



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

**DAYSE FREITAS DE SOUSA**

**AVALIAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS  
MICROPROPAGADAS DE *Capsicum* spp. A UM ISOLADO VIRAL  
OBTIDO DE PIMENTA COLETADA NO MUNICÍPIO DE SUMÉ – PB.**

**SUMÉ - PB  
2018**

**DAYSE FREITAS DE SOUSA**

**AVALIAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS  
MICROPROPAGADAS DE *Capsicum* spp. A UM ISOLADO VIRAL  
OBTIDO DE PIMENTA COLETADA NO MUNICÍPIO DE SUMÉ – PB.**

**Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.**

**Orientadora: Professora Dr<sup>a</sup> Ana Verônica Silva do Nascimento.**

**SUMÉ - PB  
2018**

S725a Sousa, Dayse Freitas de.

Avaliação de fontes de resistência de plantas micropropagadas de *Capsicum* spp. A um isolado viral obtido de pimenta coletada no município de Sumé – PB. / Dayse Freitas de Sousa. - Sumé - PB: [s.n], 2018.

51 f.

Orientadora: Professora Dr<sup>a</sup>. Ana Verônica Silva do Nascimento.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Plantas - micropropagação. 2. Resistência de plantas. 3. Cultura de tecidos vegetais. 4. Pimentas - *Capsicum* spp. 5. Melhoramento genético vegetal. 6. Virologia vegetal. I. Título.

CDU: 581.8(043.1)

Elaboração da Ficha Catalográfica:

Johnny Rodrigues Barbosa  
Bibliotecário-Documentalista  
CRB-15/626

DAYSE FREITAS DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS  
MICROPROPAGADAS DE *Capsicum* spp. A UM ISOLADO VIRAL  
OBTIDO DE PIMENTEIRA COLETADA NO MUNICÍPIO DE SUMÉ, PB.**

Monografia apresentada ao Curso Superior de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

**BANCA EXAMINADORA:**

  
\_\_\_\_\_  
Professora Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento.  
(Orientadora – UAEB/CDSA/UFGG)

  
\_\_\_\_\_  
Professora Dra. Carina Seixas Maia Dornelas.  
(Examinador I – UATEC/CDSA/UFGG)

  
\_\_\_\_\_  
Professor Dr. José George Ferreira Medeiros.  
(Examinador II – UATEC/CDSA/UFGG)

Aprovado em: 17 de dezembro de 2018.

**SUMÉ - PB**

A minha família, que me ajuda e sempre me ajudou, sempre dando forças para que eu pudesse chegar a lugares nunca imaginado antes, vocês sempre serão os donos de todo meu amor; A minha bisavó Inácia Torres de Freitas, *in memoriam*.

Dedico!

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus, que é meu refúgio, melhor amigo e a base de tudo em minha vida. Sempre que me deparo com problemas na minha vida ele me sustenta;

A minha mãe, Eunice Maria Torres, pelos conselhos, preocupação, orações, amor, carinho e dedicação;

Ao meu pai, Paulo Januário de Sousa, pelo apoio durante minha formação;

Ao meu pai de criação, Genival Fernandes Costa, por todo amor. Obrigado por ter sido um pai amoroso, dedicado e atencioso;

A meus irmãos Davi de Freitas Costa, Danielle de Freitas Costa pelo apoio, companheirismo e brincadeiras;

A minha querida avó Damiana Torres de Freitas (Dom) e tia Damiana Andrade, que desde sempre ajudou na minha criação, pelo amor infinito, conselhos e por sempre entender o que me afligia;

Aos meus tios Paulo Torres de Freitas e Roberto Torres de Freitas, Ana Maria de Freitas e Silvia Torres de Freitas, pela dedicação e cuidado comigo quando criança, pelo amor e pela força;

Aos meus Primos Diógenis Freitas de Sousa e Danilo Freitas de Sousa, por todos os conselhos, apoio e ajuda prestada;

Ao meu afilhado, Marcus Darllan Ribeiro de Farias, por ser luz na minha vida;

A família Farias, pelo amor, companheirismo, brincadeiras e apoio;

Ao meu companheiro, José Ray Martins Farias, pelo amor, carinho, dedicação e por está comigo em todos os momentos;

A Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, pela oportunidade da formação superior;

Aos programas PROPEX e Monitoria pela oportunidade vivenciada;

A minha orientadora do Trabalho de Conclusão de Curso, Ana Verônica Silva do Nascimento, pela confiança que depositou em mim, pelo incentivo e oportunidades, por sempre me ajudar e animar na condução da pesquisa e pelos puxões de orelhas. Agradeço também por me aconselhar em momentos difíceis na vida acadêmica e pessoal;

Aos professores do curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, em especial à Glauciane Danusa Coelho, Bruno Rafael Pereira Nunes, Lenilde Mérgia Ribeiro Lima, Alex de Albuquerque Silva, Ana Luiza Araújo Costa, Aldinete Bezerra

Barreto Anastácio e Karlla Karolinne França Lima que sempre trouxe conteúdos atualizados, passando a informação sempre da melhor maneira;

A professora Dra. Adriana de Fátima Meira Vital, pelo carinho e atenção;

Professor Rivaldo Vital, pela paciência e atenção;

A professora Dra. Ilza Maria do Nascimento Brasileiro, pelo espaço concedido para a etapa final do projeto;

A Davi Neves dos Santos, por ter me auxiliado nesse trabalho e pelas risadas;

Aos amigos da empresa terceirizada (Zelo) responsável pela manutenção dos espaços da UFCG/CDSA, em especial José Tiano da Silva e André Pereira de Araújo, por terem me ajudado na realização desse trabalho;

Agradeço ao técnico do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Leidson Allan Ferreira de Lucena, pela ajuda;

A Denis Monteiro, por ter prestado apoio e orientação na minha vida acadêmica;

Aos meus amigos que fiz durante a graduação, Jayane Karine Perreira de Araújo, Maria Alice de Melo Pinheiro e Andreza Larissa Pires Morais, pelo companheirismo, pelas contribuições, brigas construtivas, risadas, aperreios juntos e pelas “resenhas dessa vida acadêmica”, amo vocês;

A minha querida amiga, Maria Lidiane da Conceição Silva, que mesmo distante e “se falando uma vez perdida na vida” contribuiu bastante na minha formação, me ajudando em momentos difíceis;

Aos meus colegas do CDSA por tudo que vivemos juntos e pelo apoio recebido de forma direta e indireta;

Aos meus amigos da Residência Universitária (CDSA), pelo apoio, companheirismo, momentos tão felizes e únicos vividos com vocês, irei levar cada um em meu coração;

Aos colegas do “Toyota de Neguinho”, pelo companheirismo e apoio;

A todos os anjos (caminhoneiros, motoqueiros e motoristas de modo geral) que Deus colocou em minha vida, para ajudar na locomoção de casa à universidade, meu muito obrigado, vocês foram uma peça chave nessa conquista;

A Anderson Steyner Rozendo, Débora Tavares, Ozires T. B. de Lima, Daniele Joyce e Caio de Azevedo Lima, pela convivência, amizade e contribuições na vida acadêmica;

À todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para essa conquista.

Agradeço!

## RESUMO

As pimentas e pimentões, pertencentes ao gênero *Capsicum* spp., são amplamente cultivadas em todo mundo. Uma das limitações para estas culturas são as doenças de origem viral. Diversos vírus infectam as pimenteiras, destacando-se o *potyvirus*, *Pepper yellow mosaic virus* (*PepYMV*). Uma ferramenta que advém da biotecnologia é a micropropagação, que é uma técnica de cultura de tecido vegetal que tem por interesse a obtenção de plantas saudáveis e resistentes. Dessa forma, o presente trabalho visou diagnosticar por teste sorológico a presença de Potyvírus em *Capsicum* spp e identificar possíveis fontes de resistência ao vírus em plantas micropropagadas. Inicialmente, foram realizadas coletas das amostras de pimenteira no município de Sumé - PB para a identificação de *Potyvirus* e através do teste sorológico (ELISA indireto) confirmou-se infecção viral ao *PepYMV*. Em seguida, sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.), pimenta cambuci (*Capsicum baccatum* L.), pimenta lupita (*Capsicum annuum* L.), pimenta bico (*Capsicum chinense* L.) e pimenta cayenne (*Capsicum annuum* L.), foram micropropagadas e inoculadas com isolado viral para avaliação de possíveis fontes de resistência ao vírus. No teste de resistência das plantas micropropagadas, apenas a pimenta bico apresentou infecção viral ao *PepYMV*. Podemos concluir que as demais espécies de pimentas se apresentam não suscetíveis ao isolado viral podendo ser estudada futuramente como fonte de resistência.

**Palavras-chave:** Pimenta. Micropropagação. Resistência. ELISA indireto.

## ABSTRACT

The peppers and chilis, pertaining to the *Capsicum* sort spp., widely are cultivated in all the world. One of the limitations for these cultures is the illnesses of viral origin. Diverse viruses infect the peppers, being distinguished *potyvirus*, *Pepper yellow mosaic virus* (*PepYMV*). A tool that they happen of the biotechnology is the micropropagation, that is one technique of vegetal fabric culture that has for interest, the attainment of healthy and resistant plants. Of this form, the present work aimed at to carry through diagnose by serological test the presence of Potyvirus in *Capsicum* spp. to identify possible sources of virus resistance in plants of micropropagation. Initially, collections of the samples of peppers in the city of Sumé for the identification of *Potyvirus* had been carried through and through the serologic test (indirect ELISA) it was confirmed viral infection to the *PepYMV*. After that, pepper seeds chilli (*Capsicum frutescens* L.), pepper cambuci (*Capsicum baccatum* L.), lupita pepper (*Capsicum annuum* L.), pepper peak (*chinense Capsicum* L.) and pepper cayenne (*Capsicum annuum* L.), had been spread and inoculated with isolated viral for evaluation of \possible sources of resistance the virus. In the test of resistance of the spread plants, only the pepper peak presented viral infection to the *PepYMV*. We can conclude that the other species of peppers are not susceptible to the viral isolate and can be studied in the future as sources of resistance.

Keywords: Chilli. Micropropagation. Resistance. indirect ELISA.

## LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1** - Preservação de fitovírus. A - Processo de secagem das amostras; B - Processo de preservação de fitovírus nas amostras .....26
- Figura 2** - Micropropagação das sementes de pimenta em ambiente asséptico .....27
- Figura 3** - Aclimação das plântulas. A- Início de aclimação das plântulas. B- Plantas após 30 dias de aclimação .....28
- Figura 4** - Processo de inoculação do isolado viral nas plantas de pimenta .....29
- Figura 5** - Variedades utilizadas para coleta: A- Pimenta Cambuci (Viveiro de mudas); B- Pimenta Malagueta (Parreiral); C- Pimenta de Bode (Viveiro de mudas); D- Pimenta Dedo de Moça (Viveiro de mudas nativas da caatinga) .....30
- Figura 6** - Amostras foliares das matrizes que apresentam sintomas típicos da infecção por vírus. A- Mosaico leve, manchas amareladas e pontos necróticos; B- Mosaico severo, manchas amareladas e pontos necróticos; C- Mosaico severo, mosaico leve, manchas amareladas e deformação foliar .....32

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Número total dos sintomas analisados através de amostras coletadas em áreas de cultivo de pimentas.....33
- Gráfico 2** - Caracterização sorológica através do Teste ELISA indireto. 1- Amostra de pimenta malagueta coletada no sítio Lagoa da Luz; 2- Amostra de pimenta malagueta coletada no Viveiro de Mudas do CDSA; 3- Amostra de pimenta malagueta coletada no Sítio Angico Torto; 4- Amostra de pimenta dedo de moça coletada no Viveiro de Mudas Nativas da Caatinga do CDSA e 5- Amostra de pimenta malagueta coletada no Parreiral do CDSA. Controle negativo- plantas de pimenta sadias, Controle positivo- plantas de pimenta infectadas com os respectivos vírus testados. ....34
- Gráfico 3** - Caracterização sorológica através do teste Elisa indireto em amostras de plantas micropropagadas. PiB\* - Amostras de pimenta bico, CPiB – Amostra controle; PiL\* – Amostras de pimenta lupita, CPiC – Amostra controle; PiM\* – Amostras de pimenta malagueta, CPiM – Amostra controle; PiC\* – Pimenta Cambuci, CPiC – Amostra controle; PiY\* - Amostras de pimenta cayenne, CPiY – Amostra controle; CN – Controle negativo (Plantas de pimentas sadias); CP – Controle positivo (Plantas de pimentas infectadas com os respectivos vírus). .....36
- Gráfico 4** - Ordenação dos eixos da análise de redundância explicando a influência dos sintomas entre os tratamentos (Pimenta x vírus) .....39
- Gráfico 5** - Representatividade viral nas espécies de pimenta de acordo com a análise de redundância .....40

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Características morfológicas para a identificação das espécies domesticadas de Capsicum .....	17
---	----

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Tabela referente as amostras de plantas coletadas que apresentam sintomas de infecção viral e seus respectivos sintomas .....31
- Tabela 2** - Análise de Permuta Multivariada (PERMANOVA) não restritiva mostrando diferenças entre as espécies de pimenta analisadas. GL – Graus de Liberdade; DP – Desvio Padrão; Média Padrão; p (MC) – Teste de Monte-Carlo; \* - significância < 0,05 .....37
- Tabela 3** - Efeito das interações do teste da PERMANOVA, mostrando diferenças entre as espécies de pimentas avaliadas quanto a inoculação viral. p (MC) – teste de Monte-Carlo; \* - efeito significativo < 0,05; ns – não significativo.....38
- Tabela 4** - Coeficientes de combinação linear da Análise de Redundância para os tipos virais PepYMV, PVY, CMV e CABMV amostrados, sendo o dbRDA1 o eixo mais explicativo .....39

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Gênero <i>Capsicum</i>.....</b>	<b>16</b>
2.1.1	Aspectos Botânicos .....	16
2.1.2	Aspectos econômicos .....	19
<b>2.2</b>	<b>Viroses detectadas no gênero <i>Capsicum spp.</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3</b>	<b>Família Potyviridae.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4</b>	<b>Cultura de tecidos vegetais <i>in vitro</i>.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5</b>	<b>Micropropagação .....</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1</b>	<b>Caracterização do município de realização da pesquisa.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2</b>	<b>Obtenção e preservação do isolado viral.....</b>	<b>25</b>
<b>3.3</b>	<b>Caracterização sorológica através do teste Elisa indireto .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4</b>	<b>Micropropagação de sementes de pimenta .....</b>	<b>27</b>
<b>3.5</b>	<b>Aclimação das plântulas .....</b>	<b>27</b>
<b>3.6</b>	<b>Inoculação mecânica do isolado viral via extrato tamponado .....</b>	<b>28</b>
<b>3.7</b>	<b>Avaliação de fontes de resistência em plantas micropropagadas .....</b>	<b>29</b>
<b>3.8</b>	<b>Análise estatística .....</b>	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, pertence à família Solanaceae, o qual apresenta 31 espécies classificadas de acordo com seu nível de domesticação, podendo as espécies serem consideradas silvestres, semidomesticadas e domesticadas. Nesse gênero encontram-se as pimentas doces, pimentas picantes e pimentões (BUSO et al., 2001; MOSCONE et al., 2007, BIANCHETTI; CARVALHO, 2005).

As pimentas desse gênero são apreciadas em várias partes do mundo, principalmente no México, América Central, Antilhas, Índia Ocidental, Caribe, Bolívia (maior diversidade) e em todo Brasil, devido sua versatilidade culinária, industrial, ornamental e propriedades medicinais (BIANCHETTI, 1996; FAOSTAT, 2014).

Segundo Moscone et al., (2007) o Brasil é considerado um dos maiores centros de diversidade de algumas espécies do gênero *Capsicum*. O cultivo de pimentas deste gênero ocorre praticamente em todas as regiões do país, principalmente nas regiões Sudeste e o Centro-Oeste, destacando-se os principais estados produtores, Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul (ESTEVES, 2011). Existe uma grande diversidade e tipos de pimentas, com diferentes tamanhos, cores, sabores, ardume e nomes. Representam um novo mercado para a agricultura brasileira e para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas.

Apesar das novas tecnologias empregadas no sistema de produção dessas espécies, os problemas fitossanitários ainda são um dos maiores obstáculos à produtividade e a qualidade das mesmas, principalmente as doenças causadas por vírus (AZEVEDO et al., 2005).

As pimenteiras são expostas a insetos e fitopatógenos, que as infectam, e muitas vezes causam perdas irreparáveis. Um desses fitopatógenos são os vírus, sendo os mais importantes: *potyvírus* - *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)* e *Potato virus Y (PVY)*, os *tospovírus* - *Tomato spotted wilt virus (TSWV)*, *Groundnut ringspot virus (GRSV)* e *Tomato chlorotic spot virus (TCSV)*, o *tobamovírus* - *Pepper mild mottle virus (PMMoV)* e o *cucumovírus* - *Cucumber mosaic virus (CMV)* (INOUE-NAGATA et al., 2002; TRUTA et al., 2004).

O avanço da biotecnologia tem proporcionado a utilização de várias técnicas na detecção de infecções viral, os teste mais utilizados na detecção de virus são: a) biológicos: baseados nas propriedades biológicas dos vírus, como morfologia da partícula e gama de hospedeiros; b) sorológicos com base na detecção da proteína

capsidial do vírus; c) testes moleculares, que são fundamentados na detecção e/ou análise do ácido nucléico viral (ZERBINI; CARVALHO; ZAMBOLIM, 2002).

A utilização de teste sorológicos tem se tornado um método alternativo de detecção e controle de doenças provenientes de vírus, a exemplo temos a utilização do teste Elise indireto, que tem proporcionado bons resultados em pesquisas de detecção de viroses.

A micropropagação surge como uma alternativa de controle dessas doenças, e é uma técnica de cultura de tecidos vegetais para obter plantas saudáveis, e que consiste em cultivar em ambiente asséptico, temperatura e iluminação controlada, qualquer parte da planta, em recipientes específicos contendo meio de cultivo adequado, o que proporciona a produção em larga escala de plantas inteiras e idênticas à planta mãe (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Dessa forma, essa técnica tem sido bastante explorada no melhoramento genético de plantas, buscando fontes de resistência, como a fitopatógenos.

A pesquisa teve como objetivo diagnosticar por teste sorológico a presença de *Potyvirus* em *Capsicum* spp e identificar possíveis fontes de resistência ao vírus em plantas micropropagadas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Gênero *Capsicum*

As pimentas e pimentões pertencentes ao gênero *Capsicum*, são consideradas as principais especiarias originadas no continente Americano, com base em registros antigos, sendo cultivadas em regiões tropicais e temperadas de todo o mundo (HEISER, 1979).

Segundo Carvalho et al. (2006) as pimentas são apreciadas em várias partes do mundo, sendo assim consumidos por um quarto da população mundial. Apresentam diversas formas (alongado, arredondado, triangular, campanulado e retangular), sabores, tamanhos, pungência (ardume ou picância) e cores (vermelho, amarelo, laranja, verde, salmão, roxo e marrom).

A pungência, característica marcante desse gênero, ocorre devido substâncias alcalóides, mais especificamente: a capsaicina e a dihidrocapsaicina. Sendo a capsaicina empregada na medicina, apresentando diversos benefícios a saúde, e ampla aplicação na indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas (CARVALHO et al., 2006). Além dessa característica marcante, os frutos são fonte de vitaminas e minerais, como vitamina A, vitaminas do complexo B1 e B2, cálcio, fósforo e ferro (BOSLAND, 1993).

O cultivo dessas hortaliças, possui elevada importância econômica no Brasil, gerando altos rendimentos financeiros com seus frutos sendo consumidos de diversas formas, como in natura, no processamento de molhos, temperos ou conservas de pimentas (VIANA, 2007; ALVES, 2008).

#### 2.1.1 Aspectos Botânicos

As pimentas e pimentões do gênero *Capsicum*, são classificadas como Angiosperma, classe Dicotiledônia, Divisão Spermatophyita, Ordem Solanales, Família Solanaceae (VINALS et al., 1996). E segundo Moscone et al., (2007) o gênero apresenta 31 espécies.

Nesse gênero as espécies apresentam um ciclo vegetativo e reprodutivo anual, bianual ou perene (MARTINS, 2010), em geral possuem flores hermafroditas, sendo consideradas autógamias, ou seja, são autopolinizadas e a altura e forma de crescimento destas plantas variam de acordo com a espécie e as condições de cultivo (BIANCHETTI, 1996; CARVALHO et al., 2006).

Possui sistema radicular pivotante, apresentando um número elevado de ramificações, podendo alcançar até 70-120 cm. As folhas podem variar de tamanho, formato, cor e pilosidade variáveis. A coloração das folhas geralmente é verde, mas pode apresentar-se na cor violeta ou misturada. Podem apresentar variações no formato, sendo ovalado, lanceolado a deltoide. As hastes podem ser constituídas com antocianina ao longo de seu comprimento e/ou nós, bem como presença ou ausência de pêlos. O sistema de ramificação segue um único modelo de dicotomia e, inicia-se quando a plântula atinge de 15 a 20 cm de altura (BIANCHETTI, CARVALHO, 2005).

Dentre as espécies do gênero *Capsicum*, cinco são domesticadas, cultivadas e utilizadas pelo homem. E apresentam características botânicas que diferenciam esse nível de domesticação, como variação na coloração e da corola, número de flores por nó, posição e formato dos frutos (LOPES et al., 2007). Sendo estas a *Capsicum annuum* L. (Pimenta-doce, Pimenta-jalapefio, Pimenta-cayenne e Pimenta-serrano); *C. baccatum* L. (Pimenta dedo-de-moça, Pimenta cambuci ou chapéu-de-frade); *C. Chinense* L. (Pimenta-de-cheiro, Pimenta-de-bode, Pimenta cumari-do-Pará, Pimenta-murupi, Pimenta-habanero, Pimenta-biquinho); *C. Frutescens* L. (Pimenta-malagueta, Pimenta-tabasco) e *C. pubescens* L. (Quadro 1).

**Quadro 1** - Características morfológicas para a identificação das espécies domesticadas de *Capsicum*

Espécie	Características morfológicas
<i>Capsicum annuum</i> var. <i>annuum</i>	Geralmente apresenta uma flor por nó, raramente mais de uma e ocasionalmente fasciculadas. Na antese, os pedicelos podem ser eretos, pendentes ou inclinados. A corola é branca (raramente violeta), sem manchas na base dos lobos das pétalas. As anteras são geralmente azuladas. Os cálices dos frutos maduros são pouco dentados e não possuem constrição anelar na junção do pedicelo. Os frutos são de várias cores e formas, geralmente pendentes, persistentes, com polpa firme; as sementes são cor de palha.
<i>Capsicum baccatum</i>	As flores se apresentam em número de uma a duas. Na antese, os pedicelos são geralmente eretos. A corola é branca e

*var. pendulum* sempre apresenta um par de manchas amareladas ou esverdeadas na base de cada lobo das pétalas. As anteras são amarelas. Os cálices dos frutos maduros são evidentemente dentados e não possuem constrição anelar na junção do pedicelo. Os frutos são de várias cores e formas, geralmente pendentes, persistentes, com polpa firme; as sementes são cor de palha.

