

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE**  
**PLANTAS**  
**ADRYELLISON LEMES DE CAMPOS**

**Coleta e caracterização de acessos de *Capsicum* spp. da  
agrobiodiversidade da região Sudoeste do Mato Grosso**

CÁCERES - MT  
MATO GROSSO - BRASIL  
FEVEREIRO - 2014

ADRYELLISON LEMES DE CAMPOS

**Coleta e caracterização de acessos de *Capsicum* spp. da agrobiodiversidade da região Sudoeste do Mato Grosso**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora Profa. Dra. Leonarda Grillo Neves

CÁCERES - MT  
MATO GROSSO - BRASIL  
FEVEREIRO - 2014

Campos, Adryellison Lemes.

C1984c Coleta e caracterização de acessos de *Capsicum* spp. da agrobiodiversidade da região sudoeste do Mato Grosso / Adryellison Lemes de Campos. – Cáceres , 2014  
56 f. ; 30 cm. il.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade do Estado de Mato Grosso.

Bibliografia: f. 49-56

Orientador: Leonarda Grillo Neves

1. Pimentas. 2. Pimentão. 3. Descritores morfoagronômicos. I. Autor. II. Título.

CDU 633.84(817.2)

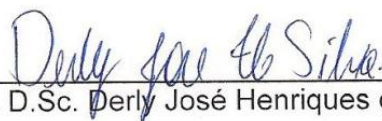
**Coleta e caracterização de acessos de *Capsicum* spp. da  
agrobiodiversidade da região Sudoeste do Mato Grosso**

**Adryellison Lemes de Campos**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das  
exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento de Plantas, para  
obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 18 de fevereiro de 2014.

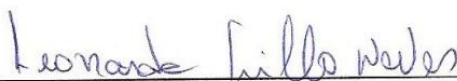
Comissão Examinadora:



Prof. D.Sc. Derly José Henriques da Silva – UFV



Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Rosana Rodrigues – UNEMAT/UENF



Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Leonarda Grillo Neves – UNEMAT  
(Orientador)

Dedico

Aos meus pais, Ricardo Benedito de Campos e Ana Maria Lemes de Campos, e à minha irmã Adryelle Lemes de Campos pelos esforços em prol das minhas realizações profissionais e pessoais.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por tudo;

À Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) pela oportunidade de qualificação;

À professora orientadora Leonarda Grillo Neves, pela orientação, amizade, confiança, incentivo e disponibilidade, que possibilitaram a realização deste trabalho;

Ao professor Marco Antonio Aparecido Barelli, pela confiança e valiosas sugestões;

Ao Santino Seabra Junior, parceiro neste e em outros trabalhos;

Aos demais professores do curso, pela oportunidade de aprendizagem, confiança e incentivo, fundamentais para minha formação acadêmica;

À Cláudia Pombo Sudré pela amizade incondicional, estímulo e contribuição direta na realização deste trabalho;

Aos amigos de Laboratório Sandra da Costa Preisigke e Nadsley Seraglio Souza que compartilharam esta conquista;

À minha família, especialmente aos meus pais, Ricardo Benedito de Campos e Ana Maria Lemes de Campos, e irmã Adryelle Lemes de Campos por todo amor, carinho e incentivo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela concessão de bolsa de mestrado;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio na etapa de análises moleculares.

## BIOGRAFIA

ADRYELLISON LEMES DE CAMPOS nasceu aos 30 de novembro de 1990, no sudoeste do estado de Mato Grosso, na cidade de Cáceres, filho de Ricardo Benedito de Campos e Ana Maria Lemes de Campos.

Estudou o curso de Primeiro Grau no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso – IFMT (antiga Escola Agrotécnica Federal de Cáceres), na cidade de Cáceres – MT. O Ensino Médio foi integrado ao Ensino Técnico em Agropecuária com Habilitação em Agropecuária, o qual foi concluído no ano de 2007.

No ano de 2008, prestou exame vestibular na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* de Cáceres – MT. Ingressou no curso de Agronomia em março de 2008. O curso de graduação compreendeu o período de Março de 2008 a Dezembro de 2011, com a formatura em fevereiro de 2012.

No período de 2010 a 2011 desenvolveu, no Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas da UNEMAT, atividades de Iniciação Científica na área de melhoramento de fruteiras.

No ano de 2012 ingressou no curso de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Genética e Melhoramento de Plantas, na área de melhoramento de olerícolas, na mesma Universidade em que cursou agronomia, porém em associação com a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

## ÍNDICE

|                                                           |      |
|-----------------------------------------------------------|------|
| RESUMO.....                                               | vi   |
| ABSTRACT .....                                            | viii |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                       | 1    |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                            | 2    |
| 2.1 Origem e dispersão de <i>Capsicum</i> .....           | 2    |
| 2.2 Aspectos botânicos.....                               | 3    |
| 2.3 Caracterização e estudo da divergência genética ..... | 4    |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS .....                               | 7    |
| 3.1 Coleta dos acessos .....                              | 7    |
| 3.2 Condições experimentais.....                          | 7    |
| 3.3 Caracterização morfoagronômica.....                   | 8    |
| 3.4 Caracterização molecular .....                        | 11   |
| 3.4.1 Preparo das amostras .....                          | 12   |
| 3.4.2 Extração do DNA.....                                | 12   |
| 3.4.3 Quantificação do DNA.....                           | 13   |
| 3.5. Marcadores ISSR .....                                | 13   |
| 3.5.1 Condições de amplificação .....                     | 13   |
| 3.5.2 Seleção dos iniciadores .....                       | 14   |
| 3.6. Análise estatística de dados .....                   | 14   |
| 3.6.1 Caracterização morfoagronômica .....                | 14   |
| 3.6.2 Análise dos fragmentos amplificados .....           | 15   |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                            | 15   |
| 4.1 Coletas em propriedades.....                          | 15   |
| 4.2. Caracterização morfológica .....                     | 18   |
| 4.3 Caracterização agronômica.....                        | 25   |
| 4.4. Análise molecular .....                              | 27   |
| 4.5. Análise conjunta .....                               | 31   |
| 4.6. Comparação de matrizes.....                          | 33   |
| 5. CONCLUSÕES .....                                       | 34   |



## RESUMO

CAMPOS, ADRYELLISON LEMES DE; M. Sc. UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, Fevereiro de 2014. Coleta e caracterização de acessos de *Capsicum* spp. da agrobiodiversidade da região Sudoeste do Mato Grosso. Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Leonarda Grillo Neves.

Espécies de *Capsicum* são muito importantes no Brasil por fatores econômicos, culturais e biológicos, e o país é considerado centro de diversidade para este gênero. O banco de germoplasma de hortaliças da UNEMAT que está em fase de construção e os objetivos deste trabalho foram: i) resgatar a variabilidade genética existente no gênero *Capsicum* na região Sudoeste do Mato Grosso, para assegurar a conservação desses acessos para usos futuros; ii) caracterizar os acessos coletados com base em descritores morfoagronômicos e marcadores moleculares do tipo ISSR (*inter-simple sequence repeats*); e iii) estimar a divergência genética dos acessos estudados. O trabalho experimental foi dividido em três etapas: o resgate de variabilidade, por meio de visitas a produtores rurais que doaram sementes para a construção do banco, realizadas no período de setembro a novembro de 2012; a caracterização morfológica, agronômica e molecular dos acessos resgatados; determinação da divergência genética entre os acessos estudados. O experimento foi realizado em Cáceres, Mato Grosso. Foram coletados 300 acessos, em 58 propriedades. A coleta de dados morfoagronômicos foi realizada no período de outubro de 2012 a agosto de 2013. Destes 300 acessos, em 80 acessos foram feitas análises moleculares, no período de junho a agosto de 2013, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Os dados foram obtidos seguindo-se os descritores do IPGRI (International Plant Genetic Resources atualmente Bioversity International) para *Capsicum*, para o qual foram usados 70 descritores. A análise dos dados obtidos foi efetuada com o uso de diferentes técnicas de estatística multivariada. Foi elaborada uma matriz de dados binários para análise dos dados moleculares, sendo utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard para estimar a dissimilaridade genética entre os acessos. Na caracterização morfológica foram formados seis grupos bem definidos. Os grupos formados na caracterização agronômica foram diferentes da caracterização morfológica e houve a necessidade de subdividir para melhor distinção dos acessos. Os acessos na análise molecular foram alocados em apenas dois grupos, havendo também a

necessidade de subdividir. Pela análise conjunta (morfológico + agrônomo + molecular) seis grupos foram formados por espécies de *Capsicum*, não havendo duplicatas. Para todos os agrupamentos, o coeficiente de correlação cofenética foi superior a 0,8. Todas as correlações entre a matriz de distância conjunta foram significativas pelo teste de Mantel. A variabilidade da agrobiodiversidade genética da região sudoeste do estado de Mato Grosso foi resgatada, e a análise conjunta dos dados municiou de informações melhores para a mesma.

Palavras-chave: Pimentas, pimentão, descritores morfoagronômicos, marcadores ISSR.

## ABSTRACT

CAMPOS, ADRYELLISON LEMES DE; M. Sc. UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, Fevereiro de 2014. **Coleta e caracterização de acessos de *Capsicum* spp. da agrobiodiversidade da região Sudoeste do Mato Grosso.** Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Leonarda Grillo Neves.

Brazil is the second biggest world producer of pepper (*Capsicum* sp). *Capsicum* species are very important in Brazil because of economic, cultural and biological factors, and the country is considered a diversity center for this genus. The purpose of this work was rescue the genetic variability of *Capsicum* in southwestern Mato Grosso, to increase the germplasm bank of greenery UNEMAT which is under construction, through the implementation of a Collection of Work *Capsicum* and thus ensure the conservation of these accesses for future use; characterize accessions collected based on morphological descriptors and molecular markers of type ISSR (inter-simple sequence repeats) and also to estimate the genetic diversity of accessions. The experiment was conducted in Cáceres, Mato Grosso states. The data were collected descriptor following the IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute, renamed Bioversity International) for *Capsicum* criteria. The data analysis was done using different multivariate statistics techniques. A binary data matrix was designed from molecular data and to estimate genetic dissimilarity Jaccard Index was used and the accessions were clustered using UPGMA. The morphological characterization six well-defined groups were formed. The groups were formed in different agronomic and morphological characterization was necessary to subdivide for better distinction of accesses. Accesses in the molecular analysis were divided into only two groups, there is also the need to subdivide. For the combined analysis (morphological + molecular + agronomic) six groups were formed by species of *Capsicum*, and the results indicated that there are no duplicates. For all groups, the cophenetic correlation coefficient was higher than 0,8.. All correlations between the matrix of joint distance were significant by the Mantel test. The genetic variability of agricultural biodiversity in the Southwest region of the state of Mato Grosso was rescued, and joint analysis of data municipiou better information for the same.

Key words: Pepper, agrobioversity, mutivariate analysis.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, que engloba diferentes grupos varietais de pimentas e pimentões, apresenta expressiva importância econômica, e seus frutos são significativamente utilizados em todo o mundo como fruta fresca, condimentos, especiarias, usos ornamentais, medicinais, na fabricação de gás lacrimogêneo, e são importante fonte de vitaminas A e C (Rêgo et al., 2012; Bosland, 2000). O gênero *Capsicum* pertence à família Solanaceae e acredita-se que sua origem ancestral é da região tropical central da América do Sul, no que é hoje a Bolívia (Olmstead, 2008).

O maior número de espécies (13) está concentrado ao longo de várias regiões do Brasil, que é um dos maiores centros de distribuição do gênero, onde ainda podem ser encontradas formas representativas de espécies domesticadas, semidomesticadas e silvestres (Rêgo et al., 2012).

No Brasil, as pimentas e pimentões são cultivados pelos pequenos agricultores. A área de produção do gênero *Capsicum* é de 12.000 ha, sendo 5.000 ha com pimentas e os principais estados produtores são Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Ceará e Rio de Janeiro. A produtividade anual é de 75.000 t.ha<sup>-1</sup> e varia na faixa de 10-30 t.ha<sup>-1</sup> em pequenas fazendas com área variando de 0,5 a 10 ha (Ribeiro et al., 2008).

A agricultura familiar tem assegurado o uso de práticas de conservação de diversas variedades locais, como as de pimentas e pimentões. Comunidades locais podem contribuir para o uso e conservação de germoplasma adaptado aos agroecossistemas das comunidades agrícolas (Almekinders & Elings, 2001).

A diversidade genética pode ser avaliada de forma simultânea em relação às várias características, e para isso recomenda-se a utilização de medidas de dissimilaridade (Cruz & Carneiro, 2003). Uma forma prática e eficiente de se obter essas medidas é por meio da análise de agrupamentos, a qual tem por finalidade reunir os indivíduos em grupos, de forma que exista a máxima homogeneidade dentro do grupo e a máxima heterogeneidade entre os grupos (Johnson & Wichern, 1992; Cruz & Regazzi, 2001).

Independente da base de dados utilizada, a análise de divergência genética, associada à análise de agrupamentos, pode ser empregada para caracterizar a variabilidade entre os genótipos, e se constituem em excelentes alternativas para

facilitar a interpretação de dados (Monteiro et al., 2010). Entretanto, a geração de um grande número de dados de diferentes categorias (quantitativos, qualitativos e moleculares) pode dificultar a interpretação dos resultados de caracterização e avaliação de acessos. Sendo assim, a análise conjunta das diferentes variáveis pode fornecer melhor distinção entre os genótipos (Gonçalves et al., 2009; Rocha et al., 2010).

O presente trabalho teve como objetivos resgatar a variabilidade genética existente no gênero *Capsicum* na região Sudoeste do Mato Grosso, para incrementar o banco de germoplasma de hortaliças da Universidade do Estado do Mato Grosso (UNEMAT) que está em fase de construção, por meio da implantação de uma Coleção de Germoplasma de *Capsicum* e assim assegurar a conservação desses acessos para usos futuros; caracterizar os acessos coletados com base em descritores morfoagronômicos e marcadores moleculares do tipo ISSR (Inter Simple Sequence Repeats); e ainda estimar a diversidade genética dos acessos estudados.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Origem e dispersão de *Capsicum*

Os pimentões e as pimentas pertencem ao gênero *Capsicum* e ambas as culturas têm importância econômica em diversos países nos mais distintos continentes. As pimentas do gênero *Capsicum* são amplamente cultivadas no mundo, sendo utilizadas como matéria-prima para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (Yamamoto & Nawata, 2005; Bento et al., 2007). As pimenteiras também estão sendo utilizadas como plantas ornamentais, em razão da folhagem variegada, do porte anão e dos frutos com diferentes cores no processo de maturação (Moreira, 2006).

