

FOL 05428
2001
FL-05428

**Espécies silvestres do gênero *Capsicum*
coletadas na Mata Atlântica Brasileira e sua
relação genética com espécies cultivadas de
pimenta: uma primeira abordagem genética
utilizando marcadores moleculares**



República Federativa do Brasil

Fernando Henrique Cardoso
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Marcus Vinicius Pratini de Moraes
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Márcio Fortes de Almeida
Presidente

Alberto Duque Portugal
Vice-Presidente

Dietrich Gerhard Quast
José Honório Accarini
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Alberto Duque Portugal
Diretor-Presidente

Dante Daniel Giacomelli Scolari
Bonifacio Hideyuki Nakasu
José Roberto Rodrigues Peres
Diretores-Executivos

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Luiz Antonio Barreto de Castro
Chefe-Geral

Arthur da Silva Mariente
Chefe-Adjunto de Administração

Clara Oliveira Goedert
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

José Manuel Cabral Sousa Dias
Chefe-Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio

FOL 05428 19323

Embrapa

ISSN 1676 - 1340

Novembro, 2001

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

EMBRAPA
GEN

**Boletim de Pesquisa
e Desenvolvimento 7**

**Espécies silvestres do gênero
Capsicum coletadas na Mata
Atlântica Brasileira e sua
relação genética com espécies
cultivadas de pimenta: uma
primeira abordagem genética
utilizando marcadores
moleculares**

Gláucia Salles Cortopassi Buso
Rodrigo Tristan Lourenço
Luciano de Bem Bianchetti
Túlio César de Lima Lins
Marisa Toniolo Pozzobon
Zilneide Pedrosa de Souza Amaral
Márcio Elias Ferreira

Brasília, DF
2001

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte (Final) - Brasília, DF

CEP 70770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600

Fax: (61) 340-3624

http://www.cenargen.embrapa.br

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária-Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Marcos Rodrigues de Faria

Marta Aguiar Sabo Mendes

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

Suplentes: Edson Junqueira Leite

José Roberto de Alencar Moreira

Supervisor editorial: Miraci de Arruda Camara Pontual

Revisor de texto: Miraci de Arruda Camara Pontual

Normalização bibliográfica: Maria Iara Pereira Machado

Sérgio Souza Santos

Tratamento de ilustrações: Alysson Messias da Silva

Edição eletrônica: Alysson Messias da Silva

1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 150 exemplares.

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

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

ISSN 1676 - 1340

1. *Capsicum* 2. Pimenta 3. Marcador molecular 4. RAPD 5. Germoplasma 6. Variabilidade Genética I.Lourenço, R. T. II.Bianchetti, L. de B. III.Lins, T. C. de L. IV.Pozzobon, M. T. V.Amaral, Z. P. de S. VI.Ferreira, M. E. VII.Título VIII.Série

CDD 583.79

© Embrapa 2001

Autores

Gláucia Salles Cortopassi Buso

Eng^a. Agr^a., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Rodrigo Tristan Lourenço

Estudante de graduação UnB, estagiário Embrapa Recursos Genética e Biotecnologia.

Luciano de Bem Bianchetti

Eng^o. Agr^o., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Túlio César de Lima Lins

Estudante de graduação UnB, estagiário Embrapa Recursos Genética e Biotecnologia.

Marisa Toniolo Pozzobon

Eng^a. Agr^a., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Zilneide Pedrosa de Souza Amaral

Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Márcio Elias Ferreira

Eng^o. Agr^o., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Universidade Católica de Brasília

Sumário

Resumo	7
Abstract	9
Introdução	11
Material e Métodos	13
Resultados e Discussão	18
Conclusões	21
Referências Bibliográficas	21

Espécies silvestres do gênero *Capsicum* coletadas na Mata Atlântica Brasileira e sua relação genética com espécies cultivadas de pimenta: uma primeira abordagem genética utilizando marcadores moleculares

