

FITOSSANIDADE

REAÇÃO DE PROGÊNIES DE PIMENTÃO AO *POTATO VIRUS Y*⁽¹⁾

HUMBERTO SACCHI^(2,3); ARLETE MARCHI TAVARES DE MELO⁽²⁾;

ADDOLORATA COLARICCIO⁽⁴⁾

RESUMO

Este trabalho teve como metas avaliar a reação de progênies de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a um isolado de *Potato virus Y* (PVY), coletado em plantas de pimentão cv. Magda, em Paulínia (SP) e identificar esse isolado. O isolado foi identificado por meio de testes biológicos de inoculação mecânica em plantas indicadoras, testes sorológicos (TAS-ELISA) empregando-se anticorpos monoclonais para as estirpes, comum (PVY⁰), necrótica (PVY^N) e clorótica (PVY^C). Trinta e cinco progênies de pimentão do programa de melhoramento do IAC, foram inoculadas com este isolado denominado PVY-Pa, e cinco cultivares comerciais foram inoculadas como controle positivo, pois têm uma reação conhecida ao PVY. O delineamento dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os resultados dos testes biológicos e as observações em preparações de contrastação negativa evidenciaram a existência de uma infecção mista, por potyvirus e tobamovirus, nas amostras provenientes de Paulínia. O PVY foi isolado de *Nicotiana glutinosa* com infecção sistêmica, nas quais, foram observadas inclusões cilíndricas do tipo cata-ventos, características da família *Potyviridae*, em cortes ultrafinos de células do mesófilo. Em TAS-ELISA, plantas de *N. glutinosa*, infectadas, apresentaram reação negativa para os anticorpos empregados. Porém, a ausência de sintomas em 'Myr 10' e 'Myr 29', indicou tratar-se da estirpe PVY^m. A avaliação das progênies inoculadas foi feita pela utilização da taxa da proporção entre plantas com ausência e presença de sintomas de PVY. Das progênies avaliadas sete progênies F₃ derivadas de híbridos triplos de pimentão apresentaram plantas com ausência de sintomas, das quais o vírus não pode ser recuperado pela inoculação em *N. glutinosa*, confirmando a ausência de multiplicação do vírus nestes híbridos.

Palavras-chave: *Capsicum annuum* L., melhoramento, *Potato virus Y*, resistência genética.

ABSTRACT

SWEET PEPPER PROGENIES REACTION TO *Potato virus Y*

This research aimed to investigate reaction of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) progenies to an isolate of *Potato virus Y* (PVY) from cv. Magda, from Paulínia, State of São Paulo, Brazil, and to identify this isolate. The identification was made by biological tests, using host plants, and by serological tests

⁽¹⁾ Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, apresentada ao Instituto Agrônomo, Campinas (IAC). Trabalho financiado pela FAPESP. Recebido para publicação em 16 de novembro de 2001 e aceito em 5 de dezembro de 2001.

⁽²⁾ Centro APTA de Horticultura, Instituto Agrônomo (IAC), Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP).

⁽³⁾ Com bolsa de mestrado da FAPESP.

⁽⁴⁾ Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, Caixa Postal 7119, 01064-970 São Paulo (SP).

(TAS-ELISA) employing monoclonal antibodies against the PVY⁰, PVY^N and PVY^C strains. Thirty five progenies, from the IAC improvement program, were inoculated with this isolate, named PVY-Pa, and five commercial cultivars whose reaction to PVY was known were used as positive control. In these experiments a completely randomized design was used. Biological tests and electron microscopy showed a mixed infection by potyvirus and tobamovirus in the original samples of sweet pepper. The PVY was isolated from *Nicotiana glutinosa* leaves with systemic symptoms and in ultra-thin sections, cylindrical cytoplasmic inclusions like pinwheels, were recognized. Such cytopathic effect is unique for the family *Potyviridae*. In TAS-ELISA infected samples of *N. glutinosa* reacted negatively against the monoclonal antibodies employed. However, the absence of symptoms on 'Myr 10' and 'Myr 29' *Capsicum* cultivars was associated with PVY^m strain. Resistance of the sweet pepper progenies was assessed through the ratio between the absence and presence of symptoms. From such progenies, seven F₃ three-way hybrid progenies showed asymptomatic plants from which the virus could not be recovered by inoculation on *N. glutinosa*, thus confirming that the virus does not multiply in those progenies.

