

SÉRGIO DIAS LANNES

**DIVERSIDADE EM *Capsicum chinense*: ANÁLISE QUÍMICA,
MORFOLÓGICA E MOLECULAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Doctor Scientiae.”

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L292d
2005

Lannes, Sérgio Dias, 1975-

Diversidade em *Capsicum chinense*: análise química, morfológica e molecular / Sérgio Dias Lannes. – Viçosa : UFV, 2005.

x, 81f. : il. ; 29cm.

Orientador: Fernando Luiz Finger.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 73-81.

1. Pimenta - Genética. 2. Pimenta - Composição.
3. *Capsicum chinense*. 4. Análise multivariada. 5. Polimorfismo do DNA ampliado ao acaso. 6. Genética molecular. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 633.842

SÉRGIO DIAS LANNES

DIVERSIDADE EM *Capsicum chinense*: ANÁLISE QUÍMICA, MORFOLÓGICA
E MOLECULAR

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Genética
e Melhoramento, para obtenção do título de
“Doctor Scientiae.”

Aprovada, em 8 de setembro de 2005

Vicente Wagner Dias Casali
Conselheiro

Adilson Ricken Schuelter
Conselheiro

Cosme Damião Cruz

Cleide Maria Ferreira Pinto

Fernando Luiz Finger
Orientador

Aos meus pais, Breno e Maria Ambrozina
e meus irmãos
Breno, Liege e Eduardo
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus;

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização desse trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

Ao professor Fernando Luiz Finger, pela orientação, confiança e amizade;

Ao professor Vicente Wagner Dias Casali, pelo aconselhamento e lições de vida;

Ao professor Adilson Ricken Schuelter, pelos ensinamentos e pela amizade;

Ao professor Cosme Damião Cruz e a Dra. Cleide Maria Ferreira Pinto, pelas valiosas sugestões;

Aos bolsistas e estagiários do laboratório de pós-colheita pelo apoio na condução do trabalho;

Aos laboratoristas José Geraldo Julio e Francisco Ribeiro pela incansável ajuda na realização das análises feitas em Viçosa;

Ao Laboratório de Biotecnologia da Universidade Paranaense, em especial ao professor Adilson Ricken Schuelter, suas bolsistas e estagiárias pela realização das análises moleculares;

À Universidade de Kaiserslautern na pessoa do Dr. Matthias Redenbach pela realização de análises naquela universidade;

A família Dias Alves por me acolher na cidade de Toledo;

Aos amigos que fiz, tornando o período da realização desse trabalho mais ameno;

A todos que de alguma forma, em Viçosa ou em Toledo, ajudaram na realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

SÉRGIO DIAS LANNES, filho de Breno José Lobato Lannes e Maria Ambrozina Dias Lannes, nasceu em Pelotas, RS, em 24 de novembro de 1975.

Em janeiro de 1998, graduou-se em Engenharia Agrônômica, pela Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

Em março de 1998, ingressou no curso de Mestrado em Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Pelotas, defendendo dissertação em 30 de outubro de 2000.

Em Agosto de 2001 ingressou no curso de doutorado em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	04
2.1 Caracterização, Avaliação e Conservação de Germoplasma	04
2.2 Composição Física e Química dos Frutos de Pimenta	05
2.2.1 Composição de Pimentas Doces e Ardidadas	05
2.2.2 Coloração	06
2.2.3 Pungência	07
2.2.4 Vitaminas	08
2.3 Melhoramento Genético de Pimenta	09
2.4 Diversidade Genética	10
2.5 Marcadores Moleculares	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Germoplasma e Condições de Cultivo	15
3.2 Avaliação dos Caracteres Morfo-Agronômicos	21
3.3 Análise Molecular por Marcadores RAPD	25
3.4 Análise Estatística dos Caracteres Morfo-agronômicos	28
3.4.1 Análise de Variância	28
3.4.2 Coeficientes de Correlações simples	30
3.4.3 Análise Multivariada	30
3.4.3.1 Medidas de Dissimilaridade	30

3.4.3.1.1	Análise de Dissimilaridade dos Caracteres Quantitativos	31
3.4.3.1.2	Análise de Dissimilaridade para variáveis multicategóricas	31
3.4.3.1.3	Análise de Dissimilaridade do perfil molecular	32
3.4.3.2	Análise de Agrupamento	33
3.4.3.2.1	Método de Otimização de Tocher	33
3.4.3.2.2	Método de Ligação média entre grupo (UPGMA)	33
3.4.4	Teste de Mantel	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1	Variabilidade genética entre acessos	35
4.2	Desempenho de acessos de pimenta em relação a caracteres quantitativos de frutos	39
4.3	Estimativas de correlações Fenotípicas, Genotípicas e de Ambiente	52
4.4	Diversidade Genética	59
4.4.1	Caracteres quantitativos	59
4.4.2	Variáveis multicategóricas	61
4.4.3	Caracterização molecular	63
4.4.4	Análise da diversidade genética conjunta	68
4.5	Teste de Mantel	70
5	CONCLUSÕES	72
6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

RESUMO

LANNES, Sérgio Dias, DS, Universidade Federal de Viçosa, Setembro, 2005.
Diversidade em *Capsicum chinense*: análise química, morfológica e molecular Orientador: Fernando Luiz Finger. Conselheiros: Adilson Ricken Schuelter e Vicente Wagner Dias Casali

A espécie *Capsicum chinense* Jacq. apresenta considerável importância na agricultura brasileira por empregar mão-de-obra familiar em pequenas propriedades. Seus frutos são muito utilizados como condimento, além de apresentarem propriedades farmacêuticas, como anestésicos e antiinflamatórios. O sucesso dos programas de melhoramento de plantas depende da variabilidade genética disponível, requisito básico que possibilita seleção de genótipos com características comerciais de interesse. O Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa possui cerca de cem acessos de *C. chinense* com grande potencial de utilização em programas de melhoramento. Entretanto, a falta de informações sobre as características agrônômicas desses acessos impossibilita sua utilização em tais programas. Os objetivos deste trabalho foram caracterizar e estimar a diversidade genética em acessos de *Capsicum chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa por meio da análise das características morfo-agronômicas e de DNA, utilizando marcadores moleculares RAPD. Foram avaliados quarenta e nove acessos de *C. chinense* quanto a características ligadas à qualidade dos frutos, características morfológicas da planta e padrão molecular. A diversidade genética foi mensurada através dos métodos de agrupamento de otimização de Tocher, bem como pelo método hierárquico UPGMA. Foi verificada a existência de variabilidade entre os acessos, cuja magnitude variou conforme a característica analisada. A concentração de capsaicina total foi responsável por 88,32% da variação total dos caracteres avaliados conforme o método de Sing, sendo, portanto, a característica que mais contribuiu para a discriminação da diversidade genética entre os acessos. Tendo como base a distância

generalizada de Mahalanobis, os dados quantitativos formaram dez grupos, sendo os acessos BGH 1694-05 e BGH 1723-22 os menos divergentes. Os agrupamentos baseado nos dados de característica morfológica de planta formaram nove grupos, sendo os acessos BGH6371-93 e BGH 6371-94 os mais similares. O índice de dissimilaridade de Nei & Li agrupou os dados moleculares em 8 grupos, sendo os acessos BGH1714-09 e BGH 6387-100 os mais divergentes. Quando analisados os dados em conjunto, os acessos BGH 8344-86 e BGH6371-94 foram os que apresentaram maior divergência entre si. Os acessos foram mais bem discriminados pelos caracteres relacionados à qualidade dos frutos. Portanto, os acessos BGH 4733-56 e BGH 6771-93 foram os que possuíam melhores características para consumo seco e *in natura*, respectivamente.

