

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

RONERES DENIZ BARBOSA

**CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE E
AVALIAÇÃO DA ADUBAÇÃO E CONTROLE QUÍMICO NA INTENSIDADE DA
DOENÇA E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)**

Manaus, AM

2024

RONERES DENIZ BARBOSA

**CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE E
AVALIAÇÃO DA ADUBAÇÃO E CONTROLE QUÍMICO NA INTENSIDADE DA
DOENÇA E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Faculdade de Ciências Agrárias, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical.

Orientadora: Dra. Jânia Lília da Silva Bentes Lima
Coorientadora: Dra. Ana Francisca Tiburcia A. F. Ferreira

Manaus, AM
2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

B238c Barbosa, Roneres Deniz
Caracterização de *Colletotrichum* spp. associados a antracnose e avaliação da adubação e controle químico na intensidade da doença e produção da pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) / Roneres Deniz Barbosa . 2024
92 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Jânia Lilia da Silva Bentes Lima
Coorientadora: Ana Francisca Tiburcia Amorim Ferreira e Ferreira
Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Adubação. 2. Fungicidas. 3. Manejo. 4. *Colletotrichum* spp.. 5. Análise molecular. I. Lima, Jânia Lilia da Silva Bentes. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título


RONERES DENIZ BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE E AVALIAÇÃO DA ADUBAÇÃO E CONTROLE QUÍMICO NA INTENSIDADE DA DOENÇA E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)


Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Faculdade de Ciências Agrárias, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical.

Aprovada em 01 de abril de 2024


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **JÂNIA LILIA DA SILVA BENTES LIMA**
Data: 12/04/2024 13:05:52-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>


Profa. Dra. Jânia Lilia da Silva Bentes Lima, Presidente
Faculdade de Ciências Agrárias-FCA/UFAM

Documento assinado digitalmente
 **JOSE ZILTON LOPES SANTOS**
Data: 12/04/2024 11:55:44-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos
Faculdade de Ciências Agrárias-FCA/UFAM

Documento assinado digitalmente
 **AFRÂNIO FERREIRA NEVES JUNIOR**
Data: 12/04/2024 09:56:43-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Afrânio Ferreira Neves Junior
Centro de Educação a Distância-CED/UFAM

Documento assinado digitalmente
 **ROGÉRIO EJI HANADA**
Data: 12/04/2024 09:50:13-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Rogério Eiji Hanada
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia- INPA

Documento assinado digitalmente
 **DANIEL FELIPE DE OLIVEIRA GENTIL**
Data: 12/04/2024 11:04:06-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Daniel Felipe de Oliveira Gentil
Faculdade de Ciências Agrárias-FCA/UFAM

Dedico esta tese aos meus queridos e amados pais, Terismar Uchoa Barbosa e Atacilia Carvalho Diniz. Agradeço pelo amor, carinho, força e confiança que sempre depositaram em mim. Acima de tudo, sou grato por nunca pouparem esforços na concretização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida, iluminando o meu caminho e dando segurança aos meus passos durante essa etapa da minha vida, sendo “o meu refúgio e minha fortaleza”.

Aos meus irmãos Rubem, Reane, Rita, Raimundo, Raiel, Ralison e Roger, por me proporcionarem alegrias e momentos divertidos, transmitindo sempre confiança e otimismo para nunca desanimar. Também quero lembrar do meu irmão Rone Deniz Barbosa (in memorian), que testemunhou meus primeiros passos na Universidade, mas agora repousa na morada eterna.

À minha esposa amada, Vanderlidia Melo de Oliveira, expressei minha gratidão pelo amor, carinho e companheirismo que compartilhamos. Além disso, agradeço por ela ter me presenteado com o bem mais precioso que já recebi nessa vida: nossa filha Maitê.

À minha filha, Maitê Melo Barbosa, que iluminou o nosso lar com alegria e inundou o meu coração com um amor sem igual. Desde o momento em que você chegou tudo ganhou mais sentido e beleza.

À minha orientadora Professora Dra. Jania Lilia da Silva Bentes Lima, pelos ensinamentos, paciência e correções na execução e conclusão desse trabalho.

À minha coorientadora, Dra. Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira, expressei minha profunda gratidão por sua orientação nas análises moleculares e pelo apoio ao longo destes quatro anos de aprendizado.

À equipe de direção e trabalhadores da Fazenda Experimental da UFAM, pela ajuda e disponibilidade na execução de uma parte deste trabalho.

À Universidade Federal do Amazonas, por meio do Programa de Pós graduação em Agronomia Tropical, pela oportunidade de aprofundar meu conhecimento científico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo apoio na concessão da bolsa de estudo e na realização da pesquisa.

Aos meus companheiros do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia Emanuelle, Cléo, Galileo, Milena, Larissa Alves, Victoria, Eneida e Thyago.

MUITO OBRIGADO!

CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE E AVALIAÇÃO DA ADUBAÇÃO E CONTROLE QUÍMICO NA INTENSIDADE DA DOENÇA E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)

RESUMO

A pimenta-de-cheiro é uma hortaliça da família Solanaceae, tem como centro de domesticação a Amazônia, onde é encontrada uma grande variedade de tamanho, forma, cor e pungência dos frutos. Um dos grandes problemas associado ao cultivo das pimentas é a antracnose causada por *Colletotrichum* spp., essa doença afeta diretamente os frutos podendo ocasionar prejuízos de até 100% na produção. Dada a sua importância comercial e a necessidade de se estabelecer medidas mais eficientes de manejo, buscou-se identificar espécies de *Colletotrichum* que causam antracnose na pimenta-de-cheiro usando critérios filogenéticos e morfométricos, bem como avaliar o efeito de tratamentos com adubação e fungicidas no campo, para o manejo da doença. Para tanto, este trabalho foi dividido em dois capítulos. O primeiro, intitulado “Análise morfométrica, patogênica e molecular de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose da pimenta-de-cheiro”, apresenta resultados da caracterização morfológica, cultural, patogênica e molecular de isolados de *Colletotrichum* obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro com sintomas de antracnose. Verificou-se que o formato dos conídios e apressórios dos isolados avaliados se enquadram nos padrões citados para o complexo *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum*. Esses resultados foram confirmados por meio da identificação com base na sequência dos genes ITS, ACT, GAPDH e β -TUB, na qual identificou duas espécies: *C. siamense* (complexo *gloeosporioides*) e *C. scovillei* (complexo *acutatum*). Ensaios de virulência mostraram que todos os isolados de *Colletotrichum* inoculados nos frutos, foram capazes de infectar e desenvolver sintomas típicos da doença. O segundo capítulo, intitulado “Combinação de adubação e fungicidas no manejo da antracnose e produção da pimenta-de-cheiro” foi conduzido por meio de um experimento instalado em campo utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados, com parcelas subdivididas, onde fungicidas (Controle, Flutriafol, Clorotalonil e Azoxistrobina+Difeconazol) foram aplicados nas parcelas e adubação com NPK (0, 50, 100 e 200 % da dose recomendada) em subparcelas. As avaliações foram iniciadas a partir de 90 dias após o transplante e concluídas aos 210 dias após o transplante. Quinzenalmente quantificou-se a incidência e a severidade da doença nos frutos, produtividade (número e peso dos frutos) e altura das plantas. A combinação das doses de adubação com os fungicidas demonstrou efeito significativo nas variáveis de produtividade, incidência e severidade da antracnose. A incidência e a severidade da antracnose foram reduzidas nas plantas que foram submetidas a doses de adubação de 100% (150; 200 e 150 kg/ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente) e 200% (300, 400 e 300 kg/ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente), especialmente quando associadas ao fungicida Azoxistrobina + Difeconazol. Quanto à produtividade, a adubação teve impacto significativo, alcançando as maiores médias de peso e número de frutos nas doses mais elevadas (200%), mesmo sem fungicida. No entanto, a associação com fungicidas potencializou esses efeitos. Os resultados obtidos destacam a importância da interação entre fungicidas e adubação no manejo da antracnose e no desempenho produtivo de plantas de pimenta-de-cheiro.

Palavras-chave: NPK, adubação, fungicidas, manejo.

CHARACTERIZATION OF *Colletotrichum* spp. ASSOCIATED WITH ANTHRACNOSE AND EVALUATION OF FERTILIZATION AND CHEMICAL CONTROL ON THE INTENSITY OF THE DISEASE AND PRODUCTION OF CHILLI PEPPER (*Capsicum chinense* Jacq.)

ABSTRACT

The chilli pepper is a vegetable from the Solanaceae family, domesticated in the Amazon, where a great variety in size, shape, color, and pungency of the fruits can be found. One of the major issues associated with pepper cultivation is anthracnose caused by *Colletotrichum* spp., which directly affects the fruits and can lead to up to 100% loss in production. Given its commercial importance and the need for more efficient management measures, this study aimed to identify *Colletotrichum* species causing anthracnose in chilli pepper using phylogenetic and morphometric criteria, as well as to evaluate the effects of fertilization and fungicide treatments in the field for disease management. This study is divided into two chapters. The first chapter, entitled "Morphometric, pathogenic, and molecular analysis of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose in chilli pepper," presents results from the morphological, cultural, pathogenic, and molecular characterization of *Colletotrichum* isolates obtained from chilli pepper fruits showing anthracnose symptoms. It was found that the conidia and appressoria shapes of the evaluated isolates fit the patterns cited for the *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* complexes. These results were confirmed through identification based on the ITS, ACT, GAPDH, and β -TUB gene sequences, which identified two species: *C. siamense* (*gloeosporioides* complex) and *C. scovillei* (*acutatum* complex). Virulence tests showed that all *Colletotrichum* isolates inoculated on the fruits were capable of infecting and developing typical disease symptoms. The second chapter, entitled "Combination of fertilization and fungicides in anthracnose management and yield of chilli pepper," was conducted through a field experiment using a randomized block design with split plots, where fungicides (Control, Flutriafol, Chlorothalonil, and Azoxystrobin+Difenoconazole) were applied to the plots, and NPK fertilization (0, 50, 100, and 200% of the recommended dose) in subplots. Evaluations began 90 days after transplanting and concluded 210 days after transplanting. Every two weeks, disease incidence and severity on the fruits, productivity (number and weight of fruits), and plant height were quantified. The combination of fertilization doses with fungicides demonstrated a significant effect on productivity variables, incidence, and severity of anthracnose. The incidence and severity of anthracnose were reduced in plants subjected to 100% (150, 200, and 150 kg/ha of N, P₂O₅, and K₂O, respectively) and 200% (300, 400, and 300 kg/ha of N, P₂O₅, and K₂O, respectively) fertilization doses, especially when associated with the fungicide Azoxystrobin + Difenoconazole. Regarding productivity, fertilization had a significant impact, achieving the highest average fruit weight and number at the highest doses (200%), even without fungicide. However, the association with fungicides enhanced these effects. The results highlight the importance of the interaction between fungicides and fertilization in managing anthracnose and the productive performance of chilli pepper plants.

Keywords: NPK, fertilization, fungicides, management.

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Mapa da localização geográfica dos municípios onde foram coletados frutos com sintomas de antracnose no estado do Amazonas..... 44
- Figura 2.** Coloração das colônias no verso e reverso das placas de isolados de *Colletotrichum* spp. pertencentes ao grupo 1. (A) HMP-H1; (B) HMP-H9; (C) CRP-16; (D) MNP-33; (E) PFP-2 e (F) PFP-4 51
- Figura 3.** Coloração das colônias no verso e reverso das placas de isolados de *Colletotrichum* spp. pertencentes ao grupo 2. (A) IRP-J1 e (B) IRP-J2 e (C) IRP-J3..... 51
- Figura 4.** Formatos de conídios e apressórios identificados nesta pesquisa. (A) conídio fusiforme, (B) conídio cilíndrico, (C) apressório irregular, (D) apressório ovalado e (E) apressório circular. 54
- Figura 5.** Árvore de máxima verossimilhança baseada nas sequências concatenadas de ITS, ACT, GAPDH, β -TUB, mostrando as relações filogenéticas entre os isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose na pimenta-de-cheiro e espécies do complexo *acutatum*. Os valores de suporte de clado ≥ 0.90 de probabilidade posterior (inferência bayesiana) e $\geq 70\%$ de bootstrap (máxima verossimilhança/ máxima parcimônia) são indicados pelos nós. A árvore foi enraizada com uma sequência de *Colletotrichum orchidophilum* (CBS 632.80). Os códigos das espécies são seguidos pelo hospedeiro. As sequências deste estudo estão destacadas em negrito 59
- Figura 6.** Árvore de máxima verossimilhança baseada nas sequências concatenadas de ITS, GAPDH, ACT e TUB, mostrando as relações filogenéticas entre os isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose na pimenta-de-cheiro e espécies do complexo *gloeosporioides*. Os valores de suporte de clado ≥ 0.90 de probabilidade posterior (inferência bayesiana) e $\geq 70\%$ de bootstrap (máxima verossimilhança/ máxima parcimônia) são indicados pelos nós. A árvore foi enraizada com uma sequência de *Colletotrichum boninense* (ICMP 17904) e *Colletotrichum hippeastri* (CBS 24178). As sequências deste estudo estão destacadas em negrito 60
- Figura 7.** Lesões nos frutos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*), inoculados com discos miceliais de *Colletotrichum scovillei* (A) e *Colletotrichum siamense* (B)..... 62

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Identificação e procedência dos isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i>) no Amazonas.....	45
Tabela 2. Coloração da colônia e índice de crescimento micelial dos isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i>).....	52
Tabela 3. Características morfométricas de conídios de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. obtidos de <i>Capsicum chinense</i>	54
Tabela 4. Características morfométricas de apressórios de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. obtidos de <i>Capsicum chinense</i>	56
Tabela 5. Isolados do complexo de espécies <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Colletotrichum acutatum</i> utilizados nesta pesquisa, hospedeiro, origem e números de acesso das sequências depositadas no GenBank	61
Tabela 6. Diâmetro médio das lesões (DML) e severidade da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro inoculados com isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	63

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO 2

Figura 1. Croqui da área experimental	76
Figura 2. Incidência da antracnose (A) e severidade (B) em função da interação entre fungicidas e adubação com NPK em plantas de pimenta-de-cheiro	80
Figura 3. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em função da interação entre fungicidas e adubação com NPK em plantas de pimenta-de-cheiro.....	82
Figura 4. Dados climáticos de umidade relativa do ar (média (%)) e temperatura média (°C) durante o período de realização do experimento.....	83
Figura 5. Número de frutos/planta (A) e peso de frutos em função da interação entre fungicidas e adubação com NPK em plantas de pimenta-de-cheiro	84
Figura 6. Altura de plantas (A) e peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) em função das doses de adubação com NPK.....	85

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO 2

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo da área experimental.....	74
Tabela 2. Doses de nitrogênio (ureia), fósforo (superfosfato triplo) e potássio (cloreto de potássio) em gramas/cova.....	76
Tabela 3. Resumo da análise de variância para as variáveis produtividade número de frutos e peso dos frutos, incidência da antracnose, severidade, área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), altura de plantas (AP) e peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) em função dos fatores fungicidas e adubação e da interação desses fatores.	79
Tabela 4. Resultados analíticos de macro e micronutrientes em folhas de pimenta-de-cheiro em função de tratamentos com adubação.....	82

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Geral	13
2.2 Específicos.....	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 O gênero <i>Capsicum</i>	14
3.2 <i>Capsicum chinense</i> Jacq	16
3.3 Antracnose no gênero <i>Capsicum</i>	17
3.4 Identificação de <i>Colletotrichum</i> spp.....	19
3.5 Patogenicidade de <i>Colletotrichum</i> spp	20
3.6 Controle químico da antracnose em <i>Capsicum</i> spp	20
3.7 Manejo da adubação em <i>Capsicum</i> spp	22
3.8 Efeito dos nutrientes minerais no desenvolvimento de doenças	25
REFERÊNCIAS	27
ANÁLISE MORFOMÉTRICA, PATOGÊNICA E MOLECULAR DE <i>Colletotrichum</i> spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE DA PIMENTA-DE-CHEIRO (<i>Capsicum</i> <i>chinense</i> Jacq.).....	40
Roneres Deniz Barbosa ¹ ; Jânia Lília da Silva Bentes Lima ²	40
INTRODUÇÃO	42
MATERIAL E MÉTODOS	44
Coleta de frutos.....	44
Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum</i>	46
Análise morfológica das colônias.....	46
Análise morfológica de conídios e apressórios.....	47
Extração de DNA	47
Amplificação por PCR e sequenciamento	48
Análise filogenética	49
Virulência dos isolados de <i>Colletotrichum</i> spp	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
Análise morfológica.....	50
Análise molecular e filogenética.....	57
Avaliação da virulência dos isolados.....	62
CONCLUSÕES	64
AGRADECIMENTOS.....	65

REFERÊNCIAS	65
COMBINAÇÃO DE ADUBAÇÃO E FUNGICIDAS NO MANEJO DA ANTRACNOSE E PRODUTIVIDADE DA PIMENTA-DE-CHEIRO (<i>Capsicum chinense</i> Jacq.)	71
Roneres Deniz Barbosa ¹ ; Jânia Lília da Silva Bentes Lima ²	71
INTRODUÇÃO	72
MATERIAL E MÉTODOS	73
Preparo da área e calagem.....	74
Produção de mudas e transplântio.....	75
Delineamento experimental e definição dos tratamentos.....	75
Tratos culturais e irrigação.....	77
Inóculo e procedimentos de inoculação	77
Coleta dos dados e variáveis analisadas.....	77
Análises estatísticas.....	79
RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS	86

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum* spp. (Solanaceae) é nativo das Américas (CARRIZO GARCÍA *et al.*, 2016), sendo representado por espécies de pimentas e pimentões com grande valor econômico e nutricional (PARISI; ALIOTO; TRIPODI, 2020). Este gênero compreende aproximadamente 30 espécies e algumas variedades botânicas. Dentre essas espécies, cinco são consideradas domesticadas: *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense* e *Capsicum pubescens* (RIBEIRO; REIFSCHNEIDER; CARVALHO, 2020).

A pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.), é uma das espécies mais cultivadas nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (BIANCHI *et al.*, 2020). Especialmente no norte brasileiro, em sua maioria, o cultivo é uma importante fonte de renda para a agricultura familiar (SANTOS *et al.*, 2019). Esta forma de produção vem sendo fortalecida pelo apreço de seus frutos quanto ao aroma e usos gerais na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (RODRIGUES, 2016; ABUD *et al.*, 2018).

Um dos grandes problemas associado ao cultivo das pimenteiras é a antracnose, causada por *Colletotrichum* spp. (ALI *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2019; PARISI; ALIOTO; TRIPODI, 2020). A doença pode afetar todos os órgãos da planta, principalmente nos frutos, em qualquer estágio de maturação, causando lesões deprimidas, de formato circular, de coloração escura, quase sempre recobertas por uma massa de conídios de coloração rosada a alaranjada (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012).

A disseminação do fungo é favorecida em condições de temperatura que variam de 22 a 30 °C e umidade superior a 80% (PARK *et al.*, 2012 ;TOFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015; RASHID *et al.*, 2014). Nestas condições, a doença é extremamente destrutiva, podendo ocasionar perdas de 100% na produção (AZEVEDO; HENZ; REIS, 2016). Por ser uma doença que afeta diretamente os frutos, depreciando-os e reduzindo o seu valor comercial, a antracnose é considerada de grande importância (PEDROSO *et al.*, 2020).

Para o manejo eficaz da doença, a identificação precisa das espécies de *Colletotrichum* é crucial (DE SILVA *et al.*, 2019). Tradicionalmente, essa identificação tem se baseado em características morfológicas e culturais (CAI *et al.*, 2009). O estudo morfométrico oferece uma abordagem minuciosa, considerando características macro e microscópicas. Contudo, é importante observar que tais

características podem ser sensivelmente influenciadas por condições ambientais, o que pode comprometer a confiabilidade dos dados obtidos. Nesse sentido, a aplicação da análise molecular é fortemente recomendada como uma abordagem mais precisa e confiável (THILINI CHETHANA *et al.*, 2021).

As primeiras aplicações moleculares para distinguir espécies de *Colletotrichum* foram baseadas nas sequências do gene ITS (rDNA) em 1992 (MILLS; HODSON; BROWN, 1992). Desde então, sugere-se o desenvolvimento de análises filogenéticas multilocus para identificação de táxons, baseadas em sequências conservadas. As sequências genéticas atualmente utilizadas para a identificação de espécies de *Colletotrichum* incluem: sequências espaçadoras de rDNA (ITS), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), proteína semelhante à actina (ACT), β -tubulina (β -TUB), glutamina sintetase (GS), calmodulina (CAL), entre outros (MARIN-FELIX *et al.*, 2019).

A distinção entre as espécies de *Colletotrichum* desempenha um papel fundamental em diversos contextos, desde a compreensão da diversidade biológica até a implementação eficaz de estratégias de controle (KIRAN *et al.*, 2020). Diferentes estratégias para o manejo da doença são recomendadas e o controle químico é o método mais utilizado (AKHTAR, 2007). Como o tempo necessário para o controle com método químico é muito menor se comparado ao tempo necessário para o desenvolvimento de cultivar resistente, o uso de fungicidas, como Flutriafol, Amistar e Clorotalonil, é uma prática comum para controlar a antracnose em pimenta-de-cheiro (GOMES; SERRA, 2013; MAPA, 2024).

No entanto, problemas associados como resistência dos patógenos (TWARDOWAKI, 2010) e resíduos dos fungicidas (REDDY; JAKHAR; DAHIYA, 2019), destacam a necessidade de métodos alternativos, incluindo abordagens nutricionais (SPANN; SCHUMANN, 2010). Plantas adequadamente nutridas, geralmente, apresentam maior capacidade de estabelecer barreiras de resistência como células epidérmicas mais espessas, maior grau de lignificação, maior síntese de compostos fenólicos e fitoalexinas (MARSCHNER, 2012). Por outro lado, quando as plantas estão em situação de desequilíbrio nutricional (deficientes ou excessivamente nutridas), podem se tornar predispostas à infecção (TAIZ; ZEIGER, 2017).

No contexto específico do Amazonas, estratégias de controle incluem práticas como cultivo em áreas sem histórico de doença, rotação de culturas, eliminação de frutos sintomáticos e equilibrada adubação nitrogenada (HANADA *et al.*, 2011). No

entanto, a presença de múltiplas espécies de *Colletotrichum* parasitando a mesma planta adiciona complexidade ao manejo, dada a variação comportamental entre essas espécies (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012).

Considerando a importância da antracnose como um desafio significativo para a produção de pimenta-de-cheiro, este estudo propõe caracterizar isolados de *Colletotrichum* spp. por meio de abordagens morfológicas, patogênicas e moleculares. Além disso, busca avaliar o impacto da adubação e fungicidas na incidência da doença, produtividade dos frutos e variáveis de crescimento das plantas, visando a implementação de um manejo integrado eficiente.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar isolados de *Colletotrichum* spp. quanto aos aspectos morfológicos, molecular e de patogenicidade e avaliar o efeito da adubação com NPK e fungicidas na intensidade da antracnose, produtividade e variáveis de crescimento em plantas de pimenta-de-cheiro.

2.2 Específicos

- a) Realizar a caracterização morfológica, patogênica e identificação molecular de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose da pimenta-de-cheiro;
- b) Avaliar o efeito da adubação 0%, 50%, 100% e 200% de NPK na incidência da antracnose, severidade, número de frutos, peso dos frutos, altura de plantas e matéria seca da parte aérea em plantas de pimenta-de-cheiro;
- c) Avaliar a eficiência dos fungicidas Flutriafol, Azoxistrobina+Difeconazol e Clorotalonil na incidência da antracnose, severidade, número de frutos, peso dos frutos, altura de plantas e matéria seca da parte aérea em plantas de pimenta-de-cheiro;

d) Avaliar o efeito da interação entre adubação e fungicidas na incidência, severidade, número de frutos, peso dos frutos, altura de plantas e matéria seca da parte aérea em plantas de pimenta-de-cheiro.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O gênero *Capsicum*

O termo *Capsicum* é originário do grego *kapsō*, que significa picar e *kapsakes* que significa cápsula (NUEZ; ORTEGA; GARCIA, 2003). O gênero tem como centro de origem a região tropical das américas, desde o México, América Central e América do Sul, e inclui as pimentas doces e picantes, especiarias cultivadas e consumidas em todo o mundo (CARRIZO GARCÍA *et al.*, 2016). Com base em explorações arqueológicas, foi observado que as pimentas já eram usadas por volta de 7.000 a.C., sendo, portanto, um dos mais antigos temperos usados pelos seres humanos (PERRY *et al.*, 2007).

As pimentas são classificadas em cinco espécies domesticadas de acordo com as características das flores e dos frutos: *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense* e *Capsicum pubescens* (RIBEIRO; REIFSCHNEIDER; CARVALHO, 2020). Entre as espécies domesticadas, *C. pubescens* é a única que não é encontrada no Brasil, ocorrendo naturalmente em jardins e hortas desde o México até o Peru (ALMEIDA *et al.*, 2020).

As espécies de *Capsicum* são arbustivas, podendo ultrapassar 120 cm de altura com uma ampla ramificação lateral. Apresentam sistema radicular pivotante, caule lenhoso ou semi-lenhoso, ereto ou recurvado. São espécies autógamas, contendo antera e estigma na mesma flor (DO RÊGO *et al.*, 2012). Porém, a polinização cruzada também pode ocorrer com taxas que variam de 5 a 15 % (FILGUEIRA, 2013).

As sementes apresentam formato reniforme, aplanadas, escuras ou claras, toleram o dessecamento a baixos graus de umidade e o armazenamento em temperaturas próximas de zero, sem danos à sua viabilidade (ortodoxas) (FREITAS; NASCIMENTO; CARVALHO, 2008). As sementes possuem dormência fisiológica, no entanto, essa dormência pode ser superada com o armazenamento das sementes ou deixando os frutos em repouso por alguns dias antes da retirada das sementes (BOSLAND; VOLTADA, 1999).

Os frutos são do tipo baga e manifestam uma grande variação de cores, tamanhos, formatos e graus de pungência (FREITAS; NASCIMENTO; CARVALHO, 2008) e são importante fontes de antioxidantes naturais, vitamina C e carotenóides (RIBEIRO; REIFSCHNEIDER; CARVALHO, 2020). A cor mais comum dos frutos é a vermelha, porém, diferentes cores, tais como vermelho escuro, laranja, salmão, amarelo, roxo, podem ser encontradas em algumas espécies do gênero *Capsicum* (ALMEIDA *et al.*, 2020). As pimenteiros também são utilizadas como ornamentais, em razão principalmente do porte e da coloração dos frutos quando maduro (DO RÊGO *et al.*, 2012).