*Capsicum chinense* As flores se apresentam em número de duas a cinco por nó (raramente solitárias). Na antese, os pedicelos são geralmente inclinados ou pendentes, porém, podem se apresentar eretos. A corola é branca esverdeada sem manchas (raramente branca ou com manchas púrpuras) e com lobos planos (que não se dobram). As anteras são geralmente azuis, roxas ou violetas. Os cálices dos frutos maduros são pouco dentados e, tipicamente, apresentam uma constrição anelar na junção com o pedicelo. Os frutos são de várias cores e formas, geralmente pendentes, persistentes, com polpa firme; as sementes são cor de palha.

*Capsicum frutescens* As flores se formam em número de uma a três por nó (ocasionalmente fasciculadas). Na antese, os pedicelos são tipicamente eretos. A corola é branca esverdeada, sem manchas e, geralmente, os lobos dobram-se para trás. As anteras são geralmente azuis, roxas ou violetas. Os cálices dos frutos maduros são pouco a não dentados e não apresentam constrição anelar na junção com o pedicelo. Os frutos geralmente são vermelhos, cônicos, eretos, parede muito delgada, com polpa mole; as sementes são cor de palha e mais espessas no hilo.

**FONTE:** LOPES et al. (2007).

Destas, apenas *Capsicum Pubescens* L. não é cultivada no Brasil (LOPES et al., 2007). As outras espécies podem ser assim consideradas semidomesticadas e

silvestres. A *Capsicum chinense* L. Destaca-se por ser considerada a mais brasileira, pois seu centro de diversidade genética é na Amazônia (CARVALHO, BIANCHETTI, 2008).

### 2.1.2 Aspectos econômicos

As pimentas do gênero *Capsicum* são uma das olerícolas mais comercializadas e consumidas em todo o mundo. De acordo com Carvalho et al., (2006) estudos mostram que pelo menos um quarto da população mundial consome frutos de pimenta de diferentes formas, como *in natura*, molhos líquidos, em conserva ou desidratadas, tendo grande aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, como a utilização ornamental. Representando assim um novo mercado que inclui desde o pequeno ao grande produtor.

As pimentas apresentam um grande valor agregado, fazendo parte fundamental do agronegócio brasileiro, as principais regiões produtoras são o Sudeste e Centro – Oeste. E os principais estados que se destacam são Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul (BIANCHETTI, 1996; BUSO et al., 2001; ALVARES, 2011).

Reifschneider e Ribeiro (2008) afirma que o cultivo de pimenta se aplica ao modelo de agricultura familiar e a integração do pequeno agricultor na indústria, aumentando assim o cultivo dessa espécie, as quais são cultivadas em áreas de pequeno porte, podendo chegar até 2 ha, tal sistema tem alcançado um retorno econômico relevante, podendo alcançar até 30 t/ha (ALVARES, 2011). Devidos as diversas aplicações dessa espécie, o mercado de pimentas apresenta grandes perspectivas e potencialidades (RUFINO; PENTEADO, 2006).

As características marcantes do gênero, como coloração e sabor dos frutos, fazem com que o mercado brasileiro seja impulsionado por hábitos e preferências alimentares, que varia de acordo com as pimentas de cada região (ALVARES, 2011).

O mercado dessa espécie é dividido de acordo com duas vertentes, objetivo da produção, se é consumo interno ou exportações, e quanto a forma, *in natura* ou processada (HENZ, 2004). As espécies processadas apresentam um alto valor agregado, como é o caso das espécies que são processadas e usadas em molhos, conservas ornamentais, geleias, embutidos, massas, ketchups, maioneses e flocos desidratados (CARVALHO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2008).

A crescente demanda do mercado interno e externo, tem impulsionado o aumento da área cultivada e a instalação de agroindústrias, tornando o agronegócio de espécies do gênero *Capsicum* um dos mais importantes do país, estimado em R\$ 80 milhões/ano (RIBEIRO et al., 2008).

Embora seja de grande importância na economia brasileira, as estatísticas de produção e comercialização de pimenta no Brasil são escassas e a informação disponível não reflete a realidade econômica dessa hortaliça, devido a informalidade dos mercados regionais e locais que não são inclusos nas estatísticas (DOMENICO et al., 2010).

## **2.2 Víroses detectadas no gênero *Capsicum* spp.**

As viroses encontram-se entre as doenças de maior importância e complexidade para as espécies do gênero *Capsicum*, resultando em problemas e perdas significativas na produção. A severidade dos sintomas em plantas infectadas depende da espécie de pimenta e da resistência da variedade, idade da planta na época da infecção, nível de virulência da estirpe do vírus, ocorrência de infecção mista na planta, condições ambientais e nutrição da planta (LIMA et al., 2010).

Aires et al., 2016 lista algumas doenças causadas por vírus em pimenteira, tais são:

- Mosaico da pimenteira, Família *Potyviridae*, Gênero *Potyvirus* (*Potato virus Y* e *Pepper yellow mosaic virus - PepYMV*), o vírus responsável pelo mosaico é transmitido na natureza principalmente por várias espécies de pulgões que podem adquirir e transmitir o vírus em poucos segundos. Em pimenta, estirpes de *PVY* induzem sintomas de mosaico, mosqueado e necrose, sendo que o sintoma depende principalmente do genótipo da espécie infectada. Já o *PepYMV* induz sintomas de mosaico nas folhas, amarelecimento, distorção foliar e redução de tamanho dos frutos. As plantas infectadas no estágio inicial, apresentam crescimento retardado. O círculo de hospedeiros desse vírus é restrito apenas as espécies da família *Solanaceae*. As infecções podem ser mistas associadas a outros vírus. O *PepYMV* e *PVY* apresentam os mesmos sintomas.

- Vira-cabeça da pimenteira, Família *Bunyaviridae*, Gênero *Tospovirus*, espécies (*Tomato spotted wilt virus - TSWV*, *Groundnut ringspot virus - GRSV* e *Tomato chlorotic spot virus - TCSV*). Este gênero é disseminado por tripses de forma circulativa-propagativa. Isto significa que o tripses adquire e transmite o vírus após

longo período de incubação e uma vez infectado perpetua o vírus por toda a vida. Podem infectar várias espécies de plantas, incluindo plantas cultivadas, plantas daninhas e plantas ornamentais. Sua disseminação pode ser total na lavoura e os sintomas podem similares aos causados pelo *PepYMV*, induzindo mosqueado tipo faixa verde das nervuras nas folhas, deformação foliar e formação de anéis cloróticos. Pode apresentar infecções mistas com o *PepYMV*.

- Mosaico do fumo, Gênero *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - *PepMMV*). A ocorrência de sintomas proveniente desse vírus não é frequente, no Brasil são encontrados apenas três tipos de vírus, os mesmos podem causar sintomas semelhantes, porém o *Pepper mild mottle virus* apresenta maior ocorrência em pimentas. Os vírus podem ser transmitidos por sementes e por contato mecânico. Apresenta como sintomas vários níveis de mosaico com deformação foliar. E não está classificado em nenhuma família.

- Mosaico da pimenteira, Família *Bromoviridae*, Gênero *Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - *CMV*). É um vírus de RNA com partículas icosaédricas uniforme, é transmitido por várias espécies de pulgões de maneira não circulativa em poucos segundos, apresenta um gama de hospedeiros, chegando a ser mais de 700 espécies incluindo plantas ornamentais, daninhas e entre outras.

### 2.3 Família Potyviridae

A família *Potyviridae* contém os gêneros *Potyvirus*, *Brambyvirus*, *Poacevirus*, *Bymovirus*, *Rymovirus*, *Macluravirus*, *Ipomovirus* e *Tritimovirus*, apresenta 146 espécies caracterizadas (KING, et al., 2012). E segundo Costa (2014) a família *Potyviridae* pode ser dividida em subgrupos de acordo com o tipo de corpos de inclusão que induzem a infecção e o tipo de vetor específico.

As partículas virais do *Potyvirus* são não-envelopadas, flexuosas e de forma cilíndrica, relatado com 680-900 nm de comprimento e 11-15 nm de largura. O genoma é de uma única fita de RNA (+ ss) sentido positivo de cerca de 10.000 nucleotídeos que ao ser traduzido gera uma poliproteína e tem uma única ORF (*open reading frame*) é uma sequência de DNA entre um códon de início (normalmente uma metionina, ATG) e um códon de parada (TAA, TAG ou TGA na maioria dos genomas) (KING et al., 2012; BROWN, 2010).

Apresenta a extremidade 5' do genoma dos *Potyvirus* covalentemente ligada a uma proteína de origem viral, denominada de VPg, e o terminal 3' é constituído de

poliadenilado sendo envolto por aproximadamente 2.200 cópias de uma proteína capsidial (KING et al., 2011; ADAMS et al., 2005).

Para que a transmissão do vírus ocorra é necessário que a proteína capsidial esteja relacionada aos movimentos célula-a-célula, a longa distância e na replicação viral. Na região N-terminal encontra-se uma sequência de aminoácidos altamente conservada entre os *potyvirus* transmitidos por afídeos, mutações de aminoácidos nesta sequência ou mudanças em áreas próximas ocasionam perda ou na redução da transmissão dos vírus pelos afídeos (KING et al., 2011).

De acordo com Lucinda et al. (2012) a espécie *PepYMV* apresenta uma similaridade de 63.84% com o *Pepper mottle virus (PepMoV)*, seguido pelo *Verbena virus Y (VVY, 62.11%)*, *Potato virus Y (PVY, 62.07%)* e *Peru tomato mosaic virus (PTV, 62.00%)*.

Algumas espécies do gênero *Potyvirus* podem ser limitantes para a produção agrícola, causando perdas significativas, destaca-se entre as espécies o *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)* que atualmente é um grande entrave para a cultura de espécies do gênero *Capsicum* spp. (MOURA, 2009).

A transmissão desse vírus pode ocorrer por afídeos de uma forma não-persistente, por ácaros ou moscas brancas (ODU et al., 2006). LOEBENSTEIN; KATIS (2014), relatam que o vírus também pode ser transmitido mecanicamente ou via enxertia.

A partir do momento em que a planta é infectada pelo vírus, métodos de controle tradicionais podem ser utilizados, como o manejo visando eliminar fontes de inóculo, o monitoramento e o controle de vetores (BASSO et al., 2014). Mas os métodos que utilizam materiais propagativos é o mais ideal para a prevenção segura e obtenção de plantas livres de patógenos virais (FAJARDO; NICKEL, 2015).

## **2.4 Cultura de tecidos vegetais *in vitro***

O desenvolvimento de técnicas biotecnológicas tem contribuído de forma significativa para o avanço da cultura de tecidos vegetais, possibilitando estudos sobre metabolismo, fisiologia, desenvolvimento e reprodução de plantas (REIS et al., 2008).

O cultivo de tecidos vegetais *in vitro* é uma técnica que permite o crescimento e multiplicação de células, tecidos, órgãos ou partes de órgãos de uma planta, sobre um meio nutritivo e em condições assépticas e ambientais (iluminação e

temperatura) controladas (SOUZA et al., 2018). Proporcionando a obtenção de um maior número de plântulas em um curto período de tempo e redução de espaço físico para produção (MORAIS et al., 2012).

A técnica pode ser aplicada no processo de multiplicação de plantas em larga escala, eliminação de problemas fitossanitários, melhoramento genético e conservação de germoplasma (SATHYANARAYANA; VARGHESE, 2007; MALAQUIAS et al., 2016).