Key words: *Capsicum annuum* L., vegetable breeding, *Potato virus Y*, genetic resistance.

1. INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) ocupa papel significativo na olericultura brasileira. Atualmente, é a terceira espécie mais cultivada da família Solanaceae, perdendo apenas para a batata e o tomate. Além disso, encontra-se em destaque por estar entre as dez hortaliças mais importantes do Estado de São Paulo. É plantado em todo o país, e as maiores áreas de cultivo concentram-se na região Sudeste (NASCIMENTO e BOITEUX, 1992; CAMARGO e CAMARGO FILHO, 1998).

A variabilidade genética no gênero *Capsicum* é ampla, com vasta distribuição geográfica, compreendendo desde o sul dos Estados Unidos, México, América Central e América do Sul, até a Bolívia, Argentina, Uruguai e sul do Brasil. As espécies cultivadas do gênero *Capsicum* são diplóides, com 2n=24 cromossomos, autocompatíveis, nas quais a autofecundação parece ser regra geral (PICKERSGILL, 1969; HEISER JUNIOR, 1979; MCLEOD et al., 1983; IBPGR, 1983; CASALI e COUTO, 1984).

Um dos grandes entraves para a produção de pimentão no Estado de São Paulo tem sido a virose causada pelo *Potato virus Y*, espécie pertencente ao gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*, transmitida na natureza por afídeos vetores principalmente, *Myzus persicae* Sulzer (NAGAI, 1983). Os sintomas típicos de PVY em plantas de pimentão são mosaico generalizado nas folhas, necrose, deformação e redução do tamanho dos frutos e da planta (PASKO et al., 1996).

No Brasil, os trabalhos de classificação e incorporação de genes de resistência iniciaram-se na década de 60, pelo pesquisador Hiroshi Nagai, no Instituto Agronômico, em Campinas (SP). Cultivares como Porto Rico Wonder, Mogi das Cruzes, Casca Dura e uma pimenta (*C. annuum*) introduzida da Flórida, denominada P11, foram utilizadas com sucesso na obtenção de resistência ao PVY, cada qual

mostrando resistência específica a uma estirpe (NAGAI, 1971). À época, foram classificadas quatro estirpes, denominadas de Yⁿ, Y^w, Y^f e Y^{ft}. Na década de 80, surgiu a estirpe PVY^m, que superou a resistência da série Agrônômico, especialmente da cultivar Agrônômico 10G, que prevaleceu no mercado por mais de duas décadas (NAGAI, 1993).

As diferentes estirpes de PVY vêm sendo identificadas de acordo com os sintomas causados em hospedeiras diferenciais. Porém, com a mudança dos critérios da classificação de vírus, baseada nas técnicas de RT-PCR e seqüenciamento, novas espécies de vírus foram descritas em pimentão. Assim, propôs-se que a estirpe PVY^m é uma espécie do gênero *Potyvirus* denominada de *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) por INOUE-NAGATA et al. (2001).

Atualmente, os híbridos Magali R e Nathalie e as cultivares Myr 10 e Myr 29 são considerados resistentes à estirpe PVY^m. Segundo ECHER (2001), a resistência de 'Magali R' é controlada por um gene dominante, possivelmente *Pvr4*, enquanto a das cultivares Myr 10 e Myr 29 é resultante do cruzamento do híbrido resistente PM4 com a cultivar suscetível Margareth. O presente trabalho teve como objetivos identificar sorologicamente o isolado PVY-Pa e avaliar a reação de progênies segregantes de pimentão a esse isolado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação no Centro Experimental Central do Instituto Agronômico (IAC), em Campinas, SP, na primavera-verão (2000-2001). Utilizaram-se progênies segregantes do programa de melhoramento de pimentão do Centro de Horticultura do IAC, oriundas de seleções embasadas em características agrônômicas e resistência à infecção natural pelo PVY.