ABSTRACT

LANNES, Sérgio Dias, DS, Universidade Federal de Viçosa, September, 2005.
Diversity in *Capsicum chinense*: chemical, morphologic and molecular analysis. Advisor: Fernando Luiz Finger. Committee members: Adilson Ricken Schuelter and Vicente Wagner Dias Casali

The species *Capsicum chinense* Jacq. Presents large importance in Brazilian agriculture, because uses the family working labor in small farms. The fruits are used as condiments, for pharmaceutical purposes as anesthetic and anti-inflammatory. The success of a breeding program depends on genetic variability, which allows the selection of genotypes with commercial characteristics. The germoplasm bank of vegetable (BGH) from the Universidade Federal de Viçosa has close to 100 accesses of *C. chinense* with potential for utilization in breeding programs. However, the lack of information about the agronomic characteristics of the accesses diminishes the effectiveness of any breeding program. The goal of this was to characterize and evaluate the genetic diversity in the accesses of the BGH using agronomic traits and DNA analysis with RAPD markers. It was studied 49 accesses evaluating the fruit quality, morphological characteristics of the plants and molecular pattern. The genetic diversity was measured by the Tocher optimizing group and by UPGMA inheritance method. It was observed the existence of variability among the accesses, and magnitude varied with the analyzed characteristic. The concentration of capsaicin was responsible for 88.32% of the total variability among the characters evaluated by the Sing method, being the trait that most contributed for the genetic discrimination among the accesses. The Mahalanobis distance method established ten groups for the accesses, being the accesses BGH 1694-05 and BGH 1723-22 the less divergent. The grouping based in morphological characteristics established nine groups, being the accesses BGH 6371-93 and BGH 6371-94 the most similar. The index of dissimilarity by Ney & Li grouped the molecular data in eight groups, being the accesses BGH 1714-09 and BGH 6387-100 the most

divergent. When analyzed together, the accesses BGH 8344-86 and BGH 6371-94 were the most divergent between them. The accesses were more discriminated based on the fruits characteristics. Thus, the accesses BGH 4733-56 and BGH 6771-93 had the best characteristics for dry product and *in natura* consumption, respectively

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, pertencente à família Solanaceae, é constituído por muitas espécies silvestres e apenas cinco domesticadas, originárias da América tropical (Andrews, 1984; Pickersgill, 1997).

As espécies domesticadas *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* e *Capsicum pubescens* são cultivadas em várias partes do hemisfério norte e sul, oriente e ocidente (Casali & Couto, 1984). Os frutos dessas plantas são consumidos *in natura*, como o pimentão e algumas pimentas, e também constituem matéria-prima nas fábricas de condimentos, no processamento de diversos pratos ou de alimentos industrializados (Souza & Casali, 1984).

As diversas espécies de pimentas e pimentões produzem frutos cujos teores de vitamina C superam os dos frutos cítricos. Além disso, os frutos são importantes como fontes de vitamina A, vitaminas do complexo B₁ e B₂ e de minerais como cálcio, ferro e fósforo. A pungência das pimentas é o atributo mais característico da qualidade dos frutos, devido à presença do complexo de alcalóides denominados capsaicinóides, que lhes determinam o sabor e a ardência (Bosland, 1993).

No mercado brasileiro, a participação das pimentas ainda é pequena, se comparada à de países como Espanha, México e Turquia. Segundo dados da

EMBRAPA (2000), estima-se que a área cultivada de pimentas no Brasil seja 5.000 hectares por ano, com a receita anual de 79 milhões de reais. Há, porém, carência de dados estatísticos precisos e mais recentes sobre essa cultura no país.

C. chinense, como todas as demais espécies cultivadas de pimenta, teve origem na América, sendo a mais difundida na América tropical e amplamente cultivada na região da Amazônia, onde demonstra grande diversidade (Bosland, 1992). Algumas variedades dessa espécie, cultivadas na África, são descritas como as mais pungentes de todas as pimentas (Smartt & Simmonds, 1995).

Botanicamente, a espécie *C. chinense* se caracteriza pela corola da flor branca com duas a cinco flores por nó, raramente solitárias. O pedicelo dessa espécie é normalmente pendente, podendo estar ereto ou inclinado, possuindo uma constrição junto ao cálice com a presença de antocianina nas anteras. Os frutos têm várias formas, podendo ser lisos ou enrugados, com comprimento de até vinte centímetros. Quando imaturos, a cor do pericarpo é verde ou amarelo-limão; quando maduros, ela pode variar entre vermelho, laranja e marrom (Casali & Couto, 1984; Smith *et al.*, 1987).

No consumo *in natura*, a preferência é por frutos de formato cônico e graúdo. Entretanto, intensidade da cor, cutícula brilhante, superfície lisa e firmeza da polpa são características importantes, pois atraem o consumidor (Casali *et al.*, 1984). Por outro lado, na pimenta industrializada, ou seja, na pimenta seca, a porcentagem de matéria seca, o teor de sólidos solúveis, a intensidade de cor assim como a espessura do pericarpo devem ser altos, visto que são características que determinam o rendimento final na indústria (Casali & Stringheta, 1984).

O desenvolvimento de cultivares de pimenta possibilitaria a expansão do cultivo dessa cultura, que atenderia à demanda da indústria alimentícia, farmacêutica e ao comércio de plantas ornamentais. Contudo, o sucesso em programas de melhoramento depende da disponibilidade da variabilidade genética, que torna possível selecionar os genótipos com as características comerciais de interesse.

O Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa possui cerca de cem acessos de *C. chinense* com grande potencial de contribuir com recursos genéticos em programas de melhoramento, porém a falta de informações sobre as características de qualidade dos frutos dificulta a inserção desses acessos nos programas.

Este trabalho teve como objetivos caracterizar e estimar a diversidade genética em acessos de *Capsicum chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, por meio da análise das características morfo-agronômicas e de DNA, por marcadores moleculares RAPD.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Caracterização, Avaliação e Conservação de Germoplasma

As práticas de caracterização e avaliação de germoplasma são fundamentais para o uso e conservação dos recursos genéticos. Em termos gerais, a caracterização pode ser morfológica, reprodutiva, agronômica, bioquímica citogenética e molecular (Valois *et al.*, 2001).