A característica mais inerente do gênero *Capsicum* é a pungência dos seus frutos (ALMEIDA *et al.*, 2020). A pungência é proveniente de um conjunto de compostos alcaloides intimamente relacionados, chamados capsaicinoides (ALMEIDA *et al.*, 2020). A capsaicina, principal capsaicinoide das pimentas é encontrada na placenta dos frutos, nas sementes e, em menor grau, no pericarpo do fruto (DOMENICO *et al.*, 2012), e têm sido utilizados historicamente como analgésico (HAYMAN; KAM, 2008), e mais recentemente para tratar distúrbios neurológicos, da bexiga e síndromes digestivas (CHAPA-OLIVER; MEJÍA-TENIENTE, 2016). Além disso, os frutos de pimenta são ricos em vitaminas A, C e E, com reconhecidos benefícios à saúde humana (ALMEIDA *et al.*, 2020).

Pimentas frescas e secas são cultivadas, respectivamente, em 126 e 70 países (ALMEIDA *et al.*, 2020). Dados disponibilizados pela FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), referentes ao ano de 2022, apontam que a China e o México são os maiores produtores de pimentas do gênero *Capsicum*, produzindo anualmente cerca de 16,8 e 3,1 milhões de toneladas, respectivamente. Por outro lado, a Índia lidera a produção de frutos desidratados (peso seco), com 1,8 milhões de toneladas, seguida de Bangladesh com 624,82 mil toneladas (FAOSTAT, 2024).

No Brasil, o cultivo de pimentas ocorre em todas as regiões. Devido à grande parte da produção ser comercializada nas feiras locais e regionais, existe uma dificuldade de se obter dados estatísticos confiáveis sobre a área cultivada, produção e comercialização (PINHEIRO; AMARO; PEREIRA, 2012). A área cultivada com espécies do gênero *Capsicum* no Brasil é estimada em torno de 5.000 hectares, com produção anual de 75.000 toneladas. A produção média é em torno de 10 a 30

toneladas por hectare (1 a 3 kg por m²), sendo o Sudeste e Centro-Oeste as maiores regiões produtoras do país (GIANNINI *et al.*, 2023).

No estado do Amazonas, em 2022, a produção anual de pimenta-de-cheiro atingiu a marca de 2,88 mil toneladas de frutos frescos, conforme dados do Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal do Amazonas (IDAM, 2023). Essa produção ocorreu em uma área cultivada de 353,44 hectares, sendo destacado o município de Iranduba como o principal produtor, contribuindo com 693,60 toneladas em uma área de 96 hectares (IDAM, 2023). Essa região é naturalmente um importante centro de diversidade das espécies deste gênero, sobretudo da espécie *Capsicum chinense* Jacq. (CARDOSO *et al.*, 2014).

3.2 *Capsicum chinense* Jacq.

A espécie *C. chinense* Jacq. (Solanaceae), tem como centro de domesticação a Amazônia, onde é encontrada uma grande variedade de tamanho, forma, cor e pungência dos frutos (BIANCHI *et al.*, 2020). É amplamente utilizada na culinária brasileira, principalmente os morfotipos conhecidos como pimenta-de-cheiro, pimenta-de-bode, cumari-do-Pará, murupi, habanero e biquinho (MOSES; UMAHARAN; DAYANANDAN, 2014; BIANCHI *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2020).

A altura da planta pode atingir até 1,2 m, gerando frutos com dimensões entre 3 a 9 cm de comprimento e 0,7 cm a 1,5 cm de diâmetro (SILVA FILHO *et al.*, 2012). Na fase imatura, os frutos exibem coloração verde ou amarela, e na fase madura as tonalidades podem variar entre o vermelho e o alaranjado (SMITH; CHARLES, 1957). As folhas são do tipo ovadas a ovado-lanceoladas, de tonalidades verdes claro a escuro. As flores, de natureza pentâmera, hermafrodita, possuem pedicelo pendente, ereto ou ocasionalmente inclinado. A corola é de tonalidade verde-amarela, sem manchas, ou raramente com uma coloração esbranquiçada (ALMEIDA *et al.*, 2020).

A similaridade genética significativa entre *C. chinense* e *C. frutescens* frequentemente leva a confusões entre essas duas espécies (FREITAS; NASCIMENTO; CARVALHO, 2008). Uma característica morfológica distinta de *C. chinense* em relação às outras espécies cultivadas, é a presença de uma constrição anelar, que se encontra entre o cálice e o pedúnculo (CARVALHO *et al.*, 2006).

A pimenta-de-cheiro é comumente plantada em regiões de clima tropical, caracterizadas por uma temperatura média anual de aproximadamente 25 °C e uma variação de precipitação pluviométrica entre 600 mm e 2.000 mm (FRAIFE FILHO,

2010). É desaconselhável o cultivo em áreas onde a temperatura é inferior a 15 °C, pois nessas condições o desenvolvimento vegetativo é comprometido, impactando diretamente na produção (MOREIRA *et al.*, 2010).

A germinação das sementes de pimenta-de-cheiro geralmente ocorre entre 15 a 20 dias após a sementeira. As plantas são transferidas para o local definitivo quando atingem dois a três pares de folhas ou 20 cm de altura, o que ocorre aproximadamente de 50 a 60 dias após a sementeira. É recomendado o plantio no campo com um espaçamento de 3 m x 3 m (1.111 plantas ha⁻¹) (MOREIRA *et al.*, 2010). A colheita dos frutos inicia por volta dos 50 dias após o transplante das mudas, e o ciclo de produção normalmente varia de 80 a 140 dias, resultando em rendimentos que variam de 12 a 50 t/ha⁻¹ (RUFINO; PENTEADO, 2006; MOREIRA *et al.*, 2010).

Embora os frutos de *C. chinense* se destaquem pelo seu aroma, a intensidade da pungência varia consideravelmente, indo desde opções mais suaves, como a pimenta biquinho, até variedades muito picantes, como a pimenta habanero (RIBEIRO *et al.*, 2020). Em razão dessas características, a pimenta tornou-se um produto amplamente consumido, seja fresca ou processada, sendo utilizada na elaboração de condimentos e molhos (CARDOSO *et al.*, 2014). No estado do Amazonas, a pimenta-de-cheiro é consumida em larga escala. Apesar dos desafios climáticos, de solo e fitossanitários, há uma busca constante pelo aumento da produtividade para atender à demanda do mercado local (MOREIRA *et al.*, 2010).

3.3 Antracnose no gênero *Capsicum*

O termo "antracnose" tem origem na língua grega, significando 'carvão'. É a designação comum para doenças que afetam plantas, caracterizadas por lesões intensamente escuras e profundas contendo esporos de fungos (ISAAC, 1992). A antracnose representa uma das principais preocupações no cultivo de pimentas, ameaçando o êxito dos empreendimentos em escala global, devido à redução na produtividade e na qualidade dos frutos (ALI *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2019; PARISI; ALIOTO; TRIPODI, 2020).

A antracnose é causada por espécies de fungos pertencentes ao gênero *Colletotrichum*, compreendendo cerca de 600 espécies que afetam mais de 3.200 plantas herbáceas e lenhosas em nível global (O'CONNELL *et al.*, 2012). Na China, foram identificadas pelo menos quinze espécies como responsáveis por danificar os cultivos de pimentões (DIAO *et al.*, 2017). Na Índia, a antracnose do pimentão é

atribuída a *C. coccodes*, *C. fruticola*, *C. siamense* e *C. truncatum* (SHARMA; SHENOY, 2014). Nos Estados Unidos, os principais agentes patogênicos incluem *C. acucatum*, *C. coccodes* e *C. gloeosporioides* (THAN *et al.*, 2008).

No Nordeste do Brasil, foram identificadas cinco espécies, a saber: *C. brevisporum*, *C. scovillei*, *C. siamense*, *C. tropicale* e *C. truncatum*, associadas à antracnose em *Capsicum* spp. (SILVA *et al.*, 2017). No estado do Amazonas, OLIVEIRA *et al.*, (2017) relataram a ocorrência de *C. siamense*, *C. scovillei* e *C. brevisporum* como agentes causadores da antracnose na pimenta-de-cheiro.

Os sintomas da antracnose em plantas de *Capsicum* diferem de acordo com a parte da planta atacada, como tombamento de plântulas em sementeiras, manchas circulares escuras nas folhas, necrose no caule e lesões circulares nos frutos (NEUMANN *et al.*, 2004). A manifestação mais significativa da doença ocorre quando ela atinge os frutos, resultando em sua destruição ou tornando-os inadequados para o mercado (TOFFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015). Tipicamente, as lesões são de formato circular, apresentando coloração escura, frequentemente, são cobertas por uma camada de conídios de tonalidade rosada a alaranjada (DE SOUSA; SERRA; DE MELO, 2012; TOFFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

A disseminação dos conídios ocorre por meio de respingos de água provenientes de chuva ou irrigação. Materiais contaminados, como implementos agrícolas, mudas, sementes e ferramentas, podem transportar o agente causal a distâncias consideráveis. A presença de água livre sobre os órgãos aéreos das plantas propicia a germinação dos conídios, possibilitando a infecção dos tecidos através da cutícula (TOFFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

Nos cultivos de pimentas, a infecção natural ocorre através da fixação de esporos à cutícula, formação de apressórios e infecção direta. Frutos feridos por abrasão ou danos causados por insetos também proporcionam entrada para infecção (MONGKOLPORN; TAYLOR, 2018). A infecção é favorecida por condições de temperatura que variam de 22 a 30°C e umidade superior a 80% (PARK *et al.*, 2012; RASHID *et al.*, 2014). Nestas condições, a doença é extremamente destrutiva, podendo ocasionar perdas de 100% na produção de frutos (AZEVEDO; HENZ; REIS, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2017; PEDROSO *et al.* 2020).

3.4 Identificação de *Colletotrichum* spp.

No passado, a identificação de espécies de *Colletotrichum* apresentava desafios devido ao uso indiscriminado de nomes baseados em suposições de especificidade do hospedeiro (CANNON *et al.*, 2012). Isso resultou em um grande número de táxons descritos. A identificação incorreta de espécies causa complicações tanto na compreensão das relações hospedeiro-patógeno, quanto no desenvolvimento de estratégias de controle eficazes (DE SILVA *et al.*, 2019).

Tradicionalmente, a identificação das espécies era fundamentada na morfologia dos conídios e apressórios, presença de cerdas, presença de escleródios, estado teleomórfico e características da cultura micelial. No entanto, as características morfológicas eram limitadas devido a amplas variações dentro das espécies e à ocorrência rara do estágio teleomórfico (MONGKOLPORN; TAYLOR, 2018).

A identificação de espécies de *Colletotrichum*, atualmente, tem sido feita com base em características morfológicas e moleculares (OLIVEIRA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2018). Essa identificação é fundamental para entender a relação patógeno-hospedeiro, realizar a correta diagnose da doença e desenvolver as melhores estratégias de controle (TOZZE JÚNIOR; MELLO; MASSOLA JÚNIOR, 2006).

Os genes atualmente utilizados na identificação de espécies de *Colletotrichum* são dependentes de complexos de espécies (CAI *et al.*, 2009; DAMM *et al.*, 2012; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Genes resumidos por MARIN-FELIX *et al.*, (2019) incluiu ITS rDNA (espaçador transcrito interno ribossômico), GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase), CHS1 (quitina sintase 1), ACT (proteína semelhante à actina), HIS3 (histona 3), TUB2 (β -tubulina), GS (glutamina sintetase), CAL (calmodulina), SOD2 (superóxido dismutase de manganês), APN2 (DNA liase 2) e gene do tipo de acasalamento parcial (*Mat1-2*).

A análise multigênica identificou 14 espécies de *Colletotrichum* na China provenientes de frutos de pimenta, sendo *C. fioriniae*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *C. scovillei* e *C. truncatum* as mais proeminentes. *Colletotrichum conoides*, *C. grossum* e *C. liaoningense* foram recentemente descritas (DIAO *et al.*, 2017).

Na região nordeste do Brasil, SILVA *et al.* (2017) realizaram a identificação de cinco espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e pimentão (*Capsicum annuum*). A análise foi conduzida por

meio de abordagens morfológicas e moleculares, utilizando sequências dos genes GAPDH, ACT, CAL, β -TUB, e na região ITS-rDNA. As espécies identificadas foram *C. brevisporum*, *C. scovillei*, *C. siamense*, *C. tropicale* e *C. truncatum*.

3.5 Patogenicidade de *Colletotrichum* spp.

A patogenicidade refere-se à habilidade de um organismo causar danos ou doenças em um hospedeiro específico. No caso de *Colletotrichum* spp., este termo abrange diversas espécies do gênero *Colletotrichum*, conhecidas por sua patogenicidade em várias plantas (MONGKOLPORN; TAYLOR, 2018).

A virulência pode ser medida qualitativa ou quantitativamente com base no grau de infecção (MONGKOLPORN; TAYLOR, 2018). Os isolados de uma espécie são chamados de patótipos quando uma subclasse ou grupo de isolados pode ser diferenciada, de outros da mesma espécie pelo nível de virulência em um genótipo específico do hospedeiro (TAYLOR; FORD, 2007).

MONTRI; TAYLOR; MONGKOLPORN, (2009) e MONGKOLPORN *et al.*, (2010) identificaram a existência de patótipos de *C. truncatum*, *C. siamense* e *C. scovillei* com base nas diferenças qualitativas na infecção de um conjunto de espécies e genótipos de pimenta. Também, SHARMA *et al.*, (2005) afirmaram que existiam 15 patótipos com base no tamanho quantitativo das lesões, que foram então divididas arbitrariamente em duas reações, resistente e suscetível.

A maioria dos estudos para avaliar a patogenicidade de espécies de *Colletotrichum*, foram realizadas em frutos de pimenta que foram feridos pela perfuração da cutícula e da periderme, antes da inoculação (MONGKOLPORN; TAYLOR, 2018), o que resulta no desenvolvimento rápido de lesões comparando com frutos não feridos (SILVA *et al.*, 2017). No entanto, a inoculação sem ferimentos é importante na determinação da patogenicidade e virulência de novas espécies de *Colletotrichum* spp.

3.6 Controle químico da antracnose em *Capsicum* spp.

Os fungicidas são amplamente utilizados no controle de fitopatógenos e são os principais produtos aplicados na redução das perdas econômicas ocasionadas pela antracnose (DE LIMA *et al.*, 2013). No entanto, existem alguns efeitos indesejáveis do uso de pesticidas, como efeitos tóxicos desses produtos ao ambiente e à segurança alimentar, particularmente em países em desenvolvimento (VOORRIPS *et al.*, 2004).

Os fungicidas registrados no Brasil para o controle da antracnose no gênero *Capsicum*, tem como ingrediente ativo o oxicloreto de cobre, fluxapiraxade (carboxamida) + piraclostrobina (estrobilurina), óxido cuproso e mancozebe (MAPA, 2024). Entre os vários fungicidas, o carbendazim é geralmente utilizado para controlar o patógeno *C. capsici* na pimenta (PHANSAWAN *et al.*, 2015; REDDY; JAKHAR; DAHIYA, 2019). O controle deste patógeno foi estudado por LINU; JISHA; JISHA (2017), onde verificaram que não apenas o carbendazim, mas os fungicidas mancozebe e azoxistrobin inibiram o crescimento de micélios de *C. capsici* em 73,5 %.

ALI *et al.*, (2016) relataram que o fungicida Tiram reduziu a incidência da podridão dos frutos de *C. annum* de 51,1 % (sem fungicida) para 34,1 e 37,1 %, respectivamente. Esses mesmos autores mostram que a pulverização foliar de mancozeb, carbendazim, difenoconazol ou propinconazol três vezes na pré-floração, na frutificação e no amadurecimento dos frutos, mostrou 20,3 % de incidência de apodrecimento da fruta em comparação com o controle (48,9% de podridão da fruta), podendo a incidência da podridão dos frutos ser menor com tratamento adicional de sementes. Apesar de sua eficiência na redução da antracnose, o ingrediente ativo carbendazim foi proibido em produtos agrotóxicos no país, através da resolução RDC Nº 739, DE 8 DE AGOSTO DE 2022, como medida transitória de mitigação de riscos (ANVISA, 2022)

O controle efetivo por meio do uso de fungicidas químicos é possível pela aplicação oportuna durante o período crítico favorável ao aparecimento da doença (SAXENA *et al.*, 2016). CHEN; JIN; ZHOU (2009) sugeriram que o azoxistrobin deve ser usado de forma protetora (eliminando os esporos de *C. capsici* antes da infecção), para um controle mais eficaz da doença antracnose. LEWIS IVEY; NAVA-DIAZ; MILLER (2004), verificaram que o fungicidas a base de estrobirulinas foram eficazes no tratamento da antracnose causada por *C. acucatum*, no entanto, devem sempre ser usados em conjunto com um ou mais fungicidas com diferentes modos de ação para reduzir a probabilidade de resistência de *C. acucatum* ao produto (DOWLING *et al.*, 2020).

Parcelas pulverizadas com fungicidas protetores como o Clorotalonil, apresentaram menor severidade de antracnose em cultivo de pimentão (*C. annum*) (PEDROSO *et al.*, 2020). Outros fungicidas protetores, como os à base de cobre, que

são frequentemente utilizados por produtores, têm um efeito protetor semelhante (LA TORRE; IOVINO; CARADONIA, 2018).

Apesar de ser utilizado com frequência, o controle químico sozinho não é desejável, uma vez que, a utilização excessiva destes produtos provoca a seleção de organismos resistentes, fazendo com que a substância que antes promovia um controle eficaz torne-se ineficiente (JULIATTI, 2016; JANTHONG *et al.*, 2021). Além disso, os resíduos remanescentes dos produtos são um problema para o consumo humano e também para exportação de pimenta (REDDY; JAKHAR; DAHIYA, 2019). Portanto, são necessários métodos alternativos e integrados para auxiliar no manejo da doença (SAXENA *et al.*, 2016; PEDROSO *et al.*, 2020).

3.7 Manejo da adubação em *Capsicum* spp.

Normalmente, as hortaliças, especialmente as pertencentes ao gênero *Capsicum*, são exigentes quanto às características químicas dos solos, necessitando de quantidades adequadas de nutrientes e corretivos para maximizar sua produtividade (CARDOSO *et al.*, 2014). Entre os nutrientes, o nitrogênio (N) é o mais exigido pelas pimenteiras, pois influencia no desenvolvimento das plantas e crescimento dos frutos (CHARLO *et al.*, 2012). Esse elemento também desempenha um papel vital como constituinte de proteínas, ácidos nucleicos e clorofila (MAHMUD *et al.*, 2020).

MEDINA-LARA *et al.* (2008) testando níveis de N e K no desenvolvimento de plantas de *C. chinense*, cultivadas num Luvisolo de baixa fertilidade sob condições controladas, constataram que o crescimento e produtividade foram influenciados pela aplicação de nitrogênio e que o acúmulo de capsaicina aumentou com a aplicação de N. OLIVEIRA *et al.* (2013, 2015) aplicando cinco doses de N (0, 107, 215, 322, 430 e 645 kg ha⁻¹) em cultivos de pimentão em ambiente protegido, encontraram uma resposta quadrática com dose ótima estimada de 275 kg ha⁻¹ de N.

MAHMUD *et al.* (2020), buscando descobrir a dose ideal de nitrogênio para o crescimento e desenvolvimento do pimentão (*C. annum*) em um jardim de cobertura, verificaram que o N influenciou positivamente o rendimento da cultura. Além disso, o máximo rendimento foi alcançado com a aplicação de 130 kg.ha⁻¹ de N. Esses mesmos autores afirmam que, quando os pimentões são adequadamente supridos com os nutrientes essenciais, há aumento na qualidade e rendimento da produção e

que um fornecimento adequado de N é essencial para o crescimento vegetativo e o rendimento desejável (AMINIFARD *et al.*, 2012; MAHMUD *et al.*, 2020).

Outro nutriente essencial exigido pelas espécies do gênero *Capsicum* é o fósforo (P). A exigência de fósforo pela pimenta-de-cheiro foi investigada por BORGES-GÓMEZ *et al.* (2008), que estudando plantas de Habanero (*C. chinense*) cultivada em diferentes tipos de solos, sob dois níveis de P (0 e 87 mg dm⁻³), verificaram resposta positiva à adubação fosfatada, e o nível crítico de fósforo no solo para o cultivo da pimenta-de-cheiro foi 11,9 mg kg⁻¹. Ainda segundo os autores, em solos com concentrações abaixo do nível crítico de P, a probabilidade de uma resposta econômica à adição de fertilizantes é alta.

ROY; KHAN; PALL (2011) estudando os efeitos do nitrogênio e fósforo e o seu efeito combinado no tamanho e rendimento de frutos de pimentão, observaram que o comprimento e a largura dos frutos e o número de frutos por planta aumentaram significativamente com o aumento das doses de nitrogênio até 100 kg de N.ha⁻¹. Em contrapartida, o peso médio do fruto e a produtividade aumentaram significativamente com o aumento dos níveis de P até o tratamento de 30 kg de P.ha⁻¹. Considerando o efeito combinado de nitrogênio e fósforo, os melhores tamanhos e rendimentos foram encontrados na combinação de tratamento de 150 kg N e 30 kg P.ha⁻¹.

Para aumentar a eficiência do uso do fósforo (P) aplicado no cultivo da pimenta-de-cheiro (*C. chinense*), CARDOSO *et al.*, (2014) reforçam a necessidade da correção da acidez do solo, pois sem a aplicação do calcário há restrição na absorção deste nutriente, mesmo que aplicado em quantidade muito superior ao seu nível crítico no solo. A correção da acidez e a recomendação de adubação devem sempre ser feitas com base na análise química do solo, que é considerada o insumo mais barato no manejo da adubação (MOREIRA *et al.*, 2010).

CARDOSO *et al.*, (2014), estudando o efeito de diferentes doses de calcário no crescimento e acúmulo de nutrientes na parte aérea de pimenta-de-cheiro (*C. chinense*), cultivada em casa de vegetação, verificaram que o crescimento inicial e o acúmulo de nutrientes da pimenta-de-cheiro foram favorecidos pela adição de doses crescentes de calcário, e as plantas apresentaram potencial para responder à aplicação de doses maiores que 2.000 kg. ha⁻¹ de calcário dolomítico.

Na região Amazônica, um dos principais entraves ao cultivo de espécies agrícolas é a baixa fertilidade natural dos solos (CARDOSO *et al.*, 2014). Esses, normalmente possuem baixos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K),

enxofre (S), cálcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B), cobre (Cu) e zinco (Zn), com pH abaixo de 4,5, baixa saturação por bases e elevados níveis de alumínio trocável (DEMATTÊ; DEMATTÊ, 1993; CARDOSO *et al.*, 2014).

Os programas de adubação adotados são essenciais para suprir as necessidades nutricionais das espécies. Assim, visando suprir grande parte da necessidade de orientação para adubação e calagem da cultura da pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) em áreas de terra firme no Estado do Amazonas, MOREIRA *et al.*, (2010) publicaram a 1ª aproximação para a correção da acidez do solo e adubação em cultivos de pimenta-de-cheiro no Amazonas.

Neste trabalho, é recomendado para o cultivo da pimenta-de-cheiro, a aplicação de calcário dolomítico para elevar a saturação por bases (V) a 70%. Trinta dias após a aplicação do calcário, é recomendado utilizar por cova 4 litros de esterco de gado curtido, ou 2/3 dessa quantidade quando for usado esterco de galinha poedeira curtido. Na adubação fosfatada, quando possível, dar preferência ao superfosfato simples (20% de P₂O₅), ao cálcio (Ca) e ao enxofre (S) (MOREIRA *et al.*, 2010).

Na adubação com micronutrientes, é recomendado aplicar: 3,0 kg.ha⁻¹ de boro; 2,0 kg.ha⁻¹ de cobre; 3,0 kg. ha⁻¹ de manganês; e 3,0 kg.ha⁻¹ de zinco ou 60 kg.ha⁻¹ de FTE BR12 (Zn – 9%, B – 1,8%, Cu – 0,8%, Mn – 2%, Fe – 3,5%, Mo – 0,1%(MOREIRA *et al.*, 2010). Até o florescimento, as adubações de cobertura são feitas utilizando adubo nitrogenado, na dose de 20 a 50 kg.ha⁻¹ de N. Na fase de frutificação, é utilizado uma mistura de adubo nitrogenado com potássico, em intervalos de 30-45 dias.

A colheita da pimenta-de-cheiro pode ser prolongada por mais de um ano, e as adubações de cobertura devem ser feitas até o final do ciclo, com base em observações no crescimento ou aparecimento de sintomas de deficiências nutricionais (MOREIRA *et al.*, 2010).

A eficiência do fertilizante é aumentada quando este é aplicado com o solo úmido, logo após uma chuva, ou antes da irrigação. Ao utilizar adubos concentrados como fonte de nitrogênio (N) e de fósforo, como a ureia (40% de N) e o superfosfato triplo (40% de P₂O₅), aplicar 100 kg ha⁻¹ de gesso (CaSO₄), que é uma excelente fonte de enxofre (S) disponível no mercado (MOREIRA *et al.*, 2010).

3.8 Efeito dos nutrientes minerais no desenvolvimento de doenças

Dentre os mais importantes fatores de produção das pimenteiras, o adequado manejo nutricional tem destaque, com maior ênfase na quantidade e forma de aplicação dos nutrientes (OLIVEIRA *et al.*, 2015). A nutrição mineral influencia no grau de resistência da planta às doenças, por modificar a morfologia ou a histologia, ou ainda alterar a composição química dos tecidos em resposta à infecção por patógenos (CARVALHO *et al.*, 2013). Quando um agente patogênico infecta uma planta, interfere na absorção, na mobilidade e na utilização de nutrientes minerais (BASHAIR *et al.*, 2016).

PEDROSO *et al.*, (2020) apontam que a fertilização excessiva com nitrogênio, tanto na estação seca quanto na estação chuvosa, aumentou a severidade da antracnose do pimentão (*C. annuum* L.), onde doses de até 150 Kg.ha⁻¹ não causaram diferenças significativas na severidade da antracnose. Esses resultados sugerem que é importante evitar altos níveis de fertilização com nitrogênio, que são comumente encontrados nos campos de cultivo de hortaliças no Brasil, e especialmente na estação chuvosa (PEDROSO *et al.*, 2020). GASPAROTTO; PEREIRA; BERNI (2014), recomendam efetuar corretamente as adubações nitrogenadas (sulfato de amônia, ureia e esterco de aves) em pimenta-de-cheiro, sobretudo em plantios antigos.

