

Pesquisa / Research

VILLELA JCB; BARBIERI RL; CASTRO CM; NEITZKE RS; VASCONCELOS CS; CARBONARI T; MISTURA CC; PRIORI D. 2014. Caracterização molecular de pimentas crioulas (*Capsicum baccatum*) com marcadores microssatélites. *Horticultura Brasileira* 32: 131-137.

Caracterização molecular de variedades crioulas de pimentas (*Capsicum baccatum*) com marcadores microssatélites

Juliana CB Villela¹; Rosa L Barbieri¹; Caroline M Castro¹; Raquel S Neitzke²; Carla S Vasconcelos²; Taíse Carbonari²; Claudete C Mistura²; Daniela Priori²

¹Embrapa Clima Temperado, C. Postal 403, 96001-970 Pelotas-RS; jcbrancov@gmail.com; lia.barbieri@embrapa.br; caroline.castro@embrapa.br; ²UFPel, C. Postal 354, 96010-900 Pelotas-RS; raquelsilviana@gmail.com; carla_sigales@hotmail.com; taíse.carbonari@gmail.com; claudetec.mistura@gmail.com; dani_priori@yahoo.com.br

RESUMO

Atualmente, muitas variedades crioulas de *Capsicum baccatum* são cultivadas pelos agricultores no Brasil. Essas populações são fontes de genes para tolerância ou resistência aos estresses bióticos e abióticos. Porém, grande parte dessas variedades está sendo perdida devido à erosão genética causada pela substituição de cultivares. A fim de conservar e caracterizar as variedades crioulas, a Embrapa Clima Temperado mantém, desde 2002, um Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum*. Com o objetivo de caracterizar variedades crioulas de *C. baccatum* com marcadores moleculares de microssatélites, foram analisados vinte acessos que integram o acervo do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado. O DNA foi extraído individualmente das folhas jovens de cinco plantas de cada acesso. Foram analisados oito *loci* de microssatélites, identificando um total de 43 alelos. Todos os *loci* analisados foram polimórficos. A análise molecular da variância mostrou uma diversidade genética de 51,37% entre acessos e 48,63% dentro dos acessos, o que evidenciou a existência de segregação em diversas variedades crioulas de pimentas avaliadas. Os grupos obtidos pela análise de agrupamento não tiveram relação com as características morfológicas dos frutos. A maior proporção da variabilidade genética encontra-se entre as diferentes variedades crioulas, embora também exista variabilidade genética dentro de cada acesso.

Palavras-chave: Solanaceae, recursos genéticos, marcadores moleculares, distância genética.

ABSTRACT

Molecular characterization of landraces of peppers (*Capsicum baccatum*) with SSR markers

Currently, many landraces of *C. baccatum* are grown by farmers in Brazil. These populations are sources of genes for resistance or tolerance to abiotic and biotic stresses. However, most of these landraces are being lost due to genetic erosion caused by substitution of cultivars. In order to characterize and conserve landraces, since 2002 Embrapa Temperate Agriculture maintains an Active Germplasm Bank of *Capsicum*. This work has the objective to characterize landraces of *C. baccatum* using microsatellite markers. 20 accessions from the Active Germplasm Bank of *Capsicum* of Embrapa Temperate Agriculture were analyzed. DNA was extracted individually from young leaves collected from five plants of each accession. Eight microsatellite *loci* were analyzed. All *loci* were polymorphic. Molecular analysis of variance showed values of genetic diversity as 51.37% among accessions and 48.63% within the accessions. This fact showed the existence of segregation in many of these pepper landraces. The groups obtained by cluster analysis did not correlate with morphological fruit traits. Most of the genetic variability is found among different landraces, although there is also genetic variability within each accession.

Keywords: Solanaceae, genetic resources, molecular markers, genetic distance.

(Recebido para publicação em 1 de julho de 2013; aceito em 25 de março de 2014)

(Received on July 1, 2013; accepted on March 25, 2014)

As pimentas do gênero *Capsicum* (Solanaceae) são representadas por mais de 30 espécies, classificadas em domesticadas, semidomesticadas e silvestres (Pozzobon *et al.*, 2006; Moscone *et al.*, 2007; Barboza *et al.*, 2011). Cinco destas espécies são domesticadas, sendo cultivadas em uma grande variedade de tipos, tamanhos, cores, sabores e pungências (Neitzke *et al.*, 2010).