O gênero *Capsicum* possui 31 espécies, algumas com variedades, e dentre essas espécies, cinco com grande importância agrônômica são domesticadas: *C. annum* var. *annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* variedades *pendulum* e *umblicatum* e *C. pubescens* (Moscone et al., 2007). Segundo Carvalho e Bianchetti (2008), as espécies domesticadas cultivadas no Brasil são *C. annum* L. var. *annuum*, *C. baccatum* var. *pendulum* (Wild) Eshbaugh, *C. frutescens* L. e *C. chinense* Jacq.

Três complexos têm sido identificados no gênero *Capsicum*: *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum* e *Capsicum pubescens*. *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens*, seus parentes silvestres e *Capsicum galapagoensis* Hunziker constituem o complexo *Capsicum annuum*. Vários pesquisadores têm argumentado que *Capsicum chinense* e *Capsicum frutescens* devem ser consideradas a mesma espécie (McLeod et al., 1979; Pickersgill, 1971; Walsh & Hoot, 2001). *Capsicum baccatum*, *Capsicum praetermissum* Heiser et Smith e *Capsicum tovarii* Eshbaugh, Smith et Nickrent constituem o complexo *Capsicum baccatum*. A posição de *Capsicum tovarii* neste complexo ainda não está clara (Moscone et al., 2007; Ince et al., 2010). O complexo *Capsicum apubescens* consiste *Capsicum pubescens*, *Capsicum cardenasii* Heiser et Smith e *Capsicum eximium* Hunziker. Finalmente, a relação da espécie silvestre *Capsicum chacoense* Hunziker para estes complexos é ainda pouco claro (Walsh & Hoot, 2001; Tam et al., 2009).

De acordo com Hunziker (2001), podem ser reconhecidos quatro locais do centro de distribuição para *Capsicum*: 1) Sul dos EUA e do México a oeste da América do Sul (Peru, 12 spp.), 2) nordeste do Brasil e da Venezuela costeira (1 sp.), 3) leste do Brasil costeira (10 spp.) , e 4) região central da Bolívia e do Paraguai para o norte e centro da Argentina (8 spp.). O maior número de espécies (16) está concentrado no Brasil (Barboza e Bianchetti , 2005). Vale ressaltar que 16 espécies são endêmicas de diferentes regiões da América do Sul. O local original de domesticação para cada espécie cultivada ainda é muito discutido.

Pimentas estão entre as mais antigas plantas cultivadas nas Américas, e vestígios arqueológicos indicam que *Capsicum annuum*, em particular, foi utilizada pelo homem antes mesmo do advento da agricultura (Pickersgill, 1969). As espécies domesticadas incluem populações, exceto *Capsicum pubescens*, que é conhecida apenas no cultivo. No caso de *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum*, as formas silvestres são distinguidas como variedades taxonômicas, ou seja, *glabriusculum* e *baccatum*, respectivamente.

## 2.2 Aspectos botânicos

*Capsicum frutescens* está distribuída por toda a América Central e planícies da América do Sul, e também em outras regiões tropicais e subtropicais, tais como Ásia, África, e ilhas do Pacífico. *C. frutescens* é geralmente muito picante e tem um

sabor característico que realça o gosto dos alimentos locais nos trópicos. *C. frutescens* apresenta as seguintes características: são plantas perenes e de maturação tardia; a altura varia de 1,5–2,0 m; corola branco-esverdeada; anteras púrpura a azul, às vezes amarelas; nós com um a três pedúnculos eretos; fruto imaturo variando de verde a branco amarelado; fruto maduro vermelho a laranja escuro; caules e folhas glabros a muito pubescentes; folhas maleáveis e mais largas do que as de *C. annuum*; sementes cor creme a amarelo (Yamamoto & Nawata, 2005).

*C. baccatum* var. *baccatum* possui ampla distribuição geográfica, incluindo Colômbia, Equador, Peru e Bolívia, e sudoeste do Brasil. *C. baccatum* var. *baccatum* possui flores brancas com duas manchas esverdeadas na base, enquanto *C. baccatum* var. *praetermissum*, além das cores da outra variedade, apresenta uma característica faixa lilás-violeta na margem das pétalas (Reifschneider, 2000). A espécie *C. baccatum* var. *pendulum* tem manchas amarelas e corola branca, anteras amarelas, caule ereto, uma flor por nó, fruto largo, alongado e persistente. O fruto maduro é laranja (Tong, 1999).

### 2.3 Caracterização e estudo da divergência genética

A divergência genética tem sido avaliada por meio de técnicas biométricas, baseadas na quantificação da heterose, ou por processos preditivos. Na predição da divergência genética, vários métodos multivariados podem ser aplicados. Dentre eles, citam-se a análise por componentes principais, por variáveis canônicas e os métodos aglomerativos. A técnica de análise multivariada tem sido empregada tanto para características expressas por variáveis quantitativas quanto qualitativas, as quais são comumente utilizadas em caracterizações/avaliações em bancos de germoplasma. No caso dos descritores qualitativos geralmente são avaliados os que apresentam várias classes, ou seja, multicategóricos (Pereira e Rodriguês, 2003; Cruz & Regazzi, 1994).

Dos métodos de agrupamento, os mais utilizados são os de otimização e os hierárquicos (Cruz et al., 2011). Os métodos de agrupamento têm por finalidade separar um grupo original de observações em vários subgrupos, de forma a obter homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os subgrupos. Dentre estes métodos, os hierárquicos e os de otimização são empregados em grande escala pelos melhoristas de plantas.

Nos métodos hierárquicos, os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, sendo estabelecido um dendrograma, sem preocupação com o número ótimo de grupos. Para este caso, CRUZ & REGAZZI (2001) apresentam três formas distintas de representar a estrutura de agrupamento com base na distância entre os pares de genótipos: i) utilizando a média das distâncias entre todos os pares de genótipos para formação de cada grupo, denominado método da distância média (UPGMA); ii) utilizando a menor distância existente entre um par de genótipos, denominado de método do vizinho mais próximo ou da ligação simples e iii) utilizando a maior distância encontrada entre um par de genótipos, denominado de método do vizinho mais distante ou ligação completa. Cabe ao pesquisador adotar aquela que melhor represente a estrutura de agrupamento esperada com base no seu conjunto de dados.

Nos métodos de otimização, por sua vez, os grupos são estabelecidos aperfeiçoando determinado critério de agrupamento, diferindo dos métodos hierárquicos pelo fato de os grupos formados serem mutuamente exclusivos (CRUZ & REGAZZI, 2001). No método de otimização proposto por Tocher, é adotado o critério de manter a distância média intragrupos sempre inferior a qualquer distância intergrupos (RAO, 1952)

Vários trabalhos têm utilizado a análise de agrupamentos no estudo da diversidade genética e relatado a subjetividade no estabelecimento do ponto de corte no dendrograma. Dentre eles, Sudré et al. (2005) analisaram a divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas, obtendo a separação dos acessos em sete grupos distintos, utilizando pontos de mudança brusca de nível como referência para estabelecer o corte.

A variabilidade genética de caracteres morfoagronômicos, entre e dentro de agrupamentos de acessos do banco de germoplasma e de cultivares comerciais de *Capsicum* tem sido foco de diversos estudos (Inoue & Reifschneider, (1989); Sapucay et al., (2009); Büttow et al., (2010); Ferrão et al.; (2011)). Entretanto, trabalhos com acessos oriundos da região Sudoeste do Mato Grosso, uma região limítrofe do centro de origem do gênero são inexistentes.

Tradicionalmente, a caracterização de pimentas é feita com descritores morfológicos estabelecidos pelo IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute), a exemplo do trabalho de Bento et al. (2007), que utilizaram 37 descritores e concluíram que houve divergência fenotípica entre os 29 acessos estudados,



demonstrando o potencial dos mesmos para uso em programas de melhoramento. Sudré et al. (2005) utilizaram 11 descritores quantitativos, entre eles a altura de planta, dias para florescimento e número de frutos por planta, sendo observadas diferenças significativas entre os 56 acessos para todos os descritores avaliados. Geleta et al. (2005), encontraram diferenças significantes entre genótipos de *Capsicum annuum* com o uso de 20 características morfoagronômicas, revelando um alto nível de variabilidade genética.

A escolha do método mais adequado para estimar a distância genética tem sido determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade da análise e pela forma como os dados foram obtidos (Cruz e Regazzi, 1994). Entre os trabalhos publicados para o gênero *Capsicum* encontra-se o de Moura et al. (1999), cujo objetivo foi verificar a viabilidade da análise multivariada na identificação de fontes de variabilidade genética entre linhagens de pimentão quanto à eficiência nutricional para o fósforo, concluindo-se que a mesma foi efetiva para detectar divergência genética, como também para identificar o caráter que mais contribuiu para a divergência. Eficiência similar foi relatada em trabalhos com pimentas, nos quais foram aplicados métodos de agrupamento a variáveis quantitativas (Sudré et al., 2005) e qualitativas multicategóricas (Sudré et al., 2006).

Estudos de divergência genética também têm sido realizados utilizando marcadores de DNA. As técnicas mais empregadas nos programas de melhoramento e que utilizam a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) são: a técnica microssatélite ou SSR (Polimorfismo de locus de sequência simples repetida), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), SCAR (Amplificação de região de sequência caracterizada) e AFLP (Polimorfismo no comprimento de fragmentos amplificados) (Zimmer et al., 2005). Os marcadores de DNA têm a vantagem de serem influenciados por pouca ou nenhuma ação do meio ambiente e fornecerem informações diretas sobre o genoma de cada indivíduo (Lefbreve et al., 2001).

As sequências internas simples repetidas (ISSR) constituem uma classe de marcadores que vêm sendo bastante utilizada em estudos de divergência genética. A ISSR-PCR é uma técnica simples, rápida, eficiente e possui alta reprodutibilidade. Os marcadores ISSR têm várias aplicações em genética de populações, por exemplo, no estudo de fluxo gênico, análise de paternidade ou ainda na identificação de cultivares, onde tem sido empregado com mais frequência (Reddy et al., 2002).

Para Arriel (2004) apesar dos caracteres morfológicos serem amplamente usados na caracterização da diversidade, a combinação com os marcadores moleculares poderia fornecer um quadro mais completo para o agrupamento de genótipos e o planejamento de cruzamentos no melhoramento genético vegetal.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta dos acessos

Foram estudados 300 acessos de *Capsicum* spp. para a caracterização dos dados morfoagronômicos. Destes 300 acessos, 80 contribuíram para fazer análise molecular, sendo que apenas 21 acessos contribuíram para fazer a análise conjunta dos dados (morfológica, agrônômica, e molecular). Foi realizada a análise separada destes 21 acessos.

As unidades de coletas de *Capsicum* foram identificadas e catalogadas, por meio de visitas a lojas agropecuárias, locais de comercialização, e mediante identificação de outros produtores de *Capsicum* na região Sudoeste do Estado de Mato Grosso, nos municípios de Cáceres, São José dos Quatro Marcos, Curvelândia e Mirassol d'Oeste, e distrito de Corixa (Brasil).

Após a identificação das regiões produtoras de *Capsicum*, foram realizadas as coletas dos frutos, no período de outubro a dezembro de 2012, para posteriormente fazer a análise do germoplasma coletado. As sementes foram embaladas em sacos de papel com identificação dos acessos e conservadas em geladeira a 5°C com 23% de umidade relativa.

#### 3.2 Condições experimentais

O experimento de campo foi conduzido na área da UNEMAT, Campus de Cáceres – MT. O ambiente de estudo é caracterizado segundo classificação de Köppen, por clima, tropical quente e úmido, com inverno seco (Awa). A temperatura média anual de Cáceres é de 26,24°C. Em Cáceres, o período chuvoso é de quatro meses (dezembro a março) e o período de seca é de oito meses (abril a novembro). O déficit hídrico anual médio é 400,30 mm e o excedente hídrico é de 147,03 mm. O município de Cáceres está localizado na região sudoeste de Mato Grosso, entre as latitudes 15° 27' e 17° 37' sul e as longitudes 57° 00' e 58° 48' oeste, com área de 24.398,399 km<sup>2</sup> a uma altitude de 118 m (Neves et al., 2011).

A produção das mudas foi realizada em ambiente protegido e a semeadura dos acessos foi realizada em bandejas de poliestireno expandido (128 células), contendo substrato Plantmax ®. No ambiente protegido, as plantas foram cultivadas, seguindo os tratos culturais recomendados para a cultura. Após um mês a partir da emergência das plântulas, as mudas foram plantadas em canteiros no espaçamento de 0,8 m entre plantas e 1,2 m entre linhas. As mudas foram dispostas no delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições, com três plantas por parcela. Foram realizados tratos culturais e aplicações de defensivos agrícolas conforme recomendados para a cultura. Foi adotado o sistema de irrigação por gotejamento, sendo utilizados gotejadores autocompensantes.