Foram avaliados 35 acessos, sendo nove progênies da série Agrônômico 13 (Grupo AG 13), 20 progênies F₃ derivadas de híbridos triplos resultantes do cruzamento entre híbridos F₁ e 'Myr 29' (Grupo F₃) e 6 progênies F₅ derivadas de híbridos de pimentão do tipo europeu (Grupo F₅). Foram incluídas cinco testemunhas, utilizadas como padrões referenciais de resistência e suscetibilidade ao PVY (Quadro 1).

Como fonte do isolado PVY-Pa, foram utilizadas folhas de plantas de pimentão 'Magda' coletadas em Paulínia, SP. As plantas apresentavam sintomas severos de mosaico caracterizados por faixas de coloração amarela nas nervuras, discreto mosaico bolhoso e distorção do limbo foliar, os ramos apresentavam mosaico em faixas e, os frutos apresentavam alteração de cor, deformação, redução de tamanho e ausência de aspermia. As sementes não apresentavam necrose.

Inicialmente, o isolado PVY-Pa foi inoculado em plantas indicadoras pertencentes à diferentes famílias botânicas, entre elas Amaranthaceae, Chenopodiaceae e Solanaceae. O círculo de hospedeiras foi composto pelas espécies indicadoras: *Chenopodium quinoa* (4 plantas: 3 Inoculadas e 1 Testemunha); *C. murale* (6 plantas: 5I e 1T); *C. amaranticolor* (4 plantas: 3I e 1T), *Gomphrena globosa* (6 plantas: 5I e 1T), *Nicotiana rustica* (6 plantas: 5I e 1T); *Nicandra physaloides* (6 plantas: 5I e 1T); *Nicotiana tabacum* 'Xanthi' (6 plantas: 5I e 1T); *N. glutinosa* (6 plantas: 5I e 1T) e *Datura stramonium* (6 plantas: 5I e 1T). Foram incluídas, ainda, cultivares suscetíveis de *C. annuum* – Yolo Wonder e Magda – e resistentes – Magali R, Myr 10 e Myr 29. Após constatar-se a existência de infecção mista no material original, este foi inoculado em plantas

de *N. glutinosa*, a fim de isolar o potyvírus. Para a manutenção da fonte, plantas sadias de pimentão 'Magda' foram mecanicamente inoculadas com extratos obtidos de plantas de *N. glutinosa* sistemicamente infectadas.

A preparação do inóculo foi realizada pela maceração de 1 g de folhas jovens de pimentão 'Magda' em 5 mL de sulfito de sódio 0,5 %, pH 6,0 (YARWOOD, 1969), em almofariz esterilizado, e pela adição de carvão ativado e Carborundum. O inóculo empregado nos experimentos de transmissão mecânica foi friccionado nas folhas com o auxílio do pistilo de porcelana. A inoculação foi feita no terceiro par de folhas verdadeiras, em plantas com 30 dias de idade. Imediatamente após a inoculação, as folhas foram lavadas com água para retirada do excesso de inóculo.

A identificação sorológica da estirpe do PVY foi feita pelo teste DAS-ELISA (CONVERSE e MARTIN, 1990), empregando-se anticorpos monoclonais contra as estirpes clorótica (PVY^C), necrótica (PVY^N) e comum (PVY⁰), seguindo as recomendações do fabricante (AGDIA).

Para o estudo das alterações ultraestruturais em secções ultrafinas, fragmentos foliares de *N. glutinosa* infectados com o isolado PVY-Pa, foram processados para microscopia eletrônica de transmissão, conforme MARTELLI e RUSSO (1984). Antes de serem examinados ao microscópio eletrônico, os cortes foram contrastados em citrato de chumbo e acetato de uranila a 2%.

