150	41%		
Intermediário									81/150	54%		
Suscetível												
<i>C. moschata</i>		Resistente							2/37	54%		
		Intermediário							11/37	30%		
		Suscetível							24/37	65%		
<i>C. maxima</i>		Resistente							6/105	6%		
		Intermediário							46/105	44%		
		Suscetível							53/105	50%		
<i>C. pepo</i>		Intermediário							4/8	50%		
		Suscetível							4/8	50%		

Dai – dias após a inoculação; Bag Banco ativo de germoplasma;

Neste quarto lote de avaliação, houve uma distribuição do comportamento de resistência, sendo observada a maior porcentagem de ocorrência de genótipos classificados como suscetíveis (89,4 %) e intermediários (41%) (Tabela 2.10).

Aos dois dai, todos os genótipos não demonstraram o aparecimento dos primeiros sintomas da doença, somente após quatro dai que observou-se os sintomas em mais de 50 % dos genótipos avaliados (96/150). Merece destaque de suscetibilidade os genótipos Bag 88-0311, Bag 95-1096, Bag 95-1097 e Bag 89-0774, por apresentarem 100% de incidência aos quatro dai.

Os genótipos classificados como resistentes, tiveram as menores incidências da doença, contudo a maior parte dos genótipos (independente da espécie) ao fim de oito dias após a inoculação expressaram sintomas de murcha de fitóftora causada pelo isolado inoculado artificialmente. A incidência da doença aos oito dai, variou de 0-100%, não havendo genótipos imunes a *P. capsici* (Tabela 2.10). No último dia de avaliação (28 dai), a maioria dos genótipos apresentaram incidência da doença de 100%, com exceção de alguns genótipos que variaram de 40 % (Bag 88-0291) a 80% (Bag 89-0666, Bag 89-0661, Bag 89-0680, Bag 88-0488, Bag 88-0010 e Bag 88-0276).

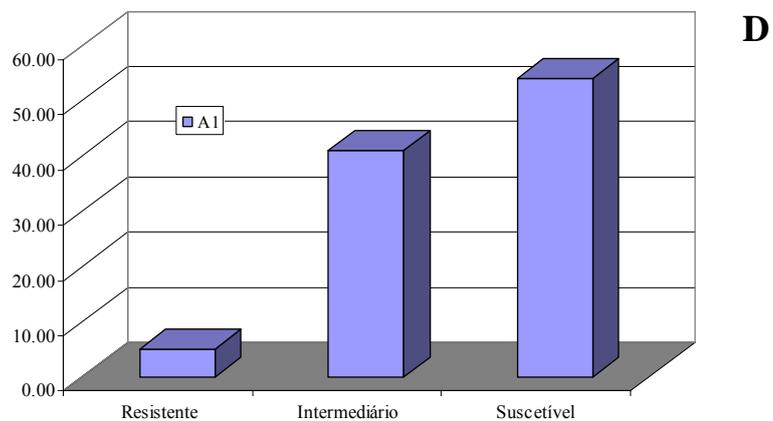
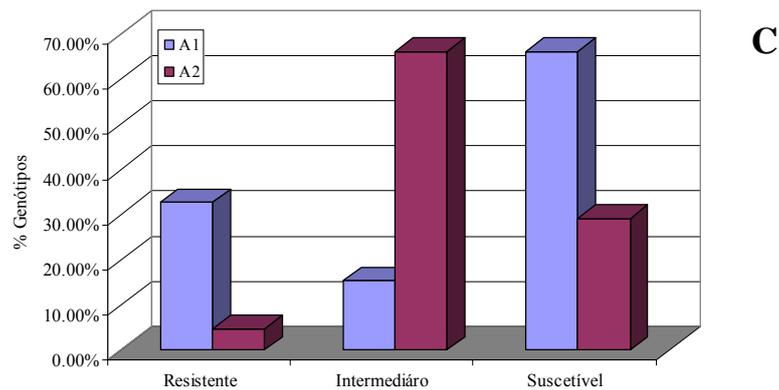
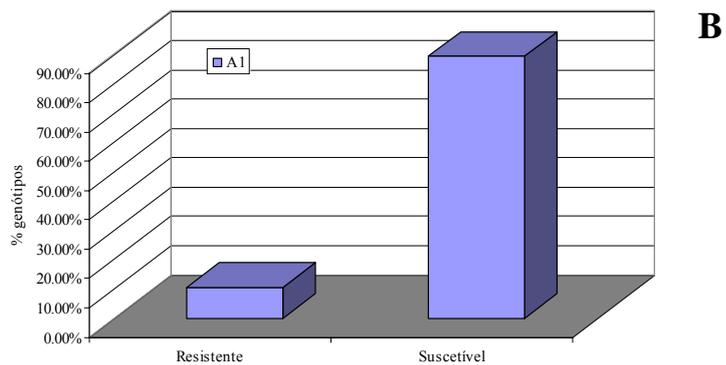
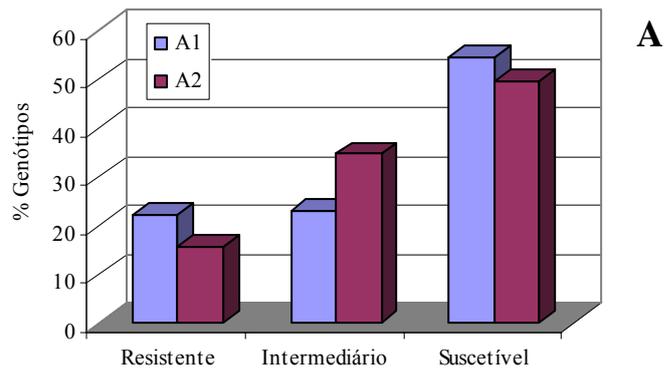
Para os genótipos de *C. moschata* avaliados houve uma distribuição da reação entre as classes resistentes (54%) e suscetíveis (65%). Para *C. maxima*, 44% dos genótipos foram classificados como intermediários e 50% foram classificados como suscetíveis (Tabela 2.8). E dos oito genótipos de *C. pepo* (abobrinha) avaliados, 50 % foi classificado como suscetível e 50 % foi classificado como intermediário (Tabela 2.10).

#### **Análise conjunta da reação de genótipos de cucurbitáceas a *P. capsici*.**

Foi detectado entre os quatro lotes analisados, que existe uma desuniformidade de reação, observada pela variação da frequência nos grupos de reação por lote. Há necessidade de selecionar alguns genótipos suscetíveis e todos os genótipos classificados como resistentes para validar imunidade e/ou resistência encontrada nos genótipos.

A suscetibilidade é a reação mais freqüente dos genótipos de *Cucurbita*, pois a grande maioria dos genótipos, ao final das avaliações, sofreram incidências da doença em sua totalidade muito próximas ao valor de 100%, causando assim morte de todas as plantas inoculadas. O comportamento das espécies de cucurbitáceas avaliadas, não foi como os apresentados pelas espécies de *Lycopersicon*, em que a resistência a *P. capsici* ficou associada à espécie hospedeira. Para as espécies de *Cucurbita* a resistência ficou associada ao genótipo e não a nenhuma das espécies testadas (*C. maxima*, *C. moschata* e *C. pepo*).

Embora a análise de agrupamento tenha separado os genótipos resistentes e susceptíveis, nenhuma fonte do tipo imune foi identificada em todos os lotes analisados. A diferença básica que separa as classes R e S está no período de incubação mais prolongado em acessos classificados como resistentes, evidenciando a importância deste parâmetro epidemiológico para avaliação de genótipos.



A1 – isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1, A2 – isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A2.

**Figura 2.1.** Distribuição de frequência da reação de genótipos de *Cucurbitaceae* nos diferentes lotes de avaliação. **A.** primeiro lote, **B.** segundo lote, **C.** terceiro lote e **D.** quarto lote.

### 2.3.3. Reação de genótipos de melão (*Cucumis melo*) a *Phytophthora capsici*.

**Tabela 2.11.** Progresso da incidência, classificação dos grupos de reação dos genótipos de melão (*Cucumis melo*) inoculados com isolado pertencente ao grupo de compatibilidade A1.