Resumo

Espécies de *Capsicum* são um dos condimentos mais utilizados no mundo. O gênero é composto de 20-25 espécies das quais cinco são cultivadas: *C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum*, *C. frutescens* and *C. pubescens*. Populações silvestres de *Capsicum* encontram-se distribuídas no continente Americano. No entanto, a origem do gênero *Capsicum* é controversa: alguns autores identificam centros primários de diversidade na região andina com centros secundários no Brasil, enquanto outros propõem o centro de origem no Brasil e Bolívia, com dispersão posterior para a região Andina e América Central. A domesticação das espécies cultivadas também é controversa, incluindo evidências de uma domesticação multi-regional a partir de vários progenitores silvestres, assim como, sugestões de domesticação a partir de um único progenitor silvestre (*C. frutescens*). Pouco se sabe sobre as espécies silvestres de pimentas encontradas no Brasil, sua variabilidade genética e relação filogenética com outras espécies de *Capsicum*. O conhecimento biológico desse germoplasma é importante para um entendimento global do gênero. Adicionalmente, é um germoplasma que provavelmente contém genes de importância agrônômica, como genes que controlam resistência a doenças, produção e qualidade de fruto. Recentemente, uma expedição de coleta à Mata Atlântica brasileira disponibilizou para pesquisa acessos de espécies silvestres de *Capsicum* de uma área com alto risco de pressão antrópica. Dez acessos foram selecionados após estudos com descritores botânicos e morfológicos, dos quais cinco ainda não foram classificados em nível específico (pelo menos três

espécies são novas para a ciência) e cinco identificadas como *C. dusenii*, *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. flexuosum* e *C. parviflorum* previamente coletado no Nordeste brasileiro. Marcadores de DNA amplificados ao acaso para estes novos acessos foram comparados ao "fingerprint" de RAPD de 46 acessos de *C. annuum*, 22 de *C. baccatum*, oito de *C. chinense* e quatro de *C. frutescens*. Índices de similaridade genética (coeficiente de Jaccard) foram estimados e análise de UPGMA foi realizada para o estudo dos agrupamentos produzidos. Os diferentes acessos cultivados se agruparam de acordo com o grupo de espécies (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum* and *C. frutescens*). Inferências sobre a relação de pedigree entre alguns acessos de *C. annuum* cultivados foram estimadas. Os acessos silvestres formaram agrupamento com baixa similaridade (menor que 0,40) em relação às espécies cultivadas e em torno de 0,50 de similaridade entre eles, com exceção de dois acessos silvestres que se agruparam com 0,72 de similaridade. Os resultados, embora preliminares, indicam um baixo relacionamento genético entre as espécies silvestres brasileiras e as espécies cultivadas.

Termos para indexação:

Capsicum, RAPD, marcadores moleculares, germoplasma, variabilidade genética

Wild species of *Capsicum* collected in the Brazilian Atlantic Forest and the genetic relationship with cultivated pepper species: a first genetic approach using molecular markers

Abstract

Peppers (*Capsicum* spp.) are the most used condiments worldwide. The genus is composed of 20-25 species, of which five are cultivated: *C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum*, *C. frutescens* and *C. pubescens*. Wild populations of *Capsicum* are usually distributed in most of the American continent. *Capsicum* origin, however, is controversial: some identify primary centers of diversity in Mexico/Central America with secondary centers in Brazil, while others propose a center of origin in Brazil and Bolivia, with posterior dispersion to the Andean region and Central America. The domestication of the cultivated species is also controversial, including evidence for a multi-regional domestication from several wild progenitors as well as suggestions of domestication from just one wild progenitor (*C. frutescens*). Little is known about the wild pepper species found in Brazil, their genetic variability and phylogenetic relationship with other *Capsicum* species. The biological knowledge of this germplasm is important for the overall understanding of the genus. Moreover, it is a germplasm that potentially harbors genes of agronomic importance, such as those related to the control of disease resistance, yield and fruit quality. Recently, a collecting expedition to the Brazilian Atlantic Forest made available to research, accessions of wild species of *Capsicum* from an area highly threatened by anthropic pressure. Ten accessions were selected after a study with morphological and botanical descriptors, of which five are not yet classified at species level (at least three are new species for science) and five identified to previously known species as *C. dusenii*, *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. flexuosum* and the accession of

C. parvifolium, previously collected in the Brazilian Northeast. Random amplified polymorphic DNA markers generated for these new accessions were compared to RAPD fingerprints of 46 accessions of *C. annuum*, 22 of *C. baccatum*, eight of *C. chinense* and four of *C. frutescens*. Pair-wise genetic similarity indexes (Jaccard's Coefficient) were estimated and UPGMA analysis was performed to cluster the most similar accessions. All cultivated accessions clustered according to their species group (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum* and *C. frutescens*). Inferences of pedigree relationships between some cultivated *C. annuum* accessions were estimated. The wild accessions formed clusters with low similarity (less than 0,40) in relation to the cultivated species and around 0,50 similarity within themselves, with the exception of two wild accessions that clustered with 0,72 similarity index. Results, besides preliminary, indicate a low genetic relationship among wild Brazilian species and the cultivated species of *Capsicum*.