### 3.3 Caracterização morfoagronômica

A caracterização morfoagronômica foi realizada de outubro de 2012 a agosto de 2013. Foram utilizados 70 descritores, sendo 24 da parte vegetativa, 41 da inflorescência e fruto e cinco da semente. Os acessos foram caracterizados por meio dos descritores morfoagronômicos específicos para *Capsicum* proposto pelo *Bioversity International* (IPGRI, 1995). Os descritores da parte vegetativa foram:

1. Cor do hipocótilo: (1) Branca; (2) verde; (3) violeta.
2. Pubescência do hipocótilo: (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa.
3. Cor da folha cotiledonar: (1) verde claro; (2) verde; (3) verde escuro; (4) violeta claro; (5) violeta; (6) violeta escuro; (7) variegada; (8) amarela; (9) outra
4. Forma da folha cotiledonar: (1) deltóide; (2) ovalada; (3) lanceolada; (4) comprida.
5. Comprimento da folha cotiledonar: (mm) medido através de um paquímetro digital.
6. Ciclo de vida: (1) anual; (2) bianual; (3) perene.
7. Cor da haste: (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa.
8. Antocianina do nodal: (1) verde; (3) violeta claro; (5) violeta; (7) violeta escuro.
9. Formato da haste: (1) cilíndrica; (2) angulada; (3) alada.
10. Pubescência da haste: (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa.
11. Altura da planta: (cm)

12. Hábito de crescimento da planta: (3) prostrado; (5) intermediário; (7) ereto; (9) outro.
13. Largura da haste: Medido imediatamente após a colheita, no ponto mais largo (cm)
14. Comprimento da haste: Altura até a primeira bifurcação (cm). Medida imediatamente após a primeira colheita.
15. Diâmetro da haste: Medido da parte do meio para a primeira bifurcação, imediatamente após a primeira colheita.
16. Densidade de ramificação: (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa.
17. Brotação abaixo da primeira bifurcação: (1) ausente; (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa.
18. Densidade de folhas: (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa.
19. Cor da folha: (1) amarelo; (2) verde claro; (3) verde; (4) verde escuro; (5) violeta claro; (6) violeta; (7) variegada; (8) verde com antocianina.
20. Formato da folha: (1) deltóide; (2) ovalada; (3) lanceolada.
21. Margem da lamina foliar: (1) inteiro; (2) ondulado; (3) ciliado.
22. Pubescência das folhas: (3) esparsa; (5) intermediária; (7) densa
23. Longitude da folha madura: (cm) Medido na maior parte da folha
24. Largura da folha madura: (cm) Medido na maior parte da folha
25. Dias para o florescimento: Número de dias de sementeira até o transplante até que 50% das plantas têm ao menos uma flor aberta
26. Número de flores por axila: (1) uma; (2) duas; (3) três ou mais; (4) muitas com entrenó curto; (5) uma e duas; (6) uma, duas e três; (7) duas e três; (8) duas, três e quatro.
27. Posição da flor: (3) pendente; (5) intermediária; (7) ereta; (9) todas posições; (11) intermediária e ereta; (13) pendente e intermediária.
28. Cor da corola: (1) branco; (2) amarelo claro; (3) amarelo; (4) amarelo esverdeado; (5) violeta com base branca; (6) branco com base violeta; (7) branco com margem violeta; (8) violeta; (9) branco esverdeado; (10) branco com mancha púrpura; (11) branco esverdeado com mancha púrpura.
29. Cor da mancha da corola: (1) branco; (2) amarelo; (3) verde amarelado; (4) verde; (5) violeta; (6) sem mancha.
30. Forma da corola: (1) rotada; (2) campanulada; (3) intermediária.
31. Comprimento da corola (cm): (1) < 15; (2) 1,5 – 2,5; (3) > 25

32. Cor das antera: (1) branco; (2) amarelo; (3) azul pálido; (4) azul; (5) violeta; (6) amarelo com mancha azul-clara
33. Comprimento das anteras;
34. Cor do filamento: (1) branco; (2) amarelo; (3) verde; (4) azul; (5) violeta-clara; (6) violeta; (7) azul-violeta.
35. Posição do estigma: (3) inserto; (5) mesmo nível; (7) exserto; (9) mesmo nível e exserto; (11) inserto e mesmo nível; (13) inserto e exserto.
36. Comprimento do filamento: (mm)
37. Pigmentação do cálice: (0) ausente; (1) presente.
38. Margem do cálice: (1) inteiro; (2) intermediário; (3) dentado.
39. Construção anelar do cálice: (0) ausente; (1) presente.
40. Esterilidade masculina: (0) ausente; (1) presente.
41. Extensão do estigma: (3) inserida; (5) mesmo nível; (7) maior.
42. Dias para a frutificação: Número de dias do transplante até 50% das plantas estiver com frutos maduros na primeira e segunda bifurcação
43. Cor do fruto imaturo: (1) branco; (2) amarelo; (3) verde; (4) laranja; (5) violeta; (6) violeta escuro; (7) amarelo esverdeado; (8) verde amarelado; (9) branco amarelado; (10) marrom. Quando o fruto apresenta mais de uma cor de fruto imaturo, é considerada a cor do primeiro estágio.
44. Frutificação: (1) baixa; (2) intermediária; (3) alta.
45. Período de frutificação: Número de dias desde a primeira frutificação para formação do último fruto
46. Posição do fruto: (3) pendente; (5) intermediário; (7) ereto; (9) todas; (11) pendente e intermediária; (13) pendente e ereto; (15) intermediário e ereto.
47. Cor do fruto maduro: (1) branco; (2) amarelo limão; (3) amarelo laranja pálido; (4) amarelo laranja; (5) laranja pálido; (6) laranja; (7) vermelho claro; (8) vermelho; (9) vermelho escuro; (10) violeta; (11) marrom; (12) preto; (13) amarelo; (14) amarelo pálido.
48. Formato do fruto: (1) alongado; (2) arredondado; (3) triangular; (4) campanulado; (5) retangular.
49. Comprimento do fruto: (1) até 1,0cm; (2) de 1,1 a 2,0cm; (3) de 2,1 a 4,0cm; (4) 4,1 a 8,0cm; (5) de 8,1 a 12,0cm; (6) acima de 12,0cm.
50. Largura do fruto: (1) até 1,0cm; (2) de 1,1 a 2,5cm; (3) 2,6 a 5,0cm; (4) 5,1 a 8,0 cm; (5) acima de 8,0cm. Massa do fruto.

51. Comprimento do pedúnculo: (1) até 2,0cm; (2) de 2,1 a 4,0cm; (3) de 4,1 a 6,0cm; (4) acima de 6,0cm.
52. Massa fresca do fruto (g): (1) até 1,0g; (2) de 1,1 a 3,0g; (3) de 3,1 a 9,0g; (4) de 9,1 a 27,0g; (5) de 27,1 a 81,0g; (6) acima de 81g.
53. Espessura da parede do fruto: (1) até 1,0cm; (2) de 1,1 a 2,0cm; (3) 2,1 a 3,0cm; (4) 3,1 a 4,0cm; (5) de 4,1 a 5,0cm; (6) acima de 5,0cm.
54. Presença de pescoço na base do fruto: (0) ausente; (1) presente.
55. Formato da ponta do fruto: (1) pontiagudo; (2) truncado; (3) afundado; (4) afundado com ponta.
56. Apêndice na ponta do fruto: (0) ausente; (1) presente.
57. Ombro do fruto: (1) agudo; (2) obtuso; (3) truncado; (4) cordado; (5) lobato.
58. Secção transversal do fruto: (3) levemente corrugado; (5) intermediário; (7) corrugado.
59. Número de lóculos: (1) um; (2) dois; (3) três; (4) quatro; (5) cinco.
60. Superfície do fruto: (1) liso; (2) semi-rugoso; (3) rugoso; (4) liso com estrias; (5) semi-rugoso com estrias.
61. Persistência entre fruto e pedicelo: (3) pouco persistente; (5) intermediário; (7) persistente.
62. Persistência entre haste e pedicelo: (3) pouco persistente; (5) intermediário; (7) persistente.
63. Comprimento da placenta: (1) até  $\frac{1}{4}$  do comprimento do fruto; (2) de  $\frac{1}{4}$  a  $\frac{1}{2}$  do comprimento do fruto; (3) acima de  $\frac{1}{2}$  do comprimento do fruto.
64. Aroma do fruto: (1) baixo; (2) médio; (3) alto.
65. Cor das sementes: (1) amarelo; (2) marrom; (3) preto; (4) outra.
66. Superfície das sementes: (1) lisa; (2) rugosa; (3) corrugada.
67. Tamanho das sementes: (3) pequena; (5) intermediária; (7) grande.
68. Diâmetro das sementes: (mm).
69. Massa de 1000 sementes.
70. Número de sementes por fruto: (1) < 20; (2) 20 – 50; (3) > 50.

### 3.4 Caracterização molecular

A caracterização molecular foi realizada de junho a agosto de 2013, no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LGMV)/ Setor de Melhoramento de Plantas do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade

Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes, RJ, conforme protocolos de rotina do Laboratório descritas a seguir:

#### 3.4.1 Preparo das amostras

Uma amostra das sementes dos acessos coletados na região Sudoeste do Estado do Mato Grosso foi enviada para o LGMV. Os acessos foram cultivados em condições de campo e identificados botanicamente pela pesquisadora Cláudia Pombo Sudré.

Após a identificação dos acessos foram coletadas folhas de cada um dos acessos para a extração do DNA.

As folhas jovens, saudáveis e em fase ativa de crescimento foram coletadas logo nas primeiras horas da manhã. As folhas correspondentes a cada acesso foram armazenadas em papel alumínio, identificadas e imediatamente mergulhadas em nitrogênio líquido para que não ocorresse a degradação do DNA. Uma vez no laboratório, este material foi macerado em nitrogênio líquido até formar um pó bastante fino.

#### 3.4.2 Extração do DNA

Cerca de 100 mg de tecido vegetal macerado foram transferidos para tubos de 1,5 mL e imersos em nitrogênio líquido para posteriormente fazer a extração de DNA de acordo com o protocolo de Sharma et al., (2008), com modificações descritas a seguir. Foram adicionados a cada tubo 1 mL do tampão de extração pré-aquecido contendo 2 % CTAB, 2,0 mol L<sup>-1</sup> NaCl, 20 mmol L<sup>-1</sup> EDTA, 100 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8,0), 2 % PVP e 2,0 % β-mercaptoetanol, estes dois últimos necessários para remoção dos compostos fenólicos. Em seguida, foram adicionados 5 µL de proteinase K (10 mg mL<sup>-1</sup>) em cada uma das amostras. Este material foi incubado a 37 °C por 30 minutos e agitado suavemente a cada 10 minutos e, posteriormente, incubado a 65°C por mais 30 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 8000 g durante 10 minutos. O sobrenadante (cerca de 800 µL) foi transferido para um novo tubo devidamente identificado e adicionado igual volume de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1), para se efetuar a desproteinização. Este material sofreu suaves inversões durante aproximadamente 10 minutos até ficar turvo. A fase orgânica foi separada por centrifugação, a 8000 g por 10 minutos.

O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, e em seguida, 200  $\mu\text{L}$  de NaCl a  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  contendo 4 % de PEG foram adicionados, para remoção completa de proteínas e recuperação do DNA, sendo as amostras incubadas por 15 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . O material foi centrifugado a 8000 g por 10 minutos. Os ácidos nucléicos foram precipitados pela adição de dois terços (400  $\mu\text{L}$ ) do volume de isopropanol gelado, e incubados por 20 minutos a  $-70^\circ\text{C}$ . O precipitado foi sedimentado por centrifugação, a 8000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado duas vezes com 200  $\mu\text{L}$  etanol a 75 % com acetato de amônio, para retirada de sal presente (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 8000 g durante 5 minutos). Após o descarte do último

### 3.4.3 Quantificação do DNA

A quantificação do DNA foi realizada usando um espectrofotômetro (NanoDrop® 2000c thermo). Posteriormente o DNA foi diluído ( $5 \text{ ng. mL}^{-1}$ ) para reações de polimerase em cadeia (PCR).

## 3.5. Marcadores ISSR

### 3.5.1 Condições de amplificação

As reações de amplificação foram completadas para um volume final de 19  $\mu\text{L}$ , contendo os seguintes reagentes:  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  Tris HCl, pH 8,3;  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  KCl;  $2,4 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ ;  $100 \mu\text{L mol L}^{-1}$  de cada um dos dNTP;  $0,4 \mu\text{L mol L}^{-1}$  de oligonucleotídeos iniciadores; 5 ng de DNA genômico; 5 ng de DNA genômico e 0,75 unidade de Taq DNA polimerase. Foram aplicadas 2  $\mu\text{L}$  de DNA, e posteriormente adicionado o mix descrito anteriormente. As reações de PCR (termociclador *Applied Biosystems – Veriti*) foram conduzidas da seguinte forma: 3 minutos a  $94^\circ\text{C}$  para desnaturação inicial, seguindo-se os 40 ciclos, cada um consistiu de  $94^\circ\text{C}$  por 1 minuto,  $40 - 55^\circ\text{C}$  por 1 minuto (dependendo do iniciador utilizado),  $72^\circ\text{C}$  por 3 minutos, e uma extensão final a  $72^\circ\text{C}$  por 7 minutos. Os fragmentos amplificados foram então separados em gel de agarose 1,5 %, corados com *gel red*, e submetidos à luz UV para visualização dos resultados (Fotodocumentador *Minibis Pro – Bio-imaging System*). As imagens dos géis foram capturadas para posterior análise.



### 3.5.2 Seleção dos iniciadores

As condições de amplificação foram otimizadas para cada iniciador, detectando-se a temperatura mais adequada para amplificação (Tabela 1).

Tabela 1 Iniciadores de ISSR utilizados, temperaturas de anelamento otimizadas, número de bandas polimórficas e monomórficas geradas no estudo da diversidade genética entre 81 acessos de *Capsicum*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

| Sequência<br>5' – 3' | Ta <sup>1)</sup> | Bandas<br>Polimórficas | Bandas<br>Monomórficas | Total de<br>Bandas |
|----------------------|------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| (AC) 8CT             | 55 °C            | 7                      | 0                      | 7                  |
| (AC)8YG              | 55 °C            | 5                      | 0                      | 5                  |
| (GAA)6AA             | 55 °C            | 7                      | 2                      | 9                  |
| (AC)8T               | 40 °C            | 8                      | 0                      | 8                  |
| (AG)8YT              | 55 °C            | 5                      | 1                      | 6                  |
| (CAC)3               | 55 °C            | 5                      | 0                      | 5                  |
| (GGGTG)3             | 55 °C            | 7                      | 2                      | 9                  |
| (GGAT)3              | 55 °C            | 5                      | 0                      | 5                  |
| (AC)8CTT             | 40 °C            | 8                      | 0                      | 8                  |
| (GT)8CTC             | 55 °C            | 8                      | 1                      | 9                  |
| (CT)8AGG             | 55 °C            | 5                      | 0                      | 5                  |
| (AG)8CG              | 47 °C            | 5                      | 2                      | 7                  |
| (GTG)4RC             | 55 °C            | 5                      | 0                      | 5                  |
| Total                |                  | 80                     | 8                      | 88                 |

R = A, G; Y = C, T

1) Ta = temperatura de anelamento

### 3.6. Análise estatística de dados

#### 3.6.1 Caracterização morfoagronômica

Para a análise dos 300 acessos foi usado o programa GENES, segundo Cruz (2013). Para a análise dos 80 acessos, os dados foram analisados pelo programa SAS para obtenção da matriz de dissimilaridade, e pelo programa R (<http://www.rproject.org>) para obtenção do dendrograma. O agrupamento foi obtido pelo método *Unweighted Paired Group Method using Arithmetic averages* (UPGMA) e a validação pelo coeficiente de correlação cofenético.

### 3.6.2 Análise dos fragmentos amplificados

Para a análise dos fragmentos amplificados dos 80 acessos, os dados foram obtidos pela avaliação visual das bandas. Estes foram utilizados para elaboração de uma matriz de dados binários, utilizada para calcular a matriz de dissimilaridade, em que o número 1 correspondeu à presença de banda, o zero, à ausência de banda, e quando não foi possível determinar se a banda estava presente ou não em função da não amplificação de um dado acesso para um determinado iniciador, foi computado como número 2.