Ord	Genótipos	3 dai	5 dai	7 dai	12 dai	17 dai	21 dai	Graus de Reação	Grupos de Reação
1	CNPH 25	0	33	33	33	67	67	2	Intermediário
2	CNPH 14	0	0	33	67	67	67	2	Intermediário
3	CNPH 76	0	33	33	33	67	67	2	Intermediário
4	CNPH 34	0	0	67	100	100	100	2	Intermediário
5	CNPH 2	0	0	0	100	100	100	2	Intermediário
6	CNPH 83	0	0	0	100	100	100	2	Intermediário
7	CNPH 37	0	0	0	50	100	100	2	Intermediário
8	CNPH 32	0	0	0	50	50	50	2	Intermediário
9	CNPH 70	0	50	50	50	50	50	2	Intermediário
10	CNPH 22	0	0	0	50	50	50	2	Intermediário
11	CNPH 66	0	0	0	0	100	100	2	Intermediário
12	CNPH 139	0	0	0	100	100	100	2	Intermediário
13	CNPH 46	0	50	50	100	100	100	2	Intermediário
14	CNPH 66	0	0	0	50	100	100	2	Intermediário
15	CNPH 12	0	50	50	50	50	50	2	Intermediário
16	CNPH 98	0	0	0	7	50	100	2	Intermediário
17	CNPH 147	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
18	CNPH 194	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
19	CNPH 176	0	0	0	0	33	33	1	Resistente
20	CNPH 33	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
21	CNPH 177	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
22	CNPH 3	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
23	CNPH 24	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
24	CNPH 71	0	0	0	0	33	66	1	Resistente
25	CNPH 81	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
26	CNPH 5	0	0	0	33	33	67	1	Resistente
27	CNPH 84	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
28	CNPH 85	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
29	CNPH 102	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
30	CNPH 101	0	33	33	33	33	33	1	Resistente
31	CNPH 131	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
32	CNPH 130	0	0	0	0	67	67	1	Resistente
33	CNPH 67	0	0	0	0	0	100	1	Resistente
34	CNPH 21	0	0	0	0	33	67	1	Resistente
35	CNPH 67	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
36	CNPH 112	0	0	0	0	0	100	1	Resistente
37	CNPH 178	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
38	CNPH 47	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
39	CNPH 18	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
40	CNPH 8	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
41	CNPH 19	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
42	CNPH 10	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
43	CNPH 92	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
44	CNPH 100	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
45	CNPH 88	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
46	CNPH 87	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
47	CNPH 6	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
48	CNPH 75	0	0	0	0	50	50	1	Resistente

49	CNPH 82	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
50	CNPH 74	0	0	0	0	50	50	1	Resistente
51	CNPH 36	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
52	CNPH 68	0	0	0	0	50	50	1	Resistente
53	CNPH 172	0	0	0	0	50	50	1	Resistente
54	CNPH 4	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
55	CNPH 42	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
56	CNPH 28	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
57	CNPH 9	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
58	CNPH 16	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
59	CNPH 96	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
60	CNPH 90	0	0	0	0	50	50	1	Resistente
61	CNPH 93	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
62	CNPH 89	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
63	CNPH 94	0	0	0	0	67	67	1	Resistente
64	CNPH 13	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
65	CNPH 20	0	0	0	0	0	33	1	Resistente
66	CNPH 39	0	0	0	0	33	33	1	Resistente
67	CNPH 31	0	0	0	0	0	0	1	Resistente
68	CNPH 62	33	100	100	100	100	100	3	Suscetível
69	CNPH 35	0	100	100	100	100	100	3	Suscetível
70	CNPH 44	100	100	100	100	100	100	3	Suscetível
71	CNPH 7	100	100	100	100	100	100	3	Suscetível
72	CNPH 45	0	100	100	100	100	100	3	Suscetível
73	CNPH 23	0	100	100	100	100	100	3	Suscetível
74	CNPH 17	0	100	100	100	100	100	3	Suscetível
						Resistente	51/74	68,9%	
						Intermediário	16/74	21,6%	
						Suscetível	7/74	9,5%	

Dai – dias após a inoculação; CNPH número de acesso do Centro Nacional de Pesquisa de hortaliças.

O germoplasma de melão avaliado comportou-se diferentemente das espécies de *Cucurbita*, com a maior parte dos genótipos 68,9 % classificados como resistentes a *P. capsici* (Tabela 2.11).

Ao final de 18 dai a incidência da doença entre os genótipos inoculados foi de 0-100%, sendo que a minoria dos genótipos apresentou 100% de incidência da doença (Tabela 2.10.). O período de incubação apresentado entre os genótipos foi muito superior aos apresentados nos quatro lotes de *Cucurbita* avaliados, assim a espécie *Cucumis melo*, é mais resistente a murcha de fitóftora (Tabela 2.11).

Os genótipos classificados como resistentes foram obtidos graças à diferença de progresso da doença que auxiliou a separação de grupos, onde os menores progressos foram classificados como resistentes, sendo alguns genótipos na verdade imunes a inoculação artificial. Os genótipos de melão imunes a *P. capsici* nesta avaliação foram CNPH 147, 194,

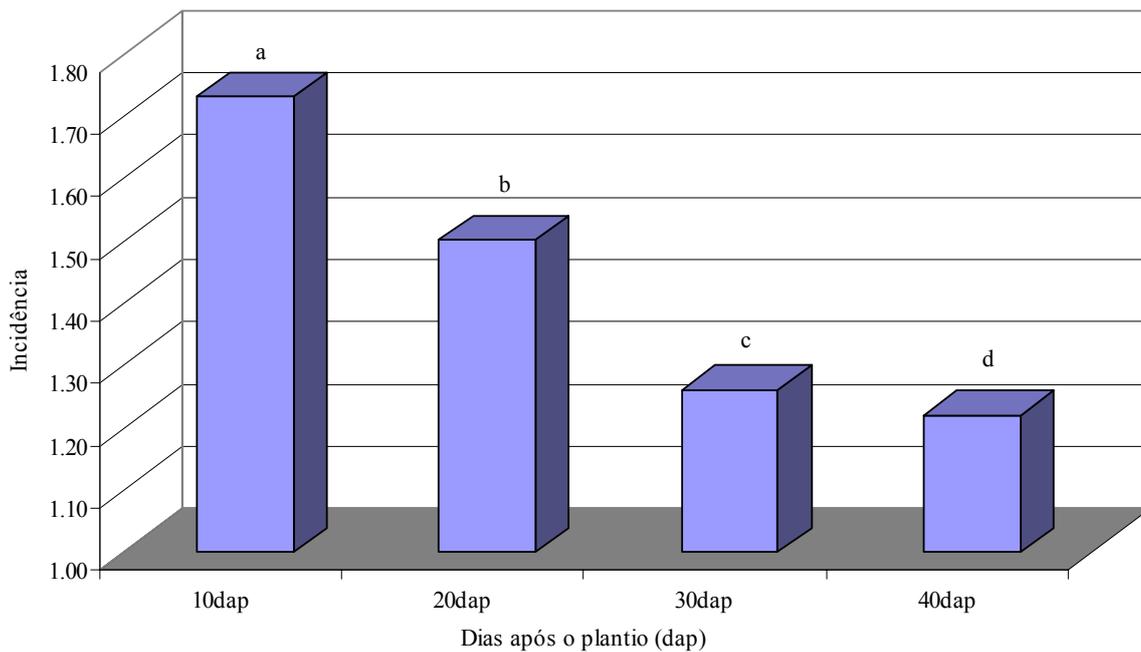
33, 177, 3, 24, 81, 84, 85, 102, 131, 67, 178, 47, 18, 8, 19, 10, 92, 100, 88, 87, 6, 82, 36, 4, 42, 28, 9, 16, 96, 93, 89, 13, 31.