Index terms:

Capsicum, RAPD, molecular markers, germplasm, genetic variability

Introdução

As culturas de pimenta e pimentão são hoje parte fundamental do agronegócio brasileiro, ocupando cerca de 12.000 hectares, e com produção de mais de 280.000 toneladas de frutos por ano. Há no Brasil uma demanda crescente por novas variedades, com maior qualidade, produtividade e resistência a doenças, o que pode ser obtido através de programas de melhoramento. A exploração e ampliação da base genética dos programas de melhoramento depende do conhecimento das relações filogenéticas das espécies conhecidas. Introgessão de genes e produção de híbridos férteis entre espécies silvestres e cultivadas pode ser maximizada através destes conhecimentos. É imprescindível para estes programas que o banco de germoplasma esteja caracterizado e organizado, para que os melhoristas, no momento de tomada de decisões, possam planejar corretamente seus experimentos, tendo conhecimento da diversidade genética a seu dispor. Outro ponto fundamental no estudo e organização do banco de germoplasma de *Capsicum* é o fato do Brasil ser o habitat de várias espécies desconhecidas ou ainda não utilizadas ou caracterizadas de *Capsicum* (Bianchetti, 1996), que potencialmente podem ser empregadas nos programas de melhoramento. Algumas destas espécies estão ameaçadas de desaparecerem, devido à pressão antrópica na Mata Atlântica, o que levaria à redução irreparável na diversidade genética de *Capsicum*, diversidade esta relacionada com fatores agrônômicos, fitopatológicos e características importantes como sabor, pungência e tamanho do fruto.

Pimentas e pimentões são oriundos do continente Americano, assim como seus parentes silvestres. O Brasil detém um extraordinário manancial genético de *Capsicum*, encontrado em áreas de grande pressão antrópica e risco de desaparecimento, particularmente na Mata Atlântica, além de variedades cultivadas encontradas em todo o território nacional. A variabilidade de tipos, cores, formas, aroma, pungência ou sabor é grande e imediatamente reconhecida nas variedades cultivadas e silvestres. Espécies domesticadas apresentam, em geral, frutos maiores, persistentes, pendentes e em menor número por planta que as espécies silvestres.

O número de espécies de *Capsicum* ainda é tema de grande debate. Estima-se a existência de aproximadamente 20 a 25 espécies silvestres e cinco espécies domesticadas (McLeod et al., 1983), embora classificações abrangendo 63 espécies tenham sido propostas. Apesar da existência putativa de um grande

número de espécies do gênero, os principais estudos têm concentrado a análise em cerca de apenas 13 espécies de *Capsicum*. Neste contexto, deve ser ressaltado que a maior parte das espécies brasileiras do gênero ainda não foi estudada (Bianchetti, 1996). Desde o início dos anos 80, a Embrapa tem realizado esforços para coletar variedades cultivadas e silvestres de *Capsicum*. Até o momento cerca de 700 acessos, em sua grande maioria variedades cultivadas, foram catalogados e adicionados à Coleção de Germoplasma de *Capsicum*, da Embrapa Hortaliças. A informação básica obtida para cada acesso é, em geral, limitada e muito pouco se conhece dos acessos coletados.