Muito antes da chegada de Cristóvão Colombo às Américas, as pimentas do

gênero *Capsicum* eram amplamente cultivadas neste continente. Registros arqueológicos datados de seis mil anos indicam que o cultivo de milho e pimenta ocorria consorciado, formando um complexo alimentar muito antigo e amplamente disseminado desde o sul dos Estados Unidos até a região central da Argentina e do Chile, antecedendo inclusive o desenvolvimento da cerâmica em algumas regiões (Perry *et al.*, 2007). Na época da chegada dos conquistadores europeus ao Novo Mundo, *C. baccatum*,

C. chinense e *C. frutescens* faziam parte dos cultivos indígenas no atual território brasileiro, enquanto que *C. annuum* e *C. pubescens* não eram cultivadas no Brasil (Andrews, 1995).

Capsicum baccatum é bastante cultivada no país, especialmente na região Sul (Neitzke, 2012). A pimenta dedo-de-moça e a pimenta cambuci são exemplos desta espécie. A forma domesticada de *C. baccatum* é classificada botanicamente como *C. baccatum* var. *pendulum*, e a silvestre como *C.*

baccatum var. *baccatum*. A forma silvestre está restrita à Bolívia e áreas circundantes, e é provável que seu cultivo tenha iniciado nesta região (Heiser, 1995). Conforme Clement *et al.* (2010), o centro de origem de *C. baccatum* se localiza nas partes mais baixas dos vales andinos da Bolívia. Esta espécie é facilmente identificada pela presença de manchas amareladas ou marrons na corola, com estames amarelos.

Atualmente, muitas variedades locais de *C. baccatum* são cultivadas pelos agricultores no Brasil, sendo denominadas também de variedades crioulas. Essas populações são fontes de genes para tolerância ou resistência aos estresses bióticos e abióticos. Porém, grande parte dessas variedades está sendo perdida devido à erosão genética causada pela substituição de cultivos. A fim de conservar e caracterizar as variedades crioulas, a Embrapa Clima Temperado mantém, desde 2002, um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *Capsicum*.

A caracterização das coleções de germoplasma e a determinação da distância genética entre os acessos tem grande importância na identificação e seleção de genótipos de interesse aos programas de melhoramento genético (Sudré *et al.*, 2010). A variação entre e dentro dos acessos pode ser analisada por métodos específicos ou combinações de métodos, que incluem variáveis quantitativas e qualitativas (Barbé *et al.*, 2010). Marcadores moleculares microssatélites ou SSR (*Single sequence repeats*) têm sido usados como uma eficiente ferramenta para a caracterização de acessos em bancos de germoplasma (Santos *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2012; Olvera *et al.*, 2012).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar com marcadores moleculares de microssatélites acessos de variedades crioulas de *C. baccatum* do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados vinte acessos de variedades crioulas de *Capsicum baccatum* procedentes de diferentes

regiões do Brasil (Tabela 1), os quais fazem parte do acervo do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado.

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, em bandejas de isopor preenchidas com substrato (Turfa Fértil®). Em laboratório da Embrapa Clima Temperado o DNA foi extraído individualmente das folhas jovens coletadas de cinco plantas de cada acesso. A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Ferreira & Grattapaglia (1998). Os testes de qualidade e a quantificação do DNA foram feitos em gel de agarose 1%, corado com Gel Red (1:500 µL). O DNA foi quantificado no gel por comparação com os padrões de bandas do marcador λ DNA HindIII (Invitrogen). Após a quantificação, o DNA foi diluído em TE para uma concentração de 50 ng/µL.

A caracterização molecular foi realizada com oito loci de microssatélites descritos por Nagy *et al.* (1998) e Lee *et al.* (2004) (Tabela 2). As reações de amplificação de microssatélites (PCR-SSR) foram realizadas em volume final de reação de 20 µL, contendo 2,0 µL de 10x PCR Buffer, 1,0 µL de MgCl₂ (50 mM), 1,6 µL de dNTPs (12,5 mM), 1,3 µL de BSA (10 mg/µL), 1,0 µL de cada primer (10 µM), 0,2 µL de Taq DNA Polimerase (5u/µL) e 1,0 µL de DNA (50ng/µL). As amplificações foram realizadas em termociclador Applied BioSystems GeneAmp PCR System 9700, programado para uma etapa inicial de desnaturação do DNA a 94°C por 4 min e 40 s, seguido de 30 ciclos de 15 s a 94°C (desnaturação), 10 s a 60°C (anelamento) e 15 s a 72°C. Por fim, uma etapa de 5 min a 72°C. As temperaturas de anelamento variaram de 50 a 60°C, conforme a temperatura do primer utilizado (Tabela 2). Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese horizontal em gel de agarose (Invitrogen) 3,5%, corado com Gel Red (1:500 µL) e tampão TBE 1X (Tris-Borato 90 mM, EDTA 2 mM). O marcador 1 Kb Plus DNA ladder (Invitrogen) foi utilizado como referência para estimar o tamanho dos fragmentos amplificados. Em seguida o gel foi visualizado em luz ultravioleta (UV) e documentado em fotodocumentador