A semeadura das progênies foi feita em bandejas de poliestireno expandido contendo 128 células,

Quadro 1. Progênies de pimentão avaliadas quanto à reação ao isolado PVY-Pa. Campinas, SP, 2001

GRUPO F ₃		GRUPO F ₅
11-1-1 = F ₃ (Vidi X Myr 29)	24-2-1 = F ₃ (Reinger X Myr 29)	16-4 = F ₅ Pacific
11-2-1 = F ₃ (Vidi X Myr 29)	24-3-1 = F ₃ (Reinger X Myr 29)	16-8 = F ₅ Pacific
11-7-1 = F ₃ (Vidi X Myr 29)	24-9-1 = F ₃ (Reinger X Myr 29)	16-11 = F ₅ Pacific
11-8-1 = F ₃ (Vidi X Myr 29)	24-10-1 = F ₃ (Reinger X Myr 29)	16-14 = F ₅ Pacific
21-2-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	24-17-1 = F ₃ (Reinger X Myr 29)	17-1 = F ₅ Zarco
21-2-2 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	GRUPO AG 13	18-1 = F ₅ Reinger
21-4-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-1 (AG 9 X Remo)	Testemunhas
21-5-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-2 (AG 9 X Remo)	Magali R
21-6-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-3 (AG 9 X Remo)	Myr 10
21-7-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-4 (AG 9 X Remo)	Myr 29
21-8-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-5 (AG 9 X Remo)	Magda
21-11-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-6 (AG 9 X Remo)	Yolo Wonder
21-16-1 = F ₃ (Pacific X Myr 29)	97-7 (AG 9 X Remo)	
23-2-1 = F ₃ (Zarco X Myr 29)	97-9 (AG 9 X Remo)	
23-12-1 = F ₃ (Zarco X Myr 29)	97-10 (AG 9 X Remo)	

preenchidas com substrato comercial. As mudas foram transplantadas para vasos individuais aos 25 dias da semeadura e a inoculação foi realizada 13 dias após o transplante. Cada planta foi infectada no terceiro par de folhas verdadeiras.

As plantas foram avaliadas aos 15 e 30 dias após a inoculação, quando os sintomas de PVY apresentavam-se bem definidos, utilizando-se os seguintes termos e descrição, conforme proposto por COOPER e JONES (1983):

Classe	Sintoma
Imune	Ausência de sintoma com recuperação negativa.
Tolerante	Ausência de sintoma ou sintomas leves, com recuperação positiva.
Suscetível	Sintomas severos: mosaico generalizado, mosaico bolhoso, distorção foliar, redução da área foliar e da altura de planta .

As plantas sem sintomas característicos de PVY foram selecionadas e transplantadas para o solo, em cultivo protegido, para obtenção de sementes. Para essas duas épocas, não foram realizados os testes de recuperação do vírus e as avaliações foram feitas com base na ausência (AS) e presença de sintomas (PS), obtendo-se a proporção AS:PS.

Em virtude do aparecimento tardio de sintomas nas plantas selecionadas, fez-se uma terceira avaliação aos 70 dias após a inoculação. Em seguida, fez-se a recuperação do vírus a partir de folhas jovens das plantas que mostraram ausência de sintomas de PVY. No teste de recuperação, o inóculo obtido de cada planta foi aplicado mecanicamente em dez plantas de *N. glutinosa*, uma vez que esta espécie responde com sintomas sistêmicos à infecção pelo PVY.

O delineamento experimental constou de 40 tratamentos, com três repetições e dez plantas por parcela.

As parcelas foram dispostas inteiramente ao acaso sobre bancadas, em casa de vegetação. Das 10 plantas de cada parcela, oito foram inoculadas com o vírus e duas apenas com sulfato de sódio, para fins de controle.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 2 encontram-se as reações das cultivares resistentes e suscetíveis e das plantas indicadoras ao PVY-Pa .

Os resultados indicam como o círculo de hospedeiros experimentais deste isolado concentram-se principalmente nas famílias Solanaceae e Chenopodiaceae, infectando diferentes espécies nessas duas famílias. Em contrapartida, não infectou *G. globosa* e *D. stramonium*, das famílias Amaranthaceae e Solanaceae, respectivamente. O PVY – estirpe comum (PVY⁰), isolado de *Solanum palinacanthum*, também apresenta um círculo de hospedeiros restrito a essas duas famílias botânicas, Solanaceae e Chenopodiaceae (COLARICCIO, 1996).

Pelos resultados, verificou-se também, que as cultivares suscetíveis Yolo Wonder e Magda reagiram com lesões locais e sintomas sistêmicos, enquanto as cultivares resistentes Magali R, Myr 10 e Myr 29 não manifestaram sintomas. Os sintomas observados em ‘Magda’ foram idênticos àqueles observados no material original.