Apresenta grande importância econômica e ambiental, pois através da cultura de tecidos *in vitro* é possível realizar a produção de plantas em escala comercial livres de patógenos (CARVALHO et al., 2006), aumentar a produção sustentável de madeira e produtos florestais não-madeireiros, possibilita a manipulação e melhoramento de espécies florestais nativas do Brasil (SOUZA et al., 2018), é uma alternativa para o reflorestamento de áreas degradadas (FIRMINO et al., 2009), produção de espécies ornamentais (SILVA et al., 2017), e meio de transporte regional ou internacional de germoplasma (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

## **2.5 Micropropagação**

Entre as técnicas de cultura de tecido *in vitro*, destaca-se a micropropagação, a qual possibilita a produção em larga escala de mudas a partir de tecidos e órgãos de plantas matriz, com a vantagem de manter a identidade genética do material propagado e com qualidade fitossanitária, apresentando vantagens em relação as outras técnicas de propagação vegetativa tradicional (NOGUEIRA et al., 2017).

Na micropropagação as plantas propagadas são cultivadas *in vitro* com meios nutritivos adequados e sob condições controladas de temperatura, luminosidade e fotoperíodo (ALMEIDA et al., 2015).

O sucesso da propagação *in vitro* depende de quatro fatores, a) estabelecimento asséptico do cultivo - quanto à planta doadora, deve-se levar em consideração algumas características como, a idade da planta, qualidade fitossanitário, aspectos nutricionais, estação do ano, tipo de reprodução predominante, produtividade da planta e estado fisiológico e em relação ao explante, o tamanho, condições em que se encontra a planta, aspectos visuais de cor, lesões, qualidade fitossanitário e idade fisiológica; b) multiplicação e cultivo – a multiplicação pode ocorrer de forma direta ou indireta, de acordo com a metodologia a ser seguida para o cultivo; c) enraizamento e aclimação – é necessário esses dois fatores para

que ocorra o transplante ao solo, tais ações necessitam de um maior cuidado para a eficiência do processo. O enraizamento pode ser conseguido com a utilização de hormônios do crescimento, enquanto que a aclimatação deve ser realizada em casa de vegetação, telado ou câmaras de aclimatação, levando em consideração o tipo de substrato, controle da temperatura, luz e umidade (LAMEIRA et al., 2000).

Segundo Andrade (2002), alguns fatores podem dificultar a regeneração da planta *in vitro*, como o genótipo da planta matriz a ser utilizada, a fonte de explantes (caule, raiz, folha, etc.) e as condições de cultivo.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Caracterização do município de realização da pesquisa**

A pesquisa realizou-se na Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (UFCG/CDSA), localizado no município de Sumé-PB.

O município de Sumé está localizado na Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba, Semiárido do Estado da Paraíba, Bioma Caatinga, mesorregião da Borborema, microrregião do Cariri Ocidental. Sumé está localizado nas seguintes coordenadas geográficas: Latitude 7° 40' 18" S, Longitude 36° 52' 54" O, altitude de 518 m. A área territorial é de 838,071 km<sup>2</sup>. A população para 2018 foi estimada em 16.864 habitantes (IBGE, 2018).

Predomina no município o tipo climático Bsh de Köppen (semiárido quente), com chuvas apresentando uma forte variação na distribuição espacial, temporal e interanual, e uma estação de estiagem que pode atingir 11 meses, com precipitação média anual superior a 600 mm (SENA; LUCENA, 2014).

A temperatura média é de 26° C, com máxima nos meses de novembro e dezembro e mínima nos meses de julho a agosto. A insolação na região de Sumé corresponde a cerca de 2800 horas luz (MOURA, 2002).

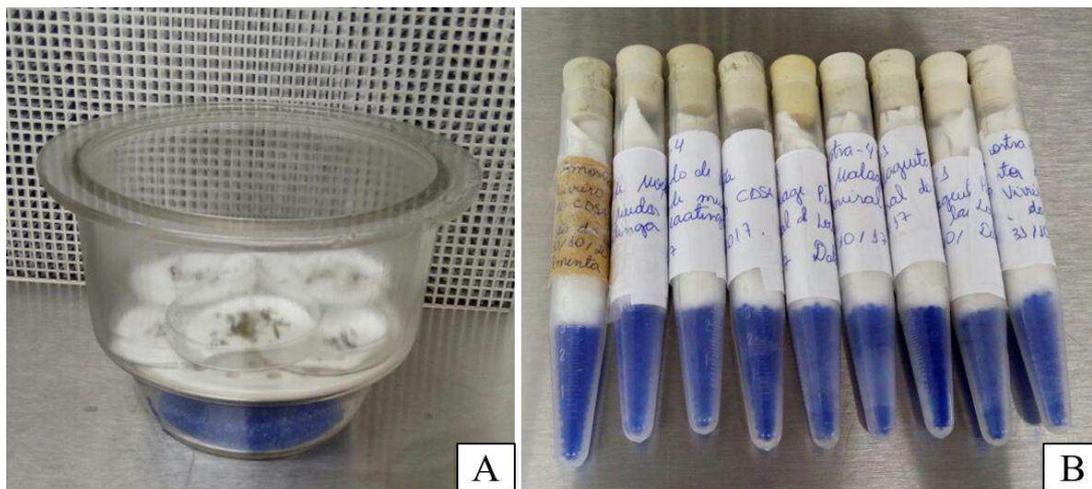
A vegetação é do tipo caatinga hiperxerófila e pelas limitações climáticas apresenta o sistema de exploração agrícola, pecuária e agricultura de subsistência (FRANCISCO, 2010).

#### **3.2 Obtenção e preservação do isolado viral**

Plantas de pimenta possuindo sintomas de mosaico leve e severo, deformação foliar, amarelecimento, e pontos necróticos, foram identificadas em locais de plantios no município de Sumé-PB, baseado por meio de informações de moradores locais, totalizando cinco áreas de coleta, sendo três destas na UFCG-CDSA: Viveiro de Mudas, Viveiro de Mudas Nativas da Caatinga e Parreiral, as demais em regiões próximas a sede do município, no Sítio Lagoa da Cruz e Sítio Angico Torto. Desta forma, 10 amostras foliares sintomáticas de 17 matrizes contabilizadas foram coletadas com o objetivo de isolar o vírus. As amostras foram enviadas para análise sintomatológica no Laboratório de cultura de tecidos Vegetal (UFCG/CDSA), em seguida uma parte das amostras, contabilizando cinco amostras de cada matriz,

foram enviadas para o Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, para a realização do teste Elisa indireto nas mesmas para a identificação fitopatológica. E no restante das amostras aplicou-se o processo de secagem e logo após preservação de fitovírus e em seguida armazenadas no refrigerador a  $-20^{\circ}\text{C}$  para conservação (Figura 1).

**Figura 1** - Preservação de fitovírus. A - Processo de secagem das amostras; B - Processo de preservação de fitovírus nas amostras



Fonte: Acervo da pesquisa (2017).

### 3.3 Caracterização sorológica através do teste Elisa indireto

A caracterização sorológica realizou-se em parceria com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário/UFRRJ. O teste Elisa indireto (MOWAT & DAWSON, 1987) foi realizado em folhas de pimenta apresentando infecção viral contra os vírus *Potato Vírus Y (PVY)*, *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)*, *Cucumber Mosaic Virus (CMV)*, *Cowpea aphid-borne Mosaic Virus (CABMV)*. As etapas para esta técnica foram a seguinte: adicionou-se aos poços da placa 200  $\mu\text{l}$  da solução de IgG dissolvido em tampão de cobertura (pH 9,6), em seguida incubou-se por 2 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  em câmara úmida, após a incubação realizou-se três lavagens com PBS – Tween, tendo cada uma a duração de três minutos. Colocou-se em cada poço 150  $\mu\text{l}$  da amostra e incubou-se novamente nas mesmas condições, e em seguida foram realizadas mais três lavagens. Os poços receberam o conjugado (150  $\mu\text{l}$ /poço), houve nova incubação e lavagens, só então recebeu o substrato p-nitrofenilfosfato dissódico tampão de

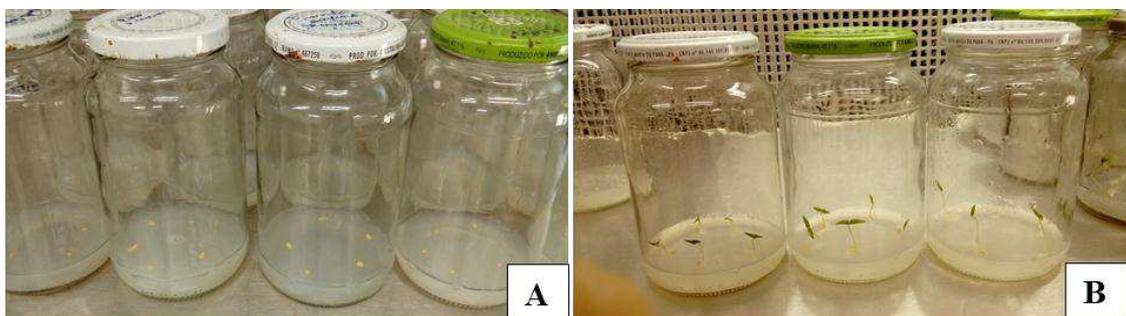
substrato (150 µl/poço, a partir daí aguardar a formação da coloração até a intensidade adequada).

### 3.4 Micropropagação de sementes de pimenta

O processo de micropropagação foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (UFCG/CDSA). Para o experimento utilizou-se cinco cultivares de sementes obtidas comercialmente, pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.), pimenta cambuci (*Capsicum baccatum* L.), pimenta lupita (*Capsicum annuum* L.), pimenta de bico (*Capsicum chinense* L.) e pimenta cayenne (*Capsicum annuum* L.).

Inicialmente, utilizou a metodologia proposta por Andrade (2002), as sementes foram lavadas com detergente neutro e desinfestadas com álcool 70% por dois minutos e posteriormente lavados com água destilada autoclavada. Após a lavagem, adicionou-se hipoclorito de sódio a 1% durante 20 minutos. Por último, as sementes foram lavadas com água destilada por três vezes. Após o processo de desinfestação, as sementes foram transferidas, com o auxílio de uma pinça esterilizada para frascos de vidros contendo 40 mL de meio de cultivo água-ágar previamente autoclavado, ilustrado na Figura 2A. Todos os frascos foram levados a BOD para o processo de incubação, na temperatura de 25 °C até o período de aclimação. No período de 15 dias iniciou-se o processo germinativo das sementes e após 25 dias as plântulas mostraram-se aptas para o processo de aclimação, como demonstra a Figura 2B.

**Figura 2** - Micropropagação das sementes de pimenta em ambiente asséptico



**Fonte:** Acervo da pesquisa (2018).

### 3.5 Aclimação das plântulas

Após o período de incubação, retirou-se as plântulas geradas dos frascos vidros após o processo de germinação das sementes, lavou-se com água corrente a

raiz das mesmas para retirar o meio de cultivo e posteriormente foram transferidas para vasos de plástico contendo substrato comercial umedecido ascendentemente com água. Por fim levaram-se os vasos plásticos contendo as plantas para a estufa a qual apresenta telado de 50%, como mostra a Figura 3. E irrigou-se as plântulas todos os dias, utilizando um regador de mão.