#### **2.3.4. Efeito da idade da planta em genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas na resistência a *Phytophthora capsici*.**

Rejeitou-se a hipótese de nulidade ( $P \leq 0,05$ ), para a variável incidência transformada por log (x+10) (CV=14,09) para os seguintes fatores: genótipos ( $F_{31,1152}=89,12^{**}$ ), dias de avaliação ( $F_{2,1152}=148,41^{**}$ ), estágio de crescimento ( $F_{3,1152}=537,62^{**}$ ), e para as interações dias de avaliação-estádio de crescimento ( $F_{6,1152}=4,99^{**}$ ), genótipos-dias de avaliação ( $F_{62,1152}=4,69^{**}$ ), genótipos-estádio de crescimento ( $F_{93,1152}=16,49^{**}$ ), genótipos-dias de avaliação-estádio de crescimento ( $F_{186,1152}=2,42^{**}$ ).

Na terceira avaliação, os genótipos apresentaram os maiores valores de incidência da doença diferindo estatisticamente da segunda e da primeira avaliação.

Todos os isolados inoculados foram mais agressivos nas plantas quando elas apresentaram 10 dias de idade, diferindo estatisticamente dos demais dias avaliados.



Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si ao teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ); dap dias após o plantio.

**Figura 2.2.** Médias da incidência (transformada por  $\log x+10$ ) de *P. capsici* em todos os genótipos avaliados nos estádios de crescimento.

Houve diferença significativa entre as médias dos estádios de crescimento avaliados (Figura 2.2), quanto mais jovens os genótipos de cucurbitáceas e solanáceas avaliados maiores são os índices de incidência da doença, logo mais suscetíveis a podridão do colo causada por *P. capsici*.

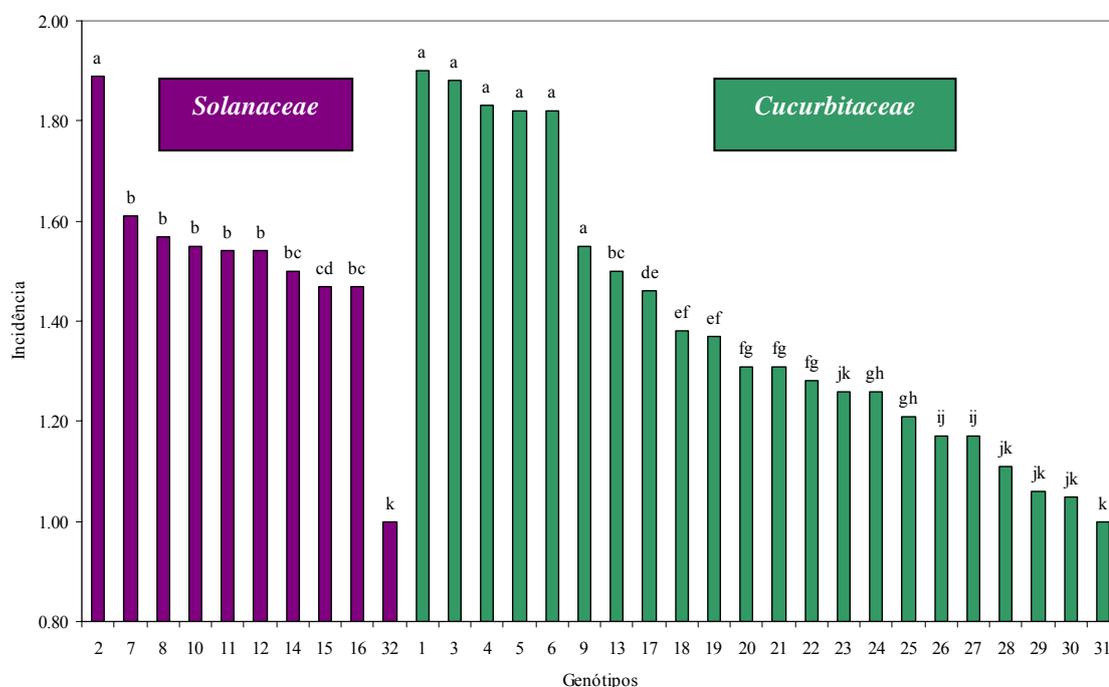
**Tabela 2.12.** Médias da incidência transformada de *P. capsici* da doença avaliada entre genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas.

Ord	Genótipos Testados	Incidência*	Família
1	Abobrinha Caserta TS	1.90 a	<i>Cucurbitaceae</i>
2	Pimentão Cascadura Ikeda	1.89 a	<i>Solanaceae</i>
3	Abobrinha Branca da Virgínia	1.88 a	<i>Cucurbitaceae</i>
4	Abobrinha Redonda Verde	1.83 a	<i>Cucurbitaceae</i>
5	Abóbora Big Max	1.82 a	<i>Cucurbitaceae</i>
6	Abobrinha Zucchini redonda	1.82 a	<i>Cucurbitaceae</i>
7	Tomate Cereja Samambaia	1.61 b	<i>Solanaceae</i>
8	Tomate Santa Clara 1-5300	1.57 b	<i>Solanaceae</i>
9	Mogango	1.55 b	<i>Cucurbitaceae</i>
10	Tomate Especial para Salada (Estaca)	1.55 b	<i>Solanaceae</i>
11	Tomate Gaúcho	1.54 b	<i>Solanaceae</i>
12	Tomate Santa Cruz Kada Gigante	1.54 b	<i>Solanaceae</i>
13	Abóbora Moranga Exposição	1.50 bc	<i>Cucurbitaceae</i>
14	Tomate Santa Cruz Kada (Paulista)	1.50 bc	<i>Solanaceae</i>
15	Tomate Italiano para molhos	1.47 cd	<i>Solanaceae</i>
16	Tomate Super Marmande (Gaúcho)	1.47 bc	<i>Solanaceae</i>
17	Moranga de Mesa (Exposição)	1.46 de	<i>Cucurbitaceae</i>
18	Melancia Rajada	1.38 ef	<i>Cucurbitaceae</i>
19	Melão Imperial 45	1.37 ef	<i>Cucurbitaceae</i>
20	Abóbora Jacarezinho	1.31 fg	<i>Cucurbitaceae</i>
21	Abobrinha Menina Brasileira	1.31 fg	<i>Cucurbitaceae</i>
22	Abóbora Mini Paulista	1.28 fg	<i>Cucurbitaceae</i>
23	Abóbora Híb. Tets. Isla Importada	1.26 jk	<i>Cucurbitaceae</i>
24	Abóbora Menina Rajada (seca)	1.26 gh	<i>Cucurbitaceae</i>
25	Abóbora Bahiana Tropical	1.21 gh	<i>Cucurbitaceae</i>
26	Abóbora Menina Creme	1.17 ij	<i>Cucurbitaceae</i>
27	Melão Gaúcho (Caipira)	1.17 ij	<i>Cucurbitaceae</i>
28	Melão Caipira	1.11 jk	<i>Cucurbitaceae</i>
29	Abóbora Goianinha	1.06 jk	<i>Cucurbitaceae</i>
30	Abóbora Menina Rajada (Abóbora Seca)	1.05 jk	<i>Cucurbitaceae</i>
31	Melão Eldorado 300	1.00 k	<i>Cucurbitaceae</i>
32	Tomate Santa Clara	1.00 k	<i>Solanaceae</i>
	CV	14.09	

\*Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si ao Teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ), Transformação de dados  $\sqrt{(x+10)}$ .