O PVY⁰ isolado de *S. palinacanthum*, também manifestou sintomas sistêmicos em ‘Yolo Wonder’ (COLARICCIO, 1996). Considerando a reação negativa do híbrido Magali R e das cultivares Myr 10 e Myr 29 ao isolado PVY-Pa, pode-se sugerir que esse isolado seja o PVY^m. Resultado semelhante foi obtido por BRIOSO et al. (1996) para o isolado obtido de pimentão ‘Margareth’, denominado Rio de Janeiro (RJ).

O Quadro 3 apresenta as reações das diferentes cultivares de pimentão e espécies diferenciais às diversas estirpes do PVY descritas no Brasil e as reações obtidas para o isolado PVY-Pa. Pela comparação dos resultados verificou-se, mais uma vez, a possibilidade do isolado PVY-Pa ser a estirpe PVY^m.

COLARICCIO (1996) identificou um isolado severo de potyvírus em pimentão ‘Magali’, na região de Araçatuba, o qual induziu sintomas sistêmicos em ‘Magda’ e ‘Yolo Wonder’, mas não em ‘Myr 10’. Entretanto, testes sorológicos de DAS-ELISA com anticorpos monoclonais da AGDIA identificaram o isolado como PVY – estirpe comum (COLARICCIO, 2001)⁵. Por sua vez, INOUE-NAGATA et al. (2001) e INOUE-NAGATA (2002), estudando isolados de ‘Magda’ e ‘Magali’, coletados em Bragança Paulista (SP), e no Distrito Federal respectivamente, por meio de técnicas de RT-PCR e seqüenciamento, sugeriram tratar-se de uma nova espécie, denominada de *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV).

(⁵) COLARICCIO, A. Comunicação pessoal. 2001.

As alterações de ultraestrutura induzidas pelo isolado PVY-Pa em folhas infectadas de *N. glutinosa* ocorreram principalmente, no citoplasma pela presença de inclusões cilíndricas semelhantes a cata-ventos. Essas inclusões são características de *Potyviridae*. O mesmo tipo de inclusões foi observado por COLARICCIO (1996) no citoplasma de células de *N. glutinosa* infectada pelo PVY – estirpe comum.

Os resultados obtidos no teste DAS-ELISA foram negativos para o isolado PVY-Pa. Portanto, esse isolado não está relacionado sorologicamente com o PVY estirpes necrótica, clorótica e comum, uma vez que, não reagiu com os anticorpos empregados (PVY^N, PVY^C e PVY⁰). Sugere-se que o isolado PVY-Pa tanto pode ser a estirpe PVY^m como a espécie PepYMV proposta por INOUE-NAGATA et al. (2002).

Quadro 2. Reação das plantas indicadoras e de cultivares de *C. annuum* ao isolado PVY-Pa. Campinas (SP), 2000

Espécie/Cultivar	Sintoma local	Sintoma sistêmico
<i>C. annuum</i>		
'Yolo Wonder'	LL	MO, RPP, B, RF, D
'Magda'	LL	MO, B, D
'Myr 10'	SS	SS
'Myr 29'	SS	SS
'Magali R'	SS	SS
<i>Chenopodium quinoa</i>	LL	SS
<i>C. murale</i>	LL	SS
<i>C. amaranticolor</i>	LL	SS
<i>Petunia x hybrida</i>	SS	MO
<i>Gomphrena globosa</i>	SS	SS
<i>Nicandra physaloide</i>	LL	MO
<i>Nicotiana rustica</i>	LL, LN	B
<i>N. glutinosa</i>	LL, LN	D, RF
<i>N. tabacum</i> 'Xanthi'	LL	MO, RPP
<i>Datura stramonium</i>	SS	SS

Legenda: LL = lesão local; LN = lesão necrótica; MO = mosaico; SS = ausência de sintomas; D = distorção foliar; RF = redução do limbo foliar, RPP = redução do porte da planta; B = mosaico bolhoso.