Após a exclusão dos marcadores monomórficos estimou-se a dissimilaridade genética entre os acessos de *Capsicum*. Para obtenção da matriz de dissimilaridade foi utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard.

A dissimilaridade foi calculada pela seguinte equação:  $D_{ij} = 1 - S_{ij}$

onde:

$$S_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

$$a + b + c$$

a = número de bandas presentes nos acessos i, j;

b = número de bandas presentes no acesso i e ausentes no acesso j;

c = número de bandas presentes no acesso j e ausentes no acesso i.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Coletas em propriedades

Os frutos de *Capsicum* spp. coletados nas propriedades rurais tinham diferentes formatos, cores, tamanhos, podendo observar uma ampla variabilidade morfológica (Tabela 2). Dos 300 acessos coletados e avaliados apenas 80 foram identificados.

Tabela 2. Dados de passaporte dos 80 acessos de *Capsicum* spp. Cáceres – MT, 2014.

| Cod. | Acesso | Espécie              | Nome Popular      | Doador           |
|------|--------|----------------------|-------------------|------------------|
| 1    | 93     | <i>C. chinense</i>   | Pimenta de Fritar | Roberto Silva    |
| 2    | 117    | <i>C. chinense</i>   | Pimenta           | Tereza Campos    |
| 3    | 119    | <i>C. frutescens</i> | Pimenta           | Antônio e Tereza |

Tabela 2. Cont ...

Tabela 2. Cont ...

|    |     |                                  |                      |                     |
|----|-----|----------------------------------|----------------------|---------------------|
| 4  | 120 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta              | Antônio e Tereza    |
| 5  | 124 | <i>C. Chinense</i>               | Pimenta de Cheiro    | Elcio Sampaio Filho |
| 6  | 125 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Bodinha      | Tereza Campos       |
| 7  | 126 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta              | Antonio Boger       |
| 8  | 127 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta              | Antonio e Tereza    |
| 9  | 129 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Brava        | Adonias Ribeiro     |
| 10 | 132 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta de Cheiro    | Antonio Boger       |
| 11 | 133 | <i>C. baccatum var pendulum</i>  | Pimenta Dedo de Moça | Pedro Camargo       |
| 12 | 135 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Elcio Sampaio.Filho |
| 13 | 138 | <i>C. baccatum var pendulum</i>  | Pimenta Dedo de Moça | Elcio Sampaio Filho |
| 14 | 140 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Roberto Silva       |
| 15 | 141 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Passarinho   | Maria Menezes       |
| 16 | 142 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta de Cheiro    | Antonio Boger       |
| 17 | 144 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Bobona       | Arlindo Brasdenut   |
| 18 | 145 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta de Cheiro    | Aparecido Benedito  |
| 19 | 146 | <i>C. baccatum var pendulum</i>  | Pimenta Chilena      | Maria Menezes       |
| 20 | 151 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Doce         | Valdemar Oliveira   |
| 21 | 152 | <i>C. glabriusculum</i>          | Pimenta Dedo de Moça | Valdemar Oliveira   |
| 22 | 68  | <i>C. annuum var. annuum</i>     | Pimenta Malagueta    | Valdemar Oliveira   |
| 23 | 69  | <i>C. annuum var. annuum</i>     | Pimenta Dedo de Moça | Valdemar Oliveira   |
| 24 | 70  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Dedo de Moça | Arlindo Brasdenut   |
| 25 | 71  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Aparecido Benedito  |
| 26 | 72  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Dedo de Moça | Maria Menezes       |
| 27 | 74  | <i>C. baccatum var. pendulum</i> | Pimenta Dedo de Moça | Valdemar Oliveira   |
| 28 | 75  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Arlindo Brasdenut   |
| 29 | 76  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Dedo de Moça | Elcio Sampaio Filho |
| 30 | 77  | <i>C. frutescens</i>             | Pimenta Malagueta    | Roberto Silva       |
| 31 | 79  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Passarinho   | Maria Menezes       |
| 32 | 80  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta              | Antonio Boger       |
| 33 | 81  | <i>C. frutescens</i>             | Pimenta              | Antonio e Tereza    |
| 34 | 82  | <i>C. baccatum var. pendulum</i> | Pimenta Dedo de Moça | Roberto Silva       |
| 35 | 84  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Tereza Campos       |
| 36 | 85  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Dedo de Moça | Antônio e Tereza    |
| 37 | 86  | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Roberto Silva       |

Tabela 2. Cont ...

Tabela 2. Cont ...

|    |     |                                     |                      |                     |
|----|-----|-------------------------------------|----------------------|---------------------|
| 38 | 87  | <i>C. frutescens</i>                | Pimenta Passarinho   | Arlindo Brasdenut   |
| 39 | 89  | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Aparecido Benedito  |
| 40 | 92  | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Maria Menezes       |
| 41 | 94  | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Dedo de Moça | Elcio Sampaio Filho |
| 42 | 109 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Malagueta    | Tereza Campos       |
| 43 | 110 | <i>C. frutescens</i>                | Pimenta Dedo de Moça | Antonio Boger       |
| 44 | 111 | <i>C. frutescens</i>                | Pimenta Malagueta    | Arlindo Brasdenut   |
| 45 | 114 | <i>C. baccatum var. pendulum</i>    | Pimenta              | Aparecido Benedito  |
| 46 | 107 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Maria Menezes       |
| 47 | 118 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Antonio Boger       |
| 48 | 108 | <i>C. frutescens</i>                | Pimenta              | Arlindo Brasdenut   |
| 49 | 121 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Aparecido Benedito  |
| 50 | 122 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta de Cheiro    | Antonio Boger       |
| 51 | 123 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta de Cheiro    | Arlindo Brasdenut   |
| 52 | 147 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta de Cheiro    | Aparecido Benedito  |
| 53 | 153 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta de Cheiro    | Antonio Boger       |
| 54 | 139 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Arlindo Brasdenut   |
| 55 | 130 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Aparecido Benedito  |
| 56 | 173 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Maria Menezes       |
| 57 | 58  | <i>C. baccatum var. pendulum</i>    | Pimenta              | Elcio Sampaio Filho |
| 58 | 137 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Dedo de Moça | Roberto Silva       |
| 59 | 179 | <i>C. baccatum var. pendulum</i>    | Pimenta Malagueta    | Maria Menezes       |
| 60 | 78  | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Dedo de Moça | Antonio Boger       |
| 61 | 143 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Dedo de Moça | Arlindo Brasdenut   |
| 62 | 128 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Arlindo Brasdenut   |
| 63 | 176 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Aparecido Benedito  |
| 64 | 54  | <i>C. baccatum var. pendulum</i>    | Pimenta Dedo de Moça | Maria Menezes       |
| 65 | 148 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Malagueta    | Valdemar Oliveira   |
| 66 | 149 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Arlindo Brasdenut   |
| 67 | 38  | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta              | Tereza Campos       |
| 68 | 26  | <i>C. annuum var. glabriusculum</i> | Pimenta              | Elcio Sampaio Filho |
| 69 | 154 | <i>C. chinense</i>                  | Pimenta Dedo de Moça | Roberto Silva       |
| 70 | 155 | <i>C. annuum var. annuum</i>        | Pimenta Malagueta    | Maria Menezes       |
| 71 | 156 | <i>C. annuum var. annuum</i>        | Pimenta Dedo de Moça | Elcio Sampaio Filho |

Tabela 2. Cont ...

Tabela 2. Cont ...

|    |     |                                  |                      |                     |
|----|-----|----------------------------------|----------------------|---------------------|
| 72 | 157 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Tereza Campos       |
| 73 | 158 | <i>C. annuum var. annuum</i>     | Pimenta Passarinho   | Antonio Boger       |
| 74 | 159 | <i>C. frutescens</i>             | Pimenta Dedo de Moça | Elcio Sampaio Filho |
| 75 | 160 | <i>C. baccatum var. pendulum</i> | Pimenta              | Roberto Silva       |
| 76 | 183 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta              | Tereza Campos       |
| 77 | 184 | <i>C. baccatum var. pendulum</i> | Pimenta              | Antonio Boger       |
| 78 | 190 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta de Cheiro    | Antonio e Tereza    |
| 79 | 191 | <i>C. annuum var. annuum</i>     | Pimenta Dedo de Moça | Arlindo Brasdenut   |
| 80 | 192 | <i>C. chinense</i>               | Pimenta Malagueta    | Aparecido Benedito  |

Em todas as propriedades visitadas pode-se observar que o plantio de *Capsicum* é voltado para o consumo próprio e realizado em pequenas áreas, sendo que muitas das vezes são encontradas plantas nos quintais das casas. Entretanto, em algumas propriedades a produção é voltada para a comercialização com uma área que não ultrapassa dois hectares. Houve coleta em todas as propriedades visitadas, porém em algumas propriedades foram coletadas mais de um acesso, e em outras propriedades foi coletado apenas um acesso. A decisão que foi tomada quanto ao número de acessos coletados por propriedade foi a quantidade de acessos existente na propriedade. Segundo Brasil et al., (2009) a agricultura familiar representa mercado de trabalho gerador de emprego e renda para muitos brasileiros.

#### 4.2. Caracterização morfológica

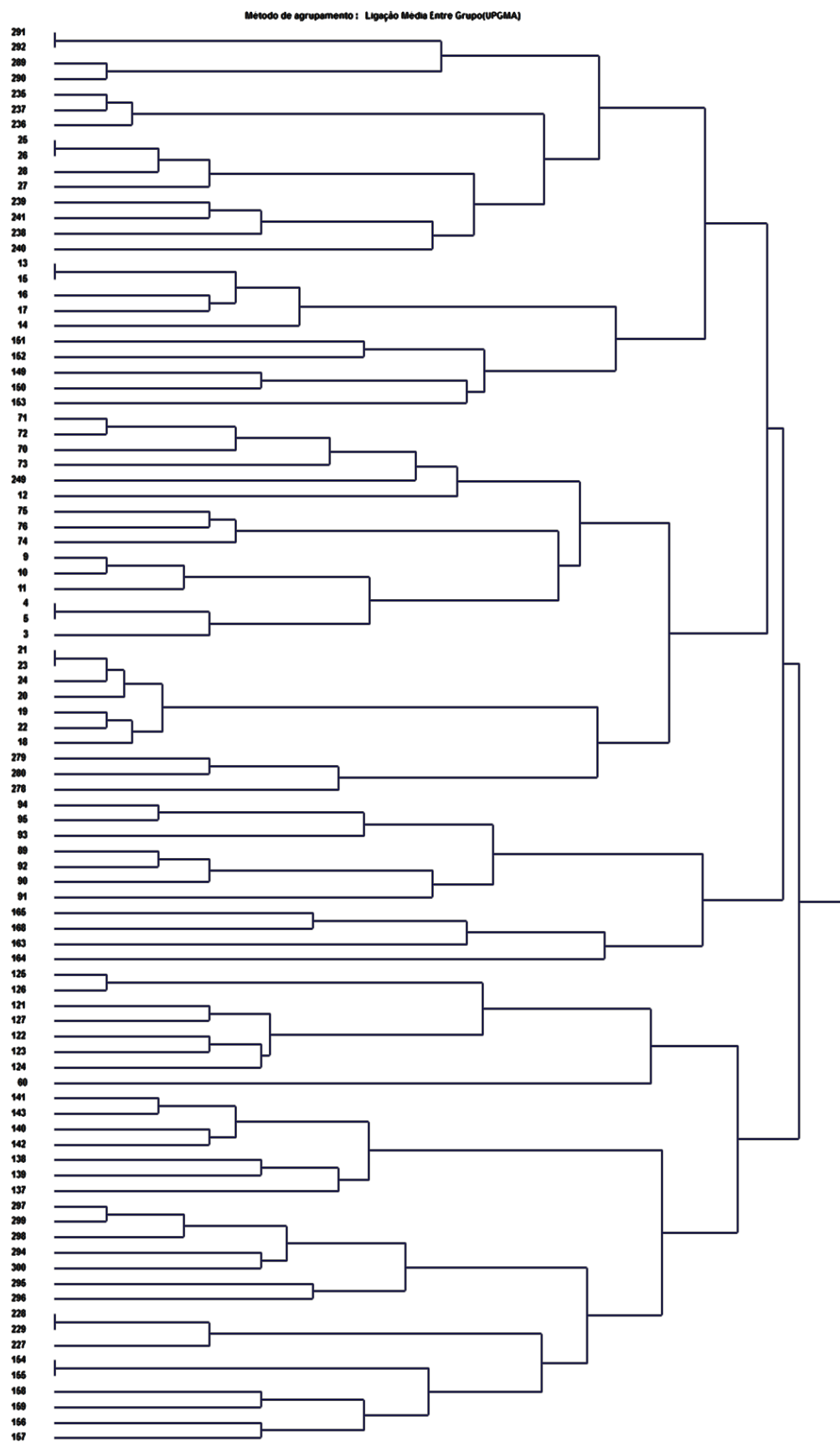
O método de agrupamento UPGMA reuniu os 300 acessos em 25 grupos, conforme a sua similaridade. O coeficiente de correlação cofenética do dendrograma ( $r = 0,58$ ) revelou uma baixa distorção entre a representação gráfica das distâncias e sua matriz original (Rohlf, 2000), possibilitando a realização de inferência por meio da avaliação visual (Figura 1).