(Kodak Gel Logic 212 Imaging System, Molecular Imaging System Carestream Health, Inc., Rochester, NY, EUA). Os alelos amplificados foram identificados de acordo com o peso molecular das bandas geradas e uma matriz multialélica foi construída para cada locus analisado.

A partir da matriz gerada com base na leitura dos géis de dados codominantes, foi estimada a distância euclidiana entre os indivíduos. Com base no quadrado da distância euclidiana foram calculadas as estimativas da variabilidade genética entre e dentro dos 20 acessos de variedades crioulas de *C. baccatum* por meio da análise molecular da variância AMOVA (*analysis of molecular variance*) utilizando o programa computacional Genes (Cruz, 2006).

A AMOVA permite calcular o valor F_{st} equivalente à proporção da variação total compartilhada entre dois acessos. Para testar a significância dos resultados da AMOVA foi utilizado o método não-paramétrico de permutações (Excoffier *et al.*, 1992).

A partir da matriz multialélica para cada locus analisado, foi também estimado: i) o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) de cada locus por meio da equação:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

onde p_i é a frequência ao quadrado do alelo i ; ii) a distância genética entre os acessos com base na distância de Rogers Modificado (Wright, 1978), utilizando o software NTSYS-PC, versão 2.1 (Rohlf, 2000), conforme a equação:

$$DW = \frac{1}{\sqrt{2m}} \sqrt{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_j} (P_{ij} - Q_i)^2}$$

onde p_i e q_i correspondem às frequências do alelo j no locus i nos dois genótipos em consideração, n_i é o número de alelos do locus i , e m se refere ao número total de loci analisados.

A matriz de distância genética foi utilizada para a construção do dendrograma, por meio do método de agrupamento da distância média UPGMA (*unweighted pair group method using arithmetic average*). O ajuste entre a matriz de distância genética e o dendrograma foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (r), conforme

Sokal & Rohlf (1962), utilizando o programa computacional NTSYS-PC (Rohlf, 2000). Esse coeficiente traduz a relação momento-produto, calculado entre os elementos da matriz original e os da matriz cofenética, resultante da simplificação proporcionada pelo método de agrupamento, depois da construção do dendrograma. Valores de (r) acima de 0,80 indicam boa representatividade

entre as distâncias (Bussad *et al.*, 1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise dos 20 acessos de variedades crioulas de pimentas com oito *loci* microsatélites foram identificados 43 alelos. A média do número de alelos por *locus* foi de cinco, variando de três

a oito. O *locus* Ng12 apresentou a maior diversidade alélica, oito alelos, seguido de Ng08, Bd70, e Ng17 que apresentaram seis alelos. As frequências alélicas variaram de 0,03 a 0,63 com média de 0,20. Dos 43 alelos, oito foram identificados como raros, com frequência alélica inferior a 0,05 (Moura *et al.*, 2009). Os *loci* Bd70, NG12 e Bd33_A apresentaram mais de um alelo raro por

Tabela 1. Acessos de variedades crioulas de *Capsicum baccatum* analisadas (accessions of landraces of *Capsicum baccatum* analyzed). Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2012.