Quadro 3. Reação de cultivares de pimentão e espécies diferenciais às estirpes descritas no Brasil e ao isolado PVY-Pa. Campinas, SP, 2000

Espécie/Cultivar	Estirpe de PVY					
	Grupo N	Grupo W				Pa
		n	w	f	ft	
<i>C. annuum</i>						
'Magda'	(-)*	(-)*	(-)*	(-)*	(+)*	(+)
'Yolo Wonder'	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
'Myr 10'	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
'Myr 29'	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
'Magali R'	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Nicandra physaloide</i>	LN	CN, M	CN, M	CN, M	CN, M	CN, M
<i>Datura stramonium</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI

* Nagai, 1971; Meissner Filho e Cupertino, 1990; Nagai, 1993.

Legenda: (-) = resistente; (+) = suscetível; M = mosaico; CN = clareamento de nervuras; LN = lesão local necrótica; NI = não infectado.

Quadro 4. Reação de progênies de pimentão ao isolado PVY-Pa, avaliadas por meio de ausência de sintomas (AS), presença de sintomas (PS) e imunidade (IM), em três épocas de avaliação. Campinas, 2000

Progênie	Primeira avaliação	Segunda avaliação	Terceira avaliação
	(15 dias após a inoculação)	(30 dias após a inoculação)	(70 dias após a inoculação)
	Proporção AS:PS	Proporção AS:PS	Proporção IM:PS
Grupo AG13			
97-1	18 : 6	5 : 19	-
97-2	16 : 8	0 : 24	-
97-3	19 : 5	6 : 18	-
97-4	22 : 2	3 : 21	-
97-5	21 : 3	0 : 24	-
97-6	24 : 0	1 : 23	-
97-7	17 : 7	2 : 22	-
97-9	24 : 0	1 : 23	-
97-10	21 : 3	1 : 23	-
Grupo F₃			
11-1-1	22 : 2	7 : 17	-
11-2-1	20 : 4	0 : 24	-
11-7-1	20 : 4	0 : 24	-
11-8-1	24 : 0	18 : 6	18 : 6
21-2-1	24 : 0	20 : 4	24 : 0
21-2-2	22 : 2	16 : 8	-
21-4-1	24 : 0	18 : 6	-
21-5-1	24 : 0	11 : 13	-
21-6-1	24 : 0	18 : 6	18 : 6
21-7-1	23 : 1	22 : 2	-
21-8-1	24 : 0	22 : 2	22 : 2
21-11-1	21 : 2	10 : 14	-
21-16-1	19 : 5	12 : 12	12 : 12
23-2-1	24 : 0	17 : 7	17 : 7
23-12-1	23 : 1	23 : 1	-
24-2-1	18 : 6	1 : 23	-
24-3-1	23 : 1	19 : 5	-
24-9-1	24 : 0	19 : 5	-
24-10-1	15 : 9	0 : 24	-
24-17-1	24 : 0	19 : 5	19 : 5
Grupo F₅			
16-4	19 : 5	13 : 11	-
16-8	19 : 5	1 : 23	-
16-11	16 : 8	0 : 24	-
16-14	22 : 2	7 : 17	-
17-1	22 : 2	0 : 24	-
18-1	22 : 2	4 : 20	-
Magali R	22 : 2	21 : 3	21 : 3
Myr 10	24 : 0	24 : 0	24 : 0
Myr 29	24 : 0	22 : 2	22 : 2
Magda	20 : 4	12 : 12	-
Yolo Wonder	14 : 10	0 : 24	-

Os resultados das avaliações da reação das progênies ao isolado PVY-Pa, aos 15, 30 e 70 dias após a inoculação do patógeno encontram-se no Quadro 4. Nas progênies do Grupo AG13 e do Grupo F5, os resultados obtidos aos 15 dias após a inoculação mostraram maior número de plantas com ausência de sintomas em comparação com o número de plantas com sintomas característicos de PVY.

No entanto, esse resultado se inverteu na segunda avaliação, aos 30 dias após a inoculação das plantas, quando se observou número maior de plantas com sintomas de PVY.