O grupo I foi composto por 15 acessos, sendo eles os Códigos (Cód.) 291, 292, 290, 235, 237, 236, 25, 26, 28, 27, 239, 241, 238 e 240. O grupo II foi composto por 10 acessos, são eles: 13, 15, 16, 17, 151, 152, 149, 150, 153. O grupo III foi composto por 15 acessos, são eles: 71, 72, 70, 73, 249, 12, 75, 76, 74, 09, 10, 11, 04, 05, 03. O grupo IV foi composto por 10 acessos, são eles: 21, 23, 24, 20, 19, 18, 279, 280, 278. O grupo V foi composto por 11 acessos, são eles: 94, 95, 93, 89, 92,

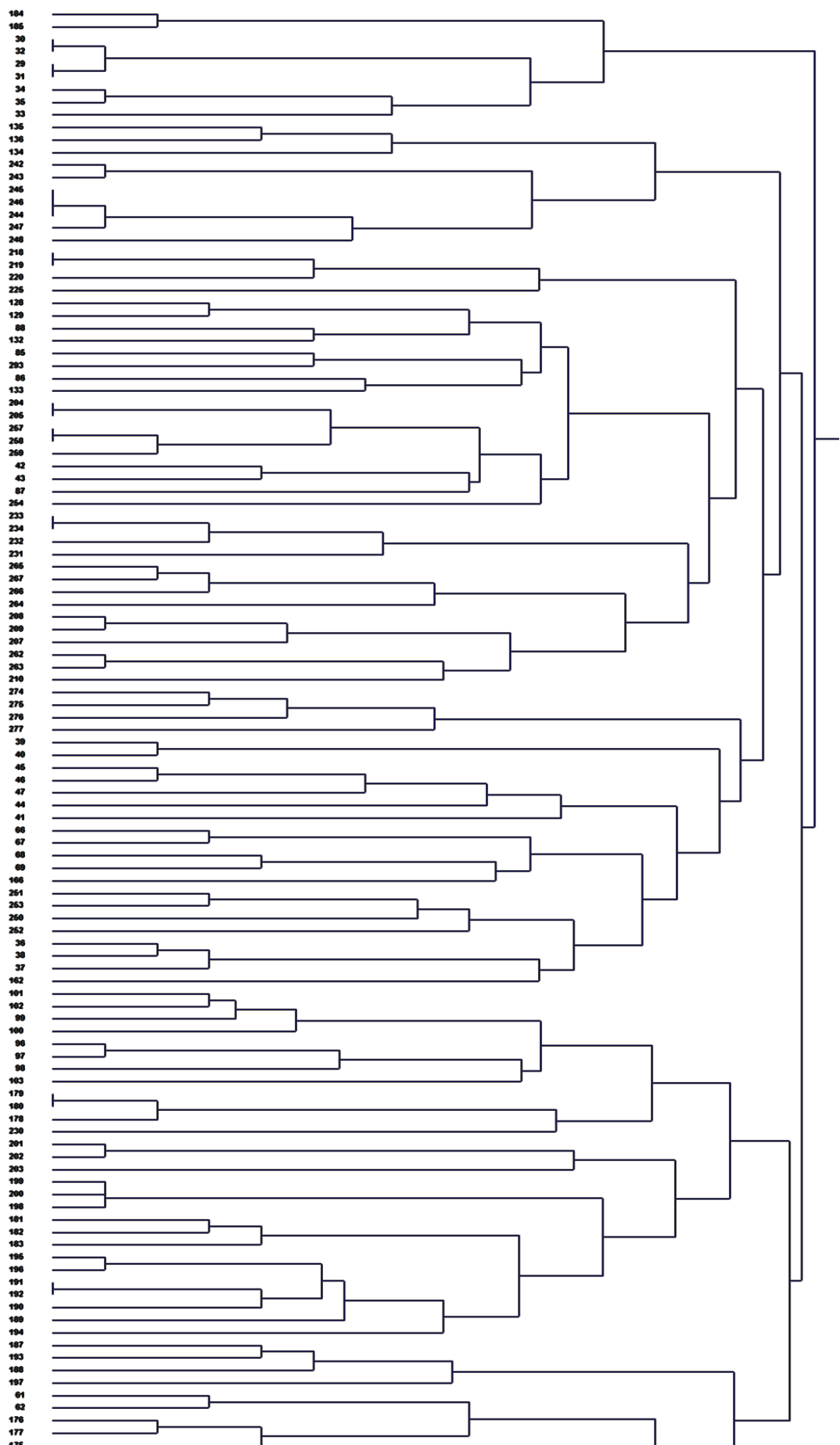
90, 91, 165, 168, 163, 164. O grupo VI foi composto por 08 acessos, são eles: 125, 126, 127, 122, 123, 124, 60. O grupo VII foi formado por 23 acessos, são eles: 141, 143, 140, 142, 138, 139, 137, 297, 299, 298, 294, 300, 295, 296, 228, 229, 227, 154, 155, 158, 159, 156, 157. O grupo VIII foi composto por 09 acessos, são eles: 184, 185, 30, 32, 29, 31, 34, 35, 33. O grupo IX foi composto por 10 acessos, são eles: 135, 136, 134, 242, 243, 245, 246, 244, 248, 247, 248. O grupo X foi composto por 21 acessos, são eles: 218, 219, 220, 225, 128, 129, 88, 132, 85, 293, 86, 133, 204, 205, 257, 258, 259, 42, 43, 87, 254. O grupo XI foi composto por 15 acessos, são eles: 233, 234, 232, 231, 265, 254, 267, 266, 264, 208, 209, 207, 267, 263, 210. O grupo XII foi composto por 24 acessos, são eles: 274, 275, 276, 277, 39, 40, 45, 46, 47, 44, 41, 66, 67, 68, 69, 166, 251, 253, 250, 252, 36, 38, 37, 162. O grupo XIII foi composto por 28 acessos, são eles: 101, 102, 99, 100, 96, 97, 98, 103, 179, 180, 178, 230, 201, 202, 203, 199, 200, 198, 181, 182, 183, 195, 196, 191, 192, 190, 189, 194. O grupo XIV foi composto por 16 acessos, são eles: 187, 193, 188, 197, 61, 62, 176, 177, 175, 173, 174, 169, 171, 170, 172, 167. O grupo XV foi composto por 22 acessos, são eles: 260, 261, 83, 84, 81, 82, 223, 224, 221, 222, 214, 215, 216, 217, 211, 212, 213, 144, 145, 146, 147, 148. O Grupo XVI foi composto por 09 acessos, são eles: 58, 59, 270, 271, 269, 272, 268, 273, 57. O grupo XVII foi composto por 06 acessos, são eles: 130, 131, 255, 256, 206. O grupo XVIII foi composto por 13 acessos, são eles: 48, 49, 63, 64, 65, 287, 288, 286, 281, 282, 284, 285, 283. O grupo XIX foi composto por 09 acessos, são eles: 160, 161, 55, 56, 53, 54, 51, 52, 50. O grupo XX foi composto por apenas 01 acesso que é o 226. O grupo XXI foi composto por 05 acessos: 01, 02, 07, 08, 06. O grupo XXII foi composto por 11 acessos: 116, 120, 117, 118, 119, 104, 105, 107, 108, 106, 109. O grupo XXIII foi composto por 06 acessos: 113, 114, 111, 112, 115, 110. O grupo XXIV foi composto por 04 acessos: 79, 80, 77, 78. O grupo XXV foi composto por apenas 01 acesso que é o 186.

Os acessos mais similares foram os acessos 291 e 292 e por contrapartida, os acessos que foram mais divergentes foram os acessos 291 e 186. Na coleção de trabalho podem-se observar possíveis duplicatas, sendo elas: 291 e 292, 25 e 26, 13 e 15, 4 e 5, 21 e 23, 228 e 229, 154 e 155, 30 e 32, 29 e 31, 245 e 246, 218, e 219, 204 e 205, 257 e 258, 233 e 234, 179 e 180, 291 e 292, 173 e 174, 169 e 171, 281 e 282, 116 e 120, 104 e 105, 113 e 114.

Os resultados foram semelhantes aos trabalhos de Sudré et al. (2006), com divergência genética entre 56 acessos de pimenta e pimentão, com o corte a 70% da distância relativa entre os acessos e a formação de 16 grupos. Monteiro et al. (2010), no estudo de 23 acessos de *Capsicum* spp. com base em 7 descritores quantitativos, um dos seus dendrogramas apresentou um corte aproximadamente 53% de distância genética, no outro, porém, com 19 descritores qualitativos multicategóricos, o corte foi em aproximadamente 73%. Bento et al. (2007) em dendrograma obtido pelo método do vizinho mais próximo procedeu o corte a 68% no estudo com o mesmo gênero.







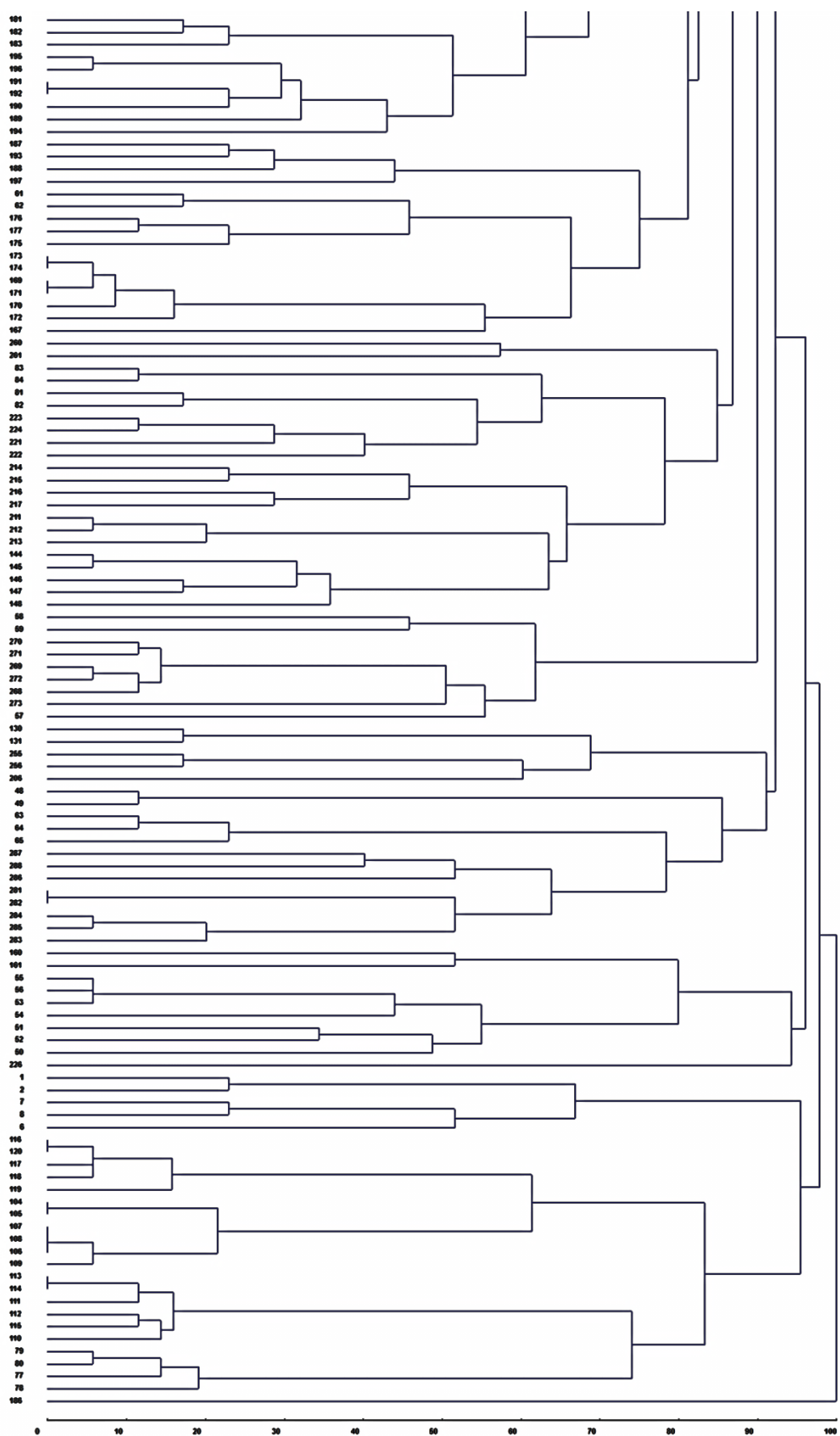


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 300 acessos de *Capsicum* spp., obtido pelo método hierárquico de UPGMA, com base na matriz de dissimilaridade. Cáceres-MT, 2013.

Foram utilizados 21 acessos na estimativa da diversidade genética referente a todos os descritores morfológicos de *Capsicum*, sendo os mesmos acessos nas caracterizações agronômica e molecular.

Foi obtido um dendrograma para os dados gerados com base nos descritores morfológicos (Figura 2), e realizado um corte a uma distância de 0,31 considerando um ponto de abrupta mudança, o que proporcionou a formação de cinco grupos.

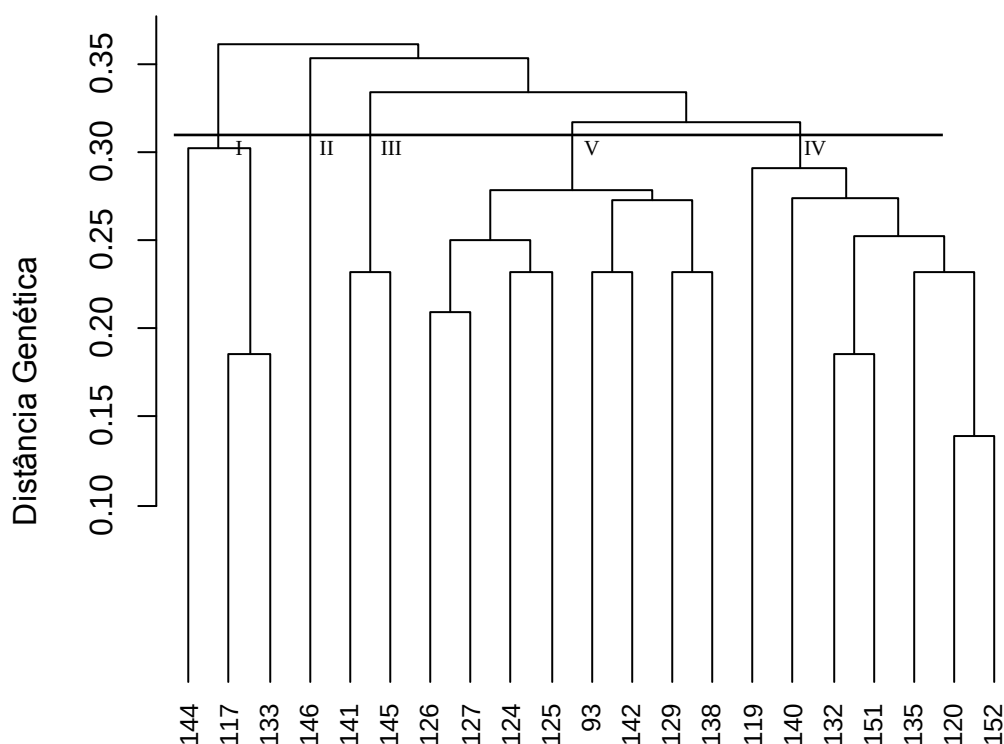


Figura 2. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo índice ponderado entre 21 acessos de *Capsicum*, por descritores morfológicos. Cáceres, MT, 2013.

Os dados foram agrupados pelo método de UPGMA. A correlação cofenética entre os dados da matriz da distância e do agrupamento foi de 0,81.

O grupo I foi composto por três acessos sendo eles: 144 (*Capsicum chinense*), 117 (*Capsicum chinense*) e 133 (*Capsicum baccatum* var *baccatum*). Apesar do acesso 133 (*Capsicum baccatum* var *baccatum*) ser diferente dos acessos 144 e 117 (ambos *Capsicum chinense*) esse grupo foi representado por folhas largas e frutos grandes.