Houve diferença significativa entre as médias dos 32 genótipos comerciais avaliados, merecendo destaque que os genótipos, que não se diferenciaram estatisticamente entre si mas que tiveram as maiores incidências da doença, tais como Abobrinha Caserta TS, Pimentão Cascadura Ikeda, Abobrinha Branca da Virgínia, Abobrinha Redonda Verde, Abóbora Big

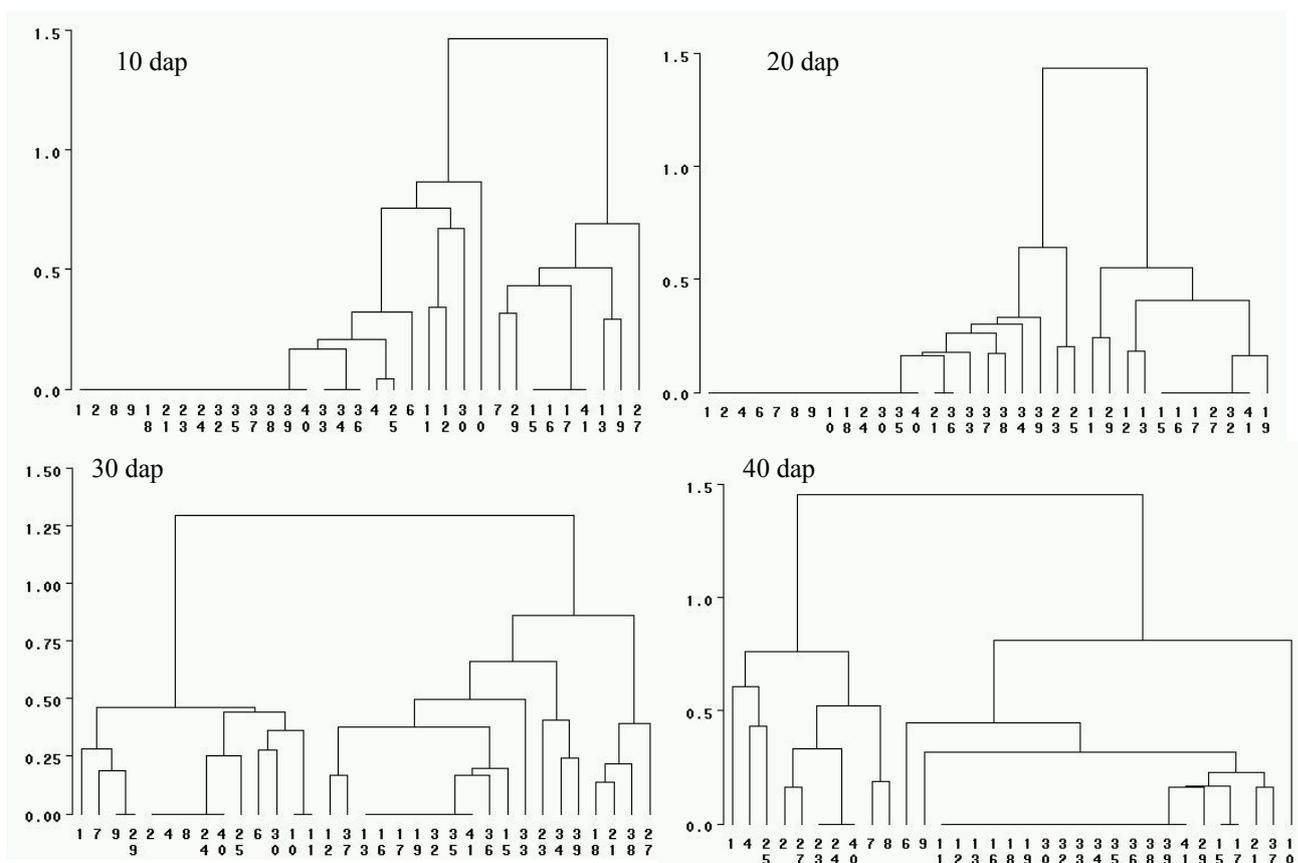
Max, Aboborinha Zucchini Redonda, tiveram maior suscetibilidade a doença nos quatro estádios de crescimento avaliados. E os genótipos Melão Eldorado 300 e Tomate Santa Clara, que não se diferenciam estatisticamente entre si, se destacaram por serem os genótipos mais resistentes a *P. capsici* (Tabela 2.12).



Significado da numeração no eixo X: 2. Pimentão Cascadura Ikeda, 7. Tomate Cereja Samambaia, 8. Tomate Santa Clara 1-5300, 10. Tomate Especial para Salada(Estaca), 11. Tomate Gaúcho, 12. Tomate Santa Cruz Kada Gigante, 14. Tomate Santa Cruz Kada (Paulista), 15. Tomate Italiano para molhos, 16. Tomate Super Marmande (Gaúcho), 32. Santa Clara, 1. Abobrinha Caserta TS, 3. Abobrinha Branca da Virginia, 4. Abobrinha Redonda Verde, 5. Abóbora Big Max, 6. Aboborinha zucchini redonda, 9. Mogango, 13. Abóbora Moranga Exposição, 17. Moranga de Mesa (Exposição), 18. Melancia Rajada, 19. Melão Imperial 45, 20. Abóbora Jacarezinho, 21. Abobrinha Menina Brasileira, 22. Abóbora Mini Paulista, 23. Abóbora Hib. Tets. Isla Importada, 24. Abóbora Menina Rajada(seca), 25. Abóbora Bahiana Tropical, 26. Abóbora Menina Creme, 27. Melão Gaúcho (Caipira), 28. Melão Caipira, 29. Abóbora Goianinha, 30. Abóbora Menina Rajada (Abóbora Seca) e 31. Melão Eldorado 300; Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si ao teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Valores de incidência transformados por  $\sqrt{(x+10)}$ .

**Figura 2.3.** Médias da incidência transformada ( $\log x+10$ ) dos genótipos comerciais de solanáceas e cucurbitáceas pertencentes às quatro idades de plantio (10, 20, 30 e 40 dap), inoculados com *Phytophthora capsici*.

Embora os números de representantes entre as famílias *Solanaceae* e *Cucurbitaceae* avaliados sejam diferentes, observou-se que existe uma diversidade de reação a inoculação por *P. capsici* entre os genótipos vendidos comercialmente. Merecem destaques a solanácea comercial - Tomate Santa Clara e a cucurbitácea comercial - Melão Eldorado 300, como os genótipos mais resistentes nos diferentes estádios avaliados. (Figura 2.3).



**Dap-dias após o plantio**

1. Abóbora Bahiana Tropical, 2. Abóbora Goianinha, 4. Abóbora Híbrida Tets. Isla Imp, 6. Abóbora Jacarezinho, 7. Abóbora Menina Creme, 8. Abóbora Menina Rajada (Abóbora S), 9. Abóbora Menina Rajada (seca), 10. Abóbora Mini Paulista, 11. Abóbora Moranga Exposição, 12. Abóbora Mor. Exposição, 13. Abóbora Big Max, 15. Abobrinha Zucchini redonda, 16. Abobrinha Branca da Virgini, 17. Abobrinha Caserta TS, 18. Abobrinha Menina Brasileira, 19. Abobrinha Redonda Verde, 21. Melancia Rajada, 23. Melão Caipira, 24. Melão Eldorado 300, 25. Melão Gaúcho (Caipira), 27. Melão Imperial 45, 29. Mogango, 30. Moranga de Mesa (Exposicao), 32. Tomate Cereja Samambaia, 33. Tomate Especial para Salada, 34. Tomate Gaúcho, 35. Tomate Italiano para molhos, 36. Tomate Santa Clara 1-5300, 37. Tomate Santa Cruz Kada Giga, 38. Tomate Santa Cruz Kad, 39. Tomate Super Marmande, 40. Santa Clara, 41. Pimentão Cascadura Ikeda.

**Figura 2.4.** Dendrograma de agrupamento dos genótipos inoculados com *P. capsici* em diferentes dias após o plantio, avaliados a partir do segundo dia após a inoculação.

Com o decorrer do crescimento fisiológico, o agrupamento dos genótipos em classes de reação subdividiu-se, sendo que as clades foram se ramificando mais intensamente após 40 dap (Figura 2.4.) indicando uma diversidade da reação dos genótipos a *P. capsici*. O maior número de genótipos suscetíveis foi observado aos 10 dap (Figura 2.4) e nesta data houve menor número de agrupamentos que os demais, devido à suscetibilidade estar ligada ao estágio juvenil nos genótipos comerciais avaliados.

**Tabela 2.13.** Classificação dos genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas inoculados com *P. capsici* em grupos de reação nos diferentes estádios fenológicos (dap – dias após o plantio).