BASHAIR *et al.* (2016) comprovaram que variedades de pimenta malagueta (*C. frutescens* L.) resistentes a antracnose causada por *C. capsici* acumularam concentrações mais elevadas de nutrientes (N, P, Ca, Mg, Mg, Zn, Na, Cu) em comparação com variedades susceptíveis, e esse aumento de nutrientes minerais em plantas hospedeiras resistentes poderia ajudar a prevenir a disseminação do patógeno, fortalecendo os processos bioquímicos e fisiológicos da planta. O uso de nutrientes como nitrogênio, fósforo, potássio e micronutrientes é recomendado para o controle de doenças (GHADAMKHEIR *et al.*, 2020).

Para a fisiologia da planta, quando o suprimento de N é alto, a síntese de metabólitos secundários por meio da via do ácido chiquímico é comprometida, reduzindo a produção de compostos fenólicos (MARSCHNER, 2012). Por outro lado, quando ocorre deficiência de N, as plantas podem não expressar seu potencial produtivo e também a síntese de compostos de defesa (SPANN; SCHUMANN, 2010). Além disso, a aplicação irracional de fertilizantes causa desequilíbrio de nutrientes no solo, redução da diversidade microbiana e outros problemas de qualidade do solo (CHEN *et al.*, 2021).

Em contraste com o N, onde a severidade da doença tende a aumentar com o aumento da dose, para outros nutrientes (P, K, S, Si), a suscetibilidade tende a aumentar em condições de deficiência de nutrientes (WALTERS; BINGHAM, 2007). O Fósforo (P) é um elemento essencial para muitos processos fundamentais na vida das plantas, incluindo formação de ácidos nucleicos, proteínas, fosfolipídios, fotossíntese e respiração (KAMERLIN *et al.*, 2013). Um suprimento adequado de fósforo disponível para as plantas tem sido associado a elevados níveis de componentes fungistáticos, como compostos fenólicos e flavonóides, em diferentes partes da planta (HANEKLAUS; SCHNUG, 2016). O efeito indireto do fósforo no aumento do crescimento das plantas parece superar o efeito direto dos fungos, aumentando a síntese de compostos fenólicos que contribuem para a resistência aos patógenos fúngicos (PRABHU, 2007).

A possibilidade de o P exercer um efeito direto na resistência das plantas tornou-se aparente no final dos anos 1980, quando GOTTSTEIN; KUC, JOSEPH (1989) mostraram que os sais de fosfato dibásico e tribásico induziram proteção sistêmica contra a antracnose em pepino causada por *Colletotrichum lagenarium*. Hoje, é sabido que a fertilização com fósforo afeta doenças fúngicas de diferentes maneiras (SPAGNOLETTI *et al.*, 2018).

Segundo PRABHU (2007), um melhor crescimento radicular por nutrição de P pode fornecer a planta uma maior resistência ao ataque de patógenos, e uma vez que a quantidade natural de fósforo disponível em solos aráveis não atende totalmente às necessidades nutricionais das plantas, as safras devem ser fertilizadas (MOHAMMADI, 2012).

O potássio (K), outro macronutriente essencial, tem um papel importante como regulador da atividade enzimática, está envolvido essencialmente em todas as funções celulares que controlam a severidade da doença, interferindo no enrijecimento dos tecidos, na abertura estomática e taxa fotossintética (SPANN; SCHUMANN, 2010). O K é amplamente relatado por diminuir a severidade de doenças em muitas plantas hospedeiras (WALTERS; BINGHAM, 2007). De acordo com BASHAIR *et al.* (2016), plantas com deficiência de K tendem a ser mais suscetíveis à infecção do que as plantas que recebem um fornecimento adequado de K.

A estreita relação entre o estado nutricional da planta e a ocorrência de doenças é complexa e dinâmica e o manejo da nutrição pode reduzir ou aumentar a intensidade de doenças (VANDERMEER; PERFECTO; PHILPOTT, 2010).

REFERÊNCIAS

ABUD, Haynna Fernandes *et al.* Caracterização morfológica dos frutos de pimentas malagueta e biquinho. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável(RBAS)**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 29–39, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/https://doi.org/10.21206/rbas.v8i2.478>

AKHTAR, J. Effect of fungicides on growth and sensitivity of the isolates of *Colletotrichum capsici* causing fruit rot of chilli. **Journal of Plant Disease Sciences.**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 59–62, 2007.

ALI, Asgar *et al.* Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. **Crop Protection**, [s. l.], v. 90, p. 132–141, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.026>

ALMEIDA, L. B. *et al.* First report of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil caused by *Colletotrichum brevisporum*. **Plant Disease**, [s. l.], v. 101, n. 6, p. 1035, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-17-0099-PDN>

ALMEIDA *et al.* Pimentas *Capsicum* L.: Aspectos botânicos, centro de origem, diversificação e domesticação, importância socioeconômica e propriedades terapêuticas (Parte I). *In*: MATOS, Raisia Rachel Salustriano da Silva; LEITE, Marcos Renan Lima; MACHADO, Nitalo André Farias (org.). **As vicissitudes da pesquisa e da teoria nas ciências agrárias**. 1. ed. Ponta: Atena, 2020. p. 33–47. Disponível em: <https://doi.org/10.22533/at.ed.5252004114>

ALMUDI, Tiago; PINHEIRO, José Olenilson Costa. **Dados Estatísticos da Produção Agropecuária e Florestal do Estado do Amazonas: Ano 2013**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2015. *E-book*.

ANVISA. Rdc Nº 739, De 8 De Agosto De 2022. [s. l.], v. 2022, p. 2–4, 2022.

Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/perguntasfrequentess/agrotoxicos/reavaliacao-de-agrotoxicos-2/RDC_739_2022_.pdf

AZEVEDO, Caroline Pedroso De; HENZ, Gilmar Paulo; REIS, Ailton.

Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas - Comunicado Técnico. Brasília, DF: [s. n.], 2006.

BASHAIR, M. *et al.* Mineral profiling of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) inoculated with *Colletotrichum capsici* (Sydow), Butler and Bisby. **Journal of Animal and Plant Sciences**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 1304–1312, 2016.

BIANCHI, Paola Alvares *et al.* Biomorphological characterization of Brazilian *Capsicum chinense* Jacq. Germplasm. **Agronomy**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 1–17, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy10030447>

BORGES-GÓMEZ, Lizette *et al.* Correlación y calibración del Análisis de fósforo en suelos de Yucatán, México, para el cultivo de Chile Habanero. **Agrociencia**, [s. l.], v. 42, n. 1, p. 21–27, 2008.

BOSLAND, Paul; VOLTADA, Eric. **Peppers: vegetable and spice capsicums**. 2. ed. New York: Wallingford, Oxon, UK, 1999.

CAI, L *et al.* A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 39, p. 183–204, 2009.

CANNON, P. F. *et al.* *Colletotrichum* - current status and future directions. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 73, p. 181–213, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3114/sim0014>

CARDOSO, Arnon Afonso de Souza *et al.* Acúmulo de nutrientes e crescimento da pimenta-de-cheiro em função de doses de calcário. **Revista Agro@Mambiente on-Line**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 165, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v8i2.1881>

CARRIZO GARCÍA, Carolina *et al.* Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). **Annals of Botany**, [s. l.], v. 118, n. 1, p. 35–51, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mcw079>

CARVALHO, Diego de Oliveira *et al.* Nitrogen and potassium fertilization influence on anthracnose severity in two corn cultivars. **Revista Ceres**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 380–387, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2013000300011>

CARVALHO, Sabrina Isabel Costa de *et al.* **Pimentas do gênero *Capsicum* no**

Brasil. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2006.

CHAPA-OLIVER, Angela M.; MEJÍA-TENIENTE, Laura. Capsaicin: From plants to a cancer-suppressing agent. **Molecules**, [s. l.], v. 21, n. 8, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21080931>

CHARLO, Hamilton César de O *et al.* Accumulation of nutrients in sweet peppers cultivated in coconut fiber. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 125–131, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-05362012000100021>

CHEN, Yihui *et al.* Effects of different types of microbial inoculants on available nitrogen and phosphorus, soil microbial community, and wheat growth in high-P soil. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 28, n. 2, 2021. Disponível em: <https://doi.org/doi.org/10.1007/s11356-020-12203>

CHEN, Yu; JIN, Li hua; ZHOU, Ming guo. Effect of Azoxystrobin on Oxygen Consumption and cyt b Gene Expression of *Colletotrichum capsici* from Chilli Fruits. **Agricultural Sciences in China**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 628–631, 2009. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60255-2](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60255-2)

DAMM, U. *et al.* The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 73, p. 37–113, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3114/sim0010>

DE LIMA, Jaqueline Rabelo *et al.* Isolation, identification, and activity in vitro of killer yeasts against *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from tropical fruits. **Journal of Basic Microbiology**, [s. l.], v. 53, n. 7, p. 590–599, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jobm.201200049>

DE SILVA, Dilani D. *et al.* Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. **IMA Fungus**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–32, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0001-y>

DE SOUSA, Rosa Maria Souto; SERRA, Ilka Marcia Ribeiro de Souza; DE MELO, Thiago Anchieta. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 42–47, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000100007>

DEMATTE, José Luiz Ioriatti; DEMATTE, José Alexandre Melo. Comparações entre as propriedades químicas de solos das regiões da floresta amazônica e do cerrado do Brasil Central. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 272–286, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-90161993000200016>

DIAO, YZ *et al.* *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, [s. l.], v. 38, n. JUNE, p. 20–37, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3767/003158517X692788>

DO RÊGO, Elizanilda R *et al.* Testing methods for producing self-pollinated fruits in ornamental peppers. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 669–672, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-05362012000400017>

DOMENICO, Carolina I *et al.* Caracterização agrônômica e pungência em pimentade-cheiro. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 466–472, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000300018>

DOWLING, Madeline *et al.* Managing *colletotrichum* on fruit crops: A “complex” Challenge. **Plant Disease**, [s. l.], v. 104, n. 9, p. 2301–2316, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2378-FE>

FAOSTAT (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - STATISTICS DIVISION). **Production/crops: Chillies and peppers**. [S. l.], 2024. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 11 fev. 2024.

FILGUEIRA, Fernando Antônio Reis. **Novo manual de olericultura**. 3. ed. Viçosa-MG: Editora UFV, 2013.

FRAIFE FILHO, G. A. **Pimenta**. 1. ed. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 2010.

FREITAS, Raquel A de; NASCIMENTO, Warley M; CARVALHO, Sabrina I C de. **Produção de sementes**. [S. l.: s. n.], 2008.

GASPAROTTO, Luadir; PEREIRA, José Clério Rezende; BERNI, Rodrigo Fascin. **A Antracnose da Pimenta- de-cheiro**. 1. ed. Manaus, AM: Embrapa Amazônia Ocidental, 2014.

GHADAMKHEIR, Mariam *et al.* Effect of nitrogen and phosphorus application on Take-all fungal disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Research on Crops**, [s. l.],

v. 21, n. 2, p. 370–374, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.31830/2348-7542.2020.062>

GIANNINI, Patricia de Almeida *et al.* **Cultivo e Uso de Pimentas Capsicum**. 1. ed. Seropédica:RJ: Programa de Pós-Graduação em Agricultura Orgânica, 2023. v. 1

GOMES, Edilene Carvalho; SERRA, Ilka Márcia Ribeiro de Souza. Eficiência de produtos naturais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em pimenta na pós colheita. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 290–292, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000400011>

GOTTSTEIN, Hans D.; KUC, JOSEPH, A. Induction of Systemic Resistance to Anthracnose in Cucumber by Phosphates. **Phytopathology**, [s. l.], v. 79, n. 2, p. 176, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/phyto-79-176>

HANADA, Rogerio Eiji *et al.* Danos causados por *Colletotrichum* sp. em pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) e recomendações de controle. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 36, n. 36, p. 1, 2011.

HANEKLAUS, Silvia H.; SCHNUG, Ewald. Assessing the plant phosphorus status. *In*: SCHNUG, E.; KOK, L.J. (org.). **Phosphorus in Agriculture: 100 % Zero**. [S. l.]: Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2016. p. 95–125. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-017-7612-7_6

HAYMAN, Mark; KAM, Peter C.A. Capsaicin: A review of its pharmacology and clinical applications. **Current Anaesthesia and Critical Care**, [s. l.], v. 19, n. 5–6, p. 338–343, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cacc.2008.07.003>

ISAAC, Susan. Plant-fungus relationships. **London ; New York : Chapman & Hall**, [s. l.], p. 115, 1992.

JANTHONG, Parinya *et al.* Bioefficacy of Piper extracts in the management of chilli anthracnose. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, [s. l.], v. 54, n. 19–20, p. 2247–2261, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03235408.2021.1925517>

JULIATTI, F.C. *et al.* **Fungicidas de “A a Z”: Por que e como utilizá-los**. 1. ed. Uberlândia: Editora Compose, 2016.

KAMERLIN, Shina *et al.* Why nature really chose phosphate. **Quarterly Reviews of**

Biophysics, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 1–132, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1017/S0033583512000157>

KIRAN, Raj *et al.* Anthracnose of Chilli: Status, Diagnosis, and Management.

Capsicum, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.93614>

LA TORRE, Ana; IOVINO, Valéria; CARADONIA, Frederica. Copper in plant protection: current situation and prospects. **Phytopathologia Mediterranea**, [s. l.], v. 57, n. 2, p. 201–236, 2018. Disponível em:

https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-23407

LEWIS IVEY, Melanie L.; NAVA-DIAZ, Cristian; MILLER, Sally A. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers. **Plant Disease**, [s. l.], v. 88, n. 11, p. 1198–1204, 2004. Disponível em:

<https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.11.1198>

LINU, M S; JISHA, M S; JISHA, M S. In vitro control of *Colletotrichum capsici* induced chilli anthracnose by fungicides and biocontrol agent. **International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 27–33, 2017.

Disponível em: <https://doi.org/10.22623/ijapsa.2017.3037.g49gw>

MAHMUD, Khalid *et al.* Effect of Nitrogen On Growth and Yield of Chili (*Capsicum annum* L.) in Roof Top Garden. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 246, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i1.246-251.2763>

MAPA. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO.**

AGROFIT. [S. l.], 2024. Disponível em:

http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 12 fev. 2023.

MARIN-FELIX, Y. *et al.* Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 94, n. June, p. 1–124, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2019.05.001>

MARSCHNER, Petra. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed.

Adelaide, Austrália: School of Agriculture, Food and Wine The University of Adelaide Australia, 2012.

MEDINA-LARA, Fátima *et al.* Influence of nitrogen and potassium fertilization on fruiting and capsaicin content in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.).

HortScience, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 1549–1554, 2008. Disponível em:

<https://doi.org/10.21273/hortsci.43.5.1549>

MILLS, P. R. ; HODSON, A. ;; BROWN, A. E. Molecular differentiation of

Colletotrichum gloeosporioides isolates infecting tropical fruits. **Wallingford: CAB**

International, [s. l.], v. 29, p. 2569–2888, 1992. Disponível em:

<https://doi.org/851987567>

MOHAMMAD HOSSEIN AMINIFARD *et al.* Effect of plant density and nitrogen fertilizer on growth, yield and fruit quality of sweet pepper (*Capsicum annum* L.).

African Journal of Agricultural Research, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 859–866, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.5897/ajar10.505>

MOHAMMADI, Kimia. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. **Resour Environ**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 80–85, 2012.

MONGKOLPORN, O.; TAYLOR, P. W.J. Chili anthracnose: *Colletotrichum* taxonomy and pathogenicity. **Plant Pathology**, [s. l.], v. 67, n. 6, p. 1255–1263, 2018.

Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppa.12850>

MONGKOLPORN, Orarat *et al.* Differential reactions on mature green and ripe chili fruit infected by three *Colletotrichum* spp. **Plant Disease**, [s. l.], v. 94, n. 3, p. 306–310, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-3-0306>

MONTRI, P.; TAYLOR, P. W.J.; MONGKOLPORN, O. Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. **Plant Disease**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 17–20, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-1-0017>

MOREIRA, Adônis *et al.* **Fertilizantes e Corretivo da Acidez do Solo em Pimenta-de-Cheiro (*Capsicum chinense*) Cultivada no Estado do Amazonas (1ª Aproximação)**. 1. ed. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010.

MOSES, Marissa; UMAHARAN, Pathmanathan; DAYANANDAN, Selvadurai.

Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum*

chinense in the Neotropics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 741–755, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0069-y>

NEUMANN, S. *et al.* Nitrogen per unit leaf area affects the upper asymptote of *Puccinia striiformis* f.sp. tritici epidemics in winter wheat. **Plant Pathology**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 725–732, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2004.01107.x>

NUEZ, Fernando; ORTEGA, Ramiro Gil; GARCIA, Joaquin Costa. **El cultivo de pimientos, chiles y ajies**. 1. ed. Madri: Mundi Prensa, 2003.

O'CONNELL, Richard J. *et al.* Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 44, n. 9, p. 1060–1065, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.2372>

OLIVEIRA, C. V.S. *et al.* Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. **Genetics and Molecular Research**, [s. l.], v. 16, n. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4238/gmr16029601>

OLIVEIRA, Francisco de A. de *et al.* Manejos da fertirrigação e doses de N e K no cultivo de pimentão em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 17, n. 11, p. 1152–1159, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1415-43662013001100004>

OLIVEIRA, Francisco A. *et al.* Nutrição mineral do pimentão submetido a diferentes manejos de fertirrigação. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 216–223, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-053620150000200013>

PARISI, Mario; ALIOTO, Daniela; TRIPODI, Pasquale. Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): Sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21072587>

PARK, Semin *et al.* Determination of polyphenol levels variation in *Capsicum annuum* L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 130, n. 4, p. 981–985, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.026>

PEDROSO, Caroline *et al.* Managing sweet pepper anthracnose by choice of planting season, organic soil mulch, fungicide and moderate nitrogen fertilization. **Phytoparasitica**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 525–533, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s12600-020-00819-2>

PERRY, Linda *et al.* Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. **Science**, [s. l.], v. 315, n. 5814, p. 986–988, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1136914>

PHANSAWAN, Buran *et al.* A sensitive method for determination of carbendazim residue in vegetable samples using HPLC-UV and its application in health risk assessment. **Chiang Mai Journal of Science**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 681–690, 2015.

PINHEIRO, Jadir Borges; AMARO, Geovani Bernardo; PEREIRA, Ricardo Borges. Nematoides em pimentas do gênero *Capsicum*. **Circular Técnica Embrapa**, [s. l.], p. 9, 2012.

PRABHU, A. S. *et al.* Phosphorus and plant disease. *In*: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (org.). **Mineral Nutrition and Plant Disease**. 1. ed. St. Paul, MN, USA: American Phytopathological Society:, 2007. p. 45–55.

RASHID, Md. Mamunur *et al.* Eco-Friendly Management of Chilli Anthracnose (*Colletotrichum capsici*). **International Journal of Plant Pathology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–11, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3923/ijpp.2015.1.11>

REDDY, Y.N. Priya; JAKHAR, S.S.; DAHIYA, O.S. Management of Fruit Rot of Chilli caused by *Colletotrichum capsici*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 8, n. 05, p. 523–538, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.805.062>

RIBEIRO, Cláudia; REIFSCHNEIDER, Francisco; CARVALHO, Sabrina. Embrapa 's Capsicum Breeding Program — Looking back ... into the Future. [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1–26, 2020.

RODRIGUES, P. Pimenta: de todos os sabores e gostos. **A Lavoura**, [s. l.], v. 119, n. 716, p. 8–25, 2016.

ROY, S.S.; KHAN M.S.I.; PALL, K.K. Nitrogen and Phosphorus Efficiency on the Fruit Size and Yield of *Capsicum*. **Journal of Experimental Sciences**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 32–37, 2011. Disponível em:

<http://scienceflora.org/journals/index.php/jes/article/view/1786/1769>

RUFINO, J. L. dos S; PENTEADO, D.C.S. Importância econômica, perspectivas e

potencialidades do mercado para a pimenta. **Informe Agropecuário**, [s. l.], v. 27, n. 235, p. 7–15, 2006.

SANTOS, Raoni Peruch Lemos dos *et al.* Manutenção da qualidade pós-colheita de pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) armazenadas sob atmosfera modificada e refrigeração. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 241–248, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v7n1.santos>

SAXENA, Amrita *et al.* Chilli anthracnose: The epidemiology and management. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 7, n. SEP, p. 1–18, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01527>

SHARMA, Gunjan; SHENOY, Belle Damodara. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, [s. l.], v. 47, n. 10, p. 1179–1194, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.833749>

SHARMA, PN *et al.* Morphological, pathological and molecular variability in *Colletotrichum capsici*, the cause of fruit rot of chillies in the subtropical region of north-western India. **Journal of Phytopathology**, [s. l.], v. 153, p. 232–237, 2005. Disponível em: <https://doi.org/DOI10.1111/j.1439-0434.2005.00959.x>

SILVA, Alessandro Machado da *et al.* Diversidade morfológica, genética e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. associados à pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.). **Revista Agraria Academica**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 39–51, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.32406/v1n42018/39-51/agrariacad>

SILVA FILHO, Danilo Fernandes *et al.* Seleção de etnovarietades de pimenta murupi (*Capsicum chinense* Jacq.) originárias da região do alto rio Negro no estado do Amazonas. [s. l.], v. 30, n. 2, p. 4379–4385, 2012.

SILVA, JANAINÉ *et al.* Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 315–319, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0151-7>

SILVA, Janaíne R.A. *et al.* Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 315–319, 2017. Disponível

em: <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0151-7>

SMITH, Paul G.; CHARLES, B. Heiser. Taxonomy of *Capsicum chinense* Jacq. and the geographic distribution of the cultivated *Capsicum* species. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, [s. l.], v. 84, n. 6, p. 413–420, 1957. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2482971>

SOUZA, Leonor Cristina Silva *et al.* Screening of chilli pepper genotypes against anthracnose (*Colletotrichum brevisporum*). **Emirates Journal of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 31, n. 12, p. 919–929, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i12.2039>

SPAGNOLETTI, Federico N. *et al.* Phosphorus fertilization reduces the severity of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) and the arbuscular mycorrhizal protection in soybean. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, [s. l.], v. 181, n. 6, p. 855–860, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jpln.201700569>

SPANN, Timothy M.; SCHUMANN, Arnold W. Mineral Nutrition Contributes to Plant Disease and Pest Resistance. **Edis**, [s. l.], v. 2010, n. 4, p. 1–5, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.32473/edis-hs1181-2010>

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal .pdf**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. ISSN 978-85-8271-367-9. *E-book*.

TAYLOR, PWJ; FORD, R. Diagnostics, genetic diversity and pathogenic variation of ascochyta blight of cool season food and feed legumes. **European Journal of Plant Pathology**, [s. l.], v. 119, p. 127–133, 2007.

THAN, P. P. *et al.* Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. **Plant Pathology**, [s. l.], v. 57, n. 3, p. 562–572, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01782.x>

THILINI CHETHANA, K. W. *et al.* Diversity and function of appressoria. **Pathogens**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 3–6, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens10060746>

TOFOLI, Jesus G.; DOMINGUES, Ricardo Jose; FERRARI, Josiane takassaki. Anthracnose in Solanaceous: Etiology, Characteristics and control. **Biológico**, [s. l.],

v. 77, n. 1, p. 73–79, 2015.

TOZZE JÚNIOR, Hugo J.; MELLO, Margarita B. A.; MASSOLA JÚNIOR, Nelson S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 71–79, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-54052006000100011>

TWARDOWAKI, T. Chances, perspectives and perigos of GMO in Agriculture. **J. Fruit Ornam. Plant Res**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 63–69, 2010.

VANDERMEER, John; PERFECTO, Ivette; PHILPOTT, Stacy. Ecological complexity and pest control in organic coffee production: Uncovering an autonomous ecosystem service. **BioScience**, [s. l.], v. 60, n. 7, p. 527–537, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1525/bio.2010.60.7.8>

VOORRIPS, Roeland E. *et al.* QTL mapping of anthracnose (*Colletotrichum* spp.) resistance in a cross between *Capsicum annuum* and *C. chinense*. **Theoretical and Applied Genetics**, [s. l.], v. 109, n. 6, p. 1275–1282, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1738-1>

WALTERS, D. R.; BINGHAM, I. J. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: Implications for plant disease control. **Annals of Applied Biology**, [s. l.], v. 151, n. 3, p. 307–324, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2007.00176.x>

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 73, p. 115–180, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3114/sim0011>

CAPÍTULO 1

Barbosa, R.D.; Bentes, J.L.S. Ferreira, A.F.T.A.F. 2023. Análise morfométrica, patogênica e molecular de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose da pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) Brazilian Journal of Microbiology, p.39 -78.

ANÁLISE MORFOMÉTRICA, PATOGÊNICA E MOLECULAR DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE DA PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)

Roneres Deniz Barbosa¹; Jânia Lília da Silva Bentes Lima²; Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira³

¹Doutorando PPG-ATR. Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, cep 69.080-900, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: roneresbarbosa@gmail.com

^{2,3}Docente. Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias FCA, cep 69.080-900, Manaus, Amazonas, Brasil.

RESUMO

A antracnose, causada por espécies de *Colletotrichum*, representa uma das principais ameaças para as plantas do gênero *Capsicum*, podendo resultar em perdas de 100% na produção de frutos. Um desafio significativo para implementar estratégias eficazes de manejo é a precisa identificação do patógeno. Este estudo teve como objetivo caracterizar, morfológica e molecularmente, isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro, com sintomas de antracnose. Adicionalmente, buscou-se avaliar a capacidade patogênica desses isolados por meio da inoculação em frutos de pimenta-de-cheiro. Foram obtidos 48 isolados de *Colletotrichum* a partir de frutos sintomáticos. A caracterização morfolométrica envolveu análises da coloração das colônias e a determinação do Índice de Crescimento Micelial (ICM). As dimensões de conídios e apressórios foram medidas por meio de imagens adquiridas com uma câmera digital acoplada a um microscópio óptico Zeiss, utilizando o software ZEN (Zeiss®). A avaliação da virulência em frutos destacados foi conduzida ao longo de um período de 10 dias após a inoculação, com medições diárias do diâmetro ortogonal da colônia. Uma filogenia multi-locus foi estabelecida com base nas sequências da região do espaçador transcrito interno ribossômico nuclear (ITS) e nos genes β -tubulina (TUB2), actina (ACT) e GAPDH. Os isolados foram agrupados morfológicamente em dois grupos distintos com base nas características das colônias, coloração e formato de conídios e apressórios. O grupo 1 incluiu 45 isolados que se assemelham ao complexo *C. acutatum*, enquanto o grupo 2 incluiu 3 isolados relacionados ao complexo *C. gloeosporioides*. A análise molecular, com base em sequências parciais dos genes, confirmou a segregação dos isolados em dois complexos distintos: *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*. Os isolados do grupo 1 foram identificados como *C. scovillei*, enquanto os do grupo 2 foram identificados como *C. siamense*. No teste de virulência, todos os isolados demonstraram capacidade de causar sintomas típicos de antracnose nos frutos de pimenta-de-cheiro. A predominância da espécie *C. scovillei* sugere sua relevância como agente causal da antracnose nesta região.