**Figura 3** - Aclimação das plântulas. A- Início de aclimação das plântulas. B- Plantas após 30 dias de aclimação

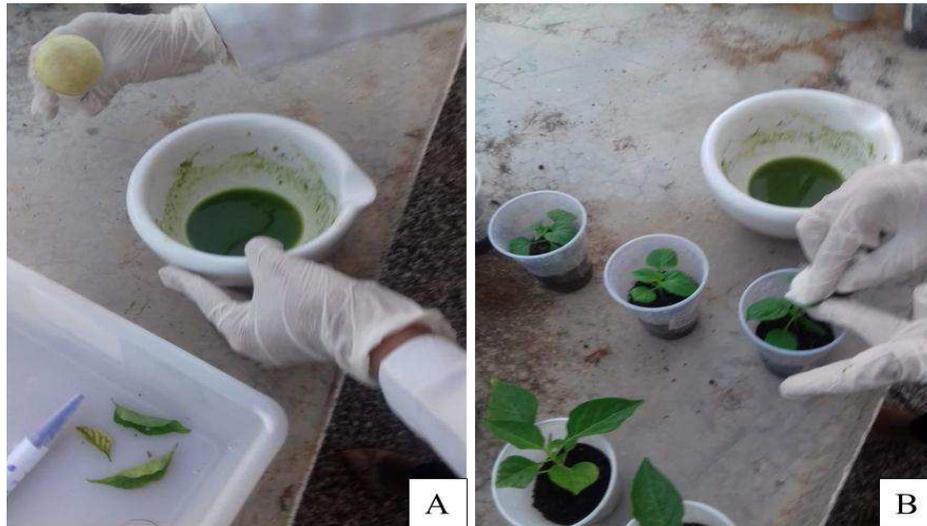


**Fonte:** Acervo da pesquisa (2018).

### 3.6 Inoculação mecânica do isolado viral via extrato tamponado

Após a aclimação foram inoculadas cinco plantas de cada cultivar para análise da resistência, através da sintomatologia apresentada, deixando-se uma planta como teste controle. Para o procedimento da inoculação, seguiu-se a método de Truta et al. (2003) com algumas alterações, em que suas folhas jovens de pimenta coletada no Viveiro de Mudanças do CDSA com sintomas típicos de vírus juntamente com as amostras armazenadas após o processo de preservação de fitovírus, que apresentaram infecção viral, detectada pela caracterização sorológica através do teste Elisa indireto, foram maceradas em almofariz na presença de tampão fosfato (0,05 M, pH 7,0), acrescido do antioxidante sulfito de sódio (0,01M) e do abrasivo celite (0,05%), como mostra a Figura 4A. Após a maceração, inoculou-se o extrato resultante mecanicamente em folhas saudáveis de pimenta pela fricção de pedaços de gaze embebidos no extrato vegetal nas superfícies adaxiais (Figura 4B), logo após a inoculação as folhas foram lavadas com água destilada com a finalidade de eliminar substâncias inibidoras que poderiam impedir a replicação do vírus. Após dois dias fez-se uma reinoculação para assegurar o processo.

**Figura 4** - Processo de inoculação do isolado viral nas plantas de pimenta



**Fonte:** Acervo da pesquisa (2018).

### 3.7 Avaliação de fontes de resistência em plantas micropropagadas

Após a reinoculação do extrato vegetal infectado nas plantas saudáveis, esperou-se 30 dias e as amostras foliares das cinco plantas de cada espécie foram coletadas e enviadas para o Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário/ UFRRJ, e realizou-se a caracterização sorológica através do teste ELISA indireto (MOWAT & DAWSON, 1987) nas mesmas.

### 3.8 Análise estatística

Para analisar diferenças nas espécies de *Capsicum* com base nos tratamentos utilizando solução viral, aplicou-se as análises de permutação multivariada (PERMANOVA) (ANDERSON, 2008). Para testar o efeito das interações entre pimentas e vírus, uma análise permutacional de variância (PERMANOVA), com 999 permutações aleatórias não restritivas, foi aplicada para testar diferenças entre as espécies e o tratamento. O teste de Monte-Carlo foi aplicado para validação da PERMANOVA. Verificou-se a porcentagem de contribuição de cada vírus para a cada espécie de pimenta.

Uma análise de redundância (RDA) foi realizada para discriminar quais vírus que mais contribuíram na variação das espécies e que porcentagem desta variância é explicada por estes vírus. Este teste foi realizado utilizando o Primer 6 (v. 6.1.13) com a extensão PERMANOVA+ versão 1.0.3 (CLARKE; GORLEY, 2006; ANDERSON et al.2008).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do levantamento dos plantios de pimentas nas cinco áreas de coleta foi possível identificar quatro espécies do gênero *Capsicum spp*, sendo: pimenta cambuci (*Capsicum baccatum* L.), pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.), pimenta de bode (*Capsicum chinense* L.) e pimenta dedo de moça (*Capsicum baccatum*. var. *pendulum* L.) ilustrado na Figura 5.

**Figura 5** - Variedades utilizadas para coleta: A- Pimenta Cambuci (Viveiro de mudas); B- Pimenta Malagueta (Parreiral); C- Pimenta de Bode (Viveiro de mudas); D- Pimenta Dedo de Moça (Viveiro de mudas nativas da caatinga)



**Fonte:** Acervo da pesquisa (2017).

Foi possível observar que a espécie mais encontrada nas cinco áreas foi a pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.). Segundo Araújo et al. (2016) as espécies mais utilizadas pelo homem no Brasil são: *C. frutescens*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. baccatum* var. *praetermissum* (pimenta cumari) e *C. chinense*. Lopes et al. (2007), afirma que a espécie *C. frutescens* é representada pelo tipo de pimenta mais conhecida e consumida no Brasil, plantada em todo o país, destacando-se os cultivos nos estados de Minas Gerais, Bahia e Ceará, em grande parte consumida na forma de molho. E declara que *C. chinense* é a mais brasileira das espécies domesticadas.

Nas análises sintomatológicas realizadas nas amostras das matrizes coletadas, foram identificados sintomas foliares típicos de infecção, como manchas amareladas, mosaico, deformação foliar e pontos necróticos.

Diante dos resultados tabelados (tabela 1), todas as 17 amostras apresentaram mais de um dos sintomas analisados. Sendo que apenas a amostra da variedade Pimenta de Bode (*Capsicum chinense*) apresentou os quatro sintomas.

**Tabela 1** - Tabela referente as amostras de plantas coletadas que apresentam sintomas de infecção viral e seus respectivos sintomas

LOCAL	CULTIVAR	AMOSTRA	SINTOMAS FOLIARES				
			MOSAICO SEVERO	MOSAICO LEVE	MANCHAS AMARELADAS	DEFORMAÇÃO FOLIAR	PONTOS NECRÓTICOS
Sítio lagoa da Cruz	<i>Capsicum frutescens</i>	1	X	X	X		X
Viveiro de Mudas do CDSA	<i>Capsicum frutescens</i>	1	X		X		X
		2	X	X			
		3	X	X	X		
	<i>Capsicum baccatum</i>	1		X	X		X
		2		X	X		
		<i>Capsicum baccatum. var. pendulum</i>	1		X	X	
	<i>Capsicum chinense</i>	1		X	X	X	X
Sítio Angico Torto	<i>Capsicum frutescens</i>	1		X	X		
Viveiro de Mudas Nativas da Caatinga do CDSA	<i>Capsicum baccatum. var. pendulum</i>	1	X		X		X
		2	X	X	X		X
		3	X		X		X
		4	X				X
Parreiral do CDSA	<i>Capsicum frutescens</i>	1	X		X		
		2	X		X		
		3	X		X		
		4	X		X		

**Fonte:** Dados da pesquisa (2017).

Segundo Lima (2012), tais sintomas são provocados pelo *Potyvirus* e disseminados por algumas espécies de afídeos, como os pulgões, que durante a sucção da seiva da planta (da família Solanáceas, Amarantáceas, Quenopodiáceas, Asteráceas e Fabáceas) podem adquirir e transmitir o vírus em poucos segundos.

De acordo com Duarte et al. (2000) a transmissão também pode ocorrer por enxertia, estacas de propagação retiradas de plantas infectadas e pela semente infectada. Lopes et al. (2007), afirma que um dos maiores problemas são sementes infectadas obtidas através de frutos de qualidade variável.

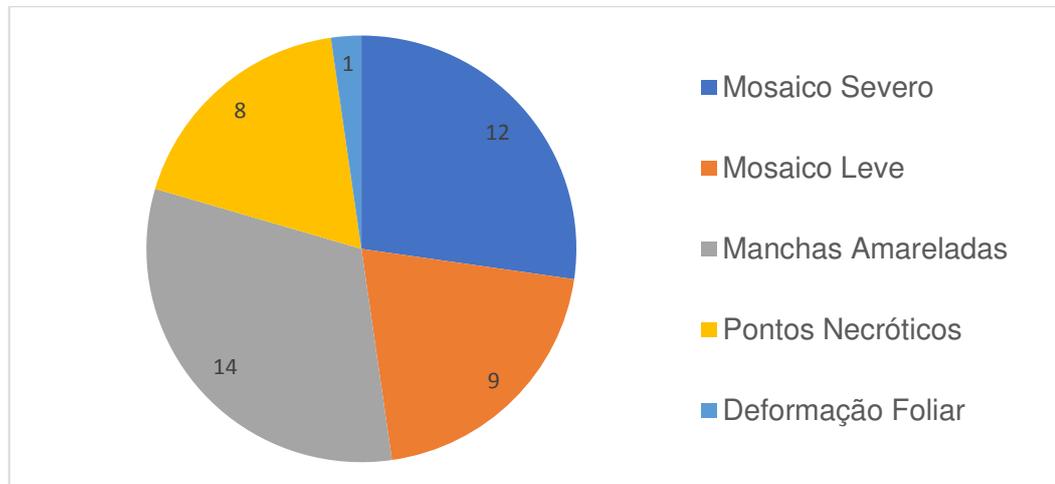
Foi observada grande variação na expressão de sintomas nas 17 amostras coletadas (Figura 6), o sintoma de maior presença nas amostras analisadas foi caracterizado por manchas amareladas, totalizando 14 amostras, os restantes dos sintomas apareceram em menor número, pontos necróticos em 8 amostras, mosaico severo em 12 amostras, mosaico leve em 9 amostras, e deformação apenas em uma amostra (Gráfico 1).

**Figura 6** - Amostras foliares das matrizes que apresentam sintomas típicos da infecção por vírus. A- Mosaico leve, manchas amareladas e pontos necróticos; B- Mosaico severo, manchas amareladas e pontos necróticos; C- Mosaico severo, mosaico leve, manchas amareladas e deformação foliar



**Fonte:** Acervo da pesquisa (2017).

**Gráfico 1** - Número total dos sintomas analisados através de amostras coletadas em áreas de cultivo de pimentas

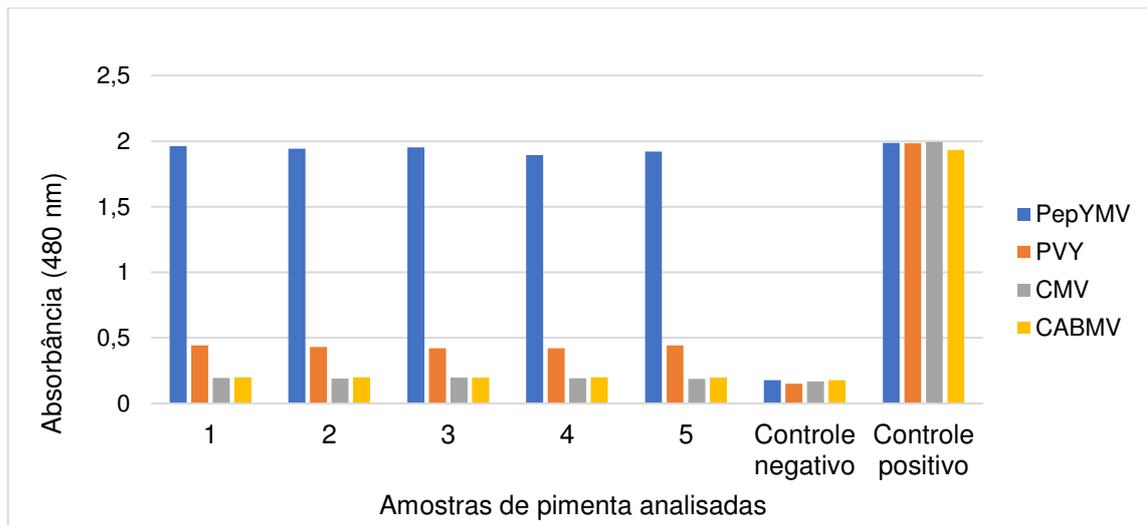


**Fonte:** Dados da pesquisa (2017).

Boari (2008) em sua pesquisa no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de pimenta-do-reino, situado na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA, observou que das 13 cultivares analisadas da BAG, dez apresentaram sintomas característicos de viroses, como mosaico, pontos cloróticos e deformações foliares.