Ord	Genótipos	Grupos de Reação							
		40 dap	30 dap	20 dap	10 dap	40 dap	30 dap	20 dap	10 dap
1	Abóbora Goianinha	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente
2	Abóbora Hib. Tets. Isla Importada	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	3	Intermediário
3	Abóbora Jacarezinho	3	Intermediário	3	Intermediário	2	Resistente	1	Suscetível
4	Abóbora Menina Creme	1	Suscetível	1	Suscetível	2	Resistente	2	Resistente
5	Ab. Menina Rajada (Abóbora Seca)	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente
6	Abóbora Menina Rajada (seca)	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível
7	Abóbora Mini Paulista	3	Intermediário	3	Intermediário	2	Resistente	3	Intermediário
8	Abóbora Moranga Exposição	3	Intermediário	3	Intermediário	2	Resistente	1	Suscetível
9	Abóbora Mor. Exposição	3	Intermediário	3	Intermediário	1	Suscetível	1	Suscetível
10	Abóbora Big Max	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível
11	Aboborinha Zucchini redonda	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível
12	Abobrinha Branca da Virginia	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível
13	Abobrinha Caserta TS	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível
14	Abobrinha Menina Brasileira	2	Resistente	2	Resistente	3	Intermediário	1	Suscetível
15	Abobrinha Redonda Verde	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível
16	Melancia Rajada	2	Resistente	2	Resistente	3	Intermediário	1	Suscetível
17	Melão Caipira	2	Resistente	2	Resistente	3	Intermediário	2	Resistente
18	Melão Eldorado 300	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente
19	Melão Gaúcho (Caipira)	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	3	Intermediário
20	Melão Imperial 45	1	Suscetível	1	Suscetível	3	Intermediário	2	Resistente
21	Mogango	1	Suscetível	1	Suscetível	2	Resistente	1	Suscetível
22	Moranga de Mesa (Exposição)	3	Intermediário	3	Intermediário	2	Resistente	1	Suscetível
<i>Cucurbitaceae</i>		R	41%		41%		55%		27%
		I	23%		23%		18%		14%
		S	36%		36%		27%		59%
23	Tomate Cereja Samambaia	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
	Tomate Especial para								
24	Salada(Estaca)	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
25	Tomate Gaúcho	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
26	Tomate Italiano para molhos	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
27	Tomate Santa Clara 1-5300	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
28	Tomate Santa Cruz Kada Gigante	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
29	Tomate Santa Cruz Kada (Paulista)	2	Resistente	2	Resistente	3	Intermediário	1	Suscetível
30	Tomate Super Marmande (Gaúcho)	2	Resistente	2	Resistente	1	Suscetível	1	Suscetível
31	Tomate Santa Clara	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente	2	Resistente
32	Pimentão Cascadura Ikeda	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível	1	Suscetível
<i>Solanaceae</i>		R	90%		90%		10%		10%
		I	0%		0%		10%		0%
		S	10%		10%		80%		90%
<b>TOTAL</b>		R	56%		56%		40%		22%
		I	16%		16%		16%		9%
		S	28%		28%		44%		69%

Ao analisarmos todos os genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas observamos que aos 10 dap a maioria foram suscetíveis (69%), aos 20 dap a resistência se distribuiu entre as classes R (40%) e S (44%), e ainda 56 % de todos os genótipos analisados tiveram reação de resistência (Tabela 2.13).

A suscetibilidade é reduzida com o avanço do estágio fenológico, tal como a reação de resistência foi apresentada entre os genótipos. Não foi verificado genótipo que inicialmente fosse classificado como resistente, e nos outros estádios seguintes apresentasse reação de suscetibilidade, com exceção das cucurbitáceas, abóbora Menina Creme, Melão Imperial 45 e Mogango (Tabela 2.13.).

O período crítico apresentado no grupo das cucurbitáceas foi de 10 e 20 dias de idade, onde a ocorrência de genótipos resistentes passou de 27 % para 55 %, respectivamente. Já para as solanáceas avaliadas o período crítico foi de 20 e 30 dias de idade, sendo que a ocorrência de genótipos resistentes passou de 10 % para 90 %, respectivamente um aumento bem menor que o observado no grupo das cucurbitáceas. Vale a pena ressaltar que esta elevação da ocorrência de genótipos resistentes levou em contra partida a redução da ocorrência de genótipos suscetíveis (Tabela).

Os genótipos que não tiveram reação diferencial nos estádios de crescimento, foram entre as cucurbitáceas “Abóbora Goianinha-R”, “Abóbora Menina Rajada (abóbora seca)-R”, “Melão Eldorado 300-R”, “Abóbora Big-Max-S”, “Abobrinha Zuchini Redonda-S”, “Abobrinha Branca da Virgínia-S”, “Abobrinha Caserta TS-S”, “Abobrinha Redonda Verde-S”, e entre as solanáceas “Tomate Santa Clara-R” e “Pimentão Casca Dura Ikeda-S”. Assim houve 14 (22) reações diferenciais em cucurbitáceas e 8 (10) em solanáceas indicando que a suscetibilidade ou resistência está relacionada com o estágio fenológico, e nas solanáceas estudadas e representadas quase que exclusivamente por cultivares comerciais de tomate é expressada em estádios fenológicos mais tardios.

### 2.3.5. Círculo de hospedeiros pertencentes as famílias *Cucurbitaceae* e *Solanaceae*.

**Tabela 2.14.** Progresso da incidência da doença, graus de reação e classificação dos acessos de cucurbitáceas e solanáceas quanto à suscetibilidade a *P. capsici*\*.

Ord	Genótipos	Espécies	Família	1dai	5dai	8dai	12dai	27dai	Gráus de Reação	Grupos de Reação
1	Crinson sweet	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	29	29	29	57	1	Intermediário
2	Edisto 47	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
3	Hales Best Jumbo	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	20	3	Resistente
4	PMR 06	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
5	PMR 45	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
6	PRM 45	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
7	PRM5	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
8	WMR29	<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
9	CNPH 1109	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
10	CNPH 1109	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
11	Jabras	<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	33	33	33	33	1	Intermediário
12	Croa	<i>Sicana odorifera</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	0	20	40	40	40	1	Intermediário
13	Pimenta Cumari	<i>Capsicum praetermissum</i>	<i>Solanaceae</i>	30	40	40	50	60	1	Intermediário
14	Tomate Arvore	<i>Cyphonandra betacea</i>	<i>Solanaceae</i>	0	60	90	100	100	2	Suscetível
15	Fisalis	<i>Physalis angulata</i>	<i>Solanaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
16	Maria pretinha	<i>Solanum americanum</i>	<i>Solanaceae</i>	0	22	33	55	55	1	Intermediário
17	Lobeira BA	<i>Solanum lycocarpum</i>	<i>Solanaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
18	Lobeira DF	<i>Solanum lycocarpum</i>	<i>Solanaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune
19	Lobeira Tucuruí	<i>Solanum lycocarpum</i>	<i>Solanaceae</i>	0	0	0	0	0	3	Imune

\*Dai-dias após a inoculação.

Os genótipos classificados como resistentes como melão cvs. “Edisto 97”, “PMR06”, “PMR45”, “PRM 45”, “PRM 5”, “WMR 29”, pepino cv “1109”, fisalis, lobeira Tucuruí, da BA e do DF, pelo procedimento estatístico, devido a não incidência de sintomas se comportaram nesta avaliação como imunes ou não planta hospedeiras a inoculação artificial de *P. capsici* nos dias avaliados (Tabela 2.14).

Levando em consideração ainda o procedimento estatístico associado aos valores de incidência temporal, o tomate de árvore (*Cyphonandra betacea*) se destacou como a planta hospedeira mais suscetível. Se fosse utilizado outro critério, até mesmo empírico e visual, provavelmente mais plantas seriam classificadas como suscetíveis (Tabela 2.14).

Nesta avaliação 75 % dos acessos de cucurbitáceas e 57% dos acessos de solanáceas foram classificados como resistentes a *P. capsici* (Tabela 2.14).