Segundo Valls (1988), a correta identificação botânica, a elaboração do cadastro de acessos por espécie e as caracterizações contribuem para o maior conhecimento dos acessos, viabilizando a detecção de possíveis duplicatas nos bancos de germoplasma.

No processo de caracterização, deve-se inicialmente fazer a identificação de caracteres de alta herdabilidade cuja expressão é pouco influenciada pelas condições ambientais. Assim, aqueles acessos com maior potencial para caracteres de menor herdabilidade devem ser submetidos a uma avaliação complementar, visando detectar quais se adaptam melhor aos vários locais (Nass, 2001).

A biotecnologia também tem auxiliado nos trabalhos de caracterização, ao ser utilizada na identificação de genótipos, possibilitando a análise da diversidade genética nas coleções ou em condições naturais, e também permitindo a separação de genótipos duplicados (Nass, 2001).

A conservação *ex situ* de recursos genéticos é realizada nos bancos de germoplasma, onde são armazenados os acessos visando à futura utilização (Valois *et al.*, 2001). De maneira geral, a estrutura dos bancos de germoplasma compreende a introdução, o intercâmbio de germoplasma, a coleta, a caracterização, a avaliação, a documentação e a conservação dos recursos genéticos (Nass, 2001).

Para alcançar os objetivos básicos dos bancos de germoplasma, como a manutenção da variabilidade genética e a utilização dos acessos, é de fundamental importância que haja sincronia perfeita entre as diversas atividades. Por outro lado, os melhoristas conduzem seus programas de melhoramento em função da variabilidade genética disponível que atenda aos objetivos dos programas de melhoramento (Nass, 2001).

No Brasil, existem cerca de 180 bancos de germoplasma, totalizando mais de 200 mil acessos de espécies vegetais, como grãos, frutíferas, florestais, hortaliças, entre outras, abrangendo 84 produtos. A maioria desses bancos de germoplasma vegetal está integrada ao principal programa de conservação *ex situ* do país, denominado “Conservação e Uso de Recursos Genéticos”, coordenado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (Valois *et al.*, 2001).

O Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, pioneiro no Brasil, possui cerca de 100 acessos de *C. chinense*, entretanto, as características morfológicas da planta e a qualidade físico-química dos frutos não foram descritas detalhadamente até o presente momento. No estudo inicial de Teixeira (1996), foi observada a variabilidade na composição do DNA pela técnica de RAPD e a diversidade quanto à morfologia, tamanho e cor dos frutos.

2.2 Composição Físico-Química dos Frutos de Pimenta

2.2.1 Composição de Pimentas Doces e Ardidadas

Em média, pimentas não ardidadas do tipo “bell” (*C. annuum*) possuem maior quantidade de água que frutos de pimentas do tipo “New México” ardidadas (*C. annuum*). Entretanto, matéria seca, vitamina A e vitamina C estão em

maiores concentrações em frutos ardidos (Bosland & Votava, 1999). Nas pimentas ardidas, há até quatro vezes mais matéria seca em relação às não ardidas. A concentração de vitamina A em frutos ardidos é cerca de 50% maior que em frutos não ardidos. Da mesma forma, a concentração de Vitamina C em frutos de *C. annuum* ardidos é 80 % maior que em frutos de *C. annuum* não ardidos (Bosland & Votava, 1999). É importante salientar que a maioria dos compostos presentes nos frutos ardidos está em maior quantidade, se comparada aos frutos não ardidos (Nuez *et al.*, 1996).

2.2.2 Coloração

Os componentes que determinam a cor e o sabor aos frutos de pimenta são os carotenóides, os capsaicinóides, as vitaminas e os ácidos voláteis. (Nuez *et al.*, 1996). Dentre os pigmentos dos frutos, se destacam os pigmentos carotenóides, isto é, os precursores da vitamina A, de grande valor para o ser humano. Os principais carotenóides são capsantina e capsorubina, que determinam a cor vermelha dos frutos. Os carotenóides criptoxantina e β -caroteno têm função de provitamina A (Nuez *et al.*, 1996). A quantidade de carotenos presente no fruto e a respectiva coloração são condicionadas pela ação e interação de três genes, isto é, *y*, *c1* e *c2*. Thorup *et al.* (2000) e Hurtado-Hernandez & Smith (1985) discordam quanto às cores de frutos maduros resultantes da interação desses três genes. O primeiro autor afirma que diferentes combinações desses genes resultam em oito diferentes cores, isto é, vermelho, vermelho claro, laranja, laranja claro, amarelo-laranja, amarelo-laranja claro, amarelo-limão e branco, enquanto que o segundo afirma que essa interação resulta apenas nas cores vermelho, pêssego, laranja e creme.

A formação desses carotenóides nos frutos tem início no amadurecimento, o qual está associado com as mudanças de textura, cor e sabor dos frutos. β -caroteno, criptoxantina e zeaxantina são carotenóides precursores da rota biossintética da maturação dos frutos, enquanto capsantina e capsorubina são carotenóides terminais, isto é, são os carotenóides responsáveis pela expressão da cor no fruto. Dentre os pigmentos vermelhos dos frutos, pode-se destacar a capsantina, que representa cerca de 35% do

total desses pigmentos, seguida de β -caroteno e violaxantina, com cerca de 10% cada um, criptoxantina e capsorubina, com 6% cada um e criptocapsina, com cerca de 4%. Os demais representam menos de 2% do total no fruto (Nuez *et al.*, 1996).

Mínguez-Mosquera *et al.* (1994) compararam variedades de *C. annuum* e verificaram que a quantidade dos carotenóides nos frutos interfere na qualidade da páprica. Casali & Stringheta (1984) afirmam que o melhorista deve sempre buscar a menor relaao capsantina/capsorubina devido  maior capacidade de retenao de cor, em decorrência do maior número de insaturaoes na capsantina.

2.2.3 Pungência

A pungência nos frutos de pimenta, característica mais importante de qualidade do fruto, exceto quando utilizada como planta ornamental,  resultado da síntese de alcalóides, isto , metabólicos secundários denominados capsaicinóides, presentes na placenta dos frutos (Bosland, 1992). A combinaao e a concentraao dos compostos capsaicinóides proporcionam a maior ou menor sensaao de ardência do fruto (Bosland, 1993).

A intensidade de ardência das pimentas  determinada pela escala Scoville de calor, na qual cada parte por milhão de capsaicina presente nos frutos representa 15 unidades Scoville de calor. Com a escala de calor, o fruto de pimenta pode ser classificado em não pungente (até 700 unidades Scoville de calor), ligeiramente pungente (700 - 3000 unidades Scoville de calor), moderadamente pungente (3000 - 25000 unidades Scoville de calor), pungente (25000 - 70000 unidades Scoville de calor) e muito pungente (acima de 80000 unidades Scoville de calor) (Bosland, 1993). A capsaicina  o mais importante dos alcalóides, estando em maior concentraao quando comparada com os demais capsaicinóides, seguida da dihidrocapsaicina. Capsaicina e dihidrocapsaicina juntas correspondem a cerca de 90% do total de capsaicinóides presentes nos frutos. Os demais capsaicinóides são: nordihidrocapsaicina (7%), homocapsaicina (\cong 1%), homodihidrocapsaicina (\cong 1%) e vanilamida de ácido n-nonanoico (\cong 1%) (Greenleaf, 1986).