Através da caracterização sorológica (teste ELISA indireto) realizada em amostras coletadas em plantios foi possível identificar reação positiva com o antissoro para *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)* nas amostras de pimenta malagueta e pimenta dedo de moça. Entretanto, para os antissoros contra *Potato Vírus Y (PVY)*, *Cucumber Mosaic Virus (CMV)*, *Cowpea aphid-borne Mosaic Virus (CABMV)* não foi observada reação positiva, confirmando dessa forma a etiologia viral com o *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)*, como mostra o Gráfico 2, pois abaixo da absorbância 0,5 encontram-se as amostras livres de vírus e acima de tal absorbância as amostras contaminadas pelo vírus *PepYMV*.

**Gráfico 2** - Caracterização sorológica através do Teste ELISA indireto. 1- Amostra de pimenta malagueta coletada no sítio Lagoa da Luz; 2- Amostra de pimenta malagueta coletada no Viveiro de Mudas do CDSA; 3- Amostra de pimenta malagueta coletada no Sítio Angico Torto; 4- Amostra de pimenta dedo de moça coletada no Viveiro de Mudas Nativas da Caatinga do CDSA e 5- Amostra de pimenta malagueta coletada no Parreiral do CDSA. Controle negativo- plantas de pimenta sadias, Controle positivo- plantas de pimenta infectadas com os respectivos vírus testados.



**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

A baixa incidência do *CMV*, *PVY* e *CABMV* pode ser explicada por uma possível inibição ou interferência na sua transmissão pela presença de outros vírus (SILVEIRA et al., 2009), portanto o *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)* pode ser o responsável pela inibição ou interferência de transmissão desses vírus.

O *Potato vírus Y (PVY)* era o vírus mais frequentemente identificado na cultura de *Capsicum spp* (pimentas), mas atualmente o *Pepper yellow mosaic virus (PepYMV)* é o mais detectado, e é um dos maiores problemas na cultura de pimentas, sendo detectado em diferentes áreas produtivas no Brasil, sua incidência chega a 100% causando prejuízos irreparáveis, mas os sintomas causados pelo *PepYMV* e *PVY* são indistinguíveis (REIS et al., 2016), pois apresentam uma similaridade de 62,07% (Lucinda et al., 2012).

Através do teste sorológico (Elisa indireto) aplicado nas espécies de *Capsicum spp.* micropropagadas observou-se que apenas a cultivar pimenta de bico (*C. chinense*) estava infectada com o vírus *PepYMV*. Enquanto que as outras cultivares apresentaram-se não suscetíveis (Gráfico 3), o que pode ter sido proveniente do próprio material genético dos indivíduos ou obtidos após o processo de

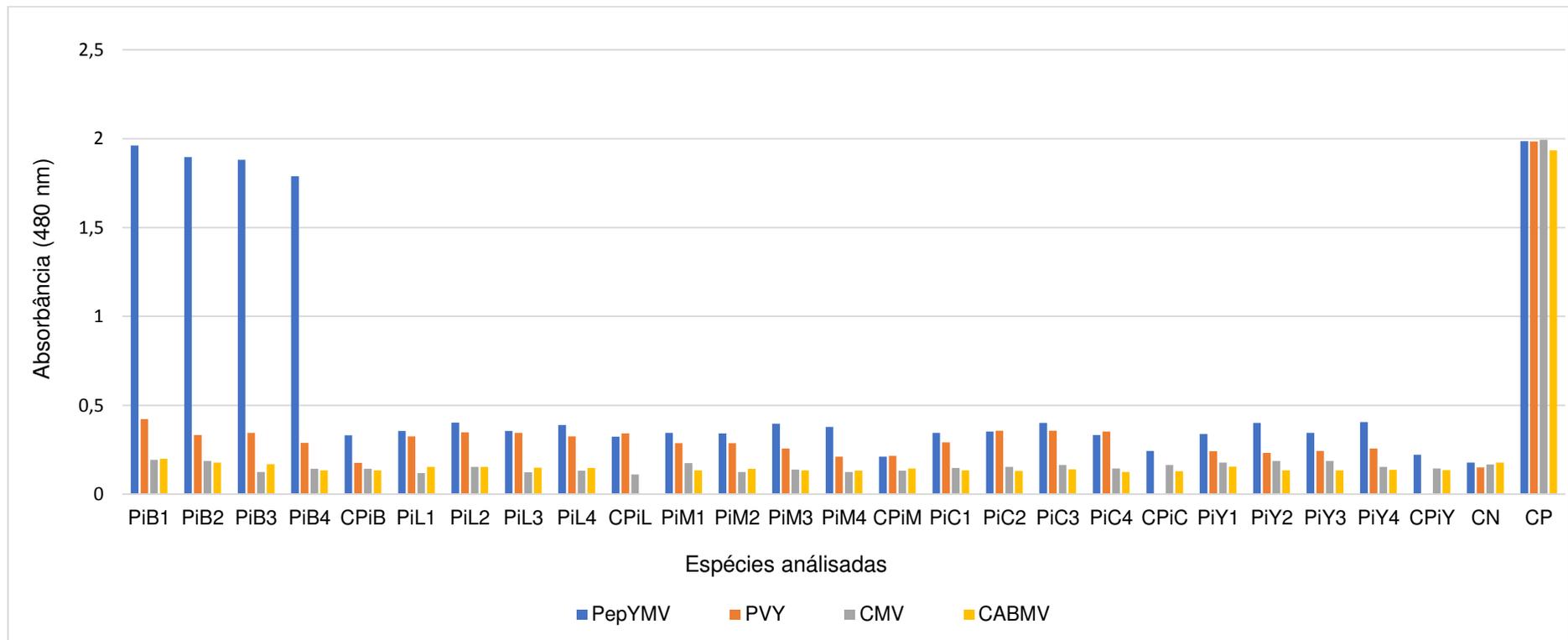
micropropagação. A qual tem como objetivo promover a limpeza clonal, além de manter explantes sadios e livres de contaminação para aplicação de técnicas de regeneração por cultura de tecidos, promover transformação genética e gerar explantes livres de patógenos (CARVALHO, 1999; CABRAL et al., 2003). A principal forma de controle do *PepYMV* é a resistência genética (BENTO et al., 2013).

Os vírus dependem do metabolismo do hospedeiro para que haja infecção, pois são parasitas, entretanto a perda ou mutação de um fator genético da planta pode levar a obtenção de resistência contra o vírus (DIAZ-PENDON et al., 2004). Atualmente foram identificados 14 genes de resistência recessivos contra vírus em plantas do gênero *Capsicum* spp. (MOURA, 2013), os quais estão envolvidos na interação planta – vírus, caracterizados como os codificadores do fator de iniciação de tradução eucariótico (eIFs), dentre eles estão o eIF4E, eIF4G e isoformas (WANG & KRISHNASWAMY, 2012).

Segundo a literatura, no gênero *Capsicum* spp., foram encontrados os primeiros genes recessivos caracterizados como codificadores do fator de tradução eucariótico, o pvr2 e pvr6, correspondentes ao eIF4E e eIF(ISO)4E e provenientes de pimenta e pimentão (RUFFEL et al., 2002; RUFFEL et al., 2006). É possível concluir que nas espécies do gênero *Capsicum* spp. que não foram suscetíveis ao vírus *PepYMV* pode ter ocorrido a ativação dos codificadores do fator de iniciação de tradução eucariótico (eIFs).

Apesar da identificação de resistência em diferentes espécies do gênero *Capsicum*, os mecanismos que conferem resistência ainda são poucos esclarecidos (GONÇALVES et al., 2013).

**Gráfico 3** - Caracterização sorológica através do teste Elisa indireto em amostras de plantas micropropagadas. PiB\* - Amostras de pimenta bico, CPiB – Amostra controle; PiL\* – Amostras de pimenta lupita, CPiL – Amostra controle; PiM\* – Amostras de pimenta malagueta, CPiM – Amostra controle; PiC\* – Pimenta Cambuci, CPiC – Amostra controle; PiY\* - Amostras de pimenta cayenne, CPiY – Amostra controle; CN – Controle negativo (Plantas de pimentas sadias); CP – Controle positivo (Plantas de pimentas infectadas com os respectivos vírus).



**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

A partir dos dados da análise sorológico, observando a interação vírus x espécie, realizou-se a análise de permutação multivariada (PERMANOVA) que mostrou que existe diferenças significativas ( $p = 0,001$ ) entre as espécies de pimentas analisadas após a inoculação viral, pode-se concluir que ocorre divergências entre as espécies. Observou-se também que o número de permutações foi preservado, ou seja, igual ao esperado (999), concluindo-se que os resultados são aceitáveis e ideais (Tabela 2).

**Tabela 2** - Análise de Permuta Multivariada (PERMANOVA) não restritiva mostrando diferenças entre as espécies de pimenta analisadas. GL – Graus de Liberdade; DP – Desvio Padrão; Média Padrão;  $p$  (MC) – Teste de Monte-Carlo; \* - significância < 0,05

Fatores	GL	DP	MP	Pseudo-F	$p$ (perm)	Permutações	$p$ (MC)
Pimenta	4	50,939	12,735	7,6223	0,001	999	0,001*
Resíduos	15	25,061	1,6707				
Total	19	76					

**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

Realizou-se um teste comparativo entre os pares de espécies de pimenta, para verificar quais espécies apresentam diferenças significativas, através das diferenças observadas no teste PERMANOVA, pode-se concluir que existe diferença entre todos os tratamentos de pimentas com exceção a interação de pimenta malagueta (*Capsicum. frutescens*) e pimenta lupita (*Capsicum annuum*), devido o teste de significância de Monte – Carlo apresentar-se não significativo, pois ultrapassou o efeito significativo < 0,05 (Tabela 3).