Palavras-chave: Patogenicidade, *Capsicum* spp.; identificação morfomolecular.

**MORPHOCULTURAL, PATHOGENIC, AND MOLECULAR ANALYSIS OF
Colletotrichum spp. ASSOCIATED WITH ANTHRACNOSE OF CHILLI PEPPER
(*Capsicum chinense*)**

ABSTRACT

Anthracnose, caused by *Colletotrichum* species, represents a major threat to plants of the *Capsicum* genus, potentially resulting in production losses of up to 100%. A significant challenge for implementing effective management strategies is the accurate identification of the pathogen. This study aimed to morphologically and molecularly characterize isolates of *Colletotrichum* spp. obtained from chilli pepper fruits exhibiting anthracnose symptoms. Additionally, the pathogenic capacity of these isolates was evaluated through inoculation on chilli pepper fruits. Forty-eight isolates of *Colletotrichum* were obtained from symptomatic fruits. Morphocultural characterization involved analyses of colony color and determination of the Mycelial Growth Index (MGI). Conidia and appressorium dimensions were measured using images acquired with a digital camera attached to a Zeiss optical microscope, utilizing ZEN software (Zeiss®). Virulence assessment on detached fruits was conducted over a 10-day period post-inoculation, with daily measurements of the orthogonal colony diameter. A multi-locus phylogeny was established based on sequences of the internal transcribed spacer ribosomal nuclear region (ITS) and the genes β -tubulin (TUB2), actin (ACT), and GAPDH. Morphologically, isolates were grouped into two distinct groups based on colony characteristics, color, conidial, and appressorium morphology. Group 1 included 45 isolates resembling the *C. acutatum* complex, while Group 2 included 3 isolates related to the *C. gloeosporioides* complex. Molecular analysis, based on partial gene sequences, confirmed the segregation of isolates into two distinct complexes: *C. acutatum* and *C. gloeosporioides*. Group 1 isolates were identified as *C. scovillei*, while Group 2 isolates were identified as *C. siamense*. In the virulence test, all isolates demonstrated the ability to cause typical anthracnose symptoms on chilli pepper fruits. The predominance of the species *C. scovillei* suggests its relevance as the causal agent of anthracnose in this region.

Keywords: Pathogenicity, *Capsicum* spp.; morphomolecular identification.

INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum* spp. (Solanaceae), originário das Américas [1] engloba espécies com alto valor econômico, como as pimentas [2], representadas em mais de 30 espécies e diversas variedades botânicas [3]. Destas, cinco são consideradas domesticadas: *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense* e *Capsicum pubescens* [3]. O Brasil, destacado como um dos principais centros de diversidade deste gênero, abriga mais da metade das espécies domesticadas e silvestres [4, 5].

O cultivo de pimentas é difundido em todas as regiões do Brasil. No entanto, devido a predominância da comercialização realizada por pequenos produtores em feiras locais e regionais, existem dificuldades na obtenção de dados estatísticos precisos acerca da área cultivada, produção e comercialização [6]. Ainda assim, é estimado que a área destinada ao cultivo de espécies do gênero *Capsicum* no país alcance cerca de 5.000 hectares, gerando uma produção anual de aproximadamente 75.000 toneladas, com o Sudeste e Centro-Oeste se destacando como as principais regiões produtoras [7].

Na Região Norte do Brasil, as pimentas são comercializadas in natura ou são utilizadas na produção de produtos artesanais como a jiquitaia, o arubé, o cumaxi e a damorida [8]. Esta região, por sua vez, destaca-se naturalmente como um importante centro de diversidade das espécies desse gênero, particularmente da espécie *Capsicum chinense* Jacq. [9].

A pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) é uma das espécies mais cultivadas [10] e desempenha um papel crucial como fonte significativa de renda para a agricultura familiar [11]. A valorização dos frutos, em virtude de seu aroma característico, impulsiona essa modalidade de produção, encontrando aplicação nos setores alimentício, farmacêutico e cosmético [12, 13]. A crescente demanda de mercado tem estimulado o aumento da área cultivada e o estabelecimento de agroindústrias, competindo tanto na exportação da pimenta fresca quanto na produção de subprodutos [14].

Apesar dessa tendência favorável, um dos grandes problemas associado ao cultivo das pimenteiras é a antracnose, doença causada por *Colletotrichum* spp. [15, 16, 2]. A doença afeta todos os órgãos da planta e incide principalmente nos frutos, em qualquer estágio de maturação, causando lesões deprimidas, de formato circular,

de coloração escura, quase sempre recobertas por uma massa de conídios de coloração rosada a alaranjada [17, 18].

O gênero *Colletotrichum* é considerado um dos mais importantes entre os fungos fitopatogênicos do mundo [19]. A maioria das espécies de *Colletotrichum* são transmitidas por sementes e podem sobreviver no solo ou em restos de culturas infectadas. Os conídios podem ser dispersos por respingos de água, enquanto a transmissão de ascósporos pode ocorrer pelo ar. A penetração do patógeno na célula vegetal ocorre pela formação de estruturas como apressório, e uma vez que o patógeno penetra na planta hospedeira, o estabelecimento do fungo no tecido vegetal é auxiliado pela secreção de proteínas efectoras, e pela formação de hifas intracelulares e hifas necrotróficas secundárias [20, 21].

A propagação do fungo é favorecida por condições de temperatura que variam de 22 a 30 °C, alta umidade e pela presença de ferimentos em órgãos suculentos da planta [22, 18]. Nestas condições, a doença é extremamente destrutiva, podendo ocasionar perdas de 100% na produção [23]. Por ser uma doença que afeta diretamente os frutos, depreciando-os e reduzindo o seu valor comercial, a antracnose é considerada de grande importância [24].

No estado do Amazonas, as estratégias de controle da antracnose envolvem o cultivo em áreas sem o histórico da doença, rotação de culturas, eliminação de frutos com sintomas e a correta adubação nitrogenada [25]. Entretanto, a ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando o mesmo hospedeiro dificulta o controle, devido ao comportamento diferenciado entre espécies [26]. Para o manejo eficaz da doença, a identificação precisa das espécies de *Colletotrichum* é essencial.

A identificação das espécies de *Colletotrichum* era tradicionalmente fundamentada em características morfológicas e culturais [27]. Porém, as características morfológicas são limitadas devido às grandes variações intra específicas, sendo também fortemente influenciadas por condições ambientais, o que compromete a confiabilidade dos dados. Assim, análises moleculares e bioensaios de patogenicidade são agora protocolos padrão para identificar espécies de *Colletotrichum* [28].

As primeiras aplicações moleculares para distinguir espécies de *Colletotrichum* foram baseadas nas sequências do gene ITS (rDNA) em 1992 [29]. Desde então, sugere-se o desenvolvimento de análises filogenéticas multilocus para identificação de táxons, baseadas em sequências conservadas. As sequências

genéticas atualmente utilizadas para a identificação de espécies de *Colletotrichum* incluem: sequências espaçadoras de rDNA (ITS), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), proteína semelhante à actina (ACT), β -tubulina (β -TUB), glutamina sintetase (GS), calmodulina (CAL), entre outras [30].

Essa identificação é fundamental para entender a relação patógeno-hospedeiro, realizar a correta diagnose da doença e desenvolver as melhores estratégias de manejo [31]. O objetivo deste trabalho foi identificar espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em pimenta-de-cheiro, com base em análise filogenética e caracterização morfométrica e avaliar a virulência de isolados de *Colletotrichum* spp. em frutos de pimenta-de-cheiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de frutos

Frutos apresentando sintomas característicos de antracnose, foram coletados em áreas de cultivo, localizadas nos municípios de Presidente Figueiredo, Iranduba, Manacapuru, Careiro e Humaitá, no estado do Amazonas (Figura 1).

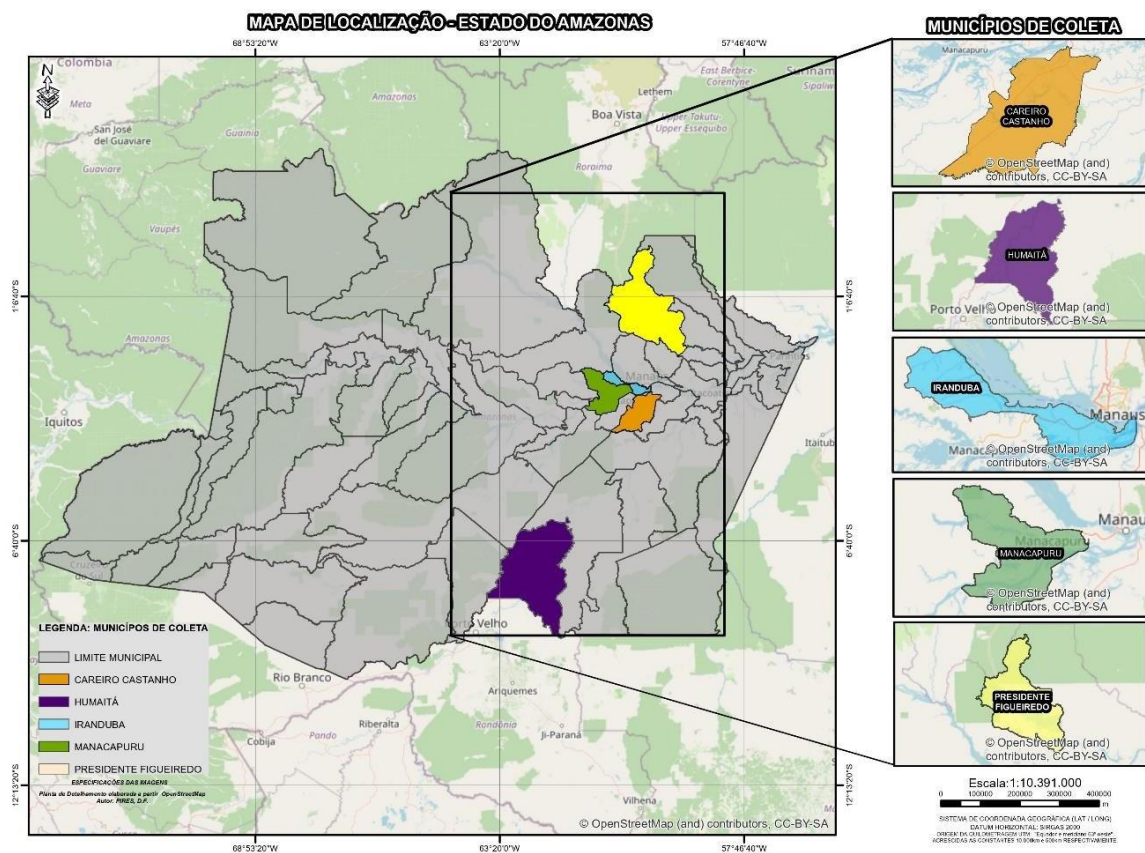


Figura 1. Mapa da localização geográfica dos municípios onde foram coletados frutos com sintomas da antracnose no estado do Amazonas.

As áreas de coleta, com suas respectivas coordenadas, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Identificação e procedência dos isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) no Amazonas

Identificação	Procedências	Coordenadas	Ano da coleta
PFP-1	Presidente Figueiredo	1°54'50.9"S 60°01'58.9"W	2020
PFP-2	Presidente Figueiredo	1°54'50.9"S 60°01'58.9"W	2020
PFP-3	Presidente Figueiredo	1°37'05.4"S 60°17'00.3"W	2021
PFP-4	Presidente Figueiredo	1°37'05.4"S 60°17'00.3"W	2021
PFP-5	Presidente Figueiredo	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
PFP-25	Presidente Figueiredo	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
PFP-26	Presidente Figueiredo	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
PFP-28	Presidente Figueiredo	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
PFP-30	Presidente Figueiredo	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
PFP-31	Presidente Figueiredo	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
IRP-36	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J1	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J2	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J3	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J4	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J5	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J6	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J7	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
IRP-J10	Irاندوبا	3°14'30.1"S 60°14'34.1"W	2021
HMP-H1	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H2	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H3	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H4	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H5	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H6	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H7	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H8	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H9	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H10	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
HMP-H11	Humaitá	7°31'12.3"S 63°01'08.8"W	2021
CRP-6	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-7	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-8	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-9	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-10	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-12	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-14	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-20	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-22	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021

CRP-15	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
CRP-16	Careiro	3°49'23.2"S 60°21'51.9"W	2021
MNP-32	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
MNP-33	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
MNP-34	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
MNP-35	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
MNP-37	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
MNP-38	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021
MNP-40	Manacapuru	3°15'45.1"S 60°39'05.9"W	2021

Obtenção dos isolados de *Colletotrichum*

Após a coleta, os frutos foram lavados em água destilada esterilizada. Para o isolamento do fungo, foram retirados fragmentos (7 mm) da região de transição entre a área sadia e lesionada. Estes fragmentos foram desinfestados em álcool 70% por 1 minuto, seguido por imersão em solução de hipoclorito de sódio 1,5% por 1 minuto e, finalmente, tríplice lavagem em água destilada autoclavada [32]. Os fragmentos desinfestados foram dispostos em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar-Água (AA) e incubados a ± 25 °C até o surgimento das primeiras estruturas fúngicas.

As hifas crescidas foram repicadas para placas contendo meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a ± 25 °C durante 7 dias. Colônias de esporos únicos [33] foram obtidas para cada isolado de *Colletotrichum*, totalizando 48 isolados. Esses foram preservados em tubos contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) inclinado e pelo método Castellani [34].

Os isolados foram depositados na coleção de fungos do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal do Amazonas.

Análise morfométrica das colônias

Para a avaliação da cor e índice de crescimento micelial (ICM) das colônias, discos (5 mm de diâmetro) monospóricos dos isolados foram transferidos para placas de Petri (90 mm) contendo meio BDA e incubadas em ambiente de laboratório (25 ± 2). A avaliação do ICM foi realizada diariamente por meio da mensuração do diâmetro ortogonal da colônia, até que um dos tratamentos atingisse a borda da placa. O ICM foi calculado como descrito por Peres et al. [35]. Após a coleta dos dados do ICM, procedeu-se a caracterização da coloração da colônia no verso e reverso da placa, utilizando o sistema de notação de cores da Munsell Color Company [36].

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 48 tratamentos (isolados) e quatro repetições (placas). Os dados da avaliação do crescimento micelial foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando o software estatístico Rstudio, com o pacote Agricolae.

Análise morfométrica de conídios e apressórios

Para a caracterização morfométrica de conídios e apressórios, uma alíquota de 10 μL de uma suspensão de esporos (10^5 conídios. mL^{-1}), preparada a partir das colônias monospóricas de cada isolado, foi espalhada em lâminas de microscopia esterilizadas, cobertas com uma camada de papel celofane transparente. As lâminas foram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel de filtro esterilizado, umedecido com água destilada e autoclavada. Após 24 horas, a germinação dos conídios foi interrompida pela adição do corante lactofenol contendo azul de algodão 1%. Os conídios e apressórios foram observados em microscópio óptico Zeiss, sob objetiva de 40 vezes.

Para cada isolado, o comprimento e a largura de 30 conídios e 30 apressórios foram mensurados, usando o software ZEN lite. As imagens foram capturadas através de sistema de vídeo-câmera acoplado ao microscópio óptico (Zeiss). O tamanho e formato de conídios e apressórios observados foram comparados com as descrições das espécies de *Colletotrichum* [37].

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, compreendendo 48 tratamentos (isolados) e 30 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p \leq 0.05$), utilizando o software estatístico Rstudio, com o pacote Agricolae.

Extração de DNA

O DNA foi obtido de acordo com o protocolo descrito por DOYLE, DOYLE [38], a partir de culturas monospóricas cultivadas a 28 ± 2 °C durante 7 dias em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. O micélio de cada isolado foi cuidadosamente removido da superfície da colônia com o auxílio de uma espátula estéril, posteriormente macerado com nitrogênio líquido e homogeneizado com detergente CTAB (brometo de cetil-trimetilamônio). A mistura resultante foi incubada a 65 °C por

30 minutos, e após o resfriamento em condição de laboratório, o DNA foi extraído utilizando clorofórmio e álcool isoamílico (24:1 v:v), precipitado com isopropanol, e submetido a lavagem com etanol 75%. A ressuspensão foi realizada utilizando água ultrapura (30 µL).

A concentração e a qualidade dos DNAs extraídos foram avaliados utilizando um espectrofotômetro (Nanodrop® 2000c), por meio da razão A260nm/A280nm, e por eletroforese [33] em gel de agarose (0,8%), utilizando um marcador de 10 ng como referência. A concentração final dos DNAs foi ajustada para 10 µg/µl e, em seguida, os mesmos foram armazenados em freezer -20 °C para uso futuro.

Amplificação por PCR e sequenciamento

A reação em cadeia de polimerase (PCR) foi empregada para amplificação da região genômica parcial da actina (ACT), ITS, β-Tubulina (TUB) e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) [39, 40]. Para cada gene, foram utilizados primers específicos: ACT-512F e ACT-783R para ACT, GDF e GDR para GAPDH, ITS1F e ITS4 para ITS, e BT2Fd e BT4R para β-Tubulina. As amplificações foram realizadas para um volume final de 12 µl, contendo 1 µl de DNA, 0,5 µl de cada primer, 2,4 µl de tampão incolor Go Taq® Flexi (5X), 0,8 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,5 µl de dNTPs (10 mM), 0,12 µl da enzima Go Taq® DNA polimerase (Promega) e 6,18 µl de água ultrapura. As condições de PCR para ITS foram 4 min a 95 °C, depois 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 52 °C por 30 s, 72 °C por 45 s e depois 7 min a 72 °C. As temperaturas de anelamento diferiram para os demais genes, sendo ótimas para cada um; ACT: 58 °C, GAPDH: 60 °C e TUB: 55 °C [40].

A reação de PCR foi realizada em termociclador Byosystem. Os amplicons gerados foram analisados em gel de agarose a 1%, corados com Gel Red™ (Biotium), usando um marcador molecular de 100 pares de base (Sinapse Biotecnologia). Os produtos de PCR foram purificados com polietilenoglicol (PEG 20%), conforme o método descrito por Dun e Blattner [41]. Posteriormente foi realizada a reação de sequenciamento utilizando o kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing, em um volume final de 10 µl. Os produtos da PCR foram precipitados com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e etanol (EtOH) e ressuspensos em 10 µL de formamida Hi-Di. A leitura dos produtos que foram obtidos nas reações de sequenciamento foi efetuada utilizando o sequenciador automático ABI 3130, da Applied Biosystems, seguindo as instruções do fabricante.

Análise filogenética

Os eletroferogramas gerados a partir do sequenciamento foram submetidos à análise e edição por meio do programa SeqAssem®. As sequências resultantes foram alinhadas utilizando o algoritmo Muscle [42], incorporado no software MEGA7 [43]. Os alinhamentos concatenados (ACT, ITS, β -TUB e GAPDH) foram obtidos com a utilização do Sequence Matrix versão 1.7.8 [43].

As sequências editadas foram comparadas com a base de dados GenBank, do National Center for Biotechnological Information- NCBI, por meio da ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), permitindo a identificação de homologias com sequências previamente caracterizadas.

As análises filogenéticas dos complexos de espécies *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* foram conduzidas separadamente. No complexo *C. acutatum*, a espécie *C. orchidophilum* (CBS 631.80) foi selecionada como grupo externo nas análises filogenéticas. Já no complexo *C. gloeosporioides*, os grupos externos foram formados por *C. boninense* (MAFF 305972) e *C. hippeastri* (CBS 241.78).

Para as filogenias de máxima verosimilhança (ML), empregou-se a versão 8.2.12 do RAxML[44], com parâmetros configurados para análise rápida de bootstrap (1000 bootstraps). As análises de inferência bayesiana (IB) foram conduzidas por meio do MrBayes 3.2.[45]. A visualização e edição das árvores filogenéticas foram realizadas com as ferramentas do software FigTree versão 1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/>) e Inkscape versão 1.0.1 (<https://inkscape.org/>).

Virulência dos isolados de *Colletotrichum* spp.

O teste de virulência dos isolados foi conduzido em frutos de pimenta-de-cheiro sadios, na fase inicial de maturação, caracterizada pelo início da mudança de coloração do fruto. Os frutos foram previamente desinfetados com álcool 70% (1 minuto) e hipoclorito de sódio 1,5% v/v (1 minuto), seguido pela tríplice lavagem em água destilada autoclavada e secos em papel de filtro.

Os frutos foram depositados em recipientes descartáveis de plástico transparente, medindo 24x16x4 cm, forrados com papel de filtro umedecido com água destilada esterilizada. A inoculação foi realizada pela deposição de 3 discos miceliais de 5mm mm de diâmetro, extraídos das margens de culturas cultivadas durante sete em meio BDA, mediante fermento dos frutos, realizado com lâmina de bisturi.

Para avaliar a virulência dos isolados, o diâmetro médio das lesões (DML) nos frutos foram medidas diariamente, até o décimo dia após a inoculação. A severidade da doença foi avaliada usando uma escala proposta por RO *et al.* [46], com seis notas de classificação, sendo 0 = nenhum sintoma visível observado; 1 = sintomas de tamanho inferior a 2 mm; 2 = sintomas de tamanho inferior a 4 mm; 3 = sintomas de tamanho menor que 6 mm; 4 = sintomas de tamanho inferior a 10 mm; 5 = mais de 10 mm. Posteriormente, as notas foram convertidas para porcentagem.

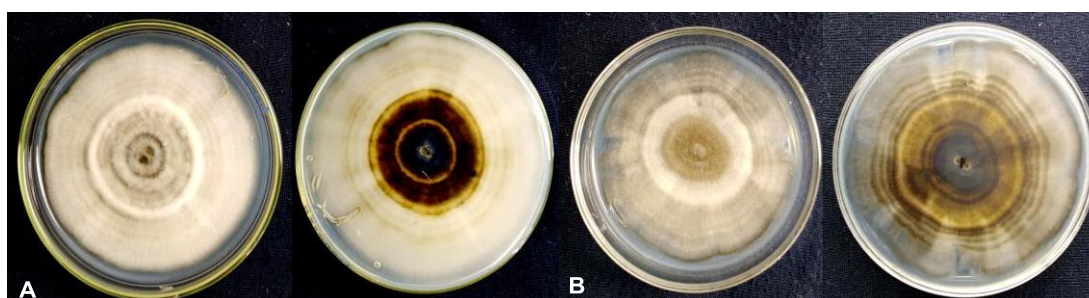
O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 48 tratamentos (isolados) mais a testemunha (frutos inoculados com disco de BDA) e 6 repetições (frutos). Os dados de diâmetro médio das lesões obtidos para cada tratamento foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com significância de 5% ($p \leq 0.05$), utilizando o programa Rstudio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise morfométrica

Os 48 isolados de *Colletotrichum* spp. analisados foram categorizados em dois grupos morfológicos com base na morfologia das colônias e nos formatos de conídios e apressórios. O grupo 1 incluiu 45 isolados que se ajustam à descrição do complexo *C. acutatum*, e o grupo 2 incluiu 3 isolados que se enquadram na descrição do complexo *C. gloeosporioides*, de acordo com as descrições de Sutton [37].

Os isolados pertencentes ao grupo 1 produziram colônias cinzas, cinzentas, cinzento-escuras, cinzento-claras e rosa salmão (Figura 2). Ao se observar o reverso da placa, foi possível identificar tonalidades como cinzento-esverdeado, marrom escuro e marrom-esverdeado-claro.



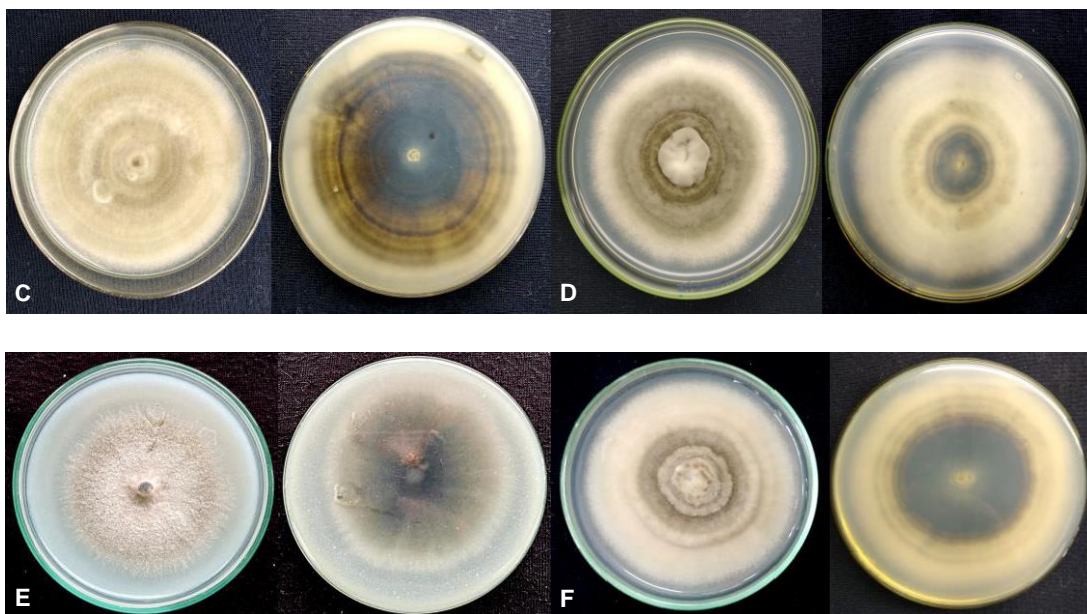


Figura 2. Coloração das colônias no verso e reverso das placas de isolados de *Colletotrichum* spp. pertencentes ao grupo 1. (A) HMP-H1; (B) HMP-H9; (C) CRP-16; (D) MNP-33; (E) PFP-2 e (F) PFP-4

Os isolados pertencentes ao grupo 2 produziram colônias brancas, com micélio aéreo branco e o reverso amarelo-claro e alaranjado (Figura 3). Na descrição das espécies de *Colletotrichum*, Sutton [35] destaca que essa diversidade na coloração das colônias sugere uma variabilidade significativa nas características fenotípicas, indicando a possível existência de diferentes espécies.

O isolado IRP-J3 (Figura 3C), do grupo 2, apresentou uma característica distintiva no verso da colônia, revelando uma tonalidade alaranjada em razão da produção de conídios do fungo nesta área.