A caracterização e avaliação de germoplasma visa gerar subsídios para facilitar as decisões dos curadores de Banco de Germoplasma quanto à concatenação de amostras duplicadas. Gera, ainda, subsídios para programas de melhoramento genético e para o conhecimento da própria riqueza genética da coleção. Classicamente, esta caracterização tem sido baseada em descritores morfológicos e, em menor escala, agrônômicos. O advento de técnicas moleculares, inicialmente isoenzimas e mais recentemente técnicas baseadas na avaliação direta de variações na seqüência de DNA, oferece novas oportunidades nesta área. Estas técnicas apresentam características intrínsecas que as qualificam em maior ou menor escala para estudos da variação de seqüência de DNA. Marcadores RAPD (Williams et al., 1990; Welsh & McClelland, 1990) têm sido muito utilizados em estudos de estimativa de variabilidade em Bancos de Germoplasma. Estes marcadores em geral apresentam bom conteúdo informativo, identificam um bom número de locos polimórficos por reação, e alia-se a isto o fato de ser uma técnica altamente acessível, por ser rápida, de baixo custo e pouco intensiva em mão-de-obra.

Este trabalho teve como objetivo analisar acessos de espécies de *Capsicum*, cultivados e silvestres, comparando-os através de "fingerprint" de DNA obtido com marcadores moleculares RAPD, com o intuito de testar a utilização destes marcadores no estudo da variabilidade genética de *Capsicum* e incrementar o conhecimento sobre a diversidade genética do gênero no Brasil, apresentando uma abordagem preliminar sobre a relação genética entre as espécies silvestres coletadas e as espécies cultivadas.

Material e Métodos

Amostras de folhas tenras de 46 acessos de *C. annuum*, 22 de *C. baccatum*, 4 de *C. frutescens* e 8 de *C. chinense* foram coletadas no Banco de Germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Hortaliças para a realização deste experimento. Recentemente, durante uma expedição de coleta na Mata Atlântica, foram coletados 50 acessos de espécies silvestres de *Capsicum* na forma de mudas, frutos e folhas. As folhas foram conservadas em sacos plásticos contendo sílica gel, para posterior extração de DNA. Dez destes acessos foram selecionados para este estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Acessos cultivados e silvestres de *Capsicum* analisados com marcadores RAPD

No.	No. CNPH	Espécie	Origem
01	0181	<i>C. annuum</i>	Itatiba-SP
02	0191	<i>C. annuum</i>	Asgrow
03	0192	<i>C. annuum</i>	Agroflora
04	0193	<i>C. annuum</i>	Empresa Ferry Morse
05	0196	<i>C. annuum</i>	Agroflora
06	0199	<i>C. annuum</i>	Argentina
07	0296	<i>C. annuum</i>	Asgrow
08	0297	<i>C. annuum</i>	Desconhecida
09	0577	<i>C. annuum</i>	Florida, U.S.A.
10	0580	<i>C. annuum</i>	Bruisma, Holanda
11	0582	<i>C. annuum</i>	Bruisma, Holanda
12	0641	<i>C. annuum</i>	Budapest, Hungria
13	0649	<i>C. annuum</i>	Desconhecida
14	0678	<i>C. annuum</i>	Irã
15	0680	<i>C. annuum</i>	U.S.A.

Continuação da Tabela 1.

16	0689	<i>C. annuum</i>	Turquia
17	0703	<i>C. annuum</i>	Índia
18	0707	<i>C. annuum</i>	Etiópia
19	0708	<i>C. annuum</i>	Argentina
20	0716	<i>C. annuum</i>	Peru
21	0729	<i>C. annuum</i>	Espanha
22	0733	<i>C. annuum</i>	U.S.A.
23	0736	<i>C. annuum</i>	Iugoslávia
24	0751	<i>C. annuum</i>	Desconhecida
25	0754	<i>C. annuum</i>	Senegal
26	0756	<i>C. annuum</i>	Rio de Janeiro
27	0764	<i>C. annuum</i>	Rio de Janeiro
28	0823	<i>C. annuum</i>	Zaragoza, Espanha
29	1379	<i>C. annuum</i>	Flórida, U.S.A.
30	1387	<i>C. annuum</i>	Brasilândia, GO
31	1401	<i>C. annuum</i>	Faz. ILCO, MG
32	1404	<i>C. annuum</i>	Faz. ILCO, MG
33	1405	<i>C. annuum</i>	Faz. ILCO, MG
34	1716	<i>C. annuum</i>	França
35	2171	<i>C. annuum</i>	México
36	2275	<i>C. annuum</i>	Agrocères
37	2282	<i>C. annuum</i>	Agrocères
38	2474	<i>C. annuum</i>	Petrolina, PE
39	2519	<i>C. annuum</i>	Tezier, França
40	2678	<i>C. annuum</i>	California, U.S.A.