O grupo II é constituído por apenas um acesso (acesso 146). Este acesso pertence à espécie *C. baccatum* var *pendulum*. E foi agrupado isolado por possuir

cor das anteras amarelas, cor da corola branca com manchas amarelas, e fruto pequeno. O grupo III, constituído pelos acessos 141 (*Capsicum chinense*) e 145 (*Capsicum chinense*), que se caracterizaram por possuírem frutos pequenos, coloração amarela, e posição da flor ereta. O grupo IV reuniu oito acessos (126 (*Capsicum chinense*), 127 (*Capsicum chinense*), 124 (*Capsicum chinense*), 125 (*Capsicum chinense*), 93 (*Capsicum chinense*), 142 (*Capsicum chinense*), 129 (*Capsicum chinense*), 138 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*)) que possuíram como características similares tamanho de folha, cor de flor, e formato do fruto. Utilizando os métodos de agrupamento de Tocher e UPGMA em estudo sobre diversidade genética entre 23 acessos de espécies cultivadas de pimentas *Capsicum* spp., Monteiro et al. (2010) relataram que a espécie *C. chinense* foi a mais divergente em todos os agrupamentos. Este fato está de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, evidenciando o elevado número de acessos num mesmo grupo.

No grupo V foram agrupados os acessos 119 (*Capsicum frutescens*), 140 (*Capsicum chinense*), 132 (*Capsicum chinense*), 151 (*Capsicum chinense*), 135 (*Capsicum chinense*), 120 (*Capsicum chinense*), e 152 (*Capsicum glabriusculum*). O grupo V foi composto por acessos que possuem como características similares a cor do fruto vermelho.

Os acessos mais divergentes foram o 142 (*Capsicum chinense*) e o 126 (*Capsicum chinense*). Entretanto, ambos são da mesma localidade, evidenciando a ausência de cruzamento nestes acessos. Por sua vez, os acessos 125 (*Capsicum chinense*) e 126 (*Capsicum chinense*) são os mais similares.

Todas as características estudadas contribuíram para a dissimilaridade genética dos acessos estudados.

#### 4.3 Caracterização agronômica

A caracterização agronômica entre os 21 acessos foi avaliada utilizando-se o método da ligação média entre grupos ou UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (Figura 3). Foi obtida uma correlação cofenética de 0,82 proporcionando a formação de três grupos, sendo realizado um corte de 1,5.

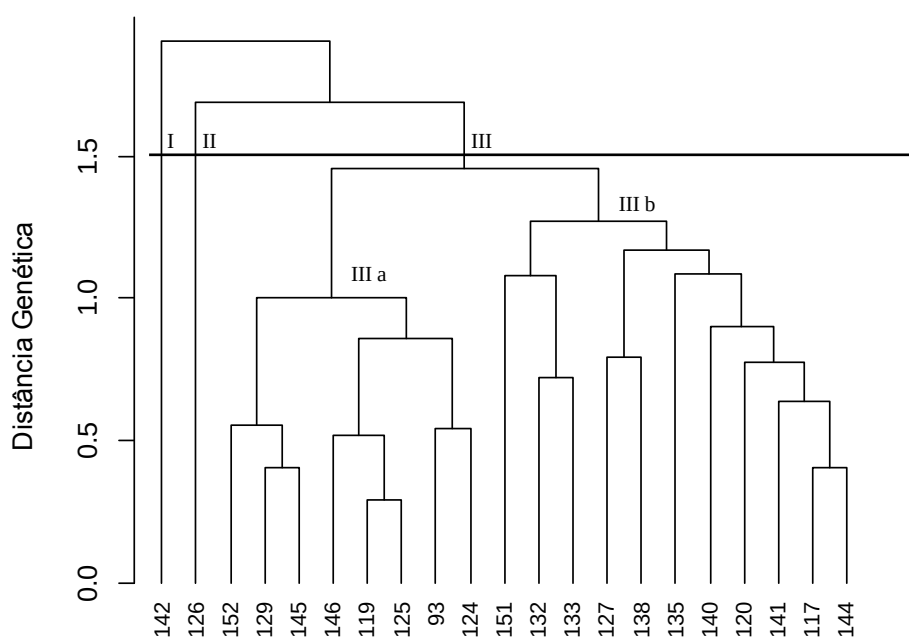


Figura 3. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pela Distância Euclidiana Média Ponderada entre 21 acessos de *Capsicum*, por descritores agrônômicos. Cáceres, MT, 2013.

O grupo I foi constituído por apenas um acesso, sendo este acesso pertencente à espécie *C. chinense*. O acesso 126 (*Capsicum chinense*) alocou-se isolado no grupo II. Os demais acessos alocaram-se em no terceiro grupo, correspondendo a 19 acessos, aproximadamente 93%. Verifica-se, portanto, a dificuldade em analisar a divergência entre os acessos, visto que a maioria deles encontra-se em apenas um grupo. Em estudo sobre dissimilaridade genética entre 17 acessos de pimentas *Capsicum* spp., Neitzke et al. (2010) encontraram resultados semelhantes, quando verificaram a formação de quatro grupos distintos pelo método de Tocher para dados quantitativos.

Por sua vez, houve a necessidade de agrupar o terceiro grupo em subgrupos, para assim melhor discriminar os acessos. Desta forma os acessos 152 (*Capsicum glabriusculum*), 129 (*Capsicum chinense*), 145 (*Capsicum chinense*), 146 (*Capsicum baccatum* var *baccatum*), 119 (*Capsicum frutescens*), 125 (*Capsicum chinense*), 93 (*Capsicum chinense*), e 124 (*Capsicum chinense*) compõem o subgrupo III a. O subgrupo III b alocou os acessos 151 (*Capsicum chinense*), 132 (*Capsicum chinense*), 133 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 127 (*Capsicum chinense*), 138 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 135 (*Capsicum chinense*), 140 (*Capsicum chinense*), 120 (*Capsicum chinense*), 141 (*Capsicum chinense*), 117 (*Capsicum chinense*), e 144 (*Capsicum chinense*).

#### 4.4. Análise molecular

Foram avaliados e selecionados iniciadores quanto ao número de bandas geradas e quanto ao polimorfismo verificado para estas bandas. Foi obtido um total de 88 bandas, sendo 80 polimórficas e 8 monomórficas. Os iniciadores mais polimórficos foram os iniciadores (AC) 8T, (AC) 8CTT e (GT)8CTC, gerando 8 bandas cada, seguidos pelos iniciadores (AC)8CT e (GAA)6AA, que geraram sete bandas polimórficas cada (Figura 4).

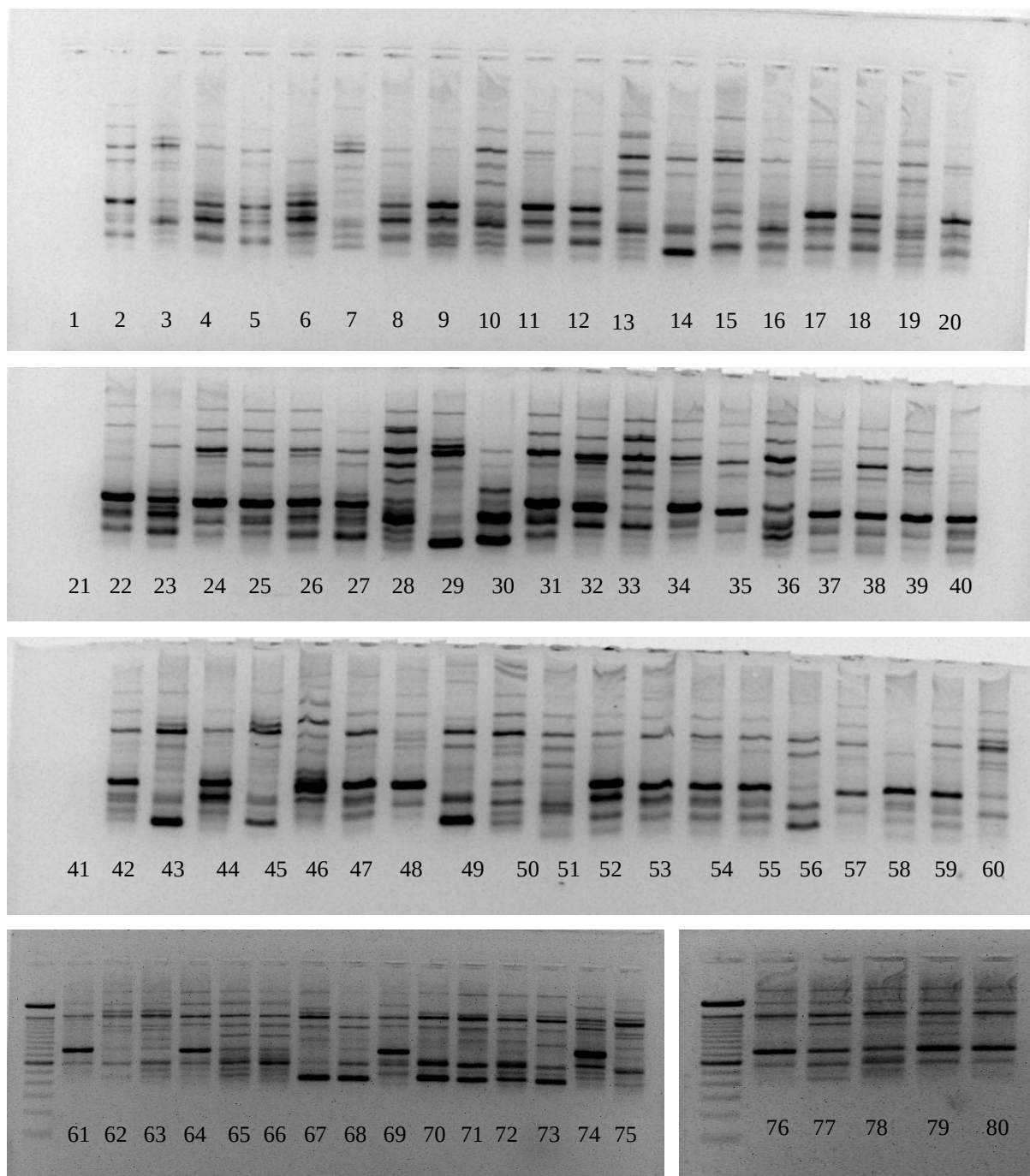


Figura 4. Perfil de um gel ISSR utilizando o iniciador 5' – 3' (GT)8CTC, para os 80 acessos de *Capsicum* spp. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

A caracterização molecular entre os 80 acessos foi avaliada utilizando-se o método da ligação média entre grupos ou UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (Figura 5). Foi obtida uma correlação cofenética de 0,89, proporcionando a formação de seis grupos, sendo realizado um corte de 0,45.

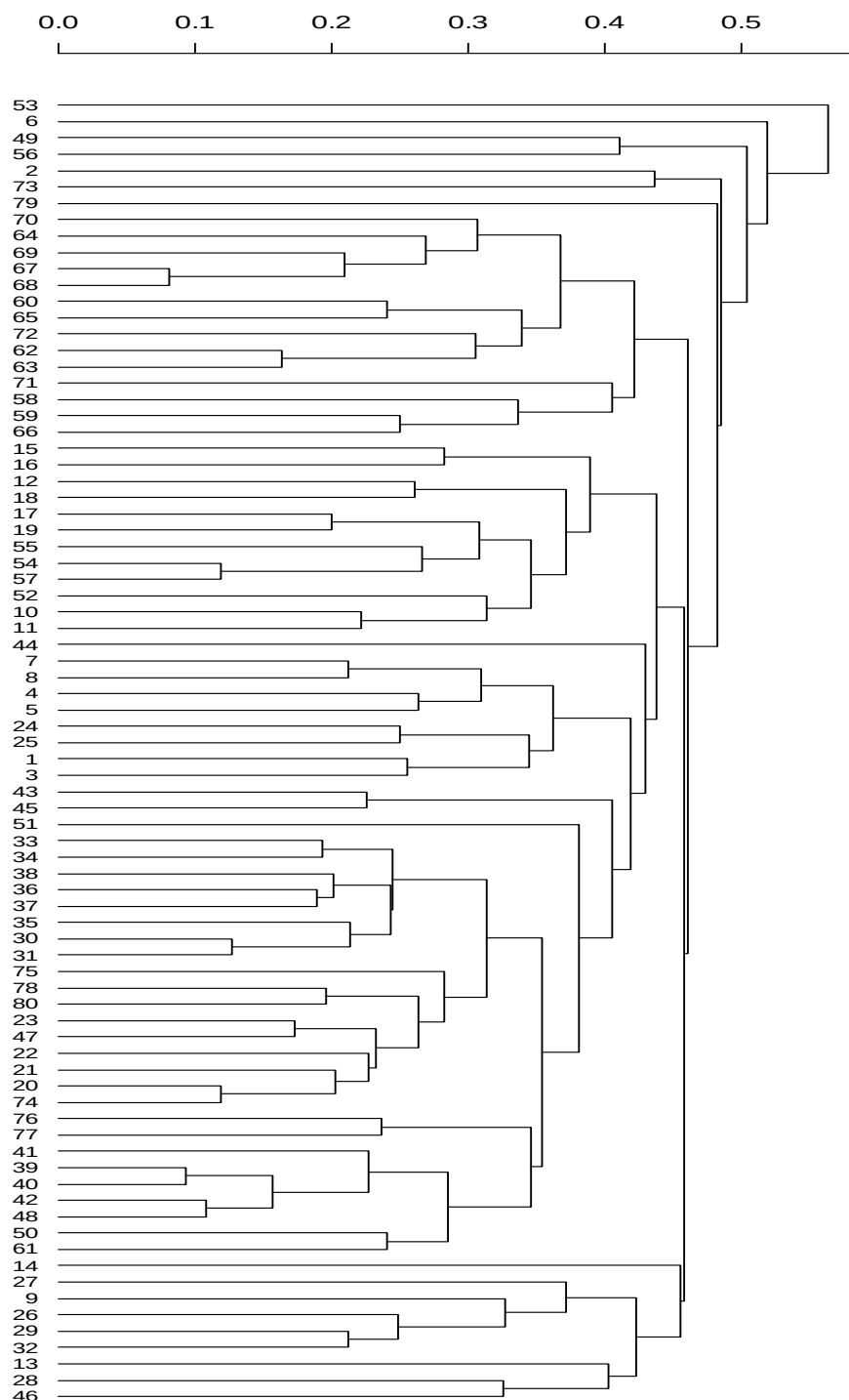


Figura 5. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 80 acessos de *Capsicum* spp., obtido pelo complemento de Jaccard, com base na matriz de dissimilaridade. Cáceres-MT, 2013.