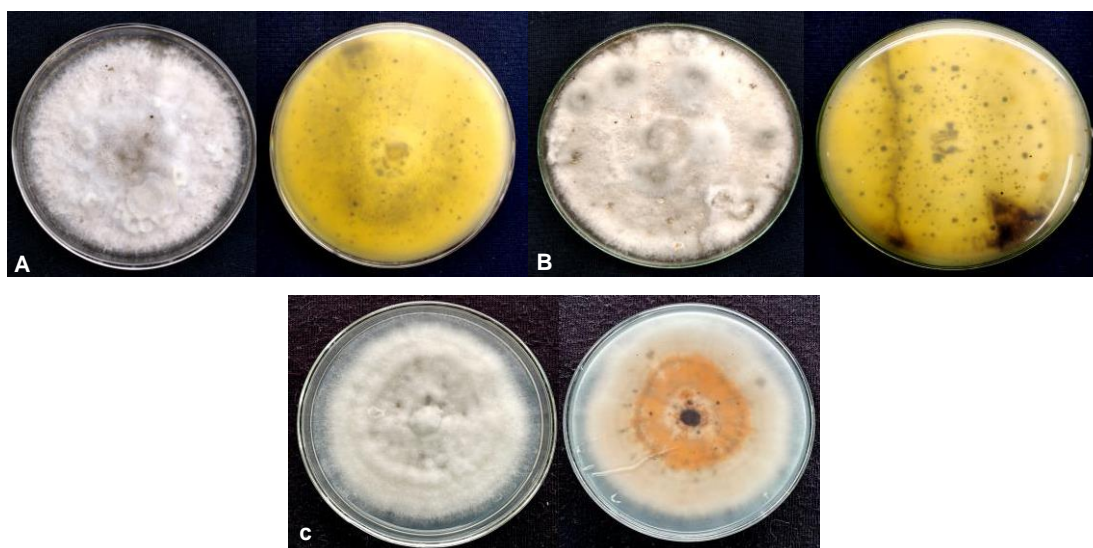


Figura 3. Coloração das colônias no verso e reverso das placas de isolados de *Colletotrichum* spp. pertencentes ao grupo 2. (A) IRP-J1 e (B) IRP-J2 e (C) IRP-J3

O índice de crescimento micelial (ICM) variou entre 13,60 mm/dia (PFP-4) a 19,68 mm/dia (PFP-1), conforme apresentado na Tabela 2, evidenciando diferenças significativas quanto ao desenvolvimento das colônias.

Tabela 2. Coloração da colônia e índice de crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*)

Isolados	Verso da placa	Cor da colônia		¹ ICM (mm/dia)
		Reverso da placa		
PFP-1	Cinzento	Amarelo-claro-acinzentado		19,68 a
PFP-2	Cinzento	Cinzento-esverdeado		15,78 c
PFP-3	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro		13,97 d
PFP-4	Cinzento-escuro	Marrom escuro		13,60 d
PFP-5	Cinzento-oliváceo	Cinzento-esverdeado-claro		16,80 b
PFP-25	Branco	Alaranjado		19,22 a
PFP-26	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro		19,30 a
PFP-28	Cinzento-claro	Cinzento-esverdeado-claro		16,80 b
PFP-30	Branco	Cinzento-esverdeado-claro		16,03 c
PFP-31	Cinzento-oliváceo	Amarelo-claro-acinzentado		15,92 c
IRP-J1	Branco	Amarelo-claro		13,99 d
IRP-J2	Branco	Amarelo-claro		13,85 d
IRP-J3	Branco	Alaranjado		13,69 d
IRP-J4	Cinzento-escuro	Amarelo-claro-acinzentado		15,46 c
IRP-J5	Cinzento-escuro	Cinzento-esverdeado-claro		13,28 d
IRP-J6	Rosa salmão	Marrom escuro		14,28 d
IRP-J7	Cinzento	Amarelo-claro-acinzentado		14,01 d
IRP-J10	Amarelo pálido	Marrom- acinzentado		19,32 a
HMP-H1	Rosa salmão	Marrom-esverdeado-claro		17,36 b
HMP-H2	Branco	Cinzento-esverdeado-claro		17,56 b
HMP-H3	Cinzento	Amarelo-claro-acinzentado		13,25 d
HMP-H4	Salmão claro	Marrom-esverdeado-claro		14,69 d
HMP-H5	Cinzento-escuro	Cinzento-claro		17,23 b
HMP-H6	Branco	Cinzento-esverdeado-claro		15,22 c
HMP-H7	Cinzento-claro	Cinzento-esverdeado-claro		16,10 b
HMP-H8	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro		15,65 c
HMP-H9	Cinzento-claro	Marrom-claro-acinzentado		14,07 d
HMP-H10	Branco	Cinzento-esverdeado-claro		19,65 a
HMP-H11	Cinzento-oliváceo	Cinzento-esverdeado-claro		19,42 a
CRP-6	Cinza	Cinzento-esverdeado-claro		18,74 b
CRP-7	Cinzento-claro	Cinzento-esverdeado-claro		15,89 c
CRP-8	Amarelo-claro-acinzentado	Marrom escuro		17,68 b
CRP-9	Cinzento	Cinzento-esverdeado		15,78 c
CRP-10	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro		13,97 d
CRP-12	Cinzento-escuro	Cinzento-claro		13,60 d
CRP-14	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro		16,80 b
CRP-20	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro		17,65 b

CRP-22	Cinzento	Cinzento-claro	16,54 b
CRP-15	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro	19,30 a
CRP-16	Rosa salmão	Cinzento-esverdeado-escuro	16,03 c
MNP-32	Branco	Cinzento-claro	13,74 d
MNP-33	Cinzento	Branco	13,92 d
MNP-34	Branco	Marrom-esverdeado-claro	16,55 b
MNP-35	Cinzento-escuro	Amarelo-claro-acinzentado	14,36 d
IRP-36	Cinzento	Cinzento-claro	14,36 d
MNP-37	Branco	Cinzento-esverdeado-claro	13,88 d
MNP-38	Cinzento	Cinzento-esverdeado-claro	14,54 d
MNP-40	Rosa salmão	Marrom-claro	13,69 d
V(%)			32,00

¹ Índice de crescimento micelial (ICM) dos isolados de *Colletotrichum* spp.

²C.V.% = Coeficiente de Variação

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade

Resultados semelhantes foram observados por Silva *et al.* [47], onde o ICM de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro variaram de 12,77 a 19,29 mm/dia.

O ICM, constitui uma medida quantitativa da capacidade do fungo se desenvolver sob condições específicas de cultivo [48]. Isolados pertencentes ao grupo 1, exemplificados por PFP-1 (19,68 mm/dia); PFP-25 (19,22 mm/dia); PFP-26 (19,30 mm/dia); IRP-J10 (19,32 mm/dia); HMP-H10 (19,65 mm/dia); HMP-H11 (19,42 mm/dia) e CRP-15 (19,30 mm/dia), exibem ICM significativamente superior em comparação aos demais, incluindo isolados do mesmo grupo morfológico. Por outro lado, isolados do grupo 2 (IRP-J1; IRP-J2 e IRP-J3) exibem índices mais baixos, com valores de 13,99 mm/dia, 13,85 mm/dia e 13,69 mm/dia, respectivamente.

Than *et al.* [27] destaca o ICM como uma ferramenta importante para distinguir espécies de *Colletotrichum*, especialmente *C. gloeosporioides*, *C. truncatum* e *C. acutatum*. De acordo com esses autores, a espécie *C. acutatum* é caracterizada por uma taxa de crescimento mais lenta, diferenciando-se de *C. gloeosporioides*.

Os resultados deste estudo indicam que, embora *C. acutatum* seja geralmente associado a uma taxa de crescimento mais lenta, foram encontradas variações significativas mesmo entre isolados pertencentes ao grupo morfológico 1, que se enquadram na descrição do complexo *C. acutatum*. Isso foi evidenciado com o isolado PFP-1(19,68 mm/dia) em comparação com o isolado PFP-4 (13,60mm/dia). Este último demonstrou similaridade estatística com os isolados do grupo 2.

Foram identificados dois tipos de conídios: cilíndrico (observado no grupo 2) e fusiforme (grupo 1). O formato fusiforme, com ambas as extremidades afiladas, foi o predominante, observado em 45 isolados (Figura 4A). Todos conídios produziram apressórios de coloração marrom escura, diferenciando-se em forma e tamanho, sendo identificados três formatos distintos (irregular, ovalado e circular) (Figura 4C, 4D e 4E).

Nos isolados do grupo 1, foram encontrados os três tipos de apressórios, enquanto no grupo 2, foram produzidos apenas apressórios ovalados (Tabela 4).

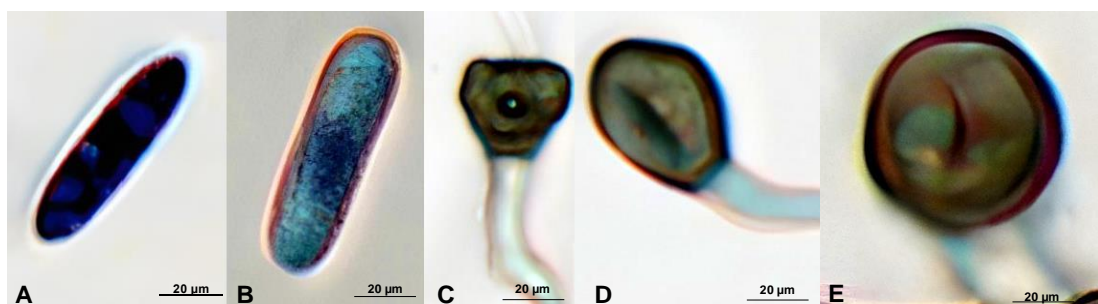


Figura 4. Formatos de conídios e apressórios identificados. (A) conídio fusiforme, (B) conídio cilíndrico, (C) apressório irregular, (D) apressório ovalado e (E) apressório circular.

A análise morfométrica dessas estruturas é fundamental, uma vez que desempenham papéis essenciais no ciclo de vida e patogenicidade de diversos fungos fitopatogênicos, incluindo *Colletotrichum* spp. [49]. Os apressórios, como exemplo, representam estruturas especializadas que desempenham um papel fundamental na penetração e colonização do hospedeiro. Estudos morfométricos dessas estruturas propiciam entendimento sobre sua variação em diferentes isolados [50].

As dimensões dos conídios e apressórios apresentaram variações significativas entre os isolados, com médias de comprimento variando entre 4,28 e 7,80 µm e largura de 1,74 a 2,63 µm para os conídios, enquanto para apressórios, as médias de comprimento situam entre 3,66 e 7,64 µm, e a largura variou de 2,04 a 3,70 µm (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Características morfométricas de conídios de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de *Capsicum chinense*

Isolados	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Formato	Relação C/L
PFP-1	6,58 c	2,21 b	Fusiforme	2,97
PFP-2	6,60 c	2,26 b	Fusiforme	2,92
PFP-3	6,17 d	2,10 c	Fusiforme	2,93
PFP-4	7,04 b	2,29 b	Fusiforme	3,07
PFP-5	6,17 d	2,11 c	Fusiforme	2,92
PFP-25	6,60 c	2,26 b	Fusiforme	2,92

PFP-26	5,58 e	1,77 d	Fusiforme	3,15
PFP-28	6,14 d	2,22 b	Fusiforme	2,76
PFP-30	5,59 e	2,09 c	Fusiforme	2,67
PFP-31	5,34 e	2,29 b	Fusiforme	2,33
IRP-J1	7,54 a	2,59 a	Cilíndrico	2,91
IRP-J2	7,66 a	2,63 a	Cilíndrico	2,91
IRP-J3	7,48 a	2,47 a	Cilíndrico	3,02
IRP-J4	7,18 b	2,26 b	Fusiforme	3,17
IRP-J5	7,20 b	2,48 a	Fusiforme	2,90
IRP-J6	7,15 b	2,22 b	Fusiforme	3,22
IRP-J7	7,45 a	2,51 a	Fusiforme	2,96
IRP-J10	7,64 a	2,58 a	Fusiforme	2,96
HMP-H1	5,53 e	2,11 c	Fusiforme	2,62
HMP-H2	5,30 e	2,07 c	Fusiforme	2,56
HMP-H3	5,45 e	1,75 d	Fusiforme	3,11
HMP-H4	5,10 e	2,06 c	Fusiforme	2,47
HMP-H5	5,03 e	2,07 c	Fusiforme	2,42
HMP-H6	4,39 f	1,78 d	Fusiforme	2,46
HMP-H7	5,11 e	2,07 c	Fusiforme	2,46
HMP-H8	4,28 f	2,10 c	Fusiforme	2,03
HMP-H9	4,56 f	1,76 d	Fusiforme	2,59
HMP-H10	5,33 e	2,21 b	Fusiforme	2,41
HMP-H11	4,31 f	1,74 d	Fusiforme	2,47
CRP-6	7,79 a	2,23 b	Fusiforme	3,49
CRP -7	5,59 e	2,08 c	Fusiforme	2,68
CRP-8	4,37 f	1,91 d	Fusiforme	2,28
CRP-9	6,17 d	2,22 b	Fusiforme	2,77
CRP-10	6,59 c	2,47 a	Fusiforme	2,66
CRP-12	5,59 e	1,90 d	Fusiforme	2,94
CRP-14	6,16 d	1,89 d	Fusiforme	3,25
CRP-20	6,14 d	1,75 d	Fusiforme	3,50
CRP-22	5,54 e	1,91 d	Fusiforme	2,90
CRP-15	6,30 d	2,08 c	Fusiforme	2,89
CRP-16	7,80 a	2,23 b	Fusiforme	3,49
MNP-32	6,59 c	2,58 a	Fusiforme	2,55
MNP-33	6,61 c	2,08 c	Fusiforme	3,17
MNP-34	6,60 c	2,10 c	Fusiforme	3,14
MNP-35	5,46 e	2,28 b	Fusiforme	2,39
MNP-36	5,44 e	2,10 c	Fusiforme	2,59
MNP-37	5,33 e	2,07 c	Fusiforme	2,57
MNP-38	5,48 e	2,10 c	Fusiforme	2,60
MNP -40	5,32 e	1,76 d	Fusiforme	3,02
V (%)	15,69	13,67		

¹C.V.% = Coeficiente de Variação

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Características morfométricas de apressórios de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de *Capsicum chinense*

Isolados	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Formato	Relação C/L
PFP-1	5,10 a	3,43 a	Ovalado	1,48
PFP-2	4,58 a	3,54 a	Circular	1,29
PFP-3	4,39 b	3,14 b	Irregular	1,39
PFP-4	4,87 a	3,55 a	Ovalado	1,37
PFP-5	4,67 a	3,11 b	Ovalado	1,50
PFP-25	3,80 c	3,09 b	Circular	1,22
PFP-26	4,49 a	3,60 a	Circular	1,24
PFP-28	3,66 c	2,76 c	Ovalado	1,32
PFP-30	4,35 b	3,55 a	Ovalado	1,22
PFP-31	4,12 b	3,08 b	Ovalado	1,33
IRP-J1	3,74 c	3,10 b	Ovalado	1,20
IRP-J2	4,35 b	2,65 c	Ovalado	1,64
IRP-J3	5,14 a	2,40 c	Ovalado	2,14
IRP-J4	5,19 a	3,55 a	Ovalado	1,46
IRP-J5	4,89 a	3,19 b	Ovalado	1,53
IRP-J6	4,01 c	2,04 c	Ovalado	1,96
IRP-J7	3,85 c	2,74 c	Ovalado	1,40
IRP-J10	4,52 a	3,01 b	Ovalado	1,50
HMP-H1	5,71 a	3,15 b	Circular	1,81
HMP-H2	5,10 a	3,64 a	Irregular	1,40
HMP-H3	4,66 a	3,59 a	Ovalado	1,29
HMP-H4	5,33 a	3,42 a	Circular	1,55
HMP-H5	4,35 b	3,10 b	Irregular	1,40
HMP-H6	5,52 a	3,65 a	Irregular	1,51
HMP-H7	4,56 a	3,40 a	Ovalado	1,34
HMP-H8	4,74 a	3,19 b	Ovalado	1,48
HMP-H9	4,36 b	3,62 c	Ovalado	1,20
HMP-H10	4,28 b	2,41 c	Circular	1,77
HMP-H11	4,20 b	3,09 b	Ovalado	1,35
CRP-6	5,64 a	3,65 a	Irregular	1,54
CRP -7	4,01 c	3,42 a	Irregular	1,17
CRP-8	5,44 a	3,59 a	Ovalado	1,51
CRP-9	4,81 a	3,55 a	Irregular	1,35
CRP-10	4,73 a	3,40 a	Circular	1,39
CRP-12	3,94 c	3,10 b	Circular	1,27
CRP-14	5,09 a	3,65 a	Circular	1,64
CRP-20	4,55 b	2,80 c	Ovalado	1,62
CRP-22	4,63 a	3,55 a	Irregular	1,30
CRP-15	4,69 a	3,61 a	Circular	1,22
CRP-16	4,61 a	3,69 a	Circular	1,24
MNP-32	4,96 a	3,56 a	Circular	1,39
MNP-33	4,51 a	3,65 a	Irregular	1,23
MNP-34	5,40 a	3,70 a	Ovalado	1,45

MNP-35	5,79 a	3,42 a	Circular	1,69
MNP-36	3,74 c	3,10 b	Circular	1,20
MNP-37	5,05 a	3,17 b	Circular	1,59
MNP-38	4,79 a	2,81 c	Circular	1,70
MNP -40	3,96 c	2,94 a	Irregular	1,34
V(%)	15,69	13,67		

¹C.V.% = Coeficiente de Variação

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a de 5% de probabilidade.

Embora o formato de conídios e apressórios tenha permitido agrupar os isolados em dois complexos de espécies, observou-se que as dimensões dessas estruturas são inferiores às especificadas por Sutton [37]. Enquanto *C. gloeosporioides* apresenta conídios com comprimento entre 12 a 17 μm e largura entre 3,5 a 6 μm , além de apressórios com comprimento variando de 6,0 a 20,0 μm e largura de 4,0 a 12 μm [37], as dimensões obtidas no presente estudo foram consideravelmente menores para esse complexo de espécies.

A considerável diversidade genética existente dentro das espécies de *Colletotrichum* pode ser responsável por tais variações morfométricas. Essa variabilidade genética, frequentemente expressa nas características morfológicas dos conídios e apressórios é um fator que dificulta a identificação das espécies [51]. Devido à complexidade da variabilidade morfológica, abordagens moleculares, como análises de sequências de DNA, são necessárias para uma identificação precisa e robusta das espécies [52].

Ao identificarem espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em pimentão (*C. annuum*), Liu et al. [53] constataram que as espécies *C. gloeosporioides* e *C. siamense* puderam ser distinguidos apenas por análises filogenéticas, não sendo possível pela avaliação morfológica.

Análise molecular e filogenética

Os resultados da análise molecular, com base nas sequências parciais dos genes ITS, ACT, GAPDH, β -TUB, juntamente com a análise filogenética, confirmaram que os 48 isolados de *Colletotrichum* provenientes de pimenta-de-cheiro pertencem a dois complexos distintos, conforme apontado pela análise morfológica. Os isolados do grupo 1 foram agrupados no complexo *Colletotrichum acutatum* e identificados como *C. scovillei* (Figura 5), e os isolados do grupo 2 foram agrupados no complexo *Colletotrichum gloeosporioides* e identificadas como *C. siamense* (Figura 6).

Esses resultados fornecem evidências de que, no patossistema: antracnose-pimenta-de-cheiro, o mesmo hospedeiro é frequentemente infectado por diferentes espécies de *Colletotrichum* [54].

As espécies *C. siamense* e *C. scovillei* têm sido frequentemente relacionadas com a antracnose em *Capsicum* spp. [55, 48, 56,57, 47, 28, 58]. No decorrer desta pesquisa, verificou-se que a espécie *C. scovillei* (grupo 1) foi prevalente e identificada em todos os municípios analisados. Essa espécie já foi registrada em *Capsicum*, na Tailândia [58], na Índia [59] e China [56, 60]. Por outro lado, *C. siamense* (grupo 2), também identificada no presente estudo, teve sua origem descrita em café na Tailândia, contudo, apresenta uma ampla variedade de hospedeiros em diversas regiões tropicais e subtropicais [61].

No nordeste do Brasil, Silva *et al.* [62] identificaram, por meio de análise morfológica e molecular, cinco espécies de *Colletotrichum* à antracnose em pimenta malagueta (*C. frutescens*) e pimentão (*C. annuum*), incluindo *C. scovillei* e *C. siamense*.

No estado do Amazonas, Oliveira *et al.* [63] foram os primeiros a relatar *siamense* e *C. scovillei* como agentes causadores da antracnose na pimenta-de-cheiro, além de mencionar a presença de uma terceira espécie, *C. brevisporum*, que não foi identificada em nosso estudo.

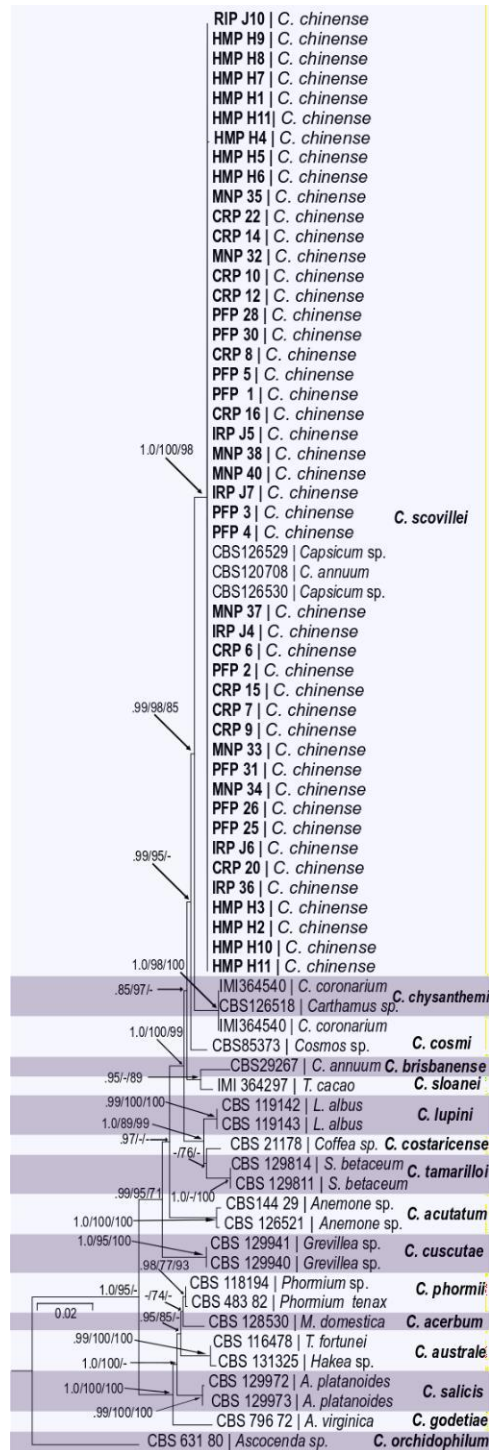


Figura 5. Árvore de máxima verossimilhança baseada nas seqüências concatenadas de ITS, ACT, GAPDH, β -TUB, mostrando a relações filogenéticas entre os isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose na pimenta-de-cheiro e espécies do complexo *acutatum*. Os valores de suporte de clado ≥ 0.90 de probabilidade posterior (inferência bayesiana) e $\geq 70\%$ de bootstrap (máxima verossimilhança/ máxima parcimônia) são indicados pelos nós. A árvore foi enraizada com uma seqüência de *Colletotrichum orchidophilum* (CBS 632.80). Os códigos das espécies são seguidos pelo hospedeiro. As seqüências deste estudo estão destacadas em negrito.

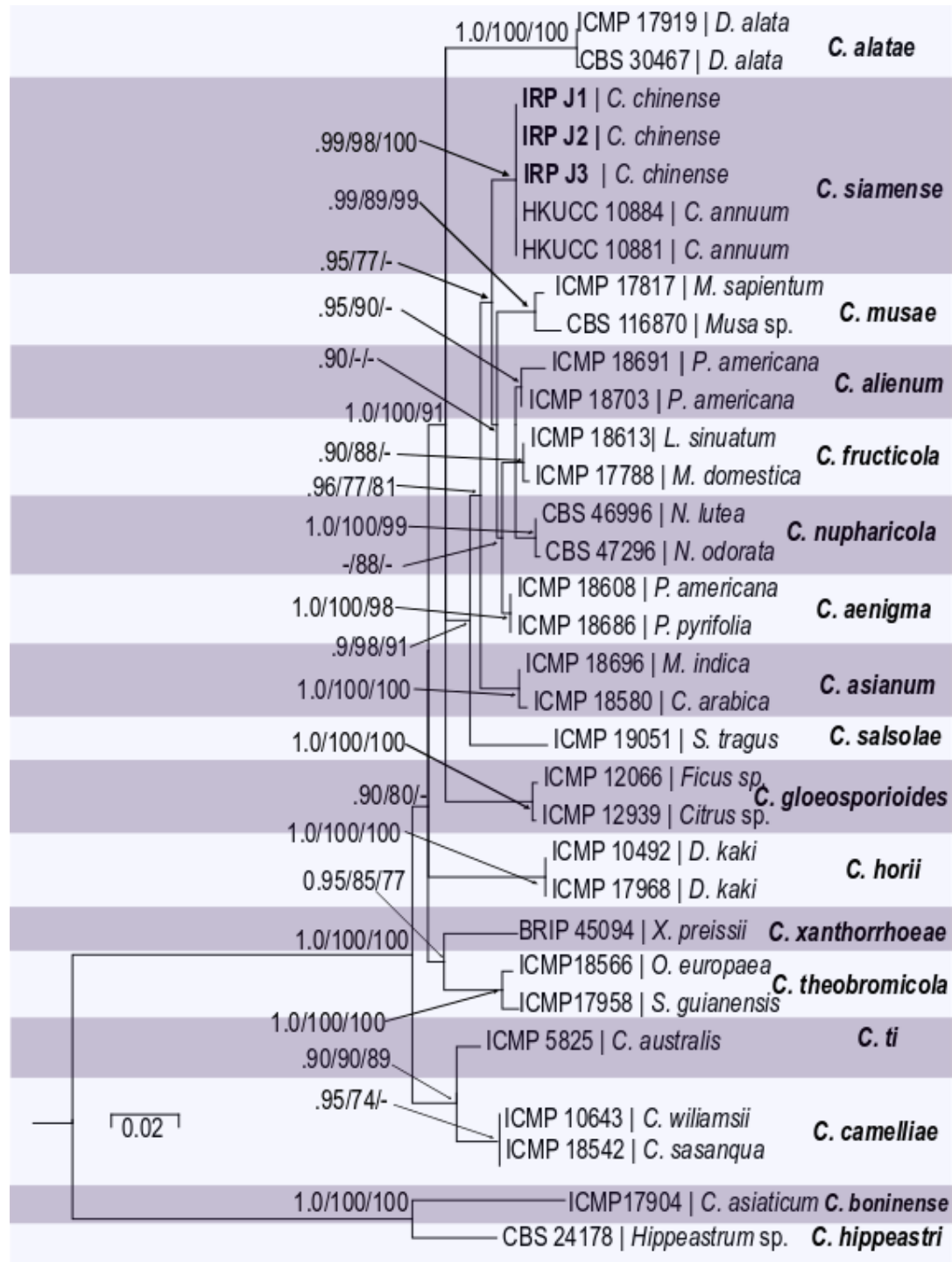


Figura 6. Árvore de máxima verossimilhança baseada nas sequências concatenadas de ITS, GAPDH, ACT e TUB, mostrando a relações filogenéticas entre os isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose na pimenta-de-cheiro e espécies do complexo *gloeosporioides*. Os valores de suporte de clado ≥ 0.90 de probabilidade posterior (inferência bayesiana) e $\geq 70\%$ de bootstrap (máxima verossimilhança/ máxima parcimônia) são indicados pelos nós. A árvore foi enraizada com uma sequência de *Colletotrichum boninense* (ICMP 17904) e *Colletotrichum hippeastrum* (CBS 24178). As sequências deste estudo estão destacadas em negrito.