Continua...

Continuação da Tabela 1.

41	2691	<i>C. annuum</i>	California, U.S.A.
42	2732	<i>C. annuum</i>	Brasília, DF
43	2764	<i>C. annuum</i>	Alemanha
44	2808	<i>C. annuum</i>	Rimini, Itália
45	2809	<i>C. annuum</i>	Porto Recanati, Itália
46	2811	<i>C. annuum</i>	Brindisi, Itália
47	0037	<i>C. baccatum</i>	São Paulo, SP
48	0161	<i>C. baccatum</i>	Brasília, DF
49	0277	<i>C. baccatum</i>	Peru
50	0278	<i>C. baccatum</i>	Peru
51	0283	<i>C. baccatum</i>	Bauru, SP
52	0284	<i>C. baccatum</i>	Araçatuba, SP
53	0285	<i>C. baccatum</i>	São Roque, SP
54	0288	<i>C. baccatum</i>	Goiás
55	0637	<i>C. baccatum</i>	Águas Claras, DF
56	0639	<i>C. baccatum</i>	Águas Claras, DF
57	0669	<i>C. baccatum</i>	Águas Claras, DF
58	0671	<i>C. baccatum</i>	Águas Claras, DF
59	0673	<i>C. baccatum</i>	Águas Claras, DF
60	1359	<i>C. baccatum</i>	Urubici, SC
61	1362	<i>C. baccatum</i>	Urubici, SC
62	1363	<i>C. baccatum</i>	Urubici, SC
63	1364	<i>C. baccatum</i>	Urubici, SC
64	1394	<i>C. baccatum</i>	Anápolis, GO
65	1396	<i>C. baccatum</i>	Anápolis, GO

Continua...

Continuação da Tabela 1.

66	1424	<i>C. baccatum</i>	Brasília, DF
67	2663	<i>C. baccatum</i>	Porto União, SC
68	2738	<i>C. baccatum</i>	Belo Horizonte, MG
69	0059	<i>C. chinense</i>	Paripiranga, BA
70	0061	<i>C. chinense</i>	Nerópolis, GO
71	0570	<i>C. chinense</i>	Amazônia
72	0573	<i>C. chinense</i>	Amazônia
73	0596	<i>C. chinense</i>	Sete Lagoas, MG
74	0599	<i>C. chinense</i>	Anápolis, GO
75	0600	<i>C. chinense</i>	Anápolis, GO
76	1294	<i>C. chinense</i>	Belém, PA
77	0057	<i>C. frutescens</i>	Salvador, BA
78	0062	<i>C. frutescens</i>	Minas Gerais
79	0063	<i>C. frutescens</i>	Minas Gerais
80	1386	<i>C. frutescens</i>	Arapiraca, AL
81	3300 (LBB 1520)	C. sp 1	Parque Estadual Carlos Botelho, SP
82	3312 (LBB 1537)	C. sp 4 (dentão)	Estação Biológica da Boracéia, SP
83	3316 (LBB 1542)	<i>C. dusenii</i>	Estação Biológica da Boracéia, SP
84	3321 (LBB 1547)	C. sp 5	Cunha-Pedra Marcela, SP
85	3323 (LBB1551)	<i>C. buforum</i>	Parque Est. Campos do Jordão, SP
86	3324 (LBB 1552)	<i>C. flexuosum</i>	Caldas, MG
87	3329 (LBB 1558)	C. sp 7 (Gruta do pião)	Parque Estadual do Ibitipoca, MG

Continua...

Continuação da Tabela 1.