Curry *et al.* (1999) identificaram diferenças na quantidade de capsaicina entre variedades de *C. annuum*, variando de zero a 20 ppm. Assim, o valor máximo de pungência encontrado nessas variedades de *C. annuum* foi de 3.000 unidades de Scoville.

O conteúdo de capsaicina é maior na placenta do fruto, cerca de 2,5% da matéria seca, enquanto que, nas sementes e no pericarpo, é de 0,07% e 0,03% respectivamente. Em muitos casos, a quantidade de capsaicina no tegumento não atinge 10 partes por milhão (ppm), limite mínimo para a detecção de ardor pelas papilas gustativas humanas (Nuez *et al.*, 1996). A quantidade de capsaicinóides acumulada nos frutos de pimenta é influenciada pelas condições ambientais, manejo da cultura e idade do fruto (Bosland, 1993).

O mecanismo genético do controle do acúmulo de capsaicinóides nos frutos de pimenta não foi ainda bem determinado. Greenleaf (1986) descreve que os primeiros estudos realizados no início do século XX sobre o número de genes que controlam a pungência afirmavam ser uma característica monogênica. A teoria poligênica, segundo Greenleaf (1986), foi proposta por Ohta (1960), quando os teores de capsaicina nos frutos passaram a ser determinados pelo uso das técnicas de cromatografia e espectrofotometria. Zewdie e Bosland (2000) verificaram a herança da capsaicina em híbridos de *C. annuum* e *C. chinense* e concluíram que a síntese de capsaicinóides é controlada por diferentes genes e apresenta herança quantitativa, o que explica a variação nos níveis de capsaicinóides nos frutos de pimenta.

2.2.4 Vitaminas

As vitaminas mais importantes encontradas nos frutos de pimenta são B₁, B₂, C, E e provitamina A. A vitamina C (ácido ascórbico) se encontra em maiores concentrações em frutos de pimenta com até 250 mg por cem gramas de fruto fresco (Bosland & Votava, 2000), valor comparável ao da goiaba, com 200 mg por cem gramas de fruto, porém abaixo do teor de vitamina C em acerola, que atinge 1800 mg por cem gramas de fruto fresco (Costa *et al.*, 2001), mas superando o da laranja, com 60 mg por cem gramas de polpa. (Carvalho, 1984).

Os frutos de cor branca, preta e roxa contêm baixos teores de vitamina C, quando comparados com frutos maduros de coloração vermelha, amarela e laranja (Simonne *et al.*, 1997). O conteúdo de ácido ascórbico em frutos de *C. annuum* varia de 65,5 mg a 136,1 mg por cem gramas de fruto fresco (Yahia *et al.*, 2001).

Quanto à vitamina A, os frutos de pimenta são ricos e dietéticos, visto que três a quatro gramas de fruto vermelho atendem às necessidades diárias dessa vitamina no organismo adulto. Essa vitamina está presente nos frutos de pimenta na forma de provitamina A, que são os α e β -carotenos e a criptoxantina. Dessas três substâncias, a mais importante é o β -caroteno, pois, além de encontrar-se em maior proporção no fruto, de uma molécula de β -caroteno formam-se duas de vitamina A pelo metabolismo do fígado humano, diferentemente do α -caroteno e da criptoxantina que formam uma molécula apenas (Bosland, 1993).

Carvalho (1984) afirma que pimentas malaguetas contêm até 11.000 UI de vitamina A, valor que se equipara ao da cenoura - até 13000 UI de vitamina A - considerada fonte de altos teores de vitamina A.

2.3 Melhoramento Genético de Pimenta

Para alcançar sucesso, os programas de melhoramento dependem de vários fatores. A definição dos objetivos e metas é de fundamental importância na economia de tempo e recursos. Do mesmo modo, deve-se escolher criteriosamente o método mais eficiente de seleção, levando-se em conta a base genética da característica a ser melhorada, uma vez que o processo de melhoramento só poderá ser bem sucedido se a população a ser melhorada possuir variabilidade genética quanto ao atributo sob seleção (Cardoso, 2001).

A pesquisa desenvolvida com pimenta pela EMBRAPA envolve a multiplicação de coleção de germoplasma, caracterização morfológica, citogenética e molecular. Conservação, documentação e avaliação de resistência a doenças e melhoramento de plantas também são realizados pela instituição. O programa de melhoramento é focado para atender à demanda do setor privado de sementes, desenvolvendo cultivares de pimentas ardidas com

características para processamento e produção de páprica (Carvalho *et al.*, 2003).

Em *Capsicum*, os frutos podem ser consumidos *in natura*, secos, ou ainda alguns genótipos podem ser utilizados como planta ornamental, visto que a cor e a forma dos frutos se adaptam a esse fim (Bosland, 1992). Tendo em vista o consumo *in natura*, os programas de melhoramento devem ter como objetivo o desenvolvimento de frutos grandes, doces e com baixo teor de capsaicina, podendo ter a coloração verde quando imaturos e variando do amarelo ao vermelho quando maduros, com pericarpo espesso e película brilhante (Casali *et al.*, 1984).

Visando ao consumo seco, isto é, na forma de pó, normalmente os frutos devem ser pungentes, com grande variabilidade em comprimento e largura, podendo ter a forma alongada, arredondada e achatada. A coloração madura mais freqüente é de cor vermelho, podendo apresentar ainda frutos de cor pode variar de amarelo, creme, laranja, e marrom. O pericarpo normalmente é fino e a película é brilhante (Casali & Stringheta, 1984).

2.4 Diversidade Genética

O conhecimento da diversidade entre os indivíduos é útil no melhoramento genético visando ao gerenciamento da variabilidade genética disponível, por meio da escolha dos genitores a serem utilizados nos cruzamentos, podendo-se assim maximizar a heterose. Além disso, o estudo da diversidade entre linhagens possibilita o seu arranjo em grupos que, quando entrecruzados, podem resultar em maiores resultados de heterose (Souza, 2001).

A análise da diversidade genética se destina à identificação de genitores adequados à obtenção de híbridos com maior efeito heterótico, assim como permite identificar genótipos duplicados em bancos de germoplasma. Entretanto, é preciso cautela na avaliação da divergência genética, visto que dois genótipos podem ser completamente distantes geneticamente e ainda assim serem bastante relacionados, por serem membros da mesma população (Cruz & Carneiro, 2003).