Todas as sequências provenientes deste estudo foram depositadas no Genbank (Tabela 5).

Tabela 5. Isolados do complexo de espécies *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* utilizados nesta pesquisa, hospedeiro, origem e números de acesso das sequências depositadas no GenBank

Espécies	Código	Hospedeiro	Cidade/Estado/País	n°GenBank			
				ITS	ACT	TUB	GAPDH
<i>C. scovillei</i>	PFP-1	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074332	PP105660	PP105699	PP105603
<i>C. scovillei</i>	PFP-2	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074333	PP105659	PP105700	PP105604
<i>C. scovillei</i>	PFP-3	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074334	PP105655	PP105701	PP105605
<i>C. scovillei</i>	PFP-4	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074335	PP105652	PP105702	PP105606
<i>C. scovillei</i>	PFP-5	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074336	PP105651	PP105703	PP105607
<i>C. scovillei</i>	PFP-25	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074337	PP105658	PP105704	PP105608
<i>C. scovillei</i>	PFP-26	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074338	PP105657	PP105705	PP105609
<i>C. scovillei</i>	PFP-28	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074339	PP105656	PP105706	PP105610
<i>C. scovillei</i>	PFP-30	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074340	PP105654	PP105707	PP105611
<i>C. scovillei</i>	PFP-31	<i>C.chinense</i>	Pres. Figueiredo/ AM /Brasil	PP074341	PP105653	PP105708	PP105612
<i>C. scovillei</i>	IRP-36	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074357	PP105664	PP105724	PP105628
<i>C.siamense</i>	IRP-J1	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074362	PP105696	PP105744	PP105648
<i>C.siamense</i>	IRP-J2	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074361	PP105697	PP105745	PP105649
<i>C.siamense</i>	IRP-J3	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074363	PP105698	PP105746	PP105650
<i>C. scovillei</i>	IRP-J4	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074364	PP105672	PP105728	PP105632
<i>C. scovillei</i>	IRP-J5	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074365	PP105671	PP105729	PP105633
<i>C. scovillei</i>	IRP-J6	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074366	PP105670	PP105730	PP105634
<i>C. scovillei</i>	IRP-J7	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074367	PP105669	PP105731	PP105635
<i>C. scovillei</i>	IRP-J10	<i>C.chinense</i>	Irاندوبا/AM/Brasil	PP074368	PP105673	PP105732	PP105636
<i>C. scovillei</i>	HMP-H1	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074369	PP105682	PP105733	PP105637
<i>C. scovillei</i>	HMP-H2	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074370	PP105681	PP105734	PP105638
<i>C. scovillei</i>	HMP-H3	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074371	PP105680	PP105735	PP105639
<i>C. scovillei</i>	HMP-H4	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074372	PP105679	PP105736	PP105640
<i>C. scovillei</i>	HMP-H5	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074373	PP105678	PP105737	PP105641
<i>C. scovillei</i>	HMP-H6	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074374	PP105677	PP105738	PP105642
<i>C. scovillei</i>	HMP-H7	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074375	PP105676	PP105739	PP105643
<i>C. scovillei</i>	HMP-H8	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074376	PP105675	PP105740	PP105644
<i>C. scovillei</i>	HMP-H9	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074377	PP105674	PP105741	PP105645
<i>C. scovillei</i>	HMP-H10	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074378	PP105683	PP105742	PP105646
<i>C. scovillei</i>	HMP-H11	<i>C.chinense</i>	Humaitá/AM/Brasil	PP074379	PP105684	PP105743	PP105647
<i>C. scovillei</i>	CRP-6	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074348	PP105688	PP105715	PP105619
<i>C. scovillei</i>	CRP-7	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074349	PP105687	PP105716	PP105620
<i>C. scovillei</i>	CRP-8	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074350	PP105686	PP105717	PP105621
<i>C. scovillei</i>	CRP-9	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074351	PP105685	PP105718	PP105622
<i>C. scovillei</i>	CRP-10	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074352	PP105695	PP105719	PP105623
<i>C. scovillei</i>	CRP-12	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074342	PP105694	PP105709	PP105613
<i>C. scovillei</i>	CRP-14	<i>C.chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074343	PP105693	PP105710	PP105614

<i>C. scovillei</i>	CRP-20	<i>C. chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074346	PP105690	PP105713	PP105617
<i>C. scovillei</i>	CRP-22	<i>C. chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074347	PP105689	PP105714	PP105618
<i>C. scovillei</i>	CRP-15	<i>C. chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074344	PP105692	PP105711	PP105615
<i>C. scovillei</i>	CRP-16	<i>C. chinense</i>	Careiro/AM/Brasil	PP074345	PP105691	PP105712	PP105616
<i>C. scovillei</i>	MNP-32	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074353	PP105668	PP105720	PP105624
<i>C. scovillei</i>	MNP-33	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074354	PP105667	PP105721	PP105625
<i>C. scovillei</i>	MNP-34	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074355	PP105666	PP105722	PP105626
<i>C. scovillei</i>	MNP-35	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074356	PP105665	PP105723	PP105627
<i>C. scovillei</i>	MNP-37	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074358	PP105663	PP105725	PP105629
<i>C. scovillei</i>	MNP-38	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074359	PP105662	PP105726	PP105630
<i>C. scovillei</i>	MNP-40	<i>C. chinense</i>	Manacapuru/AM/Brasil	PP074360	PP105661	PP105727	PP105631

Avaliação da virulência dos isolados

Os isolados de *Colletotrichum* spp. inoculados em frutos de pimenta-de-cheiro, induziram o surgimento de sintomas característicos de antracnose em frutos feridos, predominando lesões necróticas de tonalidade marrom escura. Os isolados pertencentes ao grupo 1, identificados como *Colletotrichum scovillei*, apresentaram acérvulos contendo uma massa de conídios de coloração alaranjada (Figura 7A). Na espécie do grupo 2, identificada como *C. simanese* (Figura 7B), os acérvulos não foram observados.

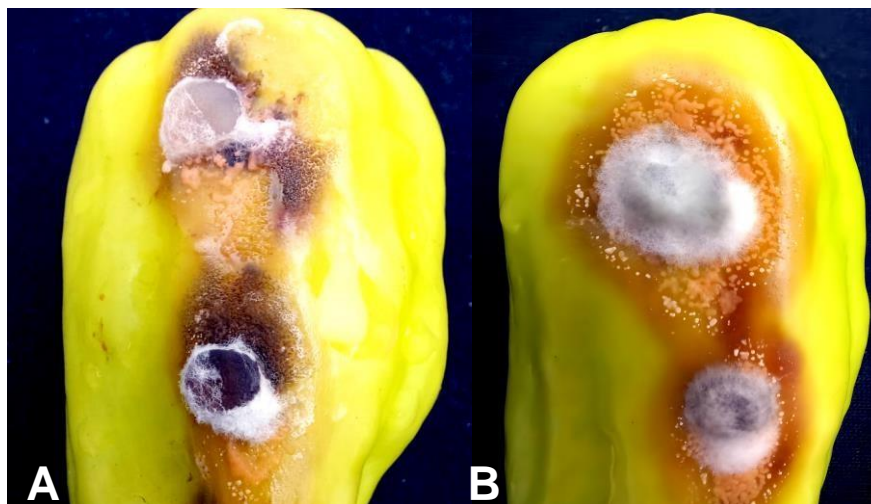


Figura 7. Lesões nos frutos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*), inoculados com discos miceliais de *Colletotrichum scovillei* (A) e *Colletotrichum simanense* (B)

Observações semelhantes dos sintomas também foram relatadas por Liu et al. [56], Liao et al. [57] e De Silva et al. [58].

O diâmetro médio das lesões (DML) variou significativamente (3,04 a 19,45 mm), indicando diferentes níveis de virulência dos isolados (Tabela 6). Os estudos de virulência permitem avaliar a intensidade dos sintomas induzidos pelos diferentes isolados, sendo crucial para determinar o impacto econômico e agrônômico da doença [64].

Tabela 6. Diâmetro médio das lesões (DML) e severidade da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro inoculados com isolados de *Colletotrichum* spp.

Isolados	¹ DML	² Severidade (%)
PFP-1	15,04 a	100
PFP-2	3,19 c	40
PFP-3	15,59 a	100
PFP-4	8,05 b	80
PFP-5	9,7 b	80
PFP-25	5,59 b	80
PFP-26	10,23 b	80
PFP-28	15,02 a	100
PFP-30	11,45 a	100
PFP-31	14,25 a	100
IRP-J1	13,58 a	100
IRP-J2	12,09 a	100
IRP-J3	7,62 b	60
IRP-J4	6,23 b	80
IRP-J5	3,18 c	40
IRP-J6	15,45 a	100
IRP-J7	12,91 a	100
IRP-J10	17,25 a	100
HMP-H1	15,30 a	100
HMP-H2	17,84 a	100
HMP-H3	16,55 a	100
HMP-H4	15,69 a	100
HMP-H5	18,25 a	100
HMP-H6	18,03 a	100
HMP-H7	17,36 a	100
HMP-H8	16,56 a	100
HMP-H9	19,45 a	100
HMP-H10	15,31 a	100
HMP-11	16,10 a	100
CRP-6	12,44 a	100
CRP-7	12,33 a	100
CRP-8	11,03 a	100
CRP-9	7,89 b	80
CRP-10	12,36 a	100
CRP-12	11,23 a	100
CRP-14	7,84 b	80
CRP-20	3,17 c	60
CRP-22	16,00 a	100
CRP-15	14,89 a	100
CRP-16	11,02 a	100
MNP-32	5,64 b	80
MNP-33	8,01 b	80
MNP-34	6,89 b	80
MNP-35	3,19 c	40
MNP-36	3,04 c	40

MNP-37	16,44 a	100
MNP-38	13,89 a	100
MNP -40	15,11 a	100
Teste.	0,00 c	0,00
³ CV(%)	34,43	

¹Diâmetro médio das lesões

²Severidade avaliada pela escala proposta por Ro et al. (2021)

³C.V.% = Coeficiente de Variação

A severidade, variando de 0 a 100%, revelou que a maioria dos isolados apresentaram 100% de severidade, indicando uma alta virulência. Vale ressaltar que o tratamento controle não apresentou lesão nos frutos.

Na condição de campo, a infecção natural em pimenta ocorre pela fixação dos esporos na cutícula, formação de apressórios e infecção direta. Lesionar o pericarpo do fruto também proporciona uma entrada direta para infecções. Este estudo está alinhado com a abordagem comum em estudos de patogenicidade, nos quais a virulência de espécies de *Colletotrichum* é avaliada mediante a realização de ferimentos nos frutos antes da aplicação do inóculo [28].

A alta virulência observada em vários isolados destaca a necessidade de estratégias eficazes para mitigar perdas nas culturas. Os resultados dos estudos de virulência são a base para investigações mais aprofundadas em nível molecular e genômico, incluindo a identificação de genes de virulência e a compreensão das interações planta-patógeno [58].

CONCLUSÕES

Os resultados desta pesquisa revelaram uma diversidade morfológica entre os isolados de *Colletotrichum* spp., evidenciada pelas variações na coloração das colônias e nos índices de crescimento micelial (ICM), bem como das estruturas reprodutivas, como os conídios e apressórios.

Embora essas características tenham sido úteis na diferenciação entre os dois complexos de espécies, as dimensões observadas para conídios e apressórios foram inferiores às descritas na literatura para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*.

A análise molecular, com base nas sequências parciais dos genes ITS, ACT, GAPDH, β -TUB, e as árvores filogenéticas resultantes, revelaram que os isolados estudados pertencem a dois complexos distintos: *Colletotrichum acutatum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Essa identificação molecular forneceu uma visão mais

precisa da diversidade genética dos isolados, superando as limitações da abordagem morfológica.

No ensaio de virulência todos os isolados demonstraram capacidade de causar sintomas típicos de antracnose nos frutos de pimenta-de-cheiro, com variações no tamanho das lesões. A predominância da espécie *C. scovillei* sugere sua relevância como agente causal da antracnose nesta região.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas- FAPEAM, pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa, no âmbito do Edital 008/2021 - PROPESP/FAPEAM.

REFERÊNCIAS

1. Carrizo García C, Barfuss MHJ, Sehr EM, et al. Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Ann Bot.* 2016;118(1):35-51. doi:10.1093/aob/mcw079
2. Parisi M, Alioto D, Tripodi P. Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): Sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. *Int J Mol Sci.* 2020;21(7). doi:10.3390/ijms21072587
3. Ribeiro C, Reifschneider F, Carvalho S. Embrapa 's Capsicum Breeding Program — Looking back ... into the Future. 2020;2(1):1-26.
4. Carvalho SIC de, Bianchetti L de B, Ribeiro CS da C, Lopes CA. *Pimentas Do Gênero Capsicum No Brasil*. 1st ed. Embrapa; 2006.
5. Moscone EA, Scaldaferrero MA, Grabiele M, et al. The evolution of chili peppers (*Capsicum* -Solanaceae): A cytogenetic perspective. *Acta Hort.* 2007;745:137-169. doi:10.17660/actahortic.2007.745.5
6. Pinheiro JB, Amaro GB, Pereira RB. Nematoides em pimentas do gênero *Capsicum*. *Circ Técnica Embrapa*. Published online 2012:9.
7. Giannini P de A, Santos MG dos, Santos CA dos, Carmo MGF do. *Cultivo e Uso de Pimentas Capsicum*. Vol 1.; 2023.
8. Barbosa RI, Mourão Júnior M, Luz FJ de F. Morphometric patterns and preferential uses of *Capsicum* peppers in the State of Roraima, Brazilian Amazonia. *Hortic Bras.* 2010;28(4):477-482. doi:10.1590/s0102-05362010000400017
9. Cardoso AA de S, Santos JZL, Tucci CAF, Barbosa TMB. Acúmulo de nutrientes e crescimento da pimenta-de-cheiro em função de doses de calcário. *Rev Agro @Mambiente on-Line.* 2014;8(2):165. doi:10.18227/1982-8470ragro.v8i2.1881
10. Bianchi PA, da Silva LRA, da Silva Alencar AA, et al. Biomorphological characterization of Brazilian *Capsicum chinense* Jacq. Germplasm. *Agronomy.* 2020;10(3):1-17. doi:10.3390/agronomy10030447
11. Santos RPL dos, Carvalho EEN, Brito TR do C, et al. Manutenção da

- qualidade pós-colheita de pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) armazenadas sob atmosfera modificada e refrigeração. *J Biotechnol Biodivers.* 2019;7(1):241-248. doi:10.20873/jbb.uft.cemaf.v7n1.santos
12. Rodruigues P. Pimenta: de todos os sabores e gostos. *A Lavoura.* 2016;119(716):8-25.
 13. Abud HF, Pinto CMF, Araujo EF, Araujo AV, Santos JA dos. Caracterização morfológica dos frutos de pimentas malagueta e biquinho. *Rev Bras Agropecuária Sustentável(RBAS).* 2018;8(2):29-39. doi:https://doi.org/10.21206/rbas.v8i2.478
 14. Vieira Junior WG, Matos DJ de C, Oliveira TC de, et al. Arbuscular Mycorrhizal Fungi associated with pepper ten lines rhizosphere chillies *Capsicum frutescens.* *Ipê Agron J.* 2019;3(1):107-115. doi:10.37951/2595-6906.2019v3i1.4322
 15. Ali A, Bordoh PK, Singh A, Siddiqui Y, Droby S. Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Prot.* 2016;90:132-141. doi:10.1016/j.cropro.2016.07.026
 16. Souza LCS, Assis LAG, de Moraes Catarino A, Hanada RE. Screening of chilli pepper genotypes against anthracnose (*Colletotrichum brevisporum*). *Emirates J Food Agric.* 2019;31(12):919-929. doi:10.9755/ejfa.2019.v31.i12.2039
 17. Goldenberg R, Baumgratz JFA, Souza MLD e. R. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. *Rodriguesia.* 2012;63(1):145-161. doi:10.1590/s2175-78602012000100011
 18. Tofoli JG, Domingues RJ, Ferrari J takassaki. Anthracnose in Solanaceous: Etiology, Characteristics and control. *Biológico.* 2015;77(1):73-79.
 19. Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 2012;13(4):414-430. doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x
 20. Ranathunge NP, Mongkolporn O, Ford R, Taylor PWJ. *Colletotrichum truncatum* Pathosystem on *Capsicum* spp: Infection, colonization and defence mechanisms. *Australas Plant Pathol.* 2012;41(5):463-473. doi:10.1007/s13313-012-0156-0
 21. Dowling M, Peres N, Villani S, Schnabel G. Managing *Colletotrichum* on fruit crops: A “complex” Challenge. *Plant Dis.* 2020;104(9):2301-2316. doi:10.1094/PDIS-11-19-2378-FE
 22. Park S, Jeong WY, Lee JH, et al. Determination of polyphenol levels variation in *Capsicum annuum* L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2012;130(4):981-985. doi:10.1016/j.foodchem.2011.08.026
 23. Gasparotto L, Pereira JCR, Berni RF. *A Anthracnose Da Pimenta- de-Cheiro.* 1st ed. Embrapa Amazônia Ocidental; 2014.
 24. Pedroso C, Dias-Neto JJ, Rossato M, dos Anjos LM, Café-Filho AC. Managing sweet pepper anthracnose by choice of planting season, organic soil mulch, fungicide and moderate nitrogen fertilization. *Phytoparasitica.* 2020;48(4):525-533. doi:10.1007/s12600-020-00819-2
 25. Hanada RE, Gasparotto L, Pereira JC., Assis LA. Danos causados por *Colletotrichum* sp. em pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) e recomendações de controle. *Trop Plant Pathol.* 2011;36(36):1.
 26. Peres NAR, Kuramae EE, Dias MSC, De Souza NL. Identification and

- characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. *J Phytopathol.* 2002;150(3):128-134. doi:10.1046/j.1439-0434.2002.00732.x
27. Cai L, Hyde KD, Taylor P, et al. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Divers.* 2009;39:183-204.
 28. Mongkolporn O, Taylor PWJ. Chili anthracnose: *Colletotrichum* taxonomy and pathogenicity. *Plant Pathol.* 2018;67(6):1255-1263. doi:10.1111/ppa.12850
 29. Mills PR, Hodson A, Brown AE. Molecular differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates infecting tropical fruits. *Wallingford CAB Int.* 1992;29:2569-2888. doi:851987567
 30. Marin-Felix Y, Hernández-Restrepo M, Iturrieta-González I, et al. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. *Stud Mycol.* 2019;94(June):1-124. doi:10.1016/j.simyco.2019.05.001
 31. de Silva DD, Groenewald JZ, Crous PW, et al. Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. *IMA Fungus.* 2019;10(1):1-32. doi:10.1186/s43008-019-0001-y
 32. Alfenas AC, Ferreira F., Mafia R., Gonçalves R. Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: Alfenas A., Mafia R., eds. *Métodos Em Fitopatologia.* Editora UF. ; 2016:55-93.
 33. Pinho DB, Machado AR, Firmino AL. Princípios e Métodos para identificação Molecular de fungos. In: Alfenas AC, Mafia RG, eds. *Métodos Em Fitopatologia.* 2nd ed. ; 2016:390-392.
 34. Castellani A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *J Trop Med Hyg.* 1939;42(1):225-226.
 35. Peres APP, Silva-Mann R, Vieira MGGC, Machado JC. Variabilidade morfo-cultural e genética de fungos associados a podridão peduncular do mamão. *Ciências agotec.* 2003;27(5):1053-1062.
 36. MUNSELL COLOR COMPANY. *Munsell Soil Color Charts.* 1st ed. Baltimore, Md. : Munsell; 1975.
 37. Sutton BC. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey JA, Jeger MJ, eds. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control.* 1st ed. Redwood; 1992:388.
 38. Doyle JJ, Doyle JL. Doyle_plantDNAextractCTAB_1987.pdf. *Phytochem Bull.* 1987;19(1):11-15.
https://webpages.uncc.edu/~jweller2/pages/BINF8350f2011/BINF8350_Readings/Doyle_plantDNAextractCTAB_1987.pdf
 39. Damm U, Cannon PF, Woudenberg JHC, Crous PW. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Stud Mycol.* 2012;73:37-113. doi:10.3114/sim0010
 40. Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS. *Colletotrichum* - current status and future directions. *Stud Mycol.* 2012;73:181-213. doi:10.3114/sim0014
 41. Dunn IS, Blattner FR. Charons 36 to 40: multi enzyme, high capacity, recombination deficient replacement vectors with polylinkers and polystuffers. *Nucleic Acids Res.* 1987;15(21):8739-8754. doi:10.1093 / nar / 15.6.2677
 42. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 1997;25(24):4876-4882. doi:10.1093/nar/25.24.4876
 43. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol.* 2018;35(6):1547-1549. doi:10.1093/molbev/msy096

44. Stamatakis A. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 2014;30(9):1312-1313. doi:10.1093/bioinformatics/btu033
45. Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, et al. MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol*. 2012;61(3):539-542. doi:10.1093/sysbio/sys029
46. Ro NY, Sebastin R, Hur OS, et al. Evaluation of anthracnose resistance in pepper (*Capsicum* spp.) genetic resources. *Horticulturae*. 2021;7(11). doi:10.3390/horticulturae7110460
47. Silva AM da, Bentes JL da S, Bezerra E de J da S, Andrade MC de. Diversidade morfológica, genética e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. associados à pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.). *Rev Agrar Acad*. 2018;1(4):39-51. doi:10.32406/v1n42018/39-51/agrariacad
48. Than PP, Jeewon R, Hyde KD, Pongsupasamit S, Mongkolporn O, Taylor PWJ. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathol*. 2008;57(3):562-572. doi:10.1111/j.1365-3059.2007.01782.x
49. Thilini Chethana KW, Jayawardena RS, Chen YJ, et al. Diversity and function of appressoria. *Pathogens*. 2021;10(6):3-6. doi:10.3390/pathogens10060746
50. Tripathi R, Tewari R, Singh KP, et al. Plant mineral nutrition and disease resistance: A significant linkage for sustainable crop protection. *Front Plant Sci*. 2022;13(October):1-12. doi:10.3389/fpls.2022.883970
51. Firmino AC, Tozze Junior HJ, Tamelini BR, Nosaki DN, Furtado EL. Identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose em plantas de atemóia e colonização do fungo nos frutos. *Summa Phytopathol*. 2014;40(4):323-328. doi:10.1590/0100-5405/1955
52. Giacomini RM, de Fátima Ruas C, Baba VY, et al. Phenotypic, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum scovillei* infecting *Capsicum* species in Rio de Janeiro, Brazil. *PeerJ*. 2021;9:1-27. doi:10.7717/peerj.10782
53. Liu F, Tang G, Zheng X, et al. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. *Sci Rep*. 2016;6(September):1-17. doi:10.1038/srep32761
54. Torres-Calzada C, Tapia-Tussell R, Quijano-Ramayo A, et al. A species-specific polymerase chain reaction assay for rapid and sensitive detection of *Colletotrichum capsici*. *Mol Biotechnol*. 2011;49(1):48-55. doi:10.1007/s12033-011-9377-7
55. Tozze Júnior HJ, Mello MBA, Massola Júnior NS. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. *Summa Phytopathol*. 2006;32(1):71-79. doi:10.1590/s0100-54052006000100011
56. Liu F, Tang G, Zheng X, et al. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. *Sci Rep*. 2016;6(August):1-17. doi:10.1038/srep32761
57. Liao CY, Chen MY, Chen YK, et al. Characterization of three *Colletotrichum acutatum* isolates from *Capsicum* spp. *Eur J Plant Pathol*. 2012;133(3):599-608. doi:10.1007/s10658-011-9935-7
58. De Silva DD, Ades PK, Taylor PWJ. Pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum* in Asia. *Plant Pathol*. 2021;70(4):875-884.

- doi:10.1111/ppa.13351
59. Sharma G, Shenoy BD. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. *Arch Phytopathol Plant Prot.* 2014;47(10):1179-1194. doi:10.1080/03235408.2013.833749
 60. Diao Y, Zhang C, Liu F, et al. *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. *Persoonia Mol Phylogeny Evol Fungi.* 2017;38(JUNE):20-37. doi:10.3767/003158517X692788
 61. Weir BS, Johnston PR, Damm U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Stud Mycol.* 2012;73:115-180. doi:10.3114/sim0011
 62. Silva JRA, Chaves TP, da Silva ARG, et al. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. *Trop Plant Pathol.* 2017;42(4):315-319. doi:10.1007/s40858-017-0151-7
 63. Oliveira CVS, Matos KS, De Albuquerque DMC, Hanada RE, Da Silva GF. Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. *Genet Mol Res.* 2017;16(2). doi:10.4238/gmr16029601
 64. Khodadadi F, González JB, Martin PL, et al. Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. nov. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-19. doi:10.1038/s41598-020-66761-9.

CAPÍTULO 2

Barbosa, R.D.; Bentes, J.L.S. Ferreira, A.F.T.A.F. 2023. Combinação de adubação e fungicidas no manejo da antracnose e produção da pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) Agronomy Journal, p. 70-89.