88	3331	<i>C. parvifolium</i>	Univ. Federal de Viçosa, MG (LBB 1560)
89	3369	<i>C. campylopodium</i>	Parque Nacional da Tijuca (LBB 1562)
90	3371	C. sp 9	R.P.P.N. do Caraça, MG (LBB 1569)

Foram testados 130 primers RAPD, dos quais 40 (OP-AA11, OP-A17, OP-AB05, OP-AB08, OP-AB09, OP-AB10, OP-AB11, OP-AB14, OP-AB15, OP-AB16, OP-AB17, OP-C13, OP-C15, OP-C16, OP-F13, OP-G02, OP-G04, OP-G11, OP-G19, OP-H08, OP-N06, OP-N07, OP-O18, OP-R01, OP-R06, OP-R08, OP-R10, OP-R14, OP-T04, OP-T05, OP-T08, OP-U01, OP-U02, OP-U10, OP-V17, OP-W01, OP-W14, OP-W15, OP-Y17 e OP-Y18) foram selecionados por serem polimórficos, reproduzíveis e de alta intensidade. As reações de amplificação foram feitas em placas para PCR contendo 96 poços, com volume final para cada reação de 13 μ l, sendo 3 μ l de DNA 2,5ng/ μ l; 4,92 μ l de água milli-Q autoclavada; 1,3 μ l de Tampão 10X para Taq-DNA Polimerase; 1,04 μ l de dNTP 2,5 mM; 1,04 μ l de BSA 2,5 mM; 1,5 μ l de Primer (Operon Technologies, USA) 10ng/ μ l e 0,2 μ l de enzima Taq-DNA Polimerase (Gibco). O DNA foi amplificado em 40 ciclos de: 92°C por 1 minuto, 35°C por 1 minuto e 72°C por 2 minutos, com mais um ciclo de 5 minutos a 72°C, em termociclador.

O "fingerprint" das amostras foi analisado em eletroforese de gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídeo, e documentado em foto com equipamento Eagleeye II. Uma matriz com 90 acessos de *Capsicum* e 101 marcadores RAPD foi utilizada para estimar a similaridade genética entre os acessos empregando o Coeficiente de Jaccard. Os acessos foram agrupados segundo sua similaridade, em dendrograma gerado pela opção UPGMA do software NTSYS- PC versão 2.02.

Resultados e Discussão

A análise (Fig. 1) de similaridade genética de 90 acessos cultivados e silvestres de *Capsicum* permitiu a organização do germoplasma em cinco grandes grupos, subdivididos por espécie: *C. annuum* (46 acessos); *C. baccatum* (22 acessos); *C. chinense* (8 acessos); *C. frutescens* (4 acessos) e *Capsicum* spp (10 acessos da Mata Atlântica brasileira) (Fig. 2).

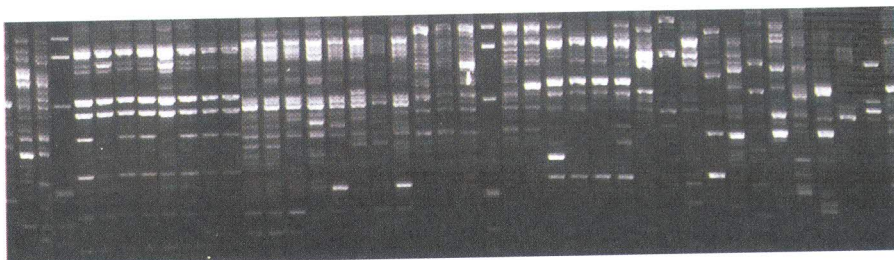


Fig.1: Eletroforese em gel de agarose, mostrando amplificação de DNA por RAPD de acessos de *Capsicum annuum* (1 a 8), *C. baccatum* (9 a 16), *C. chinense* (17 a 21), *C. frutescens* (22 a 25) e espécies silvestres de *Capsicum* (26 a 39). A primeira e 21ª pistas correspondem ao padrão de peso molecular de 1Kb.

No grupo de *C. annuum* as relações de similaridade genética permitem estabelecer paralelos com o conhecimento do pedigree de alguns acessos comerciais. Cinco subgrupos são observados. Um deles, por exemplo, inclui somente variedades comerciais brasileiras com alta similaridade genética (0191, 0196, 0192, 0756, 0764, 2275 e 2732). Outro inclui variedades do tipo "wonder" americano (0193, 0292, 0577, 0297). Os acessos 0181 e 0736 são os mais dissimilares entre os materiais de *C. annuum* analisados. A alta similaridade genética, ou proximidade, entre algumas introduções de banco de germoplasma americano e algumas variedades comerciais permite indicar que os mesmos sejam possíveis fontes de resistência ou de genes de interesse econômico destas variedades.