Essa divergência pode ser avaliada a partir de características agronômicas, morfológicas e moleculares. As informações múltiplas de cada acesso ou cultivar são expressas em medidas de dissimilaridade, que representam a diversidade em relação ao conjunto de acessos (Cruz & Carneiro, 2003).

As medidas de dissimilaridade comumente utilizadas em variáveis quantitativas são Distâncias Euclidiana, Euclidiana Média, Euclidiana Média Padronizada e Distância Generalizada de Mahalanobis, com certa vantagem para esta última, visto que são levadas em consideração as variâncias e covariâncias residuais existentes entre as características mensuradas.

Variáveis multicategóricas – características morfológicas atribuídas à estrutura de planta, assim como atributos que conferem qualidade aos produtos comercializados, como forma, cor e sabor – são comumente determinadas utilizando-se a distância de Cole Rodgers (1997), na qual as características que normalmente não podem ser ordenadas são classificadas em escalas, podendo então ser analisadas como características quantitativas discretas (Cruz & Carneiro, 2003).

O procedimento de avaliação da diversidade genética entre acessos a partir de dados moleculares utiliza variáveis binárias, sendo avaliadas a presença e a ausência de marcas. Os coeficientes de similaridade são obtidos pela coincidência ou não de bandas entre pares de indivíduos (Cruz & Carneiro, 2003).

As estimativas de dissimilaridade atendem aos objetivos do melhorista, por quantificarem e informarem o grau de semelhança ou de diferença entre pares de genótipos. Entretanto, quando o número de acessos é relativamente grande, torna inviável o reconhecimento de grupos homogêneos pelo exame visual das estimativas de distância. Devido a isso, os acessos semelhantes são reunidos com o uso de técnicas de agrupamento, em que a união se dá pela classificação dos acessos em vários grupos de forma que exista homogeneidade dentro e heterogeneidade entre esses grupos, ou seja, o grupo original é dividido em vários outros grupos, seguindo o critério de similaridade ou de dissimilaridade (Cruz e Carneiro, 2003).

Entre os vários métodos de agrupamento de otimização, o mais utilizado no melhoramento genético é o método de Tocher (Rao, 1952). Esse método tem como princípio estabelecer grupos de maneira que exista homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre eles. O método da ligação média entre grupos (UPGMA) é o mais utilizado em diversidade, quando se trabalha com populações silvestres, tendo vantagem sobre os demais métodos por considerar médias aritméticas das medidas de dissimilaridade, o que evita caracterizar a dissimilaridade por valores extremos entre os genótipos (Cruz e Carneiro, 2003).

2.5 Marcadores Moleculares

O uso dos marcadores moleculares no estudo de diversidade genética permite gerar grande quantidade de informações sobre a semelhança genética e o relacionamento filogenético em determinado germoplasma (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Geralmente se estuda a diversidade entre indivíduos tendo por objetivo a identificação de genótipos e o interesse específico, a gestão de recursos genéticos e/ou a divisão dos genótipos em grupos heteróticos (Souza, 2001).

Os marcadores moleculares possibilitam a quantificação da similaridade genética entre genótipos e, conseqüentemente, a estruturação da divergência genética. O seu emprego possibilita organizar grupos de indivíduos de acordo com a similaridade entre eles. Por isso, são utilizados na análise de bancos de germoplasma e na avaliação da diversidade entre acessos. Ainda no estudo dos recursos genéticos, as técnicas de marcadores moleculares podem ser empregadas na análise genética de populações (Souza, 2001).

A caracterização molecular da diversidade genética do germoplasma pode auxiliar o melhorista na seleção dos progenitores dentro de populações básicas, objetivando o estabelecimento de programas de melhoramento. Uma vez caracterizado o germoplasma disponível, o melhorista pode escolher genotipicamente os genitores dos cruzamentos, tanto com o objetivo de maximizar a segregação de genes de importância agrônômica, como restringir

essa segregação a poucos genes. Com a escolha dos genitores, será possível identificar os recombinantes desejados (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

O grande número de marcadores moleculares disponível permite a amostra extensiva dos genomas de interesse, sem influência do ambiente. A interpretação desse tipo de dado é feita de maneira simples: bandas em comum entre genótipos representam similaridade genética, enquanto que bandas não comuns representam diferenças genéticas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

As técnicas de marcadores moleculares se classificam de acordo com o modo de ação e podem ser classificadas como: de hibridização e de amplificação (Ferreira & Grattapaglia, 1998). As técnicas baseadas em PCR têm, como princípio de funcionamento, a amplificação do DNA, isto é, a multiplicação de fragmentos de DNA a partir de alguma seqüência conhecida. A técnica da reação de polimerização em cadeia (PCR) e suas derivações facilitaram o entendimento dos processos biológicos fundamentais nas áreas aplicadas envolvendo o melhoramento genético. A facilidade, rapidez, versatilidade e sensibilidade da PCR a tornaram particularmente útil nos estudos genético-moleculares envolvendo grande número de indivíduos de qualquer tipo de organismo. (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA – DNA polimórfico amplificado ao acaso), derivada da PCR, tem como característica ser marcador dominante, isto é, identifica o alelo dominante pela presença de banda e o alelo recessivo pela ausência de banda. Essa técnica, quando comparada com outras técnicas de hibridização, tal como o RFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição), tem a vantagem de ser facilmente executada, obtendo-se resultados rapidamente e com baixos custos. A desvantagem dessa técnica é o baixo conteúdo de informações por loco, isto é, apenas o alelo dominante é amplificado, enquanto que as demais variações alélicas são classificadas conjuntamente como alelo nulo (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Em várias espécies – como o quiabo (Martinello *et al.*, 2001), melão (Rizzo *et al.*, 2002; Paiva, 2002), morango (Conti *et al.*, 2002a) e feijão-vagem

(Abreu *et al.*, 2004) – a diversidade entre genótipos foi estudada de modo a determinar os mais similares, por meio de caracteres morfo-agronômicos, assim como também por meio de marcadores moleculares, podendo-se citar arroz (Virk *et al.*, 1995), soja (Correia *et al.*, 1999), batata doce (Oliveira, 2002), morango (Conti *et al.*, 2002b) e quiabo (Martinello, 2003).

Em *Capsicum*, diversos trabalhos foram realizados visando ao estudo da diversidade genética por meio da avaliação de caracteres morfo-agronômicos, (Oliveira *et al.*, 1999; Moura *et al.*, 1999; Sudré *et al.*, 2005), ou ainda pela utilização de marcadores moleculares (Paran *et al.*, 1998; Rodriguez *et al.*, 1999; Sanwen *et al.*, 2000; Toquica *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Germoplasma e Condições de Cultivo

Quarenta acessos de *Capsicum chinense*, pertencentes ao Banco de Germoplasma de Hortaliças (BGH) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), provenientes das regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste do Brasil (Tabela 1), foram cultivados, durante o ano de 2001, na horta experimental do Departamento de Fitotecnia da UFV.