Sendo avaliada isoladamente a jurubeba bahiana (*Solanum paniculatum*) (dados não apresentados na Tabela 2.14 e sim na Figura 2.5.) que em muitos ensaios de reação, apresentou-se como imune a muitas doenças outras doenças testadas isoladamente, observou-se que 60 % (três plantas mortas num total de cinco plantas) das plantas morreram sobre ação de *P. capsici*, sendo este um exemplo de mais um hospedeiro arbustivo, originário da região tropical do Brasil. A sintomatologia desta doença pode ser melhor observada na Figura 2.5. *Fisalis* juntamente com a avaliação do primeiro lote de *Lycopersicon* foi infectada pelo isolado A1 (25 % incidência) apenas.

Quando observamos o sintoma em tomate de árvore verificamos que o colapso, ou as extensões da podridão de fitóftora se estendem até a região apical da planta, fato pouco comum onde na maioria dos hospedeiros testados o colapso fica restrito a região da coroa ou colo (Figura 2.5.D).



**Figura 2.5.** Sintomatologia de novas hospedeiras por *P. capsici*. A. e B. Maria pretinha C. e D. Tomate de árvore, E. Croá, F. Jurubeba Bahiana G. Pimenta Cumari.

## 2.4 DISCUSSÃO

### 2.4.1. Reação de genótipos de *Lycopersicon* spp. a *Phytophthora capsici*

A espécie *Lycopersicon esculentum* é uma fonte de genótipos resistentes a *P. capsici*. Normalmente quando avalia-se a resistência em genótipos domesticados, encontra-se uma frequência maior de genótipos suscetíveis, como encontrado para *Capsicum* spp ao oídio (Paz Lima *et al.*, 2004). Contudo, aparentemente no patossistema *Lycopersicon-Phytophthora* a resistência ocorreu em maior frequência na espécie mais domesticada – *L. esculentum*.

Satur & Butler (1967) ao avaliarem a reação de 13 genótipos de espécies diferentes de tomate não identificaram nenhuma resistência a *P. capsici*, sendo que a maioria dos genótipos nesta avaliação apresentaram reação do tipo resistente. Não identificaram fontes de resistência em *Lycopersicon*, provavelmente por sua restrita quantidade de genótipos analisados (13 genótipos), sendo nesta avaliação verificada um número considerável de genótipos, e destes 39 a 61 % foram classificados como resistentes.

A resistência encontrada entre os genótipos de *Lycopersicon* é atribuída ao tipo de genótipo e ao tipo de isolado, e a reação diferencial perante os isolados pode ser atribuída ao tipo de inóculo, resultados também observados por Reifschneider *et al.* (1986) em pimentão.

Roberts *et al.* (2003) avaliaram a resistência de cinco cultivares de tomate em diferentes idades a *P. capsici*, sendo que a suscetibilidade foi reduzida durante o período de avaliação de 6 a 12 semanas.

Observou-se que a maioria dos genótipos de *L. esculentum* foram identificados como resistentes a *P. capsici*, e os genótipos de *L. peruvianum* foram identificados como suscetíveis. Considerando que todas as cultivares comerciais de tomate são *L. esculentum*, e que muitas destas possuem introgressões de genes de resistência (a vários tipos de doenças) oriundos dos acessos de *L. peruvianum*, *L. chilense* e *L. pimpinellifolium*. Podridões do colo

causadas por *P. capsici* não são um problema epidêmico para a cultura, contudo este quadro pode reverter-se devido a introgressões de genes de *L. peruvianum*.

Proteínas relacionadas à patogênese (PR's) podem explicar reação diferencial dos genótipos de *Lycopersicon* nos dois lotes de avaliação. Hong & Hwang (2002) identificaram PR-1 sendo expressa em genótipos de tomateiro (R) infectados por *P. capsici*, e ainda salientaram que a mesma pode ser produzida por ação biótica ou abiótica.

Vale a pena ressaltar que a busca de genes de resistência a *P. capsici* em *L. esculentum*, e a transferência desses genes para *Capsicum* pode ser uma poderosa ferramenta de melhoramento genético utilizando técnicas de transgenia para resistência a *P. capsici*.

Existem poucos estudos no Brasil (Paz Lima *et al.*, 2004) e no mundo sobre a identificação de genótipos de tomate resistentes a *P. capsici*, uma vez que a doença não tem causado elevadas perdas a ponto de competir com epidemias como às de *P. infestans*. As cultivares de tomate utilizadas comercialmente são todas *L. esculentum*, e esta destacou-se pelo elevado grau de resistência apresentado nas avaliações. Outro elemento bastante incomum, é a análise da reação diferencial de genótipos que foi demonstrada para acessos de *Lycopersicon* e *Cucurbita*. Contrariando a reação apresentada em cucurbitáceas, os genótipos de *Lycopersicon* apresentam resistência a *P. capsici* ligada a espécie hospedeira, demonstrando uma maior facilidade para obtenção de genótipos de tomate resistentes, quando a podridão do colo ocasionar epidemias mais severas da cultura do tomateiro.

#### **2.4.2 Reação de genótipos de *Cucurbita* spp. à *P. capsici***

As cultivares japonesas de *C. maxima* foram consideradas mais suscetíveis do que *C. moschata* por Kuginuki *et al.* (1986). Nesta avaliação de genótipos a resistência ou suscetibilidade esteve ligada ao genótipo e não a espécie de *Cucurbita* sp. encontrada (como demonstrado para acessos de *Lycopersicon*), contudo genericamente houve uma maior de porcentagem de ocorrência de genótipos suscetíveis para *C. maxima* (devido ao número de acessos).

Um dos primeiros trabalhos de resistência em *Cucurbita*, foram avaliadas 17 cultivares de abóbora, sendo todas consideradas suscetíveis (Tompkins & Tucker, 1941). Avaliando 36 cultivares comerciais japonesas de *Cucurbita* spp., Kuginuki *et al.* (1994) classificaram três cultivares de *C. moschata* como altamente resistentes, fato não observado neste trabalho, pois todos os acessos avaliados morreram ao final do experimento.

De acordo com Café Filho & Duniway (1995) e Café Filho *et al.* (1995) a maioria das cucurbitáceas cultivadas parecem possuir susceptibilidade a *P. capsici*, em particular raízes e frutos de abóboras. Em ensaios especiais os frutos de abóbora como *C. pepo* (abobrinha) apresentam maior susceptibilidade a infecção pelo patógeno, do que frutos cultivares de abóbora como menina rajada (*C. moschata*) que possui a poupa mais firme e resistente, sendo uma linha para estudos em programas de melhoramento visando à obtenção de cultivares com polpas firmes e conseqüentemente resistentes a podridão de frutos ocasionados por *P. capsici*.

Nos genótipos analisados de *Cucurbita* observou-se que o gênero é muito suscetível a podridão do colo causado por *P. capsici*, sendo os primeiros estádios iniciais de crescimento, bastante críticos a incidência da doença. No entanto, estudos mais aprofundados com os genótipos resistentes são necessários, para confirmação e inclusão destes em programas de melhoramento de abóboras visando resistência a *P. capsici*.

#### **2.4.3. Reação de genótipos de melão (*Cucumis melo*) a *P. capsici***

No Brasil os programas de melhoramento visam busca de genótipos resistente a *P. capsici*, contudo, no mundo outras espécies expressam papel importante infectando lavouras de cucurbitáceas, tanto que, Mansoori & Banihashemi (1982) avaliaram 116 cultivares de melão, pepino, abóbora e melancia, no Irã, quanto à susceptibilidade de *P. drechsleri*, e observaram que os acessos de melão, foram mais suscetíveis, e os acessos de pepino (*Cucumis sativus* L.), apresentaram-se como mais resistentes. Já no lote de melão avaliado quanto à susceptibilidade a *P. capsici* o resultado foi contrário, a maioria dos genótipos foram classificados como resistentes.