O grupo de *C. chinense* incluiu acessos do tipo "pimenta de cheiro" de diferentes procedências. Este grupo, em conjunto com acessos de *C. annuum* e *C. frutescens*, forma um grande grupo, onde se expressa maior similaridade entre os subgrupos com acessos de *C. chinense* e *C. frutescens*. *C. baccatum* forma um grupo distinto dos demais. Com isto, foi corroborada a hipótese descrita na

literatura da maior proximidade de *C. annuum* com *C. chinense* e *C. frutescens* do que com *C. baccatum* (Pickersgill et al., 1979).

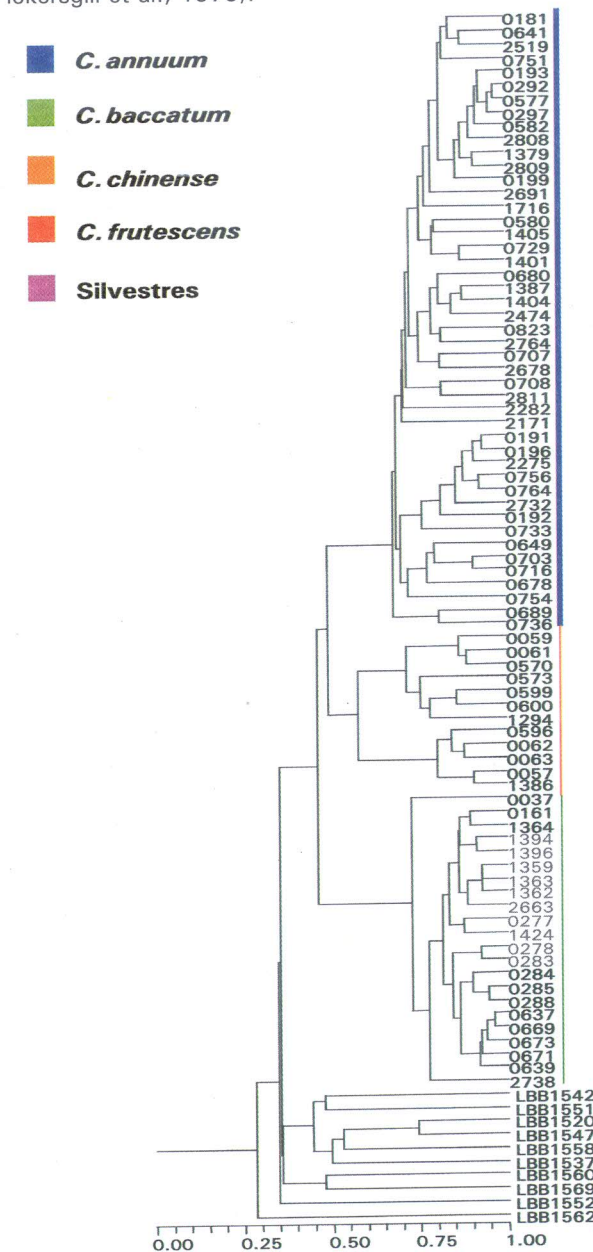


Fig. 2. Análise de aglomeração hierárquica pelo método UPGMA de 90 acessos cultivados e silvestres de *Capsicum* baseada na estimativa de similaridade genética computada pela análise de 101 fragmentos de DNA amplificados ao acaso.

Os acessos de *C. baccatum* formaram subgrupos aparentemente correlacionados com origem geográfica. O subgrupo contendo os acessos 1359, 1363, 1362 e 2663 que são originários de Santa Catarina; um outro subgrupo contém os acessos 0637, 0669, 0673, 0671 e 0639 que são provenientes da região Centro-Oeste; e outro contém os acessos 0283, 0284, 0285 e 0288 provenientes de São Paulo. Um dos acessos estudados (0037) é bem diferente dos outros acessos de *C. baccatum*.

O acesso 0288 possui denominação comum "pimenta malagueta", no entanto, a análise molecular indica que este é um acesso de *C. baccatum* e não de *C. frutescens* como seria de se esperar para os tipos "malagueta". É possível que sejam identificados no Banco de Germoplasma acessos de pimenta com denominação comum inconsistente com a classificação botânica de *Capsicum*.