As sementes dos acessos foram semeadas no mês de outubro, em bandejas de isopor, em substrato vegetal, mantidas sob baixa luminosidade e alta umidade até a germinação e em casa de vegetação no período até o transplântio. Após 60 dias, as mudas foram transplantadas para o campo.

O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com três repetições, utilizando espaçamento de um metro entre plantas e o mesmo espaçamento entre linhas, sendo cada linha constituída por três plantas de cada acesso. Os tratos culturais no experimento foram realizados de acordo com as recomendações da cultura da pimenta.

Tabela 1. Quarenta acessos de *C. chinense* pertencentes ao Banco de Germoplasma da UFV e local de coleta. Viçosa, 2005.

Número	Acesso	Local de coleta	
01	BGH 707	Cuiabá	MT ¹
02	BGH 1694	Cuiabá	MT
03	BGH 1714	Pindaré-Mirim	MA
04	BGH 1716	Pindaré-Mirim	MA
05	BGH 1723	Santarém	PA
06	BGH 1724	Santarém	PA
07	BGH 1747	Ituiutaba	MG
08	BGH 4190	Careiros	AM
09	BGH 4199	Belém	PA
10	BGH 4201	Belém	PA
11	BGH 4213	Tefé	AM
12	BGH 4223	IAC – SP	ND
13	BGH 4285	Rondonópolis	MT
14	BGH 4289	Rondonópolis	MT
15	BGH 4355	Pedro Afonso	GO
16	BGH 4721	Uruará	AM
17	BGH 4725	Uruará	AM
18	BGH 4728	Costa do Iranduba - Rio Solimões	AM
19	BGH 4731	Autazes – Mirim	AM
20	BGH 4733	Manaus	AM
21	BGH 4744	Canabuoca – Manacapuru	AM
22	BGH 4750	Joari – Itacoatiara	AM
23	BGH 4756	Joari – Itacoatiara	AM
24	BGH 5012	Água branca	AL
25	BGH 6006	Belém	PA
26	BGH 6009	Belém	PA
27	BGH 6228	Brasília	DF
28	BGH 6232	Brasília	DF
29	BGH 6233	Brasília	DF
30	BGH 6239	Brasília	DF
31	BGH 6344	Dourados	MS
32	BGH 6365	Acre	AC
33	BGH 6369	Vila Nova – Anamam	AM
34	BGH 6370	Vila Nova – Anamam	AM
35	BGH 6371	Vila Nova - Anamam	AM
36	BGH 6377	Coari	AM
37	BGH 6378	Boca do Janacanan – Codajas	AM
38	BGH 6387	Salvador	BA
39	BGH 7295	Viçosa	MG
40	BGH 6610	São Luiz	MA

¹MT: Mato Grosso; MA: Maranhão; PA: Pará; MG: Minas Gerais; AM: Amazonas; (ND): Estado não determinado; GO: Goiás; AL: Alagoas; DF: Distrito Federal; MS: Mato Grosso do Sul; AC: Acre; BA: Bahia.

Frutos maduros foram colhidos de cada planta e escolhidos cinco deles ao acaso para a determinação da massa do fruto fresco, cor e forma, de acordo com os descritores morfológicos do IPGRI (1995)

A partir dessa avaliação inicial, devido à segregação dentro das linhas ou à ocasional mistura de sementes, foram abertas e renomeadas novas linhas, totalizando 103 novas denominações dos acessos. Posteriormente à citada avaliação, foram selecionados 50 acessos quanto à cor e forma dos frutos, para ser estudada a diversidade genética (Tabela 2 e Figura 1), porém as sementes do acesso 63 não germinaram, totalizando 49 acessos.

Tabela 2: Cor, forma e massa total do fruto fresco de frutos de quarenta e nove acessos de *C. chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV selecionados. Viçosa, 2005.

Número	Acesso	Cor de fruto ¹	Massa total do fruto fresco (g)	Forma de fruto ²	Número	Acesso	Cor de fruto	Massa total do fruto fresco (g)	Forma de fruto
05	BGH 1694	L	3,50	6	55	BGH 4733	V	9,76	1
06	BGH 1694	V	3,89	6	56	BGH 4733	V	1,45	1
07	BGH 1694	V	13,75	6	57	BGH 4744	V	10,92	5
09	BGH 1714	V	9,50	4	59	BGH 4750	V	4,30	1
11	BGH 1714	L	11,62	5	67	BGH 4756	A	1,97	1
14	BGH 1716	L	8,16	1	70	BGH 4756	A	2,68	1
16	BGH 1716	A	10,26	4	71	BGH 4756	V	8,93	1
17	BGH 1716	A	6,28	1	72	BGH 5012	L	3,00	1
18	BGH 1716	L	4,55	1	76	BGH 5012	L	2,30	1
19	BGH 1716	L	8,00	1	78	BGH 6009	V	33,98	5
22	BGH 1723	L	9,36	5	79	BGH 6228	A	4,30	1
23	BGH 1724	V	1,62	1	82	BGH 6228	V	8,50	4
26	BGH 1747	V	1,38	3	83	BGH 6233	V	9,28	1
27	BGH 1747	V	6,08	4	84	BGH 6233	V	24,57	4
30	BGH 4199	V	12,82	5	85	BGH 6233	V	36,30	4
32	BGH 4201	L	12,98	4	86	BGH 6239	V	3,73	1
34	BGH 4213	A	3,99	1	87	BGH 6344	L	2,55	2
39	BGH 4223	V	16,43	1	90	BGH 6369	L	21,35	4
40	BGH 4285	V	14,81	4	93	BGH 6371	V	14,72	1
44	BGH 4289	V	1,42	1	94	BGH 6371	V	8,82	1
45	BGH 4289	L	2,12	1	95	BGH 6371	V	10,96	6
46	BGH 4355	L	12,90	6	98	BGH 6378	V	29,14	4
51	BGH 4725	A	6,68	4	100	BGH 6387	L	9,50	6
53	BGH 4731	L	18,73	4	101	BGH 7295	L	1,20	2
54	BGH 4733	V	7,32	1					

¹ L - Laranja, A - Amarelo, V - Vermelho.

² 1 - Alongado, 2 - Triangular, 3 - Arredondado, 4 - Cônico, 5 - Campanulado, 6 - Forma de sino.