Acesso	Nome popular	Características dos frutos	Procedência
P8	pimenta	pungentes, alongados; branco amarelados, amarelo esverdeados, alaranjados quando imaturos e vermelhos quando maduros	Renascença-PR
P11	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelho-escuros quando maduros	Farroupilha-RS
P14	pimentão chapéu-de-padre	sem pungência, campanulados, verdes quando imaturos e vermelho-escuros quando maduros	Renascença-PR
P25	pimenta ornamental	pungentes, triangulares; branco-amarelados, alaranjados e violeta, quando imaturos e vermelho-escuros quando maduros	Pelotas-RS
P27	pimentão amarelo	sem pungência, campanulados, verdes quando imaturos e amarelos quando maduros	Renascença-PR
P28	pimenta ornamental	pungentes, triangulares, verde quando imaturos e vermelho quando maduros	Renascença-PR
P59	pimenta forte	pungentes, triangulares, verde amarelados quando imaturos e vermelho claros quando maduros	Cristal-RS
P71	pimenta dedo-de-moça	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelho-escuros quando maduros	Pelotas-RS
P 179	pimentão	sem pungência, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Rio Grande-RS
P 207	pimenta cumari	pungentes, ovais, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Pelotas-RS
P 235	pimentinha dedo-de-moça	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Belém-PA
P 239	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Pelotas-RS
P 241	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Correntes-PI
P265	pimenta cumari	pungentes, arredondados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Vargem Gde. do Sul-SP
P276	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Turuçu-RS
P280	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelho escuros quando maduros	Pelotas-RS
P283	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Cachoeira do Sul-RS
P284	pimenta	pungentes, retangulares, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Cachoeira do Sul-RS
P285	pimenta	pungentes	Cachoeira do Sul-RS
P286	pimenta	pungentes, alongados, verdes quando imaturos e vermelhos quando maduros	Cachoeira do Sul-RS

Tabela 2. Marcadores microssatélites utilizados na caracterização de 20 acessos de variedades crioulas de pimentas *Capsicum baccatum*, números de alelos obtidos por *locus*, tamanhos de alelos identificados, amplitude das frequências alélicas e conteúdo de informação do polimorfismo (PIC) [microsatellite markers used to characterization of 20 accessions of landraces of peppers *Capsicum baccatum*, number of alleles obtained per *locus*, sizes of alleles identified, range of allele frequencies and polymorphism information content (PIC)]. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2012.

SSR	Locus	Primer		Temp. de anelamento (°C)	Alelos (n°)	Tamanhos dos alelos (pb)	Frequência alélica	PIC
		Forward	Reverse					
Ng8	CA516044	atcttctctcatttctcccttc	tgctcagcattaacgacgctc	55,35°C	6	182; 192; 198; 211; 224; 250	0,30-0,35	1
Ng12	BM064867	tctgggaattttggaactgc	tccagtttggatcatctccaac	55,29°C	8	146; 157; 170; 182; 202; 217; 248; 255	0,01-0,10	0,75
Ng17	GPMS 93	atccttgcgctattttgcaac	ttcactttgcacacaggctt	55,35°C	6	241; 251; 274; 287; 317; 422	0,003-0,38	0,57
Ng18	CA517699	acccaagaaaatcatctcc	ccattgctgaagaaaatggg	55,29°C	3	160; 171; 179	0,16-0,46	0,64
Bd12	Hpms1-139	ccaacagtaggaccgaaaatcc	atgaaggctactgctgcatcc	58,29°C	4	209; 224; 256; 308	0,006-0,19	0,64
Bd17	Hpms1-165	ggctatttccgacaaacctcag	ccattggtgtttcactgttgtg	54,35°C	3	204; 226; 238	0,14-0,63	0,54
Bd33/A	Hpms2-23	ccctcggtcaggataaatacc	ccccagactcccactttgtg	57,35°C	4	207; 232; 246; 252	0,04-0,51	0,61
Bd33/B	Hpms2-23	ccctcggtcaggataaatacc	ccccagactcccactttgtg	57,35°C	3	115; 123; 141	0,004-0,36	0,55
Bd70	CM0005	catgaccacatgaggata	gatagccacgagcatagtatt	54,29°C	6	149; 151; 161; 178; 187; 194	0,005-0,45	0,68

locus (Tabela 2).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou de 0,54 para o *locus* Bd17 a 1,00 para o *locus* Ng08 (Tabela 3). De acordo com Xie *et al.* (2010), o polimorfismo dos *loci* pode ser considerado alto (PIC>0,5), médio (PIC entre 0,5 e 0,25) ou baixo (PIC<0,25). Assim sendo, para os *loci* analisados no presente trabalho, o PIC observado é alto. Segundo Weir (1996), o conhecimento do conteúdo de informação do polimorfismo é importante, pois fornece uma estimativa do poder discriminatório de um *locus*. Valores de PIC, entre 0,72 a 0,26 foram relatados por Hanacek *et al.* (2009) e valores entre 0,66 a 0,27 foram encontrados por Patel *et al.* (2011) em *Capsicum annuum*.