O grupo I foi composto pelos acessos 53, 06, 49, 56 e 02, representados pelos códigos (Cód.), ambos pertencentes à espécie *Capsicum chinense*. O segundo grupo foi composto por 02 acessos (Cód. 73 e Cód. 79) pertencentes à espécie *Capsicum annum* var *annum*.

O terceiro grupo foi composto pelos acessos 70 (*Capsicum annum* var *annum*), 64 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 69 (*Capsicum chinense*), 67 (*Capsicum chinense*), 68 (*Capsicum annum* var *glabriusculum*), 60 (*Capsicum chinense*), 65 (*Capsicum chinense*), 72 (*Capsicum annum* var *annum*), 62 (*Capsicum chinense*), 63 (*Capsicum chinense*), 71 (*Capsicum annum* var *annum*), 58 (*Capsicum chinense*), 59 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*) e 66 (*Capsicum chinense*).

O grupo quatro foi composto por 12 acessos, sendo estes do Cód 15 ao 11.

O grupo cinco foi composto pelos Cód. dos acessos 44 (*Capsicum frutescens*), 07 (*Capsicum chinense*), 08 (*Capsicum chinense*), 04 (*Capsicum chinense*), 05 (*Capsicum chinense*), 24 (*Capsicum chinense*), 25 (*Capsicum chinense*), 01 (*Capsicum chinense*), 03 (*Capsicum frutescens*), 43 (*Capsicum frutescens*), 45 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 51 (*Capsicum chinense*), 33 (*Capsicum frutescens*), 34 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 38 (*Capsicum frutescens*), 36 (*Capsicum chinense*), 37 (*Capsicum chinense*), 35 (*Capsicum chinense*), 30 (*Capsicum frutescens*), 31 (*Capsicum chinense*), 75 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 78 (*Capsicum chinense*), 80 (*Capsicum chinense*), 23 (*Capsicum annum* var *annum*), 47 (*Capsicum chinense*), 22 (*Capsicum annum* var *annum*), 21 (*Capsicum glabriusculum*), 20 (*Capsicum chinense*), 74 (*Capsicum frutescens*), 76 (*Capsicum chinense*), 77 (*Capsicum baccatum* var *baccatum*), 41 (*Capsicum chinense*), 39 (*Capsicum chinense*), 40 (*Capsicum chinense*), 42 (*Capsicum chinense*), 48 (*Capsicum frutescens*), 50 (*Capsicum chinense*), 61 (*Capsicum chinense*), e 14 (*Capsicum chinense*).

O último grupo, grupo seis, foi composto pelos acessos correspondentes ao Cód 27 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 09 (*Capsicum chinense*), 26 (*Capsicum chinense*), 29 (*Capsicum chinense*), 32 (*Capsicum chinense*), 13 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 28 (*Capsicum chinense*), e o Cód 46 (*Capsicum chinense*).

A formação dos grupos neste dendograma foi confusa, devido à existência de acessos morfológicamente diferentes no mesmo grupo, sendo assim, é necessária a utilização de novas técnicas de análise.



Foram utilizados 21 acessos na estimativa da diversidade genética referentes a todas as caracterizações moleculares de *Capsicum*, sendo os mesmos acessos nas caracterizações morfológica e agrônômica.

Por intermédio do índice de Jaccard foi possível constatar que os genótipos mais distantes são o 142 (*Capsicum chinense*) e o 126 (*Capsicum chinense*), enquanto que os acessos 125 (*Capsicum chinense*) e 126 (*Capsicum chinense*) são os mais similares.

Foi obtido um dendrograma para os dados gerados com base no marcador ISSR (Figura 6), e realizado um corte a uma distância de 0,50, considerando-se o ponto de mudança abrupta, o que proporcionou a formação de dois grupos. Este possibilitou discriminar os acessos. Da mesma forma, o acesso 142 (*Capsicum chinense*) manteve-se isolado no grupo I, enquanto os outros acessos foram alocados no grupo II.

O segundo grupo, para uma melhor análise, foi subdividido em três subgrupos. O subgrupo IIa foi formado pelos acessos 138 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*) e 146 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*). O acessos 151 (*Capsicum chinense*) e 152 (*Capsicum glabriusculum*), apesar de pertencerem a espécies diferentes foram agrupados no subgrupo IIb. Um maior subgrupo (IIc) de 16 acessos foi formado pelos acessos 119 (*Capsicum frutescens*), 132 (*Capsicum chinense*), 133 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*), 127 (*Capsicum chinense*), 129 (*Capsicum chinense*), 140 (*Capsicum chinense*), 144 (*Capsicum chinense*), 93 (*Capsicum chinense*), 120 (*Capsicum chinense*), 117 (*Capsicum chinense*), 124 (*Capsicum chinense*), 125 (*Capsicum chinense*) e 126 (*Capsicum chinense*).

Observou-se a separação do acesso 142 (*Capsicum chinense*), ficando este alocado em um grupo específico tanto para os marcadores ISSR quanto para o descritor agrônômico, o que caracteriza uma boa correspondência entre as análises.

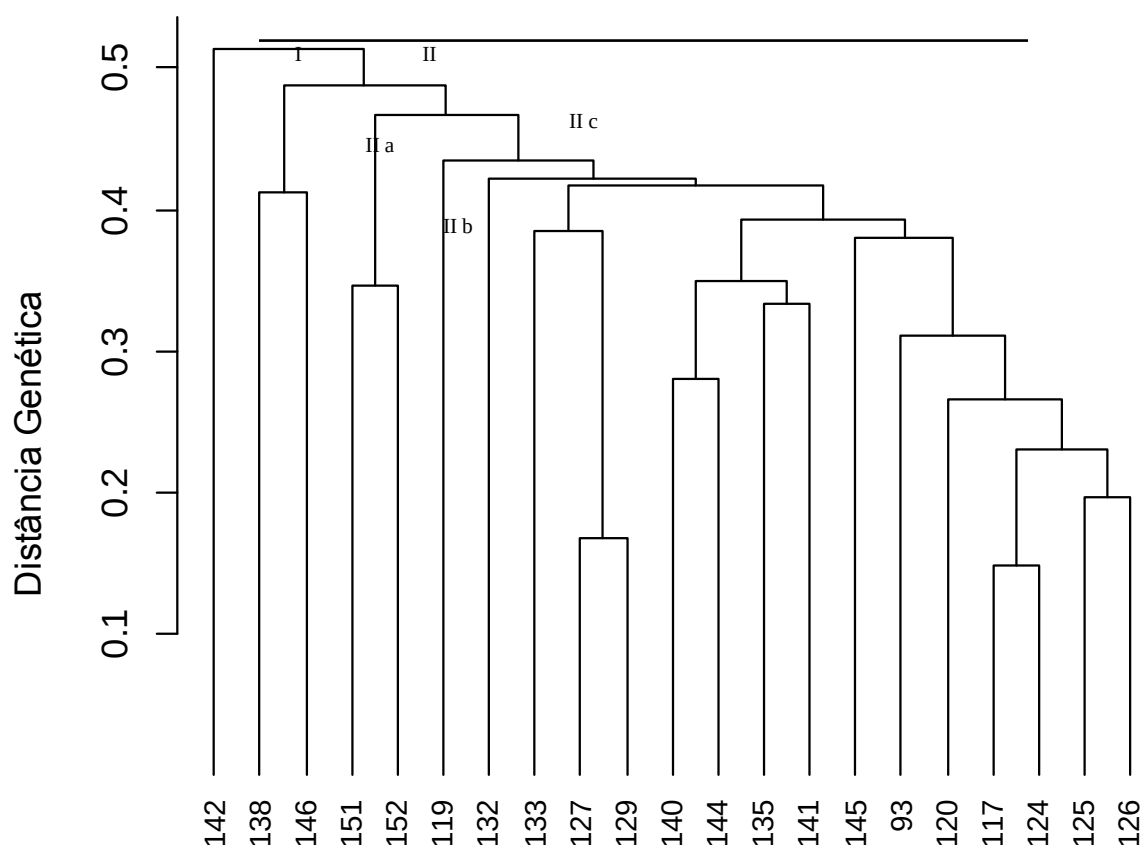


Figura 6. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético de Jaccard entre 21 acessos de *Capsicum*, por marcador ISSR. Cáceres, MT, 2013.

Foi constatada alta variabilidade de acessos de *Capsicum* mantidos pelos agricultores da região Sudoeste do Estado do Mato Grosso. Na caracterização molecular, o marcador ISSR demonstrou diferenças marcantes e polimorfismo entre os acessos estudados, não sendo detectadas duplicatas.

Foi obtido um total de 88 bandas, sendo 80 polimórficas e 8 monomórficas.

#### 4.5. Análise conjunta

Foi obtido um dendrograma da análise conjunta dos dados gerados pelos dados morfológicos, agronômicos e pelo molecular (Figura 6), que revelou um coeficiente de correlação cofenética de 0,81.

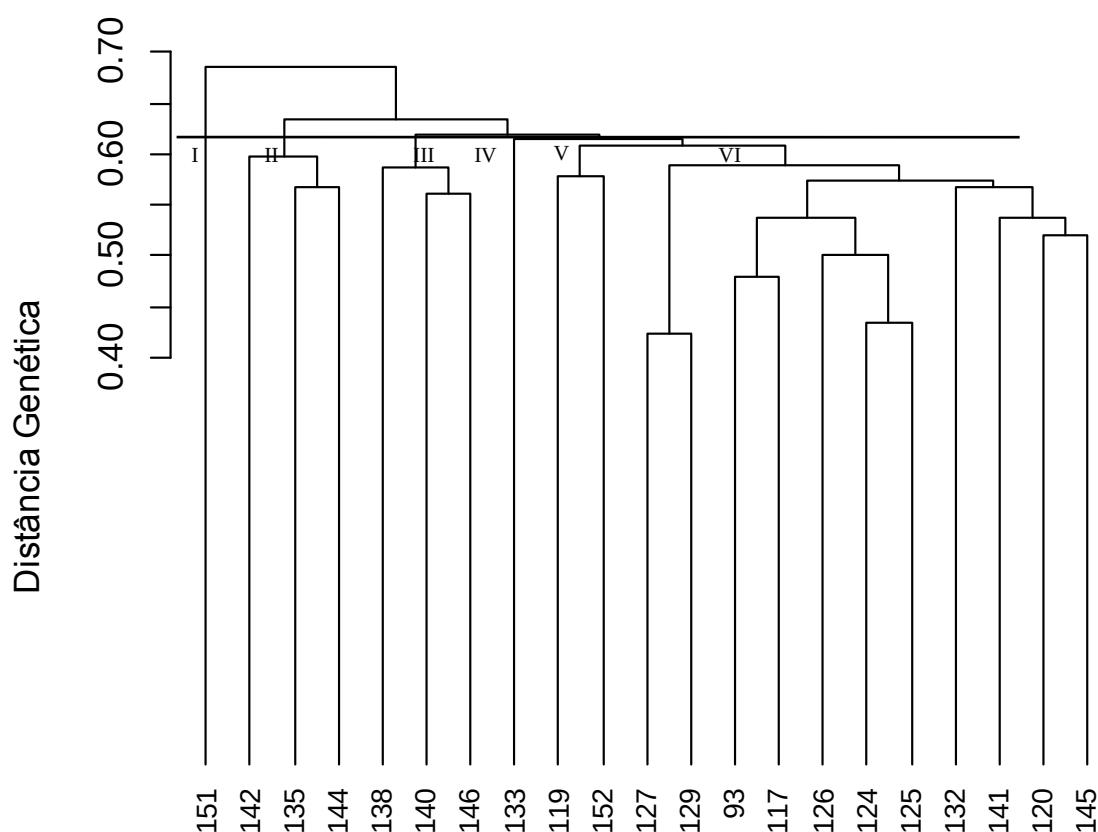


Figura 6. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pela Distância de Gower, entre 21 acessos de *Capsicum*, por descritores agronômicos, morfológicos e moleculares. Cáceres, MT, 2013.

Este valor gerado pela análise conjunta dos dados (morfológica, agronômica e molecular) foi maior que o encontrado para a correlação entre matrizes geradas individualmente. Assim, a análise conjunta dos dados foi mais eficiente na determinação das relações genéticas entre os acessos de *Capsicum*. Considerando um corte de 0,61 pode-se observar a formação de seis grupos. O grupo I foi composto por apenas um acesso, sendo o acesso 151 (*Capsicum chinense*). Os acessos 142 (*Capsicum chinense*), 135 (*Capsicum chinense*) e 144 (*Capsicum chinense*) compuseram o grupo II. No grupo III ficaram os acessos 138 (*Capsicum baccatum* var *baccatum*), 140 (*Capsicum chinense*) e 146 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*). O grupo IV foi formado apenas pelo acesso 133 (*Capsicum baccatum* var *pendulum*). O grupo V reuniu os acessos 119 (*Capsicum frutescens*) e 152 (*Capsicum glabriusculum*). O grupo VI foi formado pelo maior número de acessos, totalizando 11, sendo eles: acessos 127 (*Capsicum chinense*), 129 (*Capsicum chinense*), 93 (*Capsicum chinense*), 117 (*Capsicum chinense*), 126 (*Capsicum chinense*), 124 (*Capsicum chinense*), 125 (*Capsicum chinense*), 132 (*Capsicum*

*chinense*), 141 (*Capsicum chinense*), 120 (*Capsicum chinense*) e 145 (*Capsicum chinense*).

#### 4.6. Comparação de matrizes

A comparação entre as quatro matrizes de distância foi realizada mediante a correlação entre matrizes (Mantel, 1967). Os valores de correlação entre as matrizes foram os seguintes: conjunta com molecular 0,81, conjunta com agronômica 0,21 conjunta com morfológica 0,21, molecular com agronômica, 0,12, molecular com morfológica -0,04, agronômica com morfológica -0,02 (Tabela 3). Todas as correlações entre a matriz de distância conjunta foram significativos pelo teste de Mantel (1967). As demais correlações não foram significativas, reforçando a necessidade da análise da divergência genética ser estimada por diferentes tipos de caracteres.

Tabela 3. Correlação das distâncias entre as matrizes conjunta, molecular, agronômica e morfológica.

| Matrizes    | Conjunta                | Molecular | Agronômica | Morfológica |
|-------------|-------------------------|-----------|------------|-------------|
| Conjunta    | -                       |           |            |             |
| Molecular   | 0,81 <sup>**</sup> (++) | -         |            |             |
| Agronômica  | 0,21 <sup>**</sup> (++) | 0,12      | -          |             |
| Morfológica | 0,21 <sup>**</sup> (++) | -0,04     | -0,02      | -           |

++ + : Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Mantel baseado em 1000 simulações.