A suscetibilidade observada nas plantas foi devida à ausência do gene de resistência do híbrido 'PM 4', cuja herança é monogênica recessiva. Todavia, quando se observa a proporção AS:PS, verifica-se a existência de plantas sem sintomas em quase todas as progênies avaliadas, indicando a presença do gene de resistência oriundo de 'PM4' em algumas das progênies do Grupo AG13 e que, segundo NAGAI (1993), confere resistência à estirpe PVY^m. Quanto ao Grupo F₅, os catálogos das empresas detentoras dos híbridos Pacific, Reinger e Zarco descrevem-nos como resistentes ao PVY, sem identificar a estirpe. Portanto, a ausência de sintomas observada em algumas plantas pode estar relacionada ao gene de resistência incorporado nesses híbridos.

Como não foram feitos os testes de recuperação do vírus das plantas sem sintomas, é possível que existam genótipos imunes entre as plantas de ambos os grupos, o que poderá ser comprovado em estudos futuros.

Entre as 20 progênies do Grupo F₃, 12 mostraram ausência de sintomas ao isolado PVY-Pa (Quadro 4). A reação de resistência dessas progênies está associada à presença de um gene com herança monogênica dominante (NAGAI, 1993) oriunda de 'Myr-29' e que, segundo ECHER (2001), foi incorporado nessa cultivar por meio do cruzamento entre a cultivar suscetível Margareth e o híbrido resistente PM4. Ainda segundo ECHER (2001), esse gene confere e expressa resistência a todas as estirpes de PVY, inclusive PVY^m. Além do gene de resistência que veio da fonte 'Myr 29', é possível que os genótipos dessas progênies contenham, também, gene(s) de resistência dos parentais 'Pacific', 'Reinger' e 'Zarco'.

Os resultados da avaliação das plantas aos 70 dias após a inoculação encontram-se no Quadro 4. Das 12 progênies selecionadas aos 30 dias após a inoculação, plantas de sete progênies mostraram ausência de sintomas do vírus, foram estas: 11-8-1 (Vidi X Myr-29), 21-2-1, 21-6-1, 21-8-1 e 21-16-1 (Pacific X Myr-29), 23-3-1 (Zarco X Myr-29), e 24-17-1 (Reinger X Myr-29).

Os resultados obtidos na recuperação do vírus em plantas de *N. glutinosa* mostraram-se negativos para todas as plantas selecionadas, indicando ausência de multiplicação do vírus.

O fato sugere uma reação de imunidade dessas plantas ao isolado PVY-Pa. Verificou-se que as melhores progênies foram aquelas derivadas do cruzamento entre Pacific e Myr-29. Além da resistência ao isolado PVY-Pa, os derivados do híbrido triplo (Pacific X Myr-29) possuem características altamente desejáveis incorporadas de 'Pacific', como frutos longos e polpa espessa. Os resultados da avaliação aos 70 dias indicaram que o vírus pode permanecer na planta sem manifestar sintoma, vindo a fazê-lo sob condições favoráveis.

O aumento dos sintomas em algumas plantas ou o aparecimento de sintomas em outras pode ter ocorrido devido a alterações fisiológicas provocadas pela mudança de ambiente e de temperatura e/ou pela idade da planta (COLARICCIO, 1996).

4. CONCLUSÕES

1. Os testes de DAS-ELISA mostraram que o isolado PVY-Pa não está sorologicamente relacionado com as estirpes clorótica (PVY^C), necrótica (PVY^N) e comum (PVY⁰), uma vez que não reagiu com seus respectivos anticorpos.

2. Plantas das progênies derivadas de Agrônomo 13 e das progênies F₅ derivadas de híbridos do tipo europeu apresentaram as menores proporções de plantas sem e com sintomas.

3. Sete progênies F₃ derivadas de híbridos triplos apresentaram alta proporção de plantas sem sintomas de PVY-Pa, cuja recuperação em *N. glutinosa* foi negativa, confirmando a ausência de multiplicação do vírus nas plantas de pimentão.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de auxílio à pesquisa e bolsa de mestrado, e ao Dr. César M. Chagas, do Instituto Biológico, São Paulo, pelo auxílio nas técnicas de microscopia eletrônica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRIOSO, P.S.T.; FERREIRA, M.A.; OLIVEIRA, D.E. "Potato virus Y" - Identificação de uma estirpe infectando naturalmente pimentão (*C. annuum*) e fonte de resistência. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.21, p.226-235, 1996.