Dentre os três grupos testados (*Lycopersicon*, *Cucurbita* e *Cucumis*) sem dúvida que existe uma maior frequência de genótipos resistentes no germoplasma de melão, sendo uma grande fonte de genes de resistência a *P. capsici*. Se compararmos por cultivares e/ou genótipos pertencentes a diferentes espécies de cucurbitáceas, possivelmente outros resultados poderiam ocorrer comprovando as informações citadas por Mansoori & Banihashemi (1982).

Dos vários genótipos de cucurbitáceas analisadas Cucumos melo apresentou maior número de genótipos resistentes, sendo esta uma informação importante na estruturação e planejamento de programas de melhoramento de cucurbitáceas a *P. capsici*.

#### **2.4.4 Efeito da idade da planta em cultivares comerciais de cucurbitáceas e solanáceas na resistência a *P. capsici*.**

O período crítico de maior suscetibilidade a *P. capsici* foi de 10 dias de idade para as solanáceas (tomate e pimentão) e cucurbitáceas (abóbora, abobrinha, melancia e melão) testadas.

Em pimentão, Ristaino & Johnston (1999) citaram que os estágios iniciais são os momentos em que os hospedeiros são mais suscetíveis a podridão do colo de fitóftora, e nos campos produtores é neste estágio de desenvolvimento que mais aparecem focos da doença em campos produtores da Carolina do Norte. Para pimentão as plantas foram considerados resistentes com seis folhas (Pochard & Chambonet, 1971), aos 40 dias após a inoculação (Pochard *et al.*, 1976) e/ou 31 dias após a inoculação (Matsuoka, 1984). Outros trabalhos também demonstraram a maior susceptibilidade de plantas jovens (Reifschneider *et al.*, 1986; Reifschneider *et al.*, 1992; Café Filho & Duniway, 1995)

Roberts *et al.* (2003) avaliaram a resistência de cinco cultivares de tomate em diferentes idades a *P. capsici*, onde a suscetibilidade foi reduzida durante o período de avaliação de seis a 12 semanas. Nesta avaliação realizada com nove genótipos comerciais, o resultado foi inverso, pois, aos 20 dias todas as cultivares comerciais foram classificadas

como resistentes, e por fim na avaliação aos 40 dias de idade, os genótipos comerciais de tomate não mantiveram a resistência, sendo classificados como suscetíveis.

O único genótipo de tomate que manteve sua resistência à inoculação artificial de *P. capsici*, no período avaliado foi o tomate cv. Santa Clara. Roberts *et al.*, (2003) ressaltaram que o genótipo mais resistente foi o “Agriset”, que apresentou menos de 10 por cento de incidência a *P. capsici* com seis semanas de idade (42 dias).

Alguns genótipos comerciais de solanáceas e cucurbitáceas (abóbora Goianinha, abóbora Menina Rajada Seca, melão El Dourado 300, tomate Santa Clara) em todos os estádios de crescimento foram classificados como resistentes, evidenciando a presença de resistência juvenil demonstrada por Ribeiro *et al.* (1997).

Estratégias de melhoramento de plantas, levando em consideração a resistência juvenil de genótipos são importantes para lançamento no mercado de cultivares realmente importantes no controle genético de podridão da coroa.

A identificação de resistência juvenil foi demonstrada apenas para *Capsicum* (Reifschneider *et al.*, 1992), sendo este um dos primeiros estudos de identificação de resistência juvenil em cucurbitáceas e outras solanáceas importantes no Brasil (Paz Lima *et al.*, 2005a). O reconhecimento da variabilidade de reação em diferentes idades de crescimento em genótipos comerciais de cucurbitáceas e solanáceas, e a identificação do período crítico de infecção, são informações importantes para redução das perdas ocasionadas por *P. capsici* em condições de campo.

#### **2.4.5. Círculo de hospedeiros pertencentes às famílias *Cucurbitaceae* e *Solanaceae*.**

A suscetibilidade à *P. capsici* entre as cultivares conhecidas e desconhecidas foi maior entre os representantes pertencentes a família das solanáceas.

Normalmente o colapso do colo, coroa ou coleto das plantas infectadas por *P. capsici* fica estendido somente nesta região, em hospedeiros em que seu tecido é mais herbáceo o

progresso da lesão estende-se afetando brotos, folhas e gemas axilares como foi observado para tomate de árvore (2.5 C).

Atualmente o patógeno encontra-se disseminado por todos os continentes com regiões de clima temperado e tropical, com exceção apenas do continente australiano (Irwin *et al.*, 1995). Contudo Shivas, (1989) relatou a ocorrência em berinjela de *P. capsici* na Austrália.

Maiores informações sobre a ocorrência e/ou registro de *P. capsici* nas hospedeiras testadas podem, ser obtidas na Tabela 2.15.

**Tabela 2.15.** Registros de ocorrência no mundo de espécies de *Phytophthora* infestando as hospedeiras inoculadas com *P. capsici* (SBML, 2006).

Hospedeiras	Espécies de <i>Phytophthora</i>										
	<i>capsici</i>	<i>Cactorum</i>	<i>cryptogea</i>	<i>ctrophthora</i>	<i>drechsleri</i>	<i>infestans</i>	<i>megasperma</i>	<i>melonis</i>	<i>nicotianae</i> e <i>nicotianae</i> var <i>parasitica</i>	<i>palmivora</i> e <i>palmivora</i> var <i>palmivora</i>	<i>sinensis</i>
<i>Citrullus vulgaris</i>	Reg	Reg	Reg	Reg	Reg	NR	NR	Reg	Reg	Reg	NR
<i>Cucumis melo</i>	Reg	Reg	Reg	Reg	Reg	NR	NR	Reg	Reg	NR	NR
<i>Cucumis sativus</i>	Reg	Reg	Reg	NR	Reg	NR	Reg	Reg	Reg	NR	Reg
<i>Cucurbita moschata</i>	Reg	NR	Reg	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>Sicana odorifera</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>Capsicum praetermissum</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>Cyphonandra betacea</i>	NR	Reg	Reg	NR	NR	NR	NR	NR	Reg	Reg	NR
<i>Solanum americanum</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR – não registrado; Reg – registrado.

Das hospedeiras infectadas artificialmente por *P. capsici*, observou-se no banco de dados SBML (2006) que não tem-se registro de ocorrência em Croá-*Sicana odorifera*, pimenta cumari-*Capsicum praetermissum*, tomate de árvore-*Cyphonandra betacea* e maria pretinha-*Solanum americanum*, sendo este o primeiro registro de ocorrência no mundo (Paz Lima *et al.*, 2005b).

Vale a pena ressaltar que *Physalis* foi analisada no primeiro lote de avaliação de tomate, sendo que quando inoculada com o isolado A1, apresentou 25% de incidência ao fim de seis dias após a inoculação, e quando inoculada com isolado A2 não foi infectada, maiores estudos são necessários para confirmação se houve reação diferencial e se houve avirulência do isolado A2.

Algumas hospedeiras podem ser infectadas por um grande número de espécies de *Phytophthora*, como no caso de melancia que tem-se registrado oito espécies, para melão sete, para pepino oito espécies, para abóbora duas espécies, para tomate de árvore quatro espécies (Tabela 2.15). A presença de inúmeros registros numa mesma planta hospedeira é uma importante informação para prospecção de medidas racionais de controle, conhecimento do círculo de hospedeiros do patógeno, e para perfeita identificação da espécie incidente sobre a

cultura, restando cuidados especiais na identificação de doenças causadas por fitóftoras em melancia, melão e pepino.