Os novos acessos de *Capsicum* spp. coletados na Mata Atlântica foram claramente separados das espécies cultivadas *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense* e *C. frutescens*, com baixo grau de similaridade (em torno de 30%). Os acessos LBB 1562 (*C. campylopodium*) e LBB 1552 (*C. flexuosum*) são bem dissimilares (em torno de 25%) entre si e entre o grupo formado pelos outros acessos silvestres. Este grupo possui duas ramificações: uma contendo todos os acessos coletados no Estado de São Paulo, com exceção do acesso LBB 1558, de Minas Gerais, e outro contendo os acessos LBB 1560, do Nordeste, e LBB 1569, de Minas Gerais. Embora tenha-se analisado apenas um acesso de cada espécie silvestre, pode-se perceber que a similaridade entre espécies é baixa (em torno de 50%), sendo que apenas dois acessos mostraram-se mais similares (LBB 1520 e 1547, em torno de 70%). O acesso LBB 1562 tem alta dissimilaridade com os outros acessos silvestres talvez por apresentar uma série de autapomorfias exclusivas (coloração das flores e morfologia dos frutos, entre outras).

É notório o desconhecimento das espécies silvestres de *Capsicum* nativas do Brasil e seu relacionamento genético com pimentas e pimentões cultivados e originários de outros países. Os dados obtidos até o momento e as análises previstas para o futuro permitirão esclarecer a filogenia das diferentes espécies. A coleta e análise de germoplasma de *Capsicum* de regiões de alta pressão antrópica, como a Mata Atlântica, e de regiões ainda pouco exploradas, como a Floresta Amazônica, possibilitará uma melhor compreensão da evolução e das relações filogenéticas entre as pimentas nativas do Brasil e seus parentes americanos.

Conclusões

- A caracterização morfo-taxonomica para agrupamentos de acessos dentro de diferentes espécies foi corroborada pela caracterização molecular;
- A formação de um "supergrupo" (*C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens*) demonstrando alta similaridade entre *C. chinense* e *C. frutescens* e, a distinção de *C. baccatum*, como grupo mais dissimilar, dentre as espécies cultivadas, veio corroborar resultados extraídos da literatura;
- O arranjo de acessos dentro de cada grupo de espécies cultivadas parece refletir os dados de origem (sejam regionais ou de programas de melhoramento);
- Resultados moleculares demonstram a clara distinção entre o agrupamento de espécies cultivadas e silvestres. Através do baixo grau de similaridade (em torno de 30%) entre estes grupos, pode-se inferir que existe pouca ou baixa relação de ancestralidade entre acessos cultivados e silvestres analisados;
- Embora tenha-se analisado apenas um acesso de cada espécie silvestre, pode-se perceber que a similaridade entre espécies é baixa (em torno de 50%) sendo que apenas dois acessos mostraram-se mais similares (LBB 1520 e 1547, em torno de 70%);
- Acesso silvestre LBB 1562 mostrou-se o mais dissimilar, em relação à todo o grupo de espécies silvestres, talvez por apresentar uma série de autapomorfias exclusivas (coloração das flores e morfologia dos frutos, entre outras);
- Estudos posteriores, utilizando-se um maior número de marcadores, poderão alterar o quadro agora apresentado.

Referências Bibliográficas

- BIANCHETTI, L.B. **Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrentes no Brasil**. 1996. 174f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220p.

MCLEOD, M.J.; GUTTMAN, S.I.; ESHBAUGH, W.H. Peppers (*Capsicum*). In: TANKSLEY, S.D.; ORTON, T. J. (Ed.). **Isozymes in plant genetics and breeding**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1983. Part B. p.189-201.

PICKERSGILL, B.; HEISER, C.B.; McNEILL, J. Numerical taxonomic studies on variation and domestication in some species of *Capsicum*. In: HAWKES, J.G.; LESTER, R.N.; SKELDING, A.D. (Ed.). **The biology and taxonomy of the Solanaceae**. New York: Academic Press, 1979. p. 679-700.

WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.7213-7218.1990.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531-6535. 1990.

Embrapa

*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*

Espécies silvestres do ...

2001

FL-05428



CENARGEN- 19323-1

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**

**GOVERNO
FEDERAL**
Trabalhando em todo o Brasil