- CAMARGO, A.M.M.P.; CAMARGO FILHO, W.P. Área cultivada e regiões produtoras de hortaliças em São Paulo, 1995/96. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. *Resumos...* Petrolina: EMBRAPA/SOB, 1998.
- CASALI, V.W.D.; COUTO, F.A.A. Origem e botânica de *Capsicum*. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.10, n.113, p.8-10, 1984.
- COLARICCIO, A. Identificação do vírus Y da batata, estirpe comum (PVY^o), em *Solanum palinacanthum* Dun. 1996. 112f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CONVERSE, R.; MARTIN, R. Enzyme-linked immunosorbent assay. In: HAMPTON, R.O.; BALL, E.M.; DE BOER, S.H. (Eds.). *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens*. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1990. p.179-204.
- COOPER, J.I.; JONES, A.T. Responses of plants to viruses: proposals for the use of terms. *Phytopathology*, St. Paul, v.73, p.127-128, 1983.
- ECHER, M.M. Reação de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a *Phytophthora capsici* e *Potato virus Y* (PVY^m). 1997. 62f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- HEISER JUNIOR, C.B. Peppers, *Capsicum* (Solanaceae). In: SIMMONDS, N.W. (Ed.). *Evolution of crop plants*. London: Longman, p.265-268, 1979.
- INOUE-NAGATA, A. K., FONSECA, M.E.N., LOBO, T.T.A., DE ÁVILA, A.C.; MONTE, D.C. Analysis of the nucleotide sequence of the coat protein and 3'-untranslated region of two Brazilian *Potato virus Y* isolates. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.26, p.45-52, 2001.
- INOUE-NAGATA, A. K., FONSECA, M.E.N., RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; MONTE, D.C.; DUSI, A.N.; ÁVILA, A.C. de; VLUGT, R.A.A. van der. *Pepper yellow mosaic virus*, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. *Archives of Virology*, Vienna, v.147, p.849-855, 2002.
- INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. *Genetic resources of Capsicum*. Rome: IBPGR, 1983. 49p.
- MARTELLI, G.P.; RUSSO, M. The use of thin sectioning for visualization and identification of plant viruses. In: MARAMOROSCH, K.; KOPROWSKI, H. (Eds.). *Methods in Virology*. New York: Academic Press, 1984. v.8, p.143-192.
- McLEOD, M.J.; GUTTMAN, S.I.; ESHBAUGH, W.G.; RAYLE, R.E. An electrophoretic study of valuation in *Capsicum* (Solanaceae). *Evolution*, Lawrence, v.37, n.3, p.562-574, 1983.
- MEISSNER FILHO, P.E.; CUPERTINO, F.P. Reação de *Capsicum annuum* a uma estirpe do vírus Y da batata, isolada de pimentão e tomate. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.15, p. 38-41, 1990.
- NAGAI, H. Novas variedades de pimentão resistentes ao mosaico causado pelo vírus Y. *Bragantia*, Campinas, v.30, p.91-100, 1971.
- NAGAI, H. Melhoramento de pimentão (*Capsicum annuum* L.) visando à resistência ao vírus Y. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.1, n.2, p.3-9, 1983.
- NAGAI, H. Pimentão, pimenta-doce e pimentas. In: FURLANI, A.M.C.; VIEGAS, G.P. (Eds.). *O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo*. Campinas: IAC, cap.7, p.276-294, 1993.
- NASCIMENTO, W.N.; BOITEUX, L.S. Produção de sementes de pimentão em Brasília. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.10, n.2, p.125-126, 1992.
- PASKO, P.; ORTEGA, R.G.; ARTEAGA, M.L. Resistance to *Potato virus Y* in peppers. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, Turim, v.15, p.11-27, 1996.
- PICKERSGILL, B. The domestication of chilli peppers. In: UCKO, P.J.; DIMBLEBY, G.W. (Eds.). *The domestication and exploitation of plants and animals*. London: Chapman and Hall, p.443-450, 1969.
- YARWOOD, C.E. Sulphite in plant virus inoculations. *Virology*, Duluth, v.39, p.74-78, 1969.