Para *C. baccatum* são escassas as informações referentes à caracterização molecular com marcadores microssatélites. Assim sendo, com base nos PICs dos resultados obtidos neste trabalho, os oito *loci* analisados apresentaram alto poder discriminatório, sendo os mesmos reco-

mendados para estudos de diversidade genética nesta espécie.

Pela AMOVA, os valores da variância molecular considerando os 20 acessos de variedades crioulas de *C. baccatum* apresentaram efeito significativo ($p<0.01$) tanto entre como dentro dos acessos.

Foi verificado um padrão semelhante para a distribuição de diversidade genética, 51,37% entre acessos e 48,63% dentro de cada acesso. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos em populações de *C. annuum* utilizando marcadores moleculares RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) por Oyama *et al.* (2006). Este fato evidenciou a existência de segregação dentro destas variedades crioulas. A falta de uniformidade genética dentro de variedades crioulas de *Capsicum baccatum* também foi relatada por Neitzke (2012) após observar variabilidade genética na arquitetura de planta e morfologia de fruto em lavouras de pimenta dedo-de-moça em Turuçu-RS. Verificou-se que,

apesar da maioria das plantas produzirem frutos vermelhos, alongados e com superfície lisa, na mesma lavoura também havia, em menor proporção, plantas com frutos amarelos e alaranjados; com formatos arredondados, triangulares, campanulados e retangulares; e com superfície variando de lisa a rugosa. A variabilidade genética observada foi atribuída a dois fatores: ao tipo de seleção realizada pelos produtores e ao sistema de fecundação das plantas. Cada agricultor utilizava um critério próprio para a obtenção das sementes utilizadas na implantação da lavoura para o próximo cultivo. Alguns selecionavam frutos que consideravam superiores, dentre as plantas mais vigorosas e produtivas, enquanto outros retiravam as sementes aleatoriamente de frutos moídos e desidratados, prontos para comercialização. Quanto ao sistema de fecundação das plantas, as pimentas domesticadas do gênero *Capsicum* são espécies de autofecundação, mas pode ocorrer polinização cruzada dependendo

Tabela 3. Análise comparativa 2x2 entre acessos de variedades crioulas de *Capsicum baccatum* pela AMOVA. A porcentagem da variação molecular total existente entre os acessos (F_{st}) é a medida da distância genética entre os acessos [comparative analysis 2x2 among accessions of landraces of *Capsicum baccatum* by AMOVA. The percentage of total molecular variation among the accessions (F_{st}) is a measure of genetic distance between accessions]. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2012.

Acessos	P08	P11	P14	P25	P27	P28	P59	P71	P179	P207
P08	-	54,19**	64,24**	53,18**	17,44 ^{ns}	35,52*	68,25**	31,15**	30,54**	51,55**
P11		-	70,98**	60,68**	70,00**	71,28**	56,85**	69,64**	73,03**	64,04**
P14			-	36,52**	74,75**	68,88**	50,61**	71,04**	74,90**	49,86**
P25				-	65,46**	57,72**	46,28**	61,69**	64,77**	44,22**
P27					-	47,40**	66,39**	43,75**	47,29**	63,88**
P28						-	68,25**	16,66 ^{ns}	32,29*	58,61**
P59							-	62,36**	68,64**	59,16**
P71								-	28,57*	61,38**
P179									-	60,49**
P207										-
	P235	P239	P241	P265	P276	P280	P283	P284	P285	P286
P235	-	34,63*	6,98 ^{ns}	38,23**	18,97*	35,73**	28,62*	43,93**	15,32 ^{ns}	22,58 ^{ns}
P239		-	26,85*	76,54**	46,67**	72,55**	14,37 ^{ns}	69,79**	42,65**	39,75*
P241			-	37,54**	2344**	35,80**	27,86**	34,43*	17,02**	26,69**
P265				-	52,58**	59,60**	62,07**	84,23**	50,56**	57,42**
P276					-	44,48**	42,98**	60,88**	22,09*	44,76**
P280						-	61,07**	78,32**	37,21**	52,85**
P283							-	60,56**	35,99**	16,59 ^{ns}
P284								-	52,16**	53,30**
P285									-	30,88**
P286										-

*Valores significativos em nível de 5% de probabilidade; **valores significativos em nível de 1% de probabilidade; ^{ns}valores não significativos (*significant values at 5% probability; **significant values at 1% probability; ^{ns}not significant values).

das condições do ambiente. Em cultivo protegido, a taxa de polinização cruzada é praticamente nula, no entanto, pode ser significativa em cultivo a campo aberto (Ribeiro & Reifschneider, 2008). Nas lavouras de Turuçu, a fecundação cruzada é favorecida pela proximidade entre as plantas, abundante presença de insetos e incidência de vento (Neitzke, 2012), fenômeno que também pode ter ocorrido nas lavouras dos agricultores que doaram as sementes dos acessos que, no dendrograma, ficaram representados em mais de um grupo (P235, P241, P283 e P285).