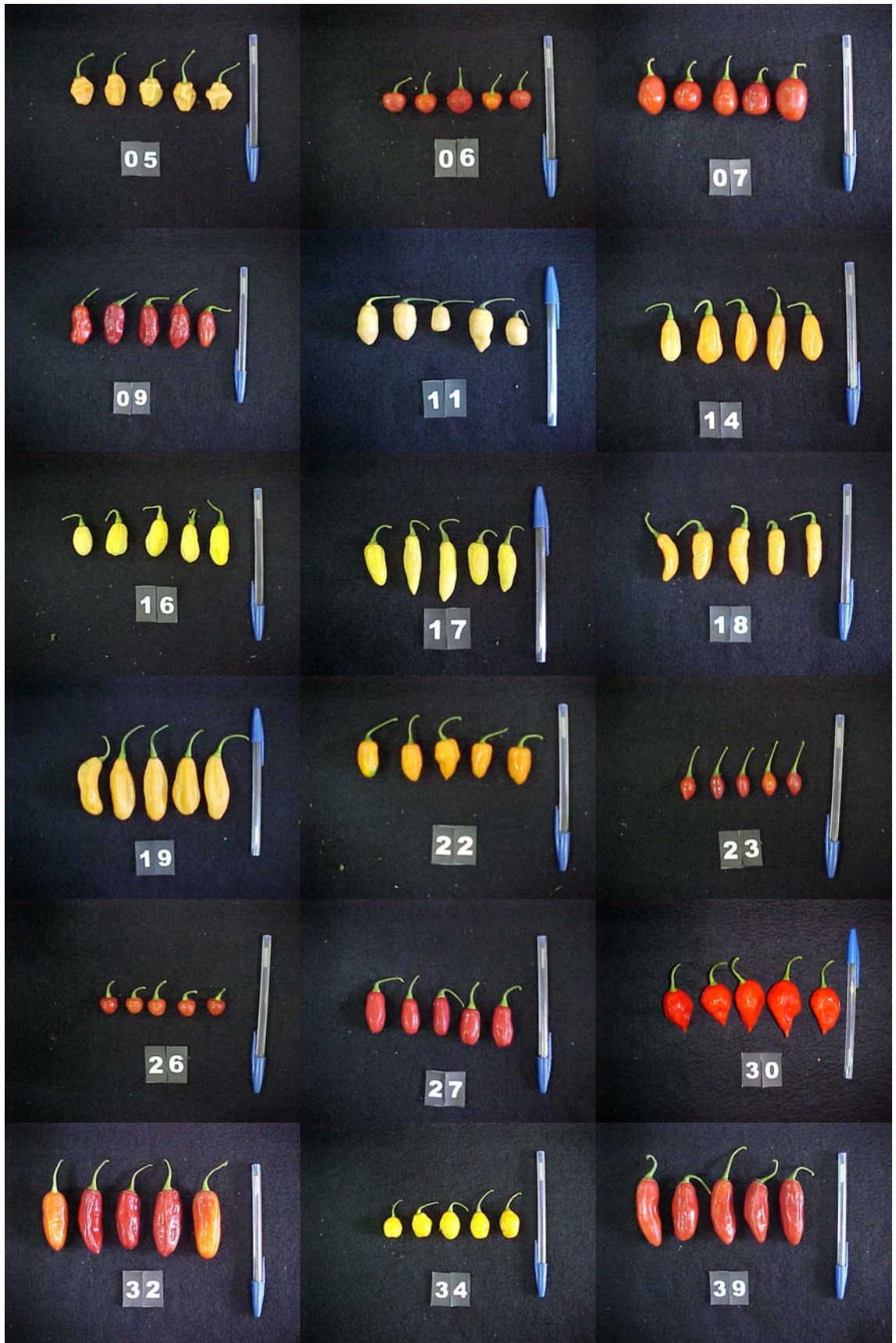


Figura 1. Frutos de quarenta e nove acessos de *C. chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa.

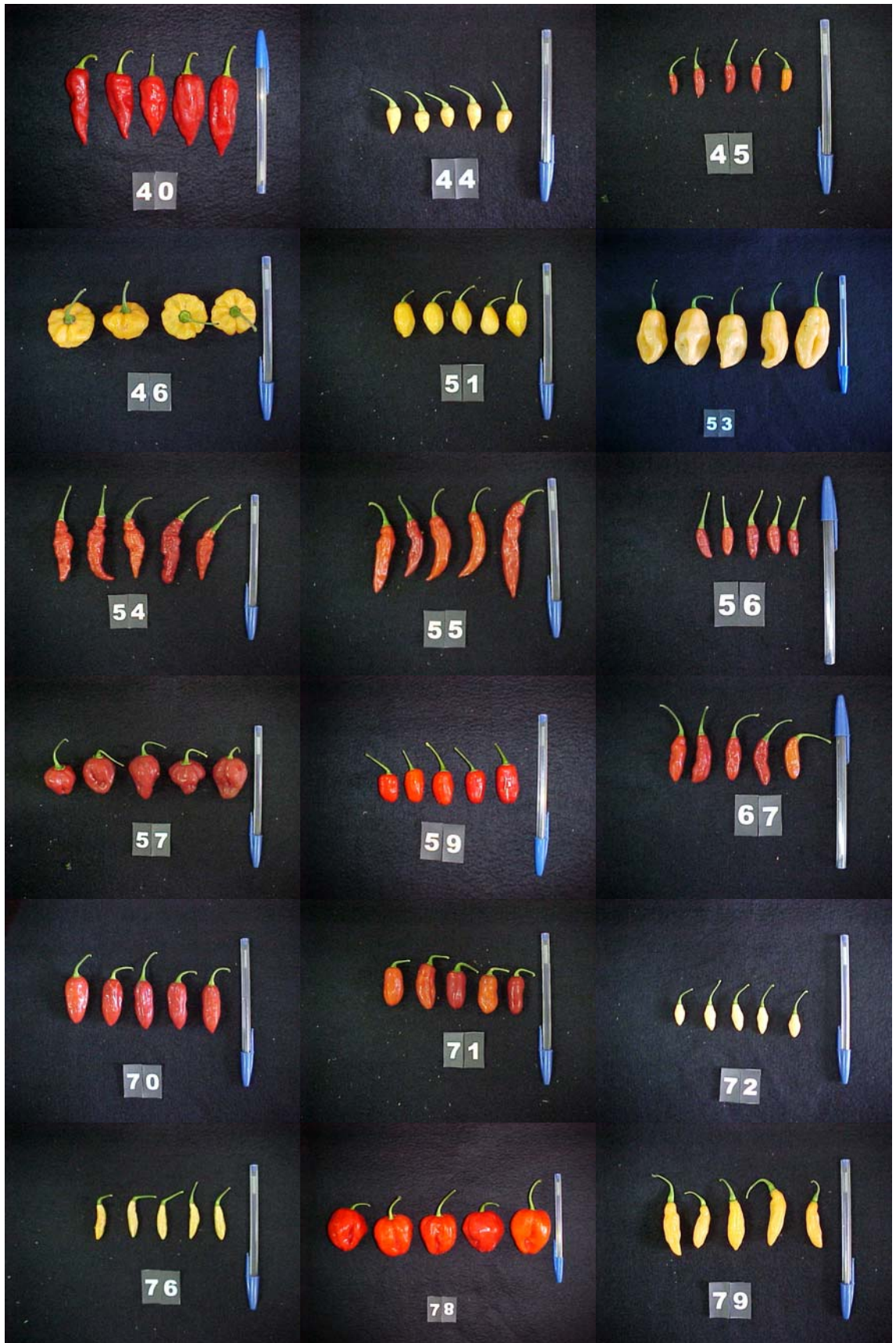


Figura 1. (cont.) Frutos de quarenta e nove acessos de *C. chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa.