Estes dados corroboram com o trabalho de Vieira et al. (2007) que obtiveram altos valores da correlação de Mantel, estudando 19 genótipos de trigo, utilizando dados de marcadores moleculares e morfológicos quantitativos e observaram correlação moderada a alta entre as matrizes da análise conjunta (marcadores moleculares e quantitativos) e as matrizes quantitativa e molecular. Entretanto, diferentemente deste trabalho, Silva et al.(2009) obtiveram correlações significativas apenas nas matrizes de distância conjunta, com a matriz molecular (0,55).

Ainda segundo Silva et al. (2009) há uma associação entre marcadores morfológicos e moleculares: os marcadores moleculares propiciam uma amostragem muito mais ampla do genoma do que as análises com caracteres morfológicos, portanto o marcador ISSR possibilitaria avaliar partes distintas dos acesso, na avaliação da diversidade genética dos *Capsicum*. Segundo Lefebvre et al. (2001),

Máric et al. (2004) e Roy et al. (2004) o número diferente de marcadores moleculares e morfológicos utilizados também dificulta a associação.



Figura 7. Variabilidade genética em acessos do Banco de Germoplasma de *Capsicum* spp da Universidade do Estado de Mato Grosso. Cáceres, MT, 2013. Foto: Adryellison Lemes de Campos

## 5. CONCLUSÕES

Foi possível resgatar a variabilidade genética existente no gênero *Capsicum* na região Sudoeste do Mato Grosso, incrementando assim o banco de germoplasma de hortaliças da Universidade do Estado de Mato Grosso, que ainda se encontra em fase de construção. Esses acessos poderão ser usados em trabalhos futuros no âmbito do melhoramento genético vegetal.

A caracterização dos acessos foi satisfatória, evidenciando a existência de uma diversidade genética dos acessos estudados. A análise conjunta dos dados forneceu melhores informações a respeito da variabilidade dos acessos estudados.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEKINDERS, C.J.M.; ELINGS, A. Collaboration of farmers and breeders: participatory crop improvement in perspective. **Euphytica**.122: 425-438, 2001.
- ARRIEL, N.H.C.; MAURO, A.O.D.; MAURO, S.M.Z.D.; BAKKE, O.A.; UNÊDATREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 41: 801-809, 2006.
- BARBOSA, G. E.; BIANCHETTI, L. B. Three new species of *Capsicum* (Solanaceae) and a key to the wild species from Brazil. **Systematic Botany**. 30: 863-871. 2005.
- BENTO, C.S.; SUDRÉ, C.P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E.M.; PEREIRA, M.G. Qualitative and multicategorical descriptors in the estimation of phenotypic variability among chili pepper accession. **Scientia Agraria**. 8: 149-156, 2007.
- BOSLAND, P. W., AND VOTAVA, E.J., 2000, Peppers: Vegetables and Spice Capsicums. **Crop Production Science in Horticulture 12**. New York: CAB International Publishing, Wallingford, England, UK. 2000. 204p.
- BRASIL, E.R.F. **Produção rural familiar em Jataí: permanência e resistência no contexto da modernização agrícola (2007)**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2009. 54p (Tese – mestrado).
- BÜTTOW, M. V.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; HEIDEN, G.; CARVALHO, F. I. F. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**. 40: 1264-1269, 2010.
- CORONA-TORRES, T.; GARCIA-VERLAZQUEZ, A.; CASTILLO-GONZALEZ, F.; MONTERO-TAVERA, C.; AZPIROZ-RIVERO, H.S. Caracterización isoencimática de La diversidad genética de colectas de Chile (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.). **Revista Chapingo Serie Horticultura**. 6: 5-17, 2000.
- CRUZ, C.D. **GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics**. Acta Scientiarum. Agronomy. Maringá. 35:271-276, 2013.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, Editora UFV, 2003. 585p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa: UFV. 2001. 390p.

CRUZ, C.D.; FERREIRA, F.M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 620p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes – Estatística experimental e matrizes**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 285p.

FERRÃO, L. F. V.; CECOM, P.R.; FINGER, F.L.; SILVA, F.F.; PUIATTI, M. Divergência Genética entre genótipos de pimenta com base em caracteres morfo-agronômicos. **Horticultura Brasileira**. 29: 354-358, 2011.

GELETA, L.F.; LABUSCHAGNE, M.T.; VILJOEN, C.D. Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. **Biodiversity and Conservation**. 14: 2361–2375, 2005.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; DO AMARAL JÚNIOR, A.T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C. P. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using a Ward-modified location model. **Genetics and Molecular Research**. 8: 364-374, 2009.

HUNZIKER, A. T. Genera Solanacearum. The Genera of Solanaceae Illustrated, Arranged According to a New System. Gantner Verlag Ruggell, Liechtenstein. 2001.

IBIZA, V. P.; BLANCA, J.; CANIZARES, J.; NUEZ, F. Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. **Genet Resour Crop Evol**. 59: 1077–1088, 2012.

INCE, A. G.; KARACA, M.; ONUS ,A.N. Development and utilization of diagnostic DAMD-PCR markers for *Capsicum* accessions. **Genetic Resources Crop Evolution**. 56: 211-221, 2009.

INOUE, A.K.; REIFSCHNEIDER, J.B. Caracterização da coleção de germoplasma de *Capsicum* do CNPH. **Horticultura Brasileira**. 7: 10-18, 1989.

IPGRI, AVRDC, CATIE. **Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum spp.*)**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1995.

JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. New Jersey: Englewood Cliffs. 642p. 1992.

LEE, J. M.; NAHM, S. H.; KIM, Y. M.; KIM, B. D. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. **Theoretical and Applied Genetics**. 108: 619–627, 2004.

LEFEBVRE, V.; GOFFINET, B.; CHAUVET, J. C.; CAROMEL, B.; SIGNORET, P.; BRAND, R.; PALLOIX, A. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD, and phenotypic data. **Theoretical and Applied Genetics**. 102: 741–750, 2001.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**. 27: 209-220, 1967.

MÁRIC, S.; BOLARÍC, S.; MARTINCIC, I.; PEJIC, I.; KOZUMPLIK, V. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. **Plant Breeding**. 123: 366-369, 2004.

McLEOD, M.J.; ESHBAUGH, W.H.; GUTTMAN, S.I. A preliminary biochemical systematic study of the genus *Capsicum* – Solanaceae. In: HAWKES, J.G.; LESTER, R.N.; SKELDING A. D. eds. **The biology and taxonomy of the Solanaceae**. New York: Academic Press, 701–713.1979.

MONTEIRO, E. R.; BASTOS, E. M.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; NUNES, J. A. R. Diversidade genética entre acessos de espécies cultivadas de pimentas. **Ciência Rural**. 40: 288-283, 2010.

MOREIRA, G. R.; CALIMAN, F. R. B.; SILVA, D. J. H.; RIBEIRO, C. S. C. Espécies e variedade de pimenteiras. **Informe Agropecuário**. 27: 16-29, 2006.

MOSCONI, E. A.; SCALDAFERRO, M. A.; GABRIELE, M. CECCHINI, N. M.; GARCÍA, Y. S.; JARRET, R. DAVIÑA, J. R.; DUCASSE, D. A.; BARBOZA, G. E.; EHRENDORFER, F. The Evolution of Chili Peppers (*Capsicum* – Solanaceae): a Cytogenetic Perspective. VIth International Solanaceae Conference. Eds.: D.M. SPOONER, et al. **Acta Horticulture** 745. 137- 170, 2007.

MOURA, W. M.; CASALI, V. W. D.; CRUZ, C. D.; LIMA, P. C. Divergência genética em linhagens de pimentão em relação à eficiência nutricional de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 34: 217-224, 1999.

NEITZKE, R. S.; BARBIERI, R. L.; RODRIGUES, W. F.; CORRÊA, I. V.; CARVALHO F. I. F. Dissimilaridade genética entre acessos de pimenta com potencial ornamental. **Horticultura Brasileira**. 28: 47-53, 2010.

NEVES, S. M. A.; NUNES, M. C. M.; NEVES, N. J. Caracterização das condições climáticas de Cáceres/ MT-Brasil, no período de 1971 a 2009: subsídio às atividades agropecuárias e turísticas municipais. **Boletim Goiano de Geografia**. 31: 55-68, 2011.



OECD - Organization for Economic Co-operation and Development. **Consensus Document on the Biology of the *Capsicum annum* Complex (Chili peppers, Hot peppers and Sweet peppers)**. Paris, 2006. 48p.

OLMSTEAD, R. G.; SWEERE, J. A.; SPANGLER, R.E.; BOHS, L.; PALMER, J.D. Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast D 111–137. In: NEE, M.; SYMON, D.E.; LESETER, R.N.; JESSOPE, J. P. (eds.), Solanaceae IV: Advances in Biology and Utilization. **Royal Botanic Gardens**, Kew, UK. 1999.

ONUS, A. N. PICKERSGILL, B. 2004. Unilateral incompatibility in *Capsicum* (Solanaceae): occurrence and taxonomic distribution. **Annals of Botany**. 94:289–295, 2004.

PEREIRA, T. N. S.; RODRIGUES, R. Recursos genéticos em *Capsicum*: situação atual e perspectivas. In: LIMA, M. C. (org) Recursos genéticos de hortaliças: riquezas naturais. São Luís: **Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura**. 137-159, 2005.

PICKERSGILL, B. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). **Evolution**. 25: 683–691, 1971.

PICKERSGILL, B. The domestication of chilli peppers. In: P. J. Ucko and G. W. Dinbleby (eds.) The domestication and Exploitation of Plants and Animals. Duckworth, London, UK. p. 443-450.

PRINCE, J .P., LACKNEY, V.K., ANGELES, C., BLAUTH, J.R. AND KYLE, M.M. A survey of DNA polymorphism within the genus *Capsicum* and the fingerprinting of pepper cultivars. **Genome**. 38: 224–231, 1995.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2009.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley, 1952. 390p.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**. 128:9-17,2002.

RÊGO, E. R.; FINGER, F. L.; RÊGO, M. M. Types, Uses and fruit quality of Brazilian chili peppers. In: Spices: Types, Uses, and Health Benefits. **Nova Publishers**, Inc. 2012.

REIFSCHNEIDER, F. I. B. ***Capsicum*: pimentas e pimentões do Brasil**. Brasília: EMPRAPA. Comunicações para Transferência de Tecnologia, 106 p. 2000.

RIBEIRO, S.F.F.; CARVALHO, A.O.; CUNHA, M.; RODRIGUES, R.; CRUZ, V.M.M.; VASCONCELOS, I.M.; MELO, E.J.T.; GOMES, V.M. Isolation and characterization of novel peptides from chilli pepper seeds: antimicrobial activities against pathogenic yeasts. **Toxicon**. 50: 600–611, 2007.

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R.; SILVA, P.R.A.; CARMO, M.G.; ABOUD, A.C.S. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Acta Scientiarum Agronomy**. 32: 423-431, 2010.

ROHLF F. j. NTSYSpc - **Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. Version 2.1. New York, Exeter. Software. 2001.

SAPUCAY, M. J. L. C.; ARAÚJO, E.R.; RÊGO, E.R.; RÊGO, M./M. Diversidade genética, importância relativa e correlação de caracteres quantitativos em pimenteiras. **Horticultura Brasileira**. 27: 1161-1168. 2009.

SHARMA, K.; MISHRA, A. K.; MISRA, R. S. A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. **African Journal of Biotechnology**. 7: 1018-1022, 2008.

SILVA, G. O.; PEREIRA, A. S.; SOUZA, V.Q.; CASTRO, C. M.; CARVALHO, F. I. F.; VIEIRA, E. A. Distâncias genéticas entre genótipos de batata a partir de dados morfológicos, moleculares e genealógicos. **Ciências Agrárias**. 30: 983-992, 2009.

SUDRÉ, C.P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E.M.; KARASAWA, M.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. **Horticultura Brasileira**. 23: 22-27, 2005.

SUDRÉ, C. P.; CRUZ, C. D.; RODRIGUES, R.; RIVA, E.M.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SILVA, D.J.H.; PEREIRA, T.N.S. Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. **Horticultura Brasileira**. 24: 88-93, 2006.

TAM, S.M.; LEFEBVRE, V.; PALLOIX, A. SAGE-PALLOIX, A-M. MHIRIC, LTRretrotransposons tnt1 and t135 markers reveal genetic diversity and evolutionary relationships of domesticated peppers. **Theoretical and Applied Genetics**. 119: 973–989, 2009.

TEIXEIRA, R. Diversidade em *Capsicum*: Análise molecular, morfoagronômica e química. Viçosa Universidade Federal de Viçosa, 1996. 81p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento).

- TONG, N.; BOSLAND, P.W. *Capsicum tovarii*, a new member of the *Capsicum baccatum* complex. **Euphytica**. 109: 71–77, 1999.
- TONG, N.; BOSLAND, P.W. Observations on interspecific compatibility and meiotic chromosome behavior of *Capsicum buforum* and *C. lanceolatum*. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 50: 193–199, 2003.
- USDA-ARS. **Grin species records of *Capsicum***. Beltsville, Maryland: National Germplasm Resources Laboratory. 2011.
- VASCONCELOS, C. S.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; PRIORI, D.; FISCHER, S. Z.; MISTURA, C. C.; Determinação da dissimilaridade genética entre acessos de *Capsicum chinense* com base em características de flores. **Revista Ceres**. 59: 493-498, 2012.
- VIEIRA, E.A.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; KOPP, M.M.; ZIMMER, P.D.; BENIN, G.; SILVA, J.A.G.; HARTWIG, I.; MALONE, G.; OLIVEIRA, A.C. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. **Genetics and Molecular Biology**. 30: 392-399, 2007.
- WALSH, B.M.; HOOT, S.B. Phylogenetic relationships of *Capsicum* (Solanaceae) using DNA sequences from two noncoding regions: The chloroplast ATPB-RBCL spacer region and nuclear waxy introns. **International Journal Plant Science**. 162:1409–1418, 2001.
- YAMAMOTO, S.; NAWAT, E. *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia, and its dispersal routes into Japan. **Economic Botany**. 59:18-28, 2005.
- ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomic**. 20: 176-183, 1994.
- ZIMMER, P. D.; OLIVEIRA, A. C.; MALONE, G. **Ferramentas da biotecnologia no melhoramento genético vegetal**. Pelotas: Editora Gráfica Universitária – UFPEL, 2005, 158p.