A distância genética entre os 20 acessos de variedades crioulas de pimentas *C. baccatum* foi estimada a partir de comparações estabelecidas entre cada par de acessos utilizando a AMOVA. Foram evidenciadas diferenças significativas entre 182 das 190 comparações realizadas (Tabela 3). Oito comparações não foram significativas,

demonstrando que não foi detectada diferença com o uso de marcadores de microssatélites entre os acessos P08 e P27, P28 e P71, P25 e P285, P235 e P285, P235 e P286, P239 e P283, P235 e P241, e P283 e P286, mostrando que esses pares de acessos compartilham um mesmo *pool* de alelos. A análise de agrupamento UPGMA reforça esta inferência (Figura 1).

As maiores distâncias genéticas, de acordo com a AMOVA, foram evidenciadas entre os acessos P284 e P27 (80,59%) e entre P284 e P265 (84,23%).

Com base na matriz de distância genética entre os pares de genótipos foi construído um dendrograma e foi estimada a distância média geral entre as 100 plantas analisadas. O valor de 0,69 foi adotado para separação dos grupos formados pela análise de agrupamento. Com base neste valor foram identificados sete grupos distintos (Figura 1). O coeficiente de correlação cofenética

entre o dendrograma e a matriz de distância genética foi elevado, $r=0,79$. Foi observada 100% de similaridade apenas entre algumas plantas: P235E e P241D, no grupo I e P71A com P28A, B e D no grupo IV. As maiores distâncias genéticas observadas foram entre as plantas P71_C, D, com P25D, grupos 4 e 7 o P25B com P179A, B, C, D, E, grupos 3 e 4, e P59A com P265A, grupo 2 e 4, respectivamente.

Os pares de acessos que não apresentaram significância na AMOVA permaneceram nos mesmos agrupamentos do dendrograma, o que demonstra que esses acessos compartilham o mesmo *pool* de alelos.

Os grupos formados pelos vinte acessos não tiveram relação com as características morfológicas de fruto. Acessos morfológicamente semelhantes não ficaram no mesmo grupo (como é o caso de P25 e P28), enquanto que alguns grupos reuniram diferentes acessos com