## 2.6 LITERATURA CITADA:

- ANSANI, C. & MATSUOKA, K. Sobrevivência de *Phytophthora capsici* no solo. Fitopatologia Brasileira 8:269-276. 1983.
- ANSANI, C.V. Sobrevivência de *Phytophthora capsici* Leonian no solo. Viçosa: UFV, 1981. 45 p. Dissertação de Mestrado.
- AZEVEDO, L.A.S. & SILVA, L. Patogenicidade de *Phytophthora capsici* isolado de frutos de moranga híbrida (Tetsukabuto) a frutos de sete espécies de olerícolas. Fitopatologia Brasileira 11:1005-1008 1986.
- BRUNE, S. & LOPES, J.F. Resistência de *Cucurbita maxima* a *Phytophthora capsici*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 29(2):341-344 1994.
- BRUNE, S., REIFSCHNEIDER, F.J.B. & LOPES, J.F. Avaliação da resistência de plântulas de moranga a *Phytophthora capsici*. Horticultura Brasileira 8(2):95 1990.
- CAFÉ FILHO, A.C. & DUNIWAY, J.M. Effects of furrow irrigation schedules and host genotype on *Phytophthora* root rot of pepper. Plant Disease 79: 45-48. 1995.
- CAFÉ FILHO, A.C., DUNIWAY, J.M. & R.M. DAVIS. Effects of the frequency of furrow irrigation on root and fruit rots of squash caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease 79: 39-44. 1995.
- ERWIN, D.C. & RIBEIRO, O.K. *Phytophthora*. Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota, 1996. 562 p.
- GUERRERO-MONRENO, A. & LABORDE, J.A. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico, p.52-56, In: Sinop. IV th Meet. *Capsicum* Working Group of Eucarpia, Wageningen, The Netherlands, 14-16 Oct. 1980.
- HENZ, G.P. & LIMA, M.F. Avaliação de fatores que afetam a reação de *Cucurbita* spp. a *Phytophthora capsici*. Fitopatologia Brasileira 19(4):560-565.1994.
- HENZ, G.P. & LIMA, M.F. Resistência de plântulas de cultivares de cucurbitáceas à podridão-das-raízes causada por *Phytophthora capsici*. Fitopatologia Brasileira 33(6):853-859.1998.
- HENZ, G.P., LOPES, J.F. & LIMA, M.F. Resistência da polpa de frutos em genótipos de abóbora a *Phytophthora capsici*. Horticultura Brasileira 12(1):52-55. 1994.
- HONG, J.K. & HWANG, B.K. Temporal and subcellular localization of PR1 proteins in tomato stem tissues infected by virulent and avirulent isolates of *Phytophthora capsici*. Protoplasma 219 131-139 2002.
- IRWIN, A.G., IRWIN, A.C., CAHILL, D.M. & DRENTH, A. *Phytophthora* in Australia. Australian Journal of Agricultural Research 46:1311-1337. 1995.
- JIANHUA, L. YUHONG, Y., WEI LIN & YEFANG, Z. Resistance to *Phytophthora* blight in hot pepper germoplasm. *Capsicum* & Eggplant Newsletter 17:64-65. 1998.
- KIMBLE, K.A. & GROGAN, R.G. Resistance to *Phytophthora* root rot in pepper. Plant Disease Report 44:872-873. 1960
- LIMA, M.F. & HENZ, G.P. Patogenicidade de isolados de *Phytophthora capsici* à abóbora e avaliação da resistência de genótipos de *Cucurbita* spp. Horticultura Brasileira 12(1):45-48.1994.
- LOPES, J.F., BRUNE, S. & HENZ, G.P. Metodologia de avaliação da resistência de germoplasma de abóboras e morangas a *Phytophthora capsici*. Horticultura Brasileira 17:30-32. 1999.
- MANSOORI, B. & BANIHASHEIMI, Z. Evaluating cucurbit seedling resistance to *Phytophthora drechsleri*. Plant Disease 66(5):373-376. 1982.
- MATSUOKA K. Melhoramento de pimentão e pimenta visando à resistência a doenças fúngicas. Informe Agropecuário Belo Horizonte 10:49-52. 1984.

- MATSUOKA, K. & VANETTI, C.A. Murcha ou requeima do pimentão e podridão de fruto de abóbora causados por *Phytophthora capsici*. In: LUZ, E.D.M.N., SANTOS, A.F., MATSUOKA, K. & BEZERRA, J.R. (Eds.) Doenças causadas por Phytophthora no Brasil. Livraria e Editora Rural Ltda 509-559 pp. 2001.
- ORTEGA, R.G., ARNEDO-ANDRES, M.S., ARTEGA, M.L. & GARCES-CLAVER, A.B. 'Serrano Criollo de Morelos', a good example of a land variety. Capsicum and Eggplant Newsletter no.22, pp. 25-26 2003.
- PAZ LIMA, M.L., BOITEUX, L.S., REIS, A., VARGAS, A.M., LOPES, C.A. & CAFÉ FILHO, A.C. Efeito da idade da planta na expressão da resistência a *Phytophthora capsici* em genótipos de Cucurbitáceas e Solanáceas. Summa Phytopatologica 31(suplemento):82. 2005a.
- PAZ LIMA, M.L., CAFÉ FILHO, A.C., BOITEUX, A.C., REIS, A., SATELIS, J.F. & LOPES, C.A. Reação de espécies de *Lycopersicon* a isolados dos dois grupos de compatibilidade de *Phytophthora capsici*. Summa Phytopatologica 30(1):109-110. 2004.
- PAZ LIMA, M.L., REIS, A., BOITEUX, L.S., MENDONÇA, J.L. VARGAS, A.M., LOPES, C.A. & CAFÉ FILHO, A.C. Identificação de espécies hospedeiras de *Phytophthora capsici* em Solanáceas e Cucurbitáceas cultivadas, nativas e espontâneas. Summa Phytopatologica 31(suplemento):75. 2005b.
- POCHARD, E., CLERJEAU, M. & PITROT, M. La resistance du piment, *Capsicum annum* L. a *Phytophthora capsici* Leon. Annual Amelior. Plantation 26:35-50 1976.
- POLACH, F.J. & WEBSTER, R.K. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. Phytopathology 62:20-26. 1972.
- POLTRONIERI, L.S. Produção de esporângio in vitro, patogenicidade em *Cucurbita* spp. e controle químico de *Phytophthora capsici*. Piracicaba: ESALQ, 1986. 83p. Dissertação de Mestrado.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., BOITEUX, L.S., DELLA VECCHIA, P.T., POULOS, J.M. & KURODA, N. Inheritance of adult plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. Euphytica 62: 45-49. 1992.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., CAFÉ FILHO, A.C. & RÊGO, A.M. Factors affecting the expression of pepper resistance to *Phytophthora* blight in screening trials. Plant Pathology 35: 451-456. 1986.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., BOITEUX, L.S., DELLA VECCHIA, P.T., KURODA, N. & POULOS, J.M. Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. Euphytica 62:45-49. 1992.
- RIBEIRO, C.S., LOBO Jr., M., HENZ, G.P. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Evaluation of *Capsicum* spp. genotypes for resistance to *Phytophthora capsici* in Brazil. Capsicum and Eggplant Newsletter 22:125-126. 2003.
- RIBEIRO, C.S.C., LOPES, CA & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Identification of sources of juvenile resistance in *Capsicum* spp. to *Phytophthora capsici*. Capsicum & Eggplant Newsletter. 16: 101. 1997.
- RISTAINO, J.B. & JOHNSTON, S.A. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. Plant Disease 83(12):1080-1089. 1999.
- ROBERTS, P.D., McGOVERN, R.J., HERT, A., VAVRINA, C.S. & URS, R.R. *Phytophthora capsici* on tomato: survival, severity, age, variety, and insensitivity to mefenoxam. Disponível em: <<http://www.imok.ufl.edu/veghort/pubs/wokshop/roberts99.htm>>, Acessado em: outubro de 2003.
- SATOUR, M.M. & BUTLER, E.E. A root and crown rot of tomato caused by *Phytophthora capsici* and *P. parasitica*. Phytopathology 57(5):510-515 1967.
- SBML Systematic Botany of Mycology, disponível em: <<http://nt.ars-grin.gov>>, consultado em 27/03/2006.
- SHIVAS, R.G. Fungal and bacterial diseases of plants in Western Australia. Journal Royal Soc. W. Australia 72: 1-62 (6765) 1989.
- TOMPKINS, C.M. & TUCKER, C.M. Buckeye rot of tomato in California. Journal Agricultural Resources. 62:467-474. 1941.