**Tabela 3** - Efeito das interações do teste da PERMANOVA, mostrando diferenças entre as espécies de pimentas avaliadas quanto a inoculação viral. p (MC) – teste de Monte-Carlo; \* - efeito significativo < 0,05; ns – não significativo

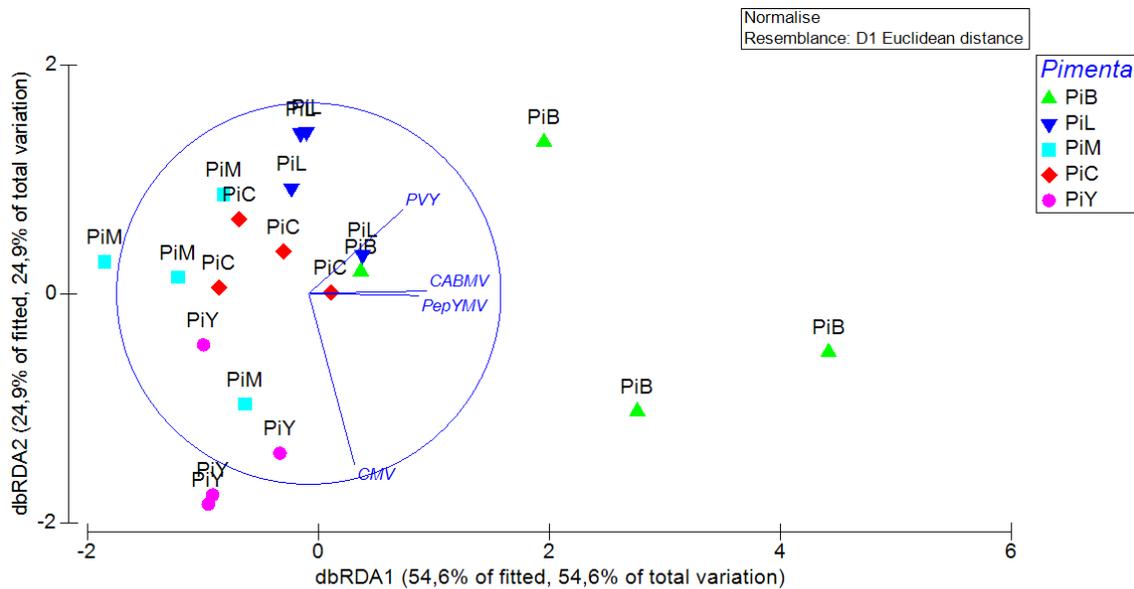
<b>Grupos</b>	<b>p (perm)</b>	<b>p (MC)</b>
PiB x PiL	0,038	0,017*
PiB x PiM	0,025	0,014*
PiB x PiC	0,021	0,011*
PiB x PiY	0,028	0,008*
PiL x PiM	0,02	0,02*
PiL x PiC	0,032	0,008*
PiL x PiY	0,026	0,001*
PiM x PiC	0,06	0,043*
PiM x PiY	0,055	0,06ns
PiC x PiY	0,025	0,03*

**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

Através da PERMANOVA e parâmetros amostrais de diferença, a análise de redundância mostra um efeito multissignificativo, principalmente na pimenta de bico (*Capsicum chinense*), o qual se mostrou um grupo bem atípico quando comparado aos outros grupos de pimentas, por apresentar indivíduos do grupo bem distintos.

A análise de redundância mostrou uma variação total e individual de 54,6% observada para o eixo 1 e 24,9% para o eixo 2. O componente principal dbRDA1 é maior que o componente principal dbRDA2, logo apresenta um maior poder de variação entre os dados, podendo-se concluir que os dados são aceitáveis e mais prováveis de ocorrer, dados observados no Gráfico 4. Os vírus que contribuíram com maior representatividade para a análise de redundância nos eixos foi o *CABMV* 61,5%, *PepYMV* 57,2%, *PVY* 48,8% e *CMV* 23,3%, como mostra a Tabela 4.

**Gráfico 4** - Ordenação dos eixos da análise de redundância explicando a influência dos sintomas entre os tratamentos (Pimenta x vírus)



**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

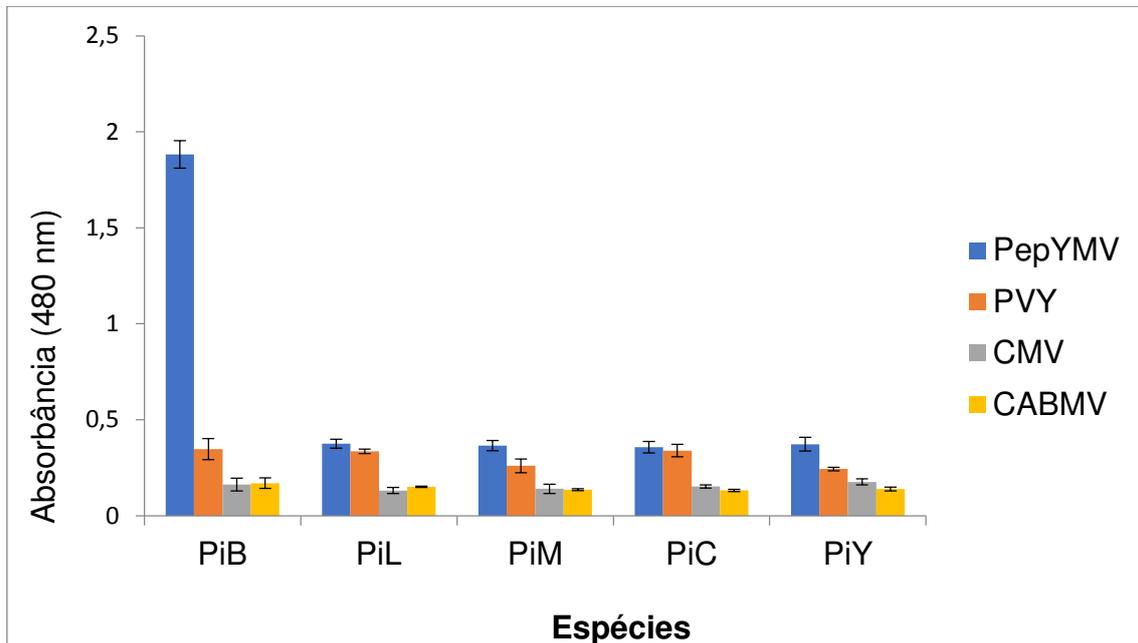
**Tabela 4** - Coeficientes de combinação linear da Análise de Redundância para os tipos virais *PepYMV*, *PVY*, *CMV* e *CABMV* amostrados, sendo o dbRDA1 o eixo mais explicativo

Variáveis	dbRDA1	dbRDA2
PepYMV	0,572	-0,011
PVY	0,488	0,438
CMV	0,239	-0,899
CABMV	0,615	0,013

**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

É possível observar através da análise de redundância que *PepYMV* e *CABMV* foram os vírus que causaram maior infecção, entretanto *CABMV* foi a espécie viral que mais contribuiu, pois foi frequente em todas as espécies de pimenta, entretanto o *PepYMV* mostrou maior representatividade viral na espécie pimenta de bico, ilustrado no Gráfico 5. A pimenta de bico apresentou maiores valores médios quanto a absorvância, para *PepYMV*  $1,882 \pm 0,071$ , *PVY*  $0,347 \pm 0,055$ , *CMV*  $0,162 \pm 0,033$  e *CABMV*  $0,169 \pm 0,027$ .

**Gráfico 5** - Representatividade viral nas espécies de pimenta de acordo com a análise de redundância



**Fonte:** Dados da pesquisa (2018).

Os dados observados mostram que todas as espécies de pimenta apresentaram um mecanismo de defesa contra os vírus, exceto a pimenta de bico que foi suscetível ao vírus *PepYMV*.

De acordo com Bento et al. (2009), as primeiras fontes de resistência ao *PepYMV* encontrados no gênero *Capsicum* spp. foram identificadas em *C. annuum*, “Criollo de Morelos” e *C. chinense* PI 159236. E atualmente fontes de resistência foram identificadas em *C. chinense* e *C. baccatum* var. *pendulum*. Entretanto de acordo com os resultados obtidos após o tratamento não foi possível observar possíveis fontes de resistência em pimenta de bico (*C. chinense*) já que a mesma apresentou infecção viral.

## 5 CONCLUSÕES

1. A espécie viral de *Potyvirus* detectada em amostras coletadas nas áreas de plantio em Sumé - PB foi o *PepYMV*.
2. A espécie pimenta de bico micropropagada (*C. chinense*) foi suscetível quando submetida ao contato com o isolado viral *PepYMV*.
3. As espécies pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), pimenta cambuci (*Capsicum baccatum*), pimenta lupita (*Capsicum annuum*), e pimenta cayenne (*Capsicum annuum*) não apresentaram nenhuma detecção viral, podendo ser futuramente estudada como fonte de resistência ao vírus *PepYMV*.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, M.J.; ANTONIW, J.F.; FAUQUET, C.M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. **Archives of Virology**, v.150, p.459-479, 2005.
- ALMEIDA, N. M.; PACHECO JUNIOR, R. G.; CÉZAR, J. O.; GONÇALVES, H. A.; SOUZA, A. S. **Produção de mudas micropropagadas de mandioca (Manihot esculenta Crantz) em larga escala: uma inovação tecnológica**. In: congresso brasileiro de mandioca, 16; congresso latino-americano e caribenho de mandioca, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: SBM, 2015.
- ALVARES, R. C. **Divergência genética entre acessos de *Capsicum chinense* Jacq. coletados no sudoeste Goiano**. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Goiás, Jataí- GO.
- ALVES, K. F. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2008.
- ANDRADE, Solange Rocha Monteiro de. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 16 p, ISSN 1517-5111, 2002 (Embrapa Cerrados. Documentos, 58).
- ANDERSON, M. J.; GORLEY, R. N.; CLARKE, K. R. **PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to software and Statistical Methods**. Institute of Information and Mathematical Sciences. Massey University. 2008.
- ARAÚJO, D. B.; CARNEIRO, J. V.; BEZERRA, F. C.; OLIVEIRA, F. A.; CORDEIRO, C. J. X.; ALBUQUERQUE, G. H. S. Produção de mudas de pimenta ornamental em diferentes tipos de bandejas e substratos orgânicos agroindustriais e agropecuários. In: **Coleção agroecologia e meio ambiente no semiárido: Produção orgânica no semiárido**, v.3, 2016, Mossoró. Anais...Mossoró: EdUFERSA, p.1051-1060. 2016.
- AZEVEDO, C. P; CAFÉ FILHO, A. C.; HENZ, G. P.; REIS, A. Pimentão: Antracnose arrasadora. **Cultivar HF**, p. 18-20. 2005.

BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; PIORIBEIRO, G.; EIRAS, M.; ZERBINI, F. M. Avanços e perspectivas no estudo das doenças virais e subvirais em videira com ênfase na realidade brasileira. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 22, p. 160-207, 2014.

BENTO, C.S.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L.S.A.; OLIVEIRA, H.S.; SANTOS, M.H.; PONTES, M.C; SUDRÉ, C.P. Inheritance of resistance to Pepper yellow mosaic virus in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 1074-1082, 2013.

BIANCHETTI, L. B. **Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrentes o Brasil**. 1996. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília - UNB, Brasília.

BOARI, A. J. **Avaliação do banco ativo de germoplasma de pimenteira-do-reino quanto a virose e elaboração de estratégia de controle**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008.

BOSLAND, P. W. Breeding for quality *Capsicum*. **Capsicum and Eggplant Newsletter**, v.12, 1993, p. 25-31.

BROWN, T. A. **Gene cloning and DNA analysis: an introduction**. 6 ed. Manchester: Sixth Edition, 2010.

BUSO, G.S.C.; LOURENCO, R.T.; BIANCHETTI, L.B.; LINS, T.C.L.; POZZOBON, M.T.; AMARAL, Z.P.S.; FERREIRA, M.E. **Espécies silvestres do gênero *Capsicum* coletadas na Mata Atlântica Brasileira e sua relação genética com espécies cultivadas de pimenta: uma primeira abordagem genética utilizando marcadores moleculares**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 7). p. 22, 2001.