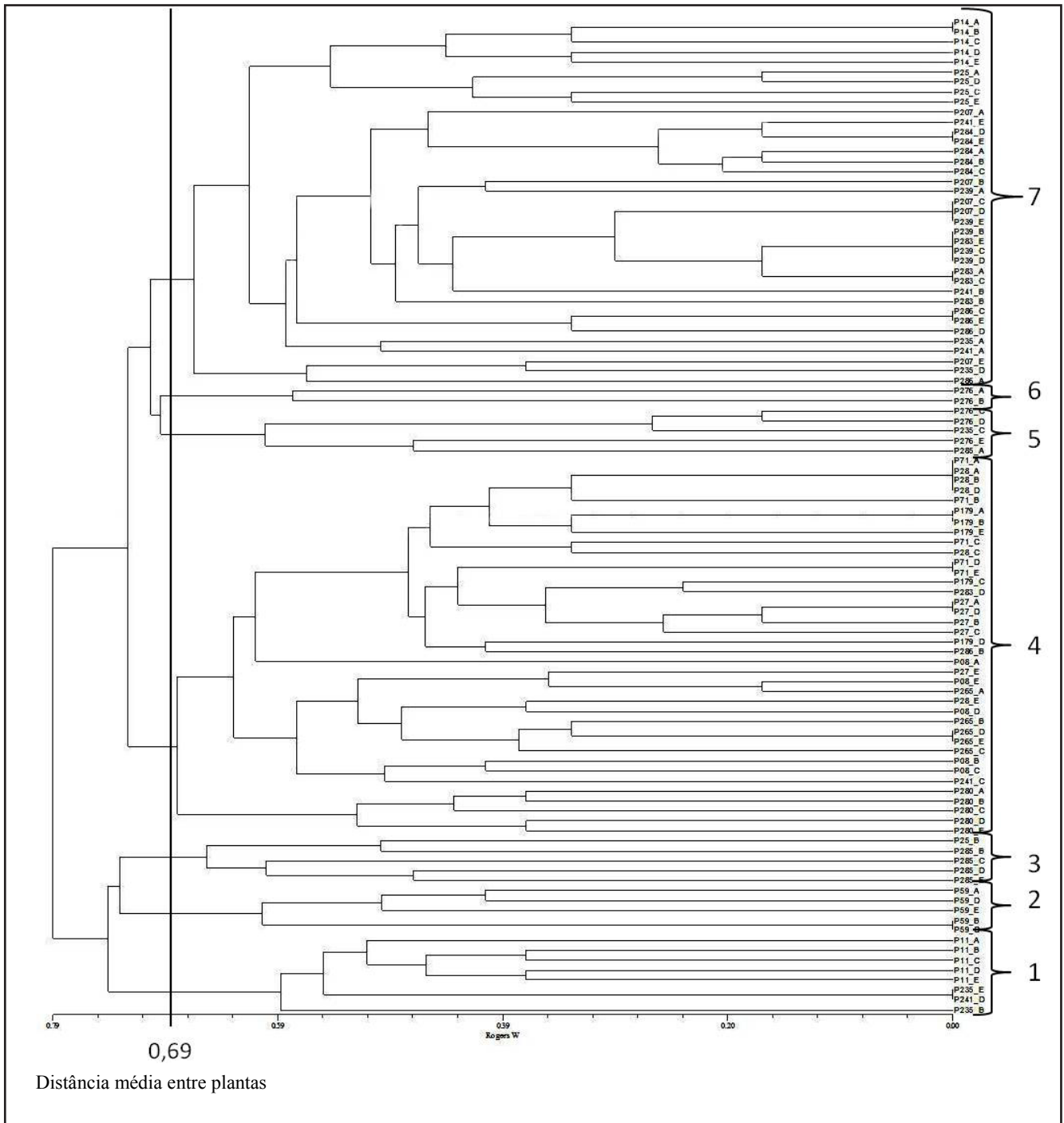


Figura 1. Dendrograma resultante da análise de 20 acessos de variedades crioulas de *Capsicum baccatum*, obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na matriz da distância de Rogers modificada (dendrogram from analysis of 20 accessions of landraces of *Capsicum baccatum*, obtained by clustering UPGMA method, based on the matrix obtained by the Rogers modified distance). Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2012.

frutos bastante distintos (como P28 e P71).

O uso de marcadores moleculares microsátélites permite estimar a variabilidade genética entre e dentro de acessos de variedades crioulas de *Capsicum baccatum*. A maior proporção da variabilidade genética encontra-se

entre as diferentes variedades crioulas, embora também exista variabilidade genética dentro de cada acesso.

REFERÊNCIAS

ANDREWS A. 1995. Peppers - the domesticated *Capsicum*. Austin: University of Texas Press.

186 p.

BARBÉ TC; AMARAL JÚNIOR AT; GONÇALVES LSA; RODRIGUES R; SCAPIM CA. 2010. Association between advanced generation and genealogy inbred lines of snap bean by the Ward-Modified Location Model. *Euphytica* 173: 337-343.

BARBOZA GE; AGRA MF; ROMERO MV; SCALDAFERRO MA; MOSCONE EA. 2011. New endemic species of *Capsicum*