COMBINAÇÃO DE ADUBAÇÃO E FUNGICIDAS NO MANEJO DA ANTRACNOSE E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)

Roneres Deniz Barbosa¹; Jânia Lília da Silva Bentes Lima²; Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira³

¹ Doutorando PPG-ATR. Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, cep 69.080-900, Manaus, Amazonas, Brasil.

^{2,3} Docente. Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias FCA, cep 69.080-900, Manaus, Amazonas, Brasil.

RESUMO

As pimentas (*Capsicum* spp.) são cultivadas em todo o mundo, com China e México se destacando como principais produtores. No Brasil, a pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) possui grande relevância econômica e cultural. No entanto, enfrenta desafios, especialmente relacionados a antracnose causada por *Colletotrichum* spp.. Embora o controle químico seja uma prática comum no manejo da doença há crescentes preocupações em relação à resistência dos patógenos e aos resíduos dos fungicidas, o que tem impulsionado a busca por alternativas como abordagens nutricionais, principalmente. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adubação e fungicidas na produção e na intensidade da antracnose buscando estabelecer medidas integradas e eficientes de manejo. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (FAEXP-UFAM). O delineamento experimental usado foi em blocos casualizados, com parcelas subdivididas, cujos tratamentos constaram de fungicidas: Flutriafol, Clorotalonil, Azoxistrobina+Difeconazol e controle aplicados nas parcelas e adubação com NPK nas subparcelas nas doses de 0, 50, 100 e 200 % da dose recomendada. As avaliações foram iniciadas a partir de 90 dias após o transplante e concluídas aos 210 dias após o transplante. A cada quinze dias quantificou-se a incidência e a severidade da antracnose nos frutos e a produtividade por meio do número e peso de frutos, além de altura das plantas. A interação significativa entre os fatores estudados foi para incidência da antracnose, severidade, produtividade, número de frutos, peso dos frutos e área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD). A incidência e a severidade da antracnose foram reduzidas nas plantas que foram submetidas a doses de adubação de 100% (150; 200 e 150 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente) e 200% (300, 400 e 300 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente), especialmente quando associadas ao fungicida Azoxistrobina + Difeconazol. Para as variáveis de produtividade, o tratamento com adubação 200%, quando combinado com o de fungicida Azoxistrobina+Difeconazol contribuíram para o maior número e peso de frutos. A combinação dos fatores estudados não teve efeito em variáveis de crescimento como altura de plantas e peso da matéria seca da parte aérea. Entretanto, para essas variáveis, os tratamentos com adubação foram preponderantes, demonstrando influência significativa. Este estudo destaca a importância da interação entre adubação e fungicidas no manejo da antracnose e na produtividade da pimenta-de-cheiro.

Palavras-chave: Pimenta-de-cheiro, *Colletotrichum* spp., NPK, manejo integrado.

INTRODUÇÃO

As pimentas (*Capsicum* spp.) estão entre as principais hortaliças cultivadas no mundo, podendo ser consumidas *in natura* ou processadas em forma de páprica, pastas e em conservas (Almeida et al., 2020). Dados disponibilizados pela FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), referentes ao ano de 2022, apontam que a China e o México são os maiores produtores mundiais de pimentas do gênero *Capsicum* com produção anual de 16,8 e 3,1 milhões de toneladas, respectivamente (FAOSTAT, 2024). No Brasil, a produção anual de pimentas é estimada em 75 mil toneladas, sendo o Sudeste e Centro-Oeste as maiores regiões produtoras deste fruto no país (Giannini et al., 2023).

No Amazonas, a pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) é uma espécie de grande relevância econômica e cultural cultivada pela agricultura familiar (Berni & Cardoso, 2013), predominantemente. Suas características de ciclo curto e de fácil manejo tem grande potencial para expansão da cultura na região. Segundo o último relatório da produção vegetal (IDAM, 2023), a produção anual de pimenta-de-cheiro atingiu 2,88 mil t. de frutos frescos. Essa produção ocorreu em uma área cultivada de 353,44 há. O município do Amazonas maior produtor desta hortaliça é Iranduba, com 693,60 t. em uma área de 96 ha (IDAM, 2023).

É uma cultura com grande potencial de expansão, entretanto, enfrenta desafios relacionados à antracnose, uma doença fúngica causada por diversas espécies do gênero *Colletotrichum* (Parisi et al., 2020). Os sintomas se manifestam nos ramos, folhas e frutos, sendo estes últimos as partes mais afetadas por lesões inicialmente pequenas e escuras. Estas lesões, circulares e deprimidas, evoluem para formar círculos concêntricos e pontos negros, correspondentes aos acérvulos do fungo. A partir dos acérvulos, emerge uma massa alaranjada composta pelos conídios do fungo (Hanada et al., 2011).

A antracnose é favorecida em condições de temperatura que variam de 22 a 30 °C e umidade superior a 80% (Park et al., 2012; Tofoli et al., 2015; Rashid et al., 2014). Nestas condições, a doença é extremamente destrutiva, podendo ocasionar perdas de 100% da produção (Pedroso et al., 2020). No Amazonas três espécies de *Colletotrichum* foram descritas afetando a pimenta-de-cheiro: *C. siamense*, *C. scovillei* (Oliveira et al., 2017) e *C. brevisporum* (Almeida et al., 2017), destacando a importância de medidas de controle para reduzir os danos causados pela doença.

O controle químico é uma das principais estratégias utilizadas para o manejo da antracnose (Gomes & Serra, 2013; Saxena et al., 2016). Fungicidas com ação protetora, como o Clorotalonil têm sido amplamente utilizados para reduzir a incidência da doença (Pedroso et al., 2020). Estes fungicidas formam uma barreira protetora sobre os tecidos da planta, impedindo a penetração dos esporos do fungo e, conseqüentemente, a infecção. Além disso, fungicidas com ação curativa, como o Azoxistrobina e Difeconazol, podem ser aplicados para controlar a antracnose já estabelecida. No entanto, problemas associados, como resistência de patógenos (Twardowaki, 2010) e resíduos dos fungicidas (Reddy et al., 2019), destacam a necessidade de métodos alternativos, incluindo abordagens nutricionais (Spann & Schumann, 2010).

Plantas adequadamente nutridas, geralmente, apresentam maior capacidade de estabelecer barreiras de resistência como células epidérmicas mais espessas, maior lignificação, maior síntese de compostos fenólicos e fitoalexinas (Vilela et al., 2022). Quando as plantas estão em situação de desequilíbrio nutricional com deficiência ou excessivamente nutridas, tornam-se predispostas à infecção (Taiz & Zeiger, 2017)

No caso específico da pimenta-de-cheiro Gasparotto et al. (2014) recomendam efetuar corretamente as adubações nitrogenadas com sulfato de amônia, ureia e esterco de aves, pois o excesso de nitrogênio favorece a severidade da antracnose, enquanto que níveis adequados de fósforo e potássio podem reduzir a sua ocorrência. Isto sugere que a nutrição mineral quando manejada corretamente, pode ser utilizada como complemento ou método alternativo na redução e no manejo de doenças (Marschner, 2012).

Considerando que a antracnose representa um desafio significativo para o aumento da produção da pimenta-de-cheiro e levando em consideração a escassez de estudos sobre métodos combinados para o controle da antracnose em *Capsicum* em condições de campo (Pedroso et al., 2020), este trabalho teve o objetivo de estabelecer medidas mais eficientes de manejo da adubação e de fungicidas na produção e na intensidade da antracnose em pimenta-de-cheiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de agosto de 2022 a março de 2023, em condições de campo na fazenda experimental da Universidade Federal do Amazonas (FAEXP - UFAM), localizada no Km 38 às margens da rodovia BR-174 (2°38'57,6" S e 60°3'11" W), Manaus, AM. A região possui clima tropical úmido, com precipitações de 2.200 a 2.500 mm, concentrada principalmente nos meses de dezembro a março, e temperatura média de 31,2°(Alvares et al., 2013).

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Amarelo. Antes do início do experimento, foram coletadas amostras de solo a uma profundidade de 0-20 cm e suas propriedades químicas e físicas foram determinadas (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo da área experimental

Variáveis	Unidades	Valor
pH - Acidez ativa (CaCl ₂)		4,00
H+Al - Acidez potencial (SMP)	cmolc.dm ⁻³	4,69
Al - Alumínio (KCl)	cmolc.dm ⁻³	0,50
Ca - Cálcio (KCl)	cmolc.dm ⁻³	0,35
Mg - Magnésio (KCl)	cmolc.dm ⁻³	0,20
K - Potássio (Mehlich-1)	mg.dm ⁻³	22,00
P - Fósforo (Mehlich-1)	mg dm ⁻³	4,00
MO- Matéria orgânica (colorimetria)	dag.kg ⁻¹	2,20
SB - Soma de bases	cmolc.dm ⁻³	0,65
T - Cap. de troca de cátions a pH 7	cmolc.dm ⁻³	5,34
t - Cap. de troca de cátions efetiva	cmolc.dm ⁻³	1,15
V - Saturação por bases	%	12,17
m - Saturação por alumínio	%	43,48
pH SMP - (tampão SMP)	-	5,90
Na - (Sódio)	mg.dm ⁻³	10,00
P rem - Fósforo remanescente	mg.kg ⁻¹	17
Areia	%	13,5
Silte	%	8,3
Argila	%	78,2
Textura	-	MA=muito argilosa

Preparo da área e calagem

O experimento foi implantado em uma área de 1.610 m². A abertura de covas de 40x40 cm ocorreu manualmente utilizando o espaçamento de 1m entre plantas e 1m entre linhas.

A correção da acidez e as recomendações de adubação foram calculadas com base nos resultados da análise do solo e seguindo as indicações de Brasil et al. (2020) e Moreira et al. (2010) para a cultura da pimenta-de-cheiro. O calcário (PRNT 87,3%) foi aplicado manualmente na quantidade de 283 g em cada cova, com o objetivo de aumentar a saturação por bases para 70%, trinta dias antes do plantio.

Produção de mudas e transplântio

Para obtenção das mudas, sementes de pimenta-de-cheiro cultivar “De Cheiro” (Feltrin®) foram semeadas em copos de plástico (150 mL) contendo substrato VIVATTO Slim® e mantidas em viveiro até que as plantas apresentassem três pares de folhas definitivas, quando foram transplantadas para o campo. No transplântio, como fonte de micronutrientes foi fornecido 62 g de FTE BR12 e 1 litro de esterco de galinha poedeira curtido em cada cova (Moreira et al., 2010).

Delineamento experimental e definição dos tratamentos

O experimento foi instalado em delineamento experimental em blocos casualizados, com parcelas subdivididas e três repetições. Dois fatores foram estudados: fungicidas e adubação. Nas parcelas foram casualizados quatro tratamentos com fungicidas: Flutriafol (0,5 L.ha); Azoxistrobina+Difeconazol (0,4 L.ha), Clorotalonil (20 g/10 litros de água), além de uma parcela controle. A seleção dos fungicidas foi realizada com base em suas recomendações para as culturas da pimenta-de-cheiro e do pimentão (MAPA, 2024).

Os fungicidas foram aplicados semanalmente a partir do período de frutificação (Pedroso et al., 2020), com um total de três aplicações para cada fungicida (MAPA, 2024). As aplicações foram realizadas utilizando um pulverizador costal manual. Durante as pulverizações, uma lona de plástico foi usada para separar a parcela que estava sendo pulverizada das parcelas adjacentes, minimizando o risco de deriva entre elas.

Nas subparcelas foram aplicados quatro níveis de adubação com NPK: subparcela controle (sem adubação); adubação 50% (75, 100 e 75 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente); adubação 100 % (150; 200 e 150 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente) e adubação 200 % (300, 400 e 300 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente) da dose recomendada para a pimenta-de-cheiro.

Cada parcela experimental era composta de cinco linhas, cada uma contendo 16 plantas, totalizando 80 plantas por parcela (Figura 1). Para avaliação foram consideradas como úteis as seis plantas das 3 linhas centrais das subparcelas.

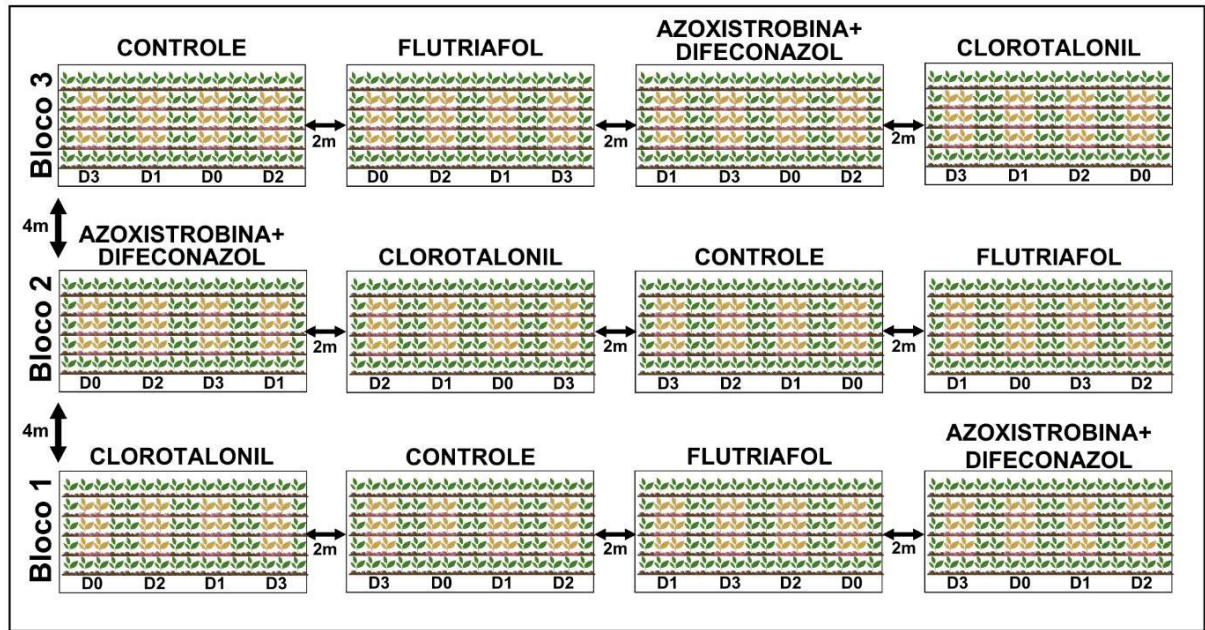


Figura 1. Croqui da área experimental

Foram utilizados a ureia (45% de N) como fonte de N e o cloreto de potássio (58% de K_2O) como fonte de K. A aplicação de P na forma de superfosfato triplo (46% de P_2O_5), foi realizada em uma única aplicação no momento do transplântio. O cálculo das doses de adubação foi efetuado conforme as recomendações em quilogramas por hectare, sendo posteriormente convertidas em gramas por cova, considerando a área de cada cova de $1m^2$. A aplicação foi realizada manualmente, seguindo as doses especificadas abaixo para cada tratamento.

Tabela 2. Doses de nitrogênio (ureia), fósforo (superfosfato triplo) e potássio (cloreto de potássio) em gramas/cova

Adubação	Ureia	Super fosfato triplo	Cloreto de potássio
Adubação 50 %	17,04 g/cova	21,73 g/cova	12,5 g/cova
Adubação 100%	34,09 g/cova	43,47 g/cova	25 g/cova
Adubação 200 %	68,18 g/cova	86,94 g/cova	50 g/cova

As adubações com N e K foram parceladas em quatro aplicações, sendo a primeira aplicada no momento do transplântio e as demais em intervalo de 30 dias até a colheita do experimento.

Tratos culturais e irrigação

A área experimental foi submetida a capinas mensais, utilizando enxadas nas parcelas e roçadeira nos espaços entre os blocos. O controle de formigas cortadeiras foi no início do crescimento das plantas, mediante a aplicação de Sulfluramida. Foi implementado um sistema de irrigação por gotejamento com fita gotejadora, garantindo que as plantas fossem irrigadas duas vezes ao dia, tanto pela manhã quanto à tarde. Ao longo de todo o experimento, foi conduzido um monitoramento constante para identificar a presença de outras doenças e pragas na área experimental.

Inóculo e procedimentos de inoculação

Como não havia registro de infecção natural de *Colletotrichum* spp. na área experimental, foi realizada a inoculação nas plantas de pimenta-de-cheiro. O inóculo foi preparado a partir de isolados monospóricos de *Colletotrichum siamense* (IRP-J1; IRP-J2 e IRP-J3) e *Colletotrichum scovillei* (HMP-H1; PFP- 01 e MNP-34), os quais foram obtidos a partir de frutos de pimenta-de-cheiro exibindo sintomas de antracnose, provenientes de diferentes áreas de produção no estado do Amazonas. Um total de 15 culturas individuais foram cultivadas em BDA a uma temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias. Os conídios foram retirados das placas de Petri, suspensas em água e a suspensão foi ajustada para 10^5 conídios.ml⁻¹ por meio da Câmara Neubauer. Esta suspensão foi pulverizada em plantas de pimenta-de-cheiro no início do florescimento, com auxílio de pulverizadores manuais (500 mL). Após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos transparentes e mantidas em câmaras úmidas por um período de 24 horas.

Coleta dos dados e variáveis analisadas

Os dados climáticos referentes aos meses de realização da pesquisa foram adquiridos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Durante o experimento, as avaliações foram realizadas a partir do início da frutificação, aproximadamente 90 dias após o transplante. As avaliações foram quinzenais ao longo de um período de quatro meses nas seis plantas centrais de cada subparcela, totalizando oito avaliações. Estas avaliações abrangeram:

A incidência da doença nos frutos: quantificada como a porcentagem de plantas com frutos sintomáticos em relação ao total de plantas avaliadas em cada tratamento, utilizando a equação (Campbell & Madden, 1990).

$$I(\%) = (NPD)/(NTP) \times 100$$

onde $I(\%)$ denota a incidência, NPD representa o número de plantas doentes e NTP e o total de plantas avaliadas para cada tratamento.

Severidade: A avaliação da severidade foi realizada em 20 frutos selecionados aleatoriamente nas 6 plantas úteis de cada tratamento. A severidade da doença foi avaliada usando uma escala proposta por RO *et al.* (2021) para frutos inoculados sem ferimentos. Essa escala compreende 5 notas de classificação da seguinte forma: 0 = nenhum sintoma visível observado; 1 = sintomas de tamanho inferior a 10%; 2 = sintomas com 11–20%; 3 = sintomas com 21–40%; 4 = sintomas 41–100%. Posteriormente, essas notas foram transformadas em porcentagem de severidade e com base nos dados de severidade, foram construídas as curvas de progresso da doença, e, posteriormente, a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), conforme Campbell e Madden (1990).

Produtividade: avaliada nas plantas úteis de cada tratamento, através da quantificação do número e peso total de frutos produzidos por planta.

Altura de plantas: mensurada em centímetros (cm), utilizando uma fita métrica e adotando-se como critério a distância entre a parte basal do coleto até a folha mais alta da planta.

Peso da matéria seca da parte aérea: ao término das avaliações, as plantas úteis foram colhidas inteiras e retiradas somente a parte aérea para a determinação da matéria seca. As plantas foram secas em estufa de circulação forçada de ar, com temperatura variando de 65 a 70 °C, até atingirem peso constante. Após a secagem, foi determinado o peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) em uma balança analítica (0,01g).

Análise foliar: A folha amostrada para a realização das análises foi a terceira, a contar do ápice, no início do florescimento (Moreira *et al.*, 2010). As folhas foram submetidas à secagem até atingir peso constante (Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013), depois trituradas e, em seguida, encaminhadas ao laboratório para análise de nutrientes

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos aos pressupostos da análise de variância (ANOVA) para verificação da normalidade dos dados. Os resultados foram analisados por meio da ANOVA a 5% ($p \leq 0,05$) de significância, por meio do pacote ExpDes.pt do software Rstudio (Ferreira et al., 2014). Quando os resultados indicaram interação significativa entre os fatores, fez-se análise de regressão para identificar o modelo matemático que explicasse o comportamento entre os fatores independentes e a variável analisada.

Quando a interação entre os fatores não foi estatisticamente significativa, os fatores foram examinados individualmente. Foram ajustadas equações com significância estatística, utilizando regressões entre as variáveis independentes e as demais variáveis dependentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3, são apresentados a significância das variáveis analisadas e suas interações. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) na interação entre fungicidas e adubação para as variáveis incidência da antracnose, severidade, número de frutos, peso de frutos e área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD). Para as variáveis altura de plantas (AP) e peso da matéria seca da parte aérea (MSPA), não se observou efeito dos fungicidas nem da interação entre fungicidas e adubação.

Tabela 3. Resumo da análise de variância para as variáveis produtividade, número de frutos e peso dos frutos, incidência da antracnose, severidade, área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), altura de plantas (AP) e peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) em função dos fatores fungicidas e adubação e da interação desses fatores.

FV	GL	Significância do teste F						
		Nº frutos	Peso de frutos	Incidência.	Severidade	AACPD	AP	MSPA
Fungicida (F)	3	$4 \times 10^{-5*}$	0,001*	0,004*	0,001*	$2 \times 10^{-16*}$	0,66 ^{ns}	0,411 ^{ns}
Adubação (A)	3	$2 \times 10^{-16*}$	$2 \times 10^{-16*}$	$1 \times 10^{-6*}$	$2 \times 10^{-6*}$	$2 \times 10^{-16*}$	$2 \times 10^{-6*}$	$2 \times 10^{-6*}$
Interação FxA	9	0,000 *	0,004*	0,016*	0,010*	$2 \times 10^{-16*}$	0,76 ^{ns}	0,07 ^{ns}
CV (%) F	-	12,92	19,50	14,81	17,24	16,00	20,70	16,30
CV (%) A	-	10,80	17,61	9,34	12,65	10,15	8,96	17,25

* Significativo a 5 % ($p \leq 0,05$). ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

A análise de regressão entre fungicidas e adubação (Figura 2A e 2B) para incidência e severidade da antracnose revela uma tendência negativa à medida que as doses de adubação aumentam, indicando redução da incidência e severidade com o aumento da adubação.

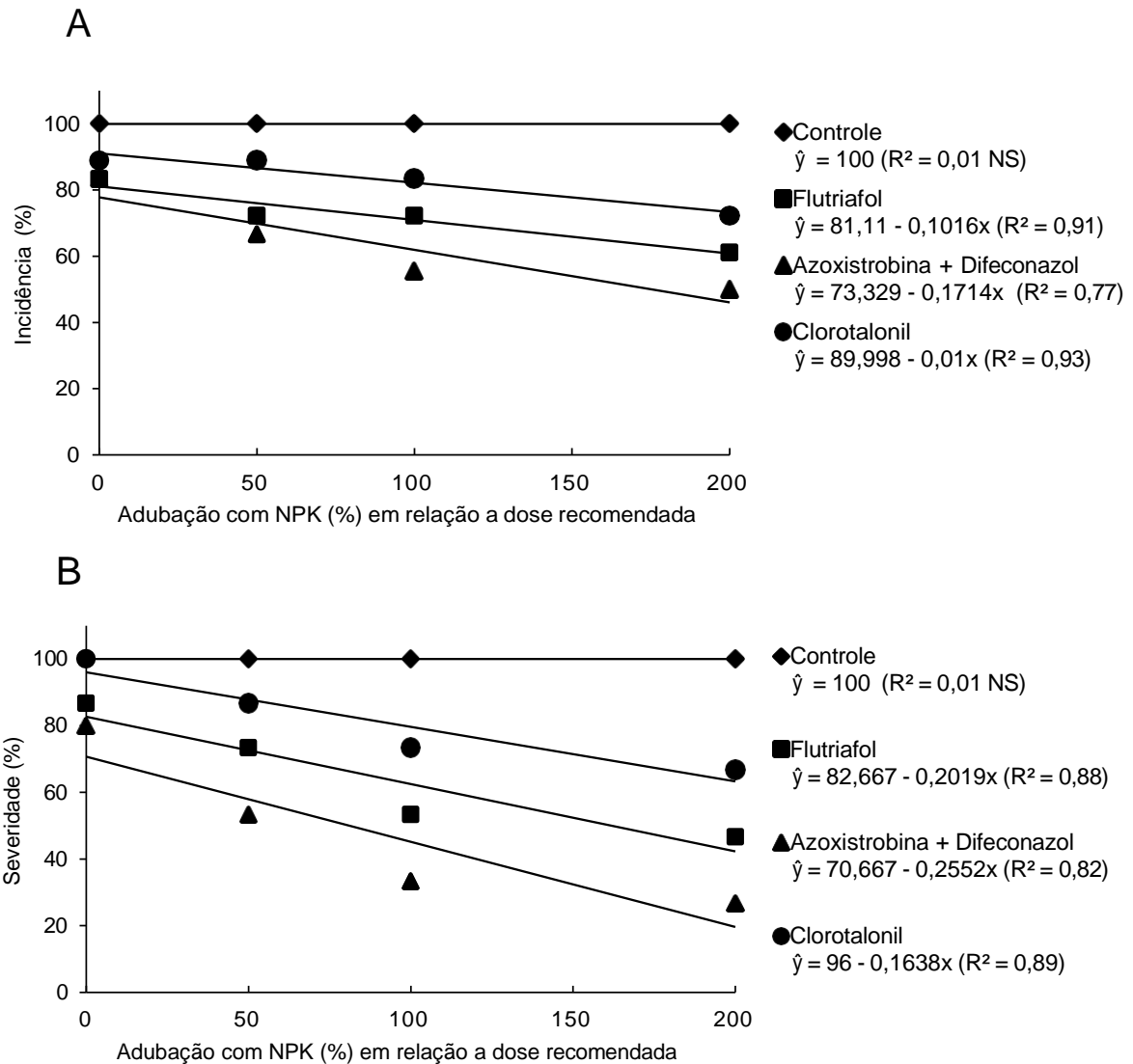


Figura 2. Incidência da antracnose (A) e severidade (B) em função da interação entre fungicidas e adubação com NPK em plantas de pimenta-de-cheiro.

A incidência e severidade da antracnose foram reduzidas em plantas que foram submetidas a dose de adubação de 100% (150; 200 e 150 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente) e 200% (300, 400 e 300 kg.ha de N, P₂O₅, e K₂O, respectivamente), especialmente quando associadas ao fungicida Azoxistrobina + Difeconazol. Esses resultados sugerem que a adubação com NPK em doses recomendadas ou mais elevadas pode ter um efeito positivo na redução da antracnose (Singh et al. 2022).

Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Pooja et al. (2019), que relataram severidade mínima da antracnose (26,13%) no tratamento que utilizou NPK em doses acima da recomendada (150, 50, 50 kg.ha de NPK, respectivamente) para a pimenta-de-cheiro. Também Singh et al. (2022) avaliaram o efeito de diferentes doses de NPK no controle do patógeno *C. gloeosporioides* e mostraram que, entre

os fertilizantes, a aplicação de doses maiores de P (60 kg de P_2O_5) e K (75 kg de K_2O) apresentaram redução significativa da antracnose de 25% e 19,66% de severidade da doença, em comparação com o controle (60%).

A comparação com estudos anteriores destaca a importância da combinação correta de nutrientes, especialmente considerando não apenas o nitrogênio, mas também o fósforo e o potássio (Singh et al., 2022). Doses elevadas de nitrogênio podem não proporcionar benefícios significativos e, em alguns casos, podem aumentar a severidade da antracnose. Pedroso et al. (2020) observaram que doses de até 150 kg.ha de nitrogênio não proporcionaram diferenças significativas na severidade da antracnose. Quando a dose de N é elevada para 450 kg.ha, há aumento substancial da severidade da antracnose.

A redução da incidência e severidade da antracnose, com as doses crescentes de NPK pode ser atribuída ao efeito dos nutrientes no metabolismo da planta (Huber et al., 2012). O P é constituinte de moléculas celulares, como ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA), trifosfato de adenosina (ATP) e também está envolvido em muitos processos metabólicos que ocorrem tanto na planta quanto no patógeno (Taiz & Zeiger, 2017). O K aumenta a espessura da parede em células da epiderme, promove rigidez de tecidos e regula o funcionamento dos estômatos, criando obstáculos no fornecimento de nutrientes aos patógenos (Marschner, 2012; Taiz & Zeiger, 2017).

O fungicida sistêmico Azoxistrobina + Difeconazol se destacou ao demonstrar redução significativa na intensidade da antracnose em plantas de pimenta-de-cheiro (Figura 2A e 2B). Kharkwal et al. (2020) avaliaram o efeito dos fungicidas Difeconazol, Azoxistrobina e Clorotalonil na inibição do crescimento micelial do patógeno responsável pela antracnose (*C. capsici*) no pimentão (*C. annuum*) e mostraram que o fungicida Difeconazol apresentou inibição do crescimento micelial de 93,83%, enquanto o fungicida Clorotalonil registrou a menor inibição de 71,56% (Kharkwal et al., 2020).

A área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) representa parâmetro quantitativo para avaliar a intensidade da doença ao longo do tempo (Alves & Del Ponte, 2021). Valores mais baixos indicam uma menor intensidade ou um desenvolvimento mais lento da doença. Os dados de AACPD foram ajustados a um modelo linear (Figura 4), e a curva de regressão revelou que a menor AACPD foi observada na combinação do fungicida Azoxistrobina + Difeconazol com diferentes

doses de adubação, com a redução mais significativa (27,49) ocorrendo na adubação 200% de NPK.

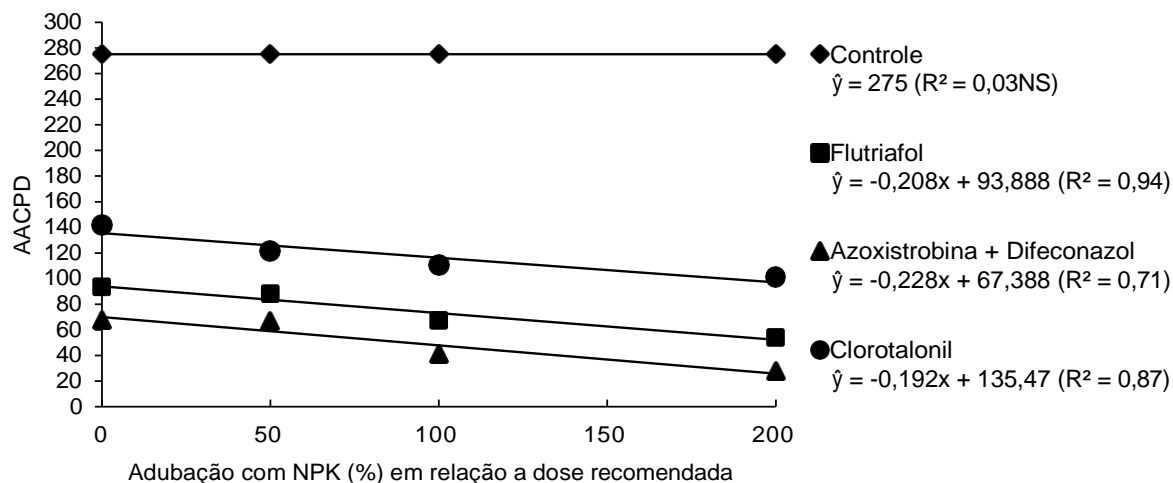


Figura 3. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em função da interação entre fungicidas e adubação com NPK em plantas de pimenta-de-cheiro.

O resultado da análise foliar (Tabela 4), revela que as plantas submetidas ao tratamento com adubação 200% apresentam teores foliares de NPK considerados ideais para a pimenta-de-cheiro. Conforme apontado por Moreira et al. (2010), os valores desejáveis para esses nutrientes são aproximadamente 35 g/kg, 2,5 g/kg e 25 g/kg para N, P e K, respectivamente. Em contrapartida, os tratamentos controle, 50% e 100% de adubação exibiram níveis inferiores a essas referências. Isso sugere que os tratamentos com doses inferiores podem não ter fornecido nutrientes suficientes para atender às demandas da pimenta-de-cheiro, resultando nos teores foliares abaixo do considerado adequado.

Tabela 4. Resultados analíticos de macro e micronutrientes em folhas de pimenta-de-cheiro em função de tratamentos com adubação

Tratamento	Macro e Micronutrientes (g/Kg)						Micronutrientes (mg/Kg)				
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Mn	Zn	Fe
Controle	29,24	1,78	11,84	15,49	2,75	8,41	14,36	5,47	12,14	13,15	98,48
Adubação 50%	30,72	2,26	12,81	17,25	4,23	9,56	19,42	5,72	14,31	15,25	105,89
Adubação 100%	34,05	2,64	22,81	19,30	5,66	9,97	24,69	7,15	19,74	19,89	122,88
Adubação 200%	44,46	3,51	28,81	24,82	7,39	10,21	25,26	10,47	92,37	34,23	177,16

Durante os meses de produção das plantas, isto é, de dezembro a março, foram registradas condições climáticas propícias à infecção das plantas pelo patógeno,

caracterizadas por umidade relativa superior a 80% e temperaturas médias de 27 °C (Figura 3). Nestas condições, conforme relata Pedroso et al. (2020), o fungicida sozinho não é eficiente quanto o uso de mistura de fungicida com outras estratégias de manejo para controlar a doença. Essa constatação sugere que, neste trabalho, os efeitos sinérgicos dos tratamentos foram efetivamente manifestados na redução tanto na incidência quanto da severidade da antracnose.

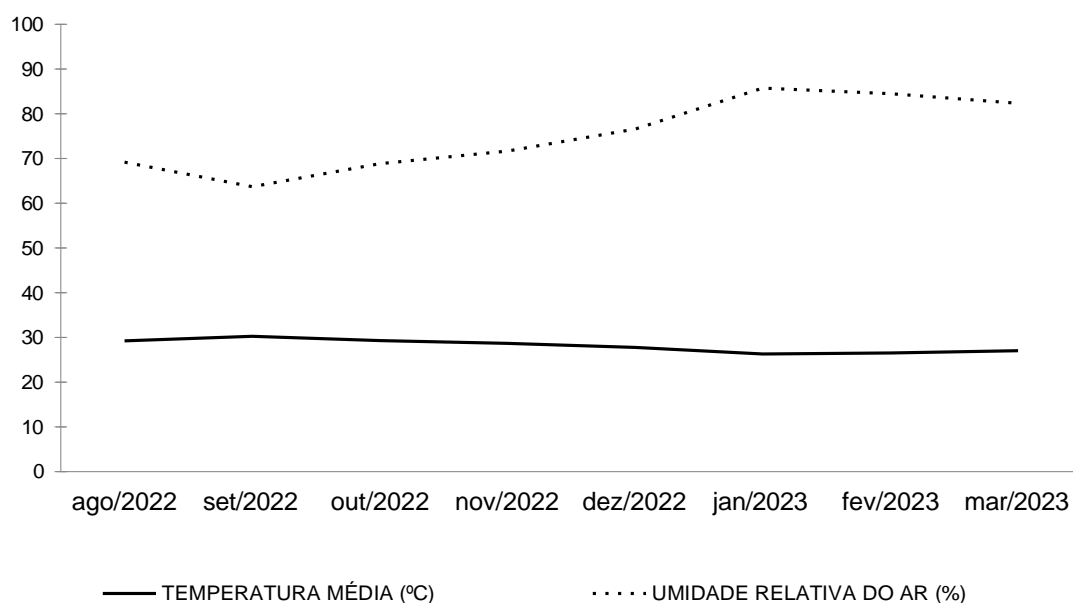


Figura 4. Dados climáticos de umidade relativa do ar (média (%)) e temperatura média (°C) durante o período de realização do experimento. **Fonte:** INMET

A análise das variáveis de produtividade, número de frutos e peso de frutos (Figura 5A e B) revela o ajuste dos dados aos modelos linear e quadrático, apontando para aumento nessas variáveis em resposta às diferentes combinações de fungicida e adubação, assim como no tratamento controle (Figura 5A e B).

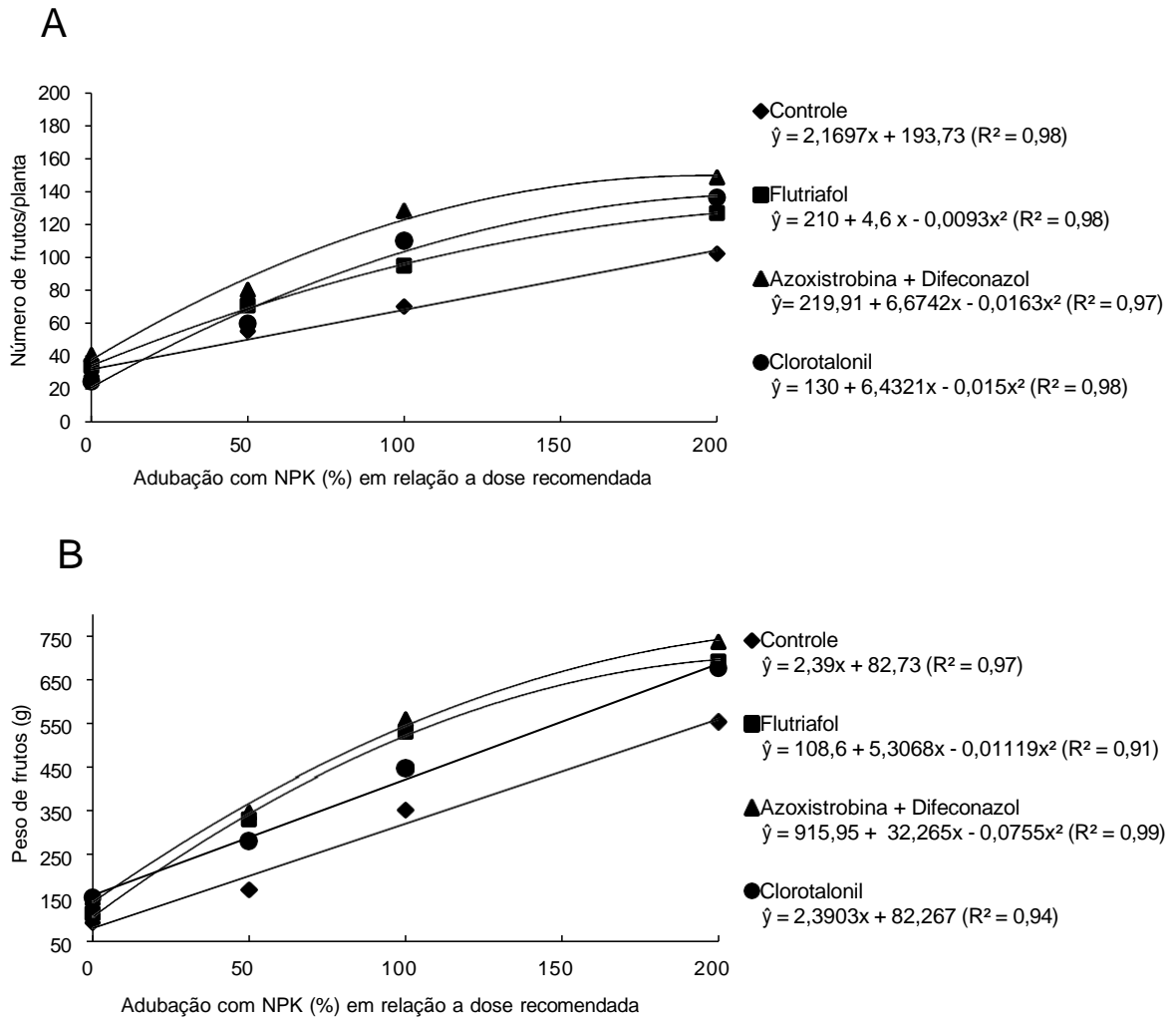


Figura 5. Número de frutos/planta (A) e peso de frutos em função da interação entre fungicidas e adubação com NPK em plantas de pimenta-de-cheiro.

A adubação 200%, quando combinada com o fungicida Azoxistrobina+Difeconazol resultou na maior produtividade, alcançando 148 frutos por planta. Esses valores de produtividade são superiores aos encontrados por (Jesus et al., 2020) para a pimenta Cumari-do-Pará (71 frutos por planta) e para a pimenta Bode-vermelha (55 frutos por planta). Esse resultado destaca a eficácia dessa combinação específica em promover um aumento expressivo na quantidade de frutos produzidos. Além do número de frutos, o peso dos frutos foi maior nas plantas que receberam o dobro da dose recomendada para a pimenta-de-cheiro (adubação 200%) associado ao fungicida Azoxistrobina+Difeconazol. Nesse tratamento, o peso dos frutos atingiu 736,88 g por planta.

Cardoso et al. (2014) relataram que, especialmente as hortaliças do gênero *Capsicum* são exigentes quanto às características químicas do solo, havendo a

necessidade da aplicação de grandes quantidades de nutrientes para maximizar sua produtividade.

Quantidades próximas aos encontrados neste estudo para o número de frutos nos tratamentos Flutriafol na adubação 100% (94 frutos) e Azoxistrobina+Difeconazol na adubação 50% (81 frutos) foram registrados por SINGH *et al.* (2022), que encontraram número máximo de 85 frutos em plantas de pimenta-de-cheiro submetidas a diferentes doses de adubação com NPK.

A análise do efeito da adubação com NPK sobre a altura de plantas (AP) e peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) revela padrões importantes. O ajuste dos dados aos modelos quadrático e linear mostra diferentes comportamentos para estas variáveis. O modelo quadrático para altura de plantas sugere que o aumento das doses de adubação pode resultar em maiores alturas, com a máxima alcançada na dose de 200%.

Esse comportamento indica uma resposta positiva inicial às doses crescentes, mas com uma tendência a estabilizar ou diminuir com doses mais elevadas. Os valores obtidos, variando de 49,75 cm sem adubação a 94,66 cm na dose de 200%, estão alinhados com resultados anteriores, já descritos, em condições de campo (Domenico *et al.*, 2012), indicando que a adubação com NPK influencia significativamente o crescimento das plantas (Singh *et al.*, 2022).

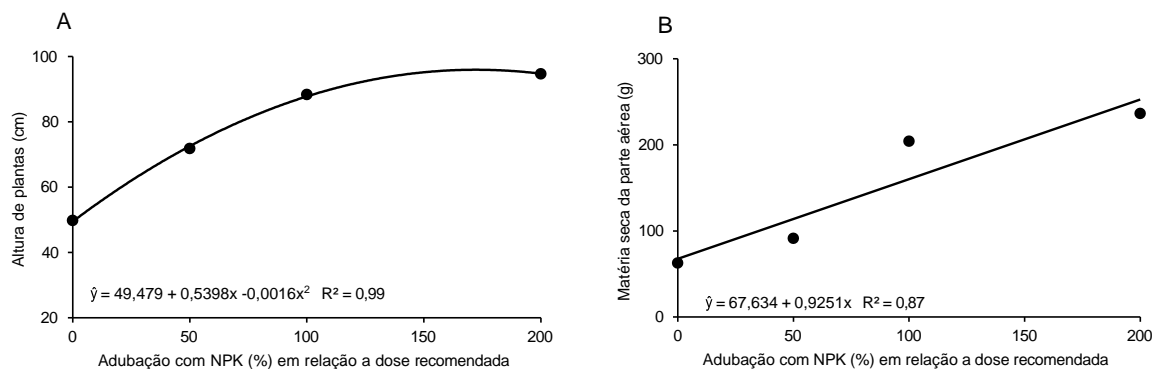


Figura 6. Altura de plantas (A) e peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) em função das doses de adubação com NPK.

Singh *et al.* (2022) relatam que a aplicação de NPK acima das doses recomendadas proporcionou maior altura de plantas de pimenta-de-cheiro, alcançando 85,83 cm.

Para o peso da matéria seca da parte aérea, o modelo linear sugere que o

aumento nas doses de adubação resulta em um aumento proporcional no peso da matéria seca. Diferentemente da altura das plantas, não parece haver uma estabilização ou diminuição com doses mais elevadas. A maior MSPA foi observada na dose de 200%, indicando que uma maior disponibilidade de nutrientes está diretamente associada a um aumento na biomassa da parte aérea.

CONCLUSÕES

A interação entre fungicidas e adubação no manejo da antracnose e no desempenho produtivo de plantas de pimenta-de-cheiro deve ser sempre considerada.

A adubação 100% e 200% da dose recomendada, quando combinadas com o fungicida Azoxistrobina+Difeconazol, se destacaram como as melhores estratégias para reduzir a incidência e severidade da antracnose.

Para as variáveis de produção, a adubação 100% e 200% quando combinada com os diferentes fungicidas contribuíram para o maior número e peso de frutos.

A combinação dos fatores estudados não teve efeito em variáveis de crescimento como altura de plantas e peso da matéria seca da parte aérea. No entanto, para essas variáveis, a adubação emergiu como fator preponderante, demonstrando influência significativa.

A análise foliar reforça a importância da adubação adequada, indicando que doses menores podem não suprir adequadamente as exigências nutricionais da pimenta-de-cheiro.

REFERÊNCIAS

- Almeida, L.B., K.S. Matos, L.A.G. Assis, R.E. Hanada, and G.F. da Silva. 2017. First report of anthracnose of *Capsicum Chinense* in Brazil caused by *Colletotrichum brevisporum*. *Plant Dis.* 101(6): 1035. doi: 10.1094/PDIS-01-17-0099-PDN.
- Almeida, B.M., V.B. Silva, A.C. de A. Lopes, A.P. Peron, and L. de L. Feitoza. 2020. Pimentas *Capsicum L.*: Aspectos botânicos, centro de origem, diversificação e domesticação, importância socioeconômica e propriedades terapêuticas (Parte I). In: Matos, R.R.S. da S., Leite, M.R.L., and Machado, N.A.F., editors, *As vicissitudes da pesquisa e da teoria nas ciências agrárias*. 1st ed. Atena, Ponta. p. 33–47
- Alvares, C.A., J.L. Stape, P.C. Sentelhas, J.L. De Moraes Gonçalves, and G. Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol.*

- Zeitschrift 22(6): 711–728. doi: 10.1127/0941-2948/2013/0507.
- Alves, K.S., and E.M. Del Ponte. 2021. Analysis and simulation of plant disease progress curves in R: introducing the epifitter package. *Phytopathol. Res.* 3(1). doi: 10.1186/s42483-021-00098-7.
- Berni, R.F., and M.O. Cardoso. 2013. Custos Operacionais na Cultura da Pimenta-de-Cheiro e Estimativa da Renda Familiar em Várzea do Amazonas. *Embrapa Amaz. Ocidental.* 1: 20.
- Brasil, E.C., M. da S. Cravo, and I. de J.M. Viégas. 2020. *Recomendações de adubação para o estado do Pará.* 2nd ed. Embrapa Amazônia Oriental, Brasília, DF.
- Campbell, L., and L. V Madden. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology.* 1st ed. Wiley–Blackwell, New York.
- Domenico, C.I., J.P. Coutinho, H.T. Godoy, and A.M.T. de Melo. 2012. Caracterização agrônômica e pungência em pimenta-de-cheiro. *Hortic. Bras.* 30(3): 466–472. doi: 10.1590/S0102-05362012000300018.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations - Statistics Division). 2024. Production/crops: Chillies and peppers. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> (accessed 11 February 2024).
- Ferreira, E.B., P.P. Cavalcanti, and D.A. Nogueira. 2014. ExpDes: An R Package for ANOVA and Experimental Designs. *Appl. Math.* 05(19): 2952–2958. doi: 10.4236/am.2014.519280.
- Giannini, P. de A., M.G. dos Santos, C.A. dos Santos, and M.G.F. do Carmo. 2023. *Cultivo e Uso de Pimentas Capsicum.* 1st ed. Programa de Pós-Graduação em Agricultura Orgânica, Seropédica:RJ.
- Gomes, E.C., and I.M.R. de S. Serra. 2013. Eficiência de produtos naturais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em pimenta na pós colheita. *Summa Phytopathol.* 39(4): 290–292. doi: 10.1590/S0100-54052013000400011.
- Hanada, R.E., L. Gasparotto, J.C.. Pereira, and L.A.. Assis. 2011. Danos causados por *Colletotrichum* sp. em pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*) e recomendações de controle. *Trop. Plant Pathol.* 36(36): 1.
- Huber, D., V. Römheld, and M. Weinmann. 2012. Relationship between Nutrition, Plant Diseases and Pests. *Marschner's Miner. Nutr. High. Plants Third Ed.:* 283–298. doi: 10.1016/B978-0-12-384905-2.00010-8.
- IDAM. 2023. *Producao Vegetal 4º Trim - 2022. Relatório de acompanhamento trimestral,* Manaus, AM.
- Jesus, G.C.R., E.C. Freitas Neto, M.J.M. Barraque, P.H.G. Mesquita, C.R. da S. Curvêlo, et al. 2020. Qualidade e produtividade de variedades botâncias de pimenta (*Capsicum chinense*) fora da região Amazônica, seu centro de diversificação. *Brazilian J. Dev.* 6(5): 32378–32389. doi: 10.34117/bjdv6n5-618.
- Kharkwal, M., J.P. Mishra, and R. Prasad. 2020. In vitro evaluation of different fungicides in inhibiting the mycelia growth of *Colletotrichum capsici* causing Anthracnose of chili. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 9(3): 919–921.

- MAPA. 2024. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO. AGROFIT. http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons (accessed 12 February 2023).
- Marschner, P. 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. School of Agriculture, Food and Wine The University of Adelaide Australia, Adelaide, Austrália.
- Moreira, A., P.C. Teixeira, R.A. Zaninetti, and C.G.P. Júnior. 2010. Fertilizantes e Corretivo da Acidez do Solo em Pimenta-de Cheiro (*Capsicum chinense*) Cultivada no Estado do Amazonas (1ª Aproximação). 1st ed. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.
- Oliveira, C.V.S., K.S. Matos, D.M.C. De Albuquerque, R.E. Hanada, and G.F. Da Silva. 2017. Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. Genet. Mol. Res. 16(2). doi: 10.4238/gmr16029601.
- Parisi, M., D. Alioto, and P. Tripodi. 2020. Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): Sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. Int. J. Mol. Sci. 21(7). doi: 10.3390/ijms21072587.
- Park, S., W.Y. Jeong, J.H. Lee, Y.H. Kim, S.W. Jeong, et al. 2012. Determination of polyphenol levels variation in *Capsicum annuum* L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Chem. 130(4): 981–985. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.026.
- Pedroso, C., J.J. Dias-Neto, M. Rossato, L.M. dos Anjos, and A.C. Café-Filho. 2020. Managing sweet pepper anthracnose by choice of planting season, organic soil mulch, fungicide and moderate nitrogen fertilization. Phytoparasitica 48(4): 525–533. doi: 10.1007/s12600-020-00819-2.
- Pérez-Harguindeguy, N., S. Díaz, E. Garnier, S. Lavorel, H. Poorter, et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. Aust. J. Bot. 61(3): 167–234. doi: 10.1071/BT12225.
- Pooja, G., S. Simon, and C. Gaddam Pooja. 2019. Integrated approaches for management of anthracnose of chilli (*Capsicum annuum* L). ~ 422 ~ J. Pharmacogn. Phytochem. 8(1): 422–427.
- Rashid, M.M., M.H. Kabir, M.M. Hossain, M.R. Bhuiyan, and M.A. Iqbal Khan. 2014. Eco-Friendly Management of Chilli Anthracnose (*Colletotrichum capsici*). Int. J. Plant Pathol. 6(1): 1–11. doi: 10.3923/ijpp.2015.1.11.
- Reddy, Y.N.P., S.S. Jakhar, and O.S. Dahiya. 2019. Management of Fruit Rot of Chilli caused by *Colletotrichum capsici*. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 8(05): 523–538. doi: 10.20546/ijcmas.2019.805.062.
- Ro, N.Y., R. Sebastin, O.S. Hur, G.T. Cho, B. Geum, et al. 2021. Evaluation of anthracnose resistance in pepper (*Capsicum* spp.) genetic resources. Horticulturae 7(11). doi: 10.3390/horticulturae7110460.
- Saxena, A., R. Raghuwanshi, V.K. Gupta, and H.B. Singh. 2016. Chilli anthracnose: The epidemiology and management. Front. Microbiol. 7(SEP): 1–18. doi:

10.3389/fmicb.2016.01527.

- Singh, S.R., N.T. Ao, H.M. Devi, S.H. Singh, S. Debbarma, et al. 2022. Efficacy of Different Levels of NPK against Anthracnose of King Chilli (*Capsicum chinense*) Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) and Impact on Their Growth Parameters and Yield in Manipur. *Int. J. Environ. Clim. Chang.*: 637–647. doi: 10.9734/ijecc/2022/v12i121501.
- Spann, T.M., and A.W. Schumann. 2010. Mineral Nutrition Contributes to Plant Disease and Pest Resistance. *Edis* 2010(4): 1–5. doi: 10.32473/edis-hs1181-2010.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2017. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*.pdf. 6th ed. Artmed, Porto Alegre.
- Tofoli, J.G., R.J. Domingues, and J. Takasaki Ferrari. 2015. Anthracnose in Solanaceous: Etiology, Characteristics and control. *Biológico* 77(1): 73–79.
- Twardowaki, T. 2010. Chances, perspectives and perigos of GMO in Agriculture. *J. Fruit Ornam. Plant Res* 18(2): 63–69.