CABRAL, G.B.; PIRES, M.V.V.; LACERDA, A.L.; CARNEIRO, V.T. de C. **Introdução in vitro, micropropagação e conservação de plantas de *Brachiaria* sp**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003.

CARVALHO, J. M. F. C. **Técnicas de micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Embrapa algoodão, Campina Grande, 2006.

CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A. **Pimentas do gênero Capsicum no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 27 p, 2006.

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

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **PRIMER V6: User Manual/ Tutorial**. PRIMER-E, Plymouth, UK. 2006.

COSTA, D. P. **Deteção de espécies de Yam mosaic virus e Badnavirus que infectam inhame (*Dioscorea rotundata*) cultivado no Recôncavo da Bahia**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal da Bahia do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, Bahia.

DIAZ-PENDON, J.A.; TRUNIGER, V.; NIETO, C.; GARCIA-MAS, J.; BENDAHMANE, A.; ARANDA, M.A. Advances in understanding recessive resistance to plant viruses. **Molecular Plant Pathology**. v.5, p. 223–233, 2004.

DOMENICO, C. I.; LILLI, A. J. O.; SANTOS, J. C. S.; MELO, A. M. T. Caracterização de componentes produtivos de híbridos intra-específicos de pimenta-hortícola. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 50, 2010, Guarapari. **Horticultura Brasileira** (Impresso). Campinas: Associação Brasileira de Horticultura, v. 28, 2010.

DUARTE, M. L. R.; ALBUQUERQUE, F. C.; PALTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; KITAJIMA, E. W.; BRIOSO, P. S. T. **Mosqueado amarelo da pimenta-do-reino**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 20 p. 2000.

ESTEVEZ, M. **As novas variedades de pimenta da Embrapa e o mercado pimenteiro: oportunidade de renda para agricultores**. 2011. Disponível

em:<<http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2011/cultivaresdepimenta-mais-resistentes-e-produtivas-1>>. Acessado em 20 jul. 2018.

FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O. **Técnicas de detecção e estudo de vírus em plantas**. Embrapa, Rio Grande do Sul, 2015. Disponível: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/131838/1/Comunicado-Tecnico-179.pdf>. Acesso em: 30 de nov. 2018.

FERMINO, P. C. P. J.; NAGÃO, E. O.; SCHERWINSKI, J. E. P. Estabelecimento germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L. f.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 37, n.84, p. 427-435, 2009.

FRANCISCO, P. R. M. **Classificação e mapeamento das terras para mecanização do Estado da Paraíba utilizando sistemas de informações geográficas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo e Água). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; ROBAINA, R. R.; AMARAL-JUNIOR, A. T.; CARVALHO, A. O.; GOMES, V. M. Peroxidase is involved in pepper yellow mosaic virus resistance in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 1411-1420, 2013.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. 1. ed. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH, p.183-260, 1998.

HEISER, C. B. J. Peppers – *Capsicum* (Solanaceae). In: SIMMONDS, N. W. **Evolution of crop plants**. Longman. p. 265 – 273, 1979.

HENZ, G. P. **Perspectivas e potencialidades do mercado de pimentas**. Anais do I Encontro Nacional do Agronegócio de Pimentas (*Capsicum* spp.). I Mostra Nacional de Pimentas e Produtos Derivados. Anais. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades**. 2016. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?codmun=251630>>. Acesso em: 03 de Jul de 2018.

INOUE-NAGATA, A. K.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R. O.; BOITEUX, L. S.; MONTE, D. C.; DUSI, A. N.; AVILA, A. C.; VLUGT, R. A. A. van der. Pepper yellow mosaic virus, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. **Archives of Virology**, Vienna, v.147, p.849-855, 2002

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus taxonomy**. 5 ed. Surrey: Elsevier, 1272 p, 2011.

KING, A.M.Q., LEFKOWITZ, E., ADAMS, J.M., CARSTENS, **E.B. Virus Taxonomy**, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 1327p, 2012.

LAMEIRA, O.A.; LEMOS, O.F.; MENEZES, I.C. de; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de tecidos (manual)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 41p. ISSN 1517-2201, 2000 (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 66).

LIMA, M. F. **Árvore do conhecimento pimenta: potyviroses**. 2012. Disponível em:<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/pimenta/arvore/CONT000gvxs5g3t02wx7ha0g934vggzmktsa.html>>. Acesso em: 21 ago. 2018.

LIMA, M. F.; MELO, W. F.; VALE, L. S. R.; MORGADO, H. S.; INOUE-NAGATA, K.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Detecção e incidência de vírus em 89 acessos de pimenta (*Capsicum spp.*) no Município de Ceres, Goiás. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, p.1187-1194, 2010.

LOEBENSTEIN, G.; KATIS, N. **Control of plant virus diseases: seedpropagated crops: advances in virus research**. ed. Oxford: Academic, 530 p, 2014.

LOPES, C. A.; RIBEIRO, C. S. C.; CRUZ, D. M. R.; FRANÇA, F. H.; Reifschneider, F. J. B.; HENZ, G. P.; SILVA, H. R.; PESSOA, H. S.; BIANCHETTI, L.B.; JUNQUEIRA, N. V.; MAKISHIMA, N.; FONTES, R. R.; CARVALHO, S. I. C.; MAROUELLI, W. A.; PEREIRA, W. **Pimenta (Capsicum spp.)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007.

LUCINDA, N. R.; INOUE-NAGATA, A. K.; NAGATA, T. Complete genome sequence of pepper yellow mosaic virus, a potyvirus, occurring in Brazil. **Archives of Virology**, New York, v. 157, n. 7, p. 1397-1401, 2012.

MALAQUIAS, J. O. S.; WERNER, E. T.; MARTINS, G. S.; MONTOVANI, A. T.; FRANCA, T. C. C.; SANTOS, R. C.; CORREA, M. S. Germinação in vitro de *dalbergia nigra* vell. Fr. All. Ex benth. **Revista Univap on-line**, São José dos Campos, v. 22, p. 653 - 653, 2016.

MARTINS, K.C.; PEREIRA, SOUZA, T.N.S.; S.A.M.; COSTA, F.R. Meiose e viabilidade polínica em acessos de *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p.1746-1751, 2010.

MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F.; SILVA, A. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Rev Bras Plan Med**. FapUNIFESP. Botucatu. v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

MOSCONI, E.A.; SCALDAFERRO, M.A.; GRABIELE, M.; CECCHINI, N.M.; GARCÍA, Y.S.; JARRET, R.; DAVIÑA, J.R.; DUCASSE, D.A.; BARBOZA, G.E.; EHRENDORFER, F. 67 The Evolution of Chili Peppers (*Capsicum* - Solanaceae): a Cytogenetic Perspective. VI th International Solanaceae Conference. **Acta Horticulture**, v. 745, p. 138-139, 2007.

MOURA, C. S. **Vulnerabilidades das Terras Agrícolas, Degradação Ambiental e Riscos e Desastres ENOS no Município de Sumé-PB**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

MOURA, M. F. **Caracterização parcial de espécies em plantas daninhas associadas a cultura do pimentão, avaliação de genótipos de alface e análise subcelular do eIF4E e de proteínas do Lettuce mosaic virus**. 2013. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

MOURA, M. F. **Variabilidade de Potyvirus infectando *Capsicum* spp. no Estado de São Paulo**. 2009. (Dissertação de Mestrado) - Curso de Agronomia (Proteção de Plantas), UNESP – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, Botucatu.

MOWAT W. P.; DAWSON, S. Detection of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera. **Journal of Virological Methods**, v. 15, p. 233-247, 1987.

NOGUEIRA, J. S.; COSTA, F. H. S.; VALE, P. A. A.; LUIS, Z. G.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Micropropagação de bambu em larga escala: princípios, estratégias e desafios. In: DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. (Org.). **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia**. Rio de Janeiro: Instituto Ciência Hoje, 2017.

ODU, B. O.; ASIEDU, R.; SHOYINKA, S. A.; HUGHES, J. D. A. Screening of water yam (*Dioscorea alata* L) genotypes for reactions to viruses in Nigeria. **Journal of Phytopathology**, Nigeria, v.154, p.716-724, 2006.

REIS, A.; DUVAL, A. M. Q.; INOUE-NAGATA, A. K.; ÁVILA, A. C.; LOPES, C. A. **Manejo de doenças em pimentas no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2016.

REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S.; CORRÊA, R. M. Influência do meio de cultura na germinação de sementes in vitro e taxa de multiplicação de *Melissa officinalis* L. **Revista Ceres**, Minas Gerais, v. 55, n. 3, p. 160-167, 2008.

RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Pimentas Capsicum**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. 200p.

RUFFEL, S.; DUSSAULT, M. H.; PALLOIX, A.; MOURY, B.; BENDAHMANE, A.; ROBAGLIA, C.; CARANTA, C. A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). **Plant Journal**, v.32, p.1067-1075. 2002.

RUFFEL, S.; GALLOIS, J. L.; MOURY, B.; ROBAGLIA, C.; PALLOIX, A. and CARANTA, C. Simultaneous mutations in translation initiation factors eIF4E and eIF(iso)4E are required to prevent pepper veinal mottle virus infection of pepper. **Journal of General Virology**, v.87, p. 2089–2098, 2006.

RUFINO, J. L. S.; PENTEADO, D. C. S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimentas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. p.7-15, 2006.

SATHYANARAYANA B. N.; VARGHESE, D. B. Plant Tissue Culture: Practices and New Experimental Protocols. **I. K. International**. 316 p, 2007.

SENA, J. P. O.; LUCENA, D. B. Caracterização da precipitação na microrregião do Cariri paraibano por meio da técnica dos quantis. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.07, n.05, p. 1-9, 2014.

SILVA, J. P. G. S.; COSTA, T. P. D.; COSTA, M. K. C.; ARAÚJO, M. R. S.; ARAÚJO, K. S.; SILVA, A. C. M.; OLIVEIRA, P. C.; SIA, E. F. Efeito da citocinina 6-benzilaminopurina (bap) sobre o estabelecimento in vitro de segmentos nodais de *Rosa sp.* **Agroecossistemas**, v.9, n.2, p. 370-380, 2017.

SILVEIRA, L. M.; QUEIROZ, M. A.; LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; NETO, I. S. L. Levantamento sorológico de vírus em espécies de cucurbitáceas na região do submédio São Francisco, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, vol. 34, n. 2, 123-126 p. 2009.

SOUZA, J. C.; RESCAROLLI, C. L. S.; NUNEZ, C. V. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 269-280, 2018.

TRUTA, A.A.C.; SOUZA, A.R.R.; NASCIMENTO, A.V.S.; PEREIRA, R.C.; PINTO, C.M.F.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; CARVALHO, M.G.; ZERBINI, F.M. Identidade e propriedades de isolados de Potyvírus provenientes de *Capsicum spp.* **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 160-168. 2004.

VIANA, F.M.P.; FREIRE, F.C.O.; PARENTE, G.B. **Controle das principais doenças de pimentão cultivado nas Regiões Serranas do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

VIÑALS, F. N., ORTEGA, R. G., GARCIA, J. C. **El cultivo de pimientos, chiles yajies**. Mundi-Prensa, Madrid, 607p, 1996.

WANG, A.; KRISHNASWAMY, S. Eukaryotic translation initiation factor 4E-mediated recessive resistance to plant viruses and its utility in crop improvement. **Molecular Plant Pathology**, v.13, n.7, p.795-803, 2012.

ZERBINI, F. M.; CARVALHO, M. G.; ZAMBOLIM, E. M. **Introdução à virologia vegetal**. UFV, 2002. 145p.