- (Solanaceae) from the Brazilian Caatinga: Comparison with the Re-Circumscribed *C. parvifolium*. *Systematic Botany* 36: 768-781.
- BUSSAB WO; MIAZAKI ES; ANDRADE DF. 1990. *Introdução à análise de agrupamentos*. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística. 105p.
- CLEMENT CR; CRISTO-ARAÚJO M; D'EECKENBRUGGE GC; PEREIRA AA; PICANÇO-RODRIGUES D. 2010. Origin and domestication of native Amazonian crops. *Diversity* 2: 72-106.
- CRUZ CD. 2006. Programa GENES: *Biometria*. Viçosa: UFV. 382p.
- EXCOFFIER L; SMOUSE PE; QUATTRO JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- FERREIRA M; GRATTAPAGLIA D. 1998. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Brasília: EMBRAPA - CENARGEN, 220p.
- HANACEK P; VYHNANEK T; ROHRER M; CIESLAROVA J; STAVELIKOVA H. 2009. DNA polymorphism in genetic resources of red pepper using microsatellite markers. *Horticultural Science* 36: 127-132.
- HEISER JRCB. Peppers. 1995. *Capsicum* (Solanaceae). In: SMARTT J; SIMMONDS NW (eds). *Evolution of crop plants*. London: Longman, p. 449-451.
- LEE JM; NAHM SM; KIM YM; KIM BD. 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 619-627.
- MOSCONE EA; SCALDAFERRO MA; GRABIELE M; CECCHINI NM; GARCÍA YS; JARRET R; DAVIÑA JR; DUCASSE DA; BARBOZA GE; EHRENDORFER F. 2007. The evolution of chili peppers (*Capsicum* – Solanaceae): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae* 745: 137-169.
- MOURA TM; SEBBENN M; CHAVES LJ; GUEDES ASC; OLIVEIRA GCX; KAGEYAMA PY. 2009. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum* spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites. *Scientia Forestalis* 37: 143-150.
- NAGY I; POLLEY A; GANAL M. 1998. Development and characterization of microsatellite in pepper. In: *Xth meeting on genetics and breeding of Capsicum and Eggplant*. 235-237.
- NEITZKE RS. 2012. *Recursos genéticos de pimentas do gênero Capsicum - explorando a multiplicidade de usos*. Pelotas-RS: Universidade Federal de Pelotas, 117 p. (Tese doutorado).
- NEITZKE RS; BARBIERI RL; RODRIGUES WF; CORREA IV; CARVALHO FIF. 2010. Dissimilaridade genética entre acessos de pimenta com potencial ornamental. *Horticultura Brasileira* 28: 47-53.
- OLIVEIRA MVC; BALIZA DP; SOUZA GA; CARVALHO SP; ASSIS LHB. 2012. Caracterização de clones de mandioca utilizando marcadores microssatélites. *Revista Ciência Agronômica* 43: 170-176.
- OLVERA AP; VERDUGO SH; RAMIREZ VR; RODRIGUEZ AG; OYAMA K. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum*) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. *Crop Science* 52: 231-241.
- OYAMA K; VERDUGO SH; SANCHEZ C; RODRIGUEZ AG; PENA PS; TIZNADO JAG; CASAS A. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53(3): 553-562.
- PATEL AS; SASIDHARAN N; VALA AG; KUMAR V. 2011. Genetic relation in *Capsicum annuum* L. cultivars through microsatellite markers: SSR and ISSR. *Electronic Journal of Plant Breeding* 2: 67-76.
- PERRY L; DICKAU S; ZARRILLO S; HOLST I; PEARSALL DM; PIPERNO DR; BERMAN MJ; COOKE RG; RADEMAKER K; RANERE AJ; RAYMOND S; SANDWEISS DH; SCARAMELLI F; TARBLE K; ZEIDLER JA. 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science* 315: 986-988.
- POZZOBON MT; SCHIFINO-WITTMAN MT; BIANCHETTI LB. 2006. Chromosome numbers in wild semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species: do x= 12 and x=13 represent two evolutionary lines? *Botanical Journal of the Linnean Society*. 151: 259-269.
- RIBEIRO CSC; REIFSCHNEIDER FJB. 2008. Genética e melhoramento. In: RIBEIRO CSC; CARVALHO SIC; HENZ GP; REIFSCHNEIDER FJB. *Pimentas Capsicum*. Brasília: *Embrapa Hortaliças*, 55-69 p.
- ROHLF FJ. 2000. NTSYS-pc. *Numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Version 2.1. New York: Exeter, Software.
- SANTOS AM; DALL'AGNOL M; JANKE A; BORTOLINI F; HUBER KGC. 2011. Análise da diversidade genética de cornichão com o uso de marcadores microssatélites. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40: 1188-1194.
- SOKAL RR; ROHLF FJ. 1962. The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, 11: 33-40.
- SUDRÉ CP; GONÇALVES LSA; RODRIGUES R; AMARAL JUNIOR AT; RIVA-SOUZA EM; BENTO CS. 2010. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and Molecular Research* 9: 283-294.
- WEIR BS. 1996. *Genetic data analysis II - Methods for discrete population genetic data*. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 445p.
- WRIGHT S 1978. *Evolution and genetics of populations – Variability within and among natural populations*. Chicago: The University of Chicago. 590p.
- XIE WG; ZHANG XQ; CAI HW; LIU W; PENG Y. 2010. Genetic diversity analysis and transferability of cereal EST-SSR markers to orchardgrass (*Dactylus glomerata* L.), *Biochemical Systematics and Ecology*, 38: 740-749.