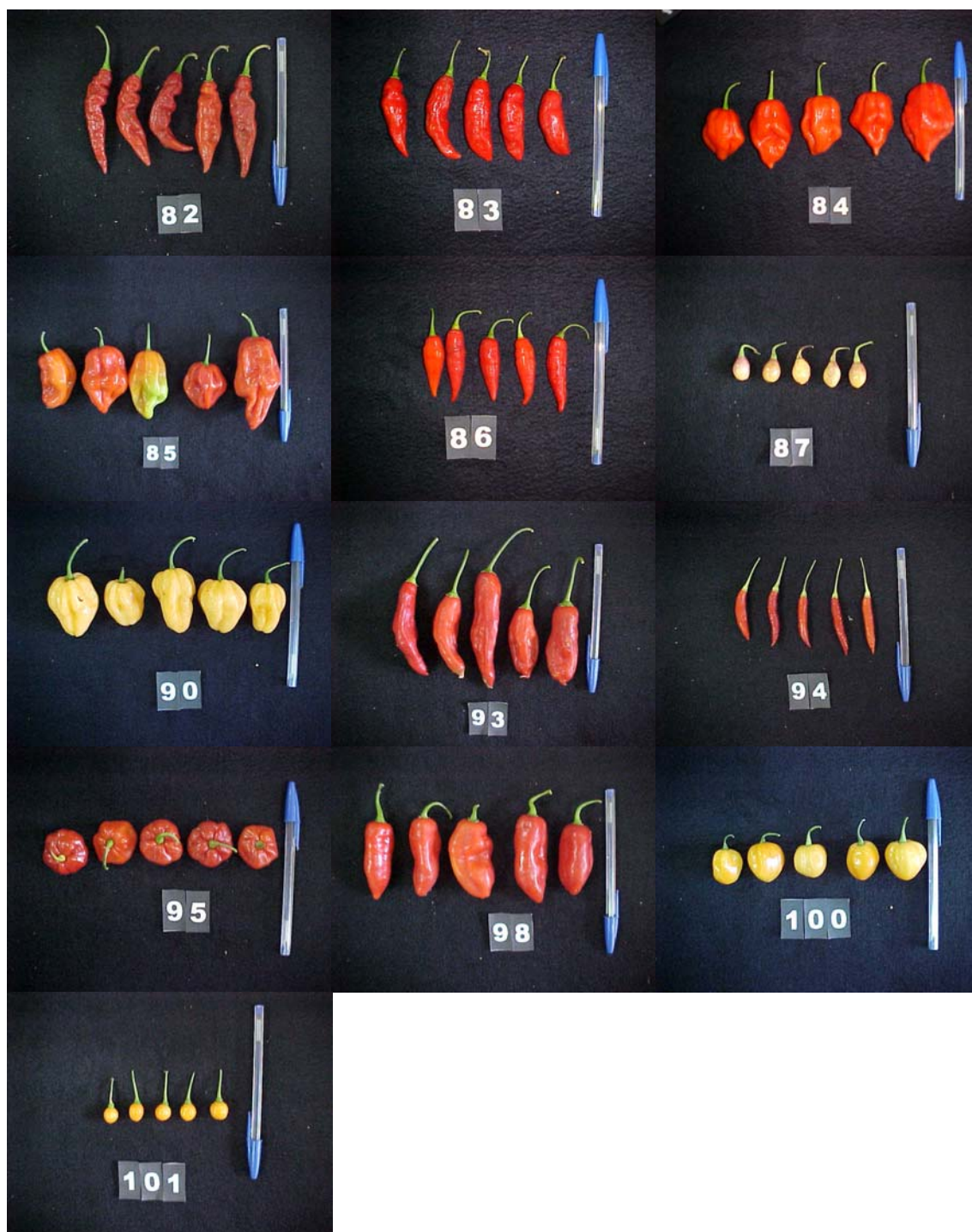


Figura 1. (cont.) Frutos de quarenta e nove acessos de *C. chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa.

Os quarenta e nove acessos selecionados foram semeados no mês de abril de 2003, em bandejas de isopor com substrato, mantidas sob baixa luminosidade e alta umidade até a germinação, e em casa de vegetação no

período até o transplante para o campo, realizado após 60 dias, com espaçamento de meio metro entre plantas e um metro entre linhas.

O delineamento experimental foram blocos ao acaso, com três repetições. Cada acesso foi constituído por uma linha individual contendo seis plantas, das quais foram utilizadas as quatro centrais.

Durante a condução do experimento, os 49 acessos selecionados foram cobertos com sacos de organza que mediam cerca de seis metros quadrados, sobre toda a planta, (Figura 2) visando, dessa maneira, controlar a presença de insetos e dificultar a polinização cruzada pela ação do vento carregando o pólen. Essa proteção foi utilizada no período de florescimento até a colheita.



Figura 2. Proteção das plantas de pimenta com sacos de organza, visando à autopolinização dos frutos.

3.2 Avaliação dos Caracteres Morfo-agronômicos

Em novembro de 2003, os frutos da parcela no estágio de maturação fisiológica completa foram colhidos e transportados ao Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, onde se realizaram as análises de qualidade de frutos.

Os acessos de *C. chinense* foram avaliados quanto aos caracteres quantitativos (atributos dos frutos) e morfológicos (variáveis multicategóricas).

Os frutos foram avaliados para os atributos quantitativos mais valorizados pela indústria alimentícia e de processamento de páprica, tais como:

- comprimento do fruto maduro (COMP): média de vinte frutos maduros escolhidos ao acaso para cada bloco, sendo a medição do comprimento máximo de cada fruto maduro feita por meio de paquímetro, expressa em milímetros;

- largura do fruto maduro (LARG): média de vinte frutos maduros escolhidos ao acaso para cada bloco, sendo a medição da largura máxima de cada fruto maduro feita por meio de paquímetro, expressa em milímetros;

- relação comprimento/largura (C/L): obtida pela razão entre o comprimento e a largura dos frutos maduros;

- espessura da polpa: (ESP): média de vinte frutos maduros escolhidos ao acaso para cada bloco, sendo a medição da espessura do pericarpo de cada fruto maduro feita por meio de paquímetro, expressa em milímetros;

- massa total do fruto fresco (MTF): média de vinte frutos maduros escolhidos ao acaso para cada bloco, sendo a medição da massa total do fruto fresco de cada fruto maduro foi feita por meio de balança analítica, expressa em gramas;

- massa total do fruto seco (MTS): média de vinte frutos maduros inteiros escolhidos ao acaso para cada bloco. Os frutos maduros frescos e inteiros foram secos em estufa a 70° C até peso constante. A medição da massa total do fruto seco de cada fruto maduro foi feita por meio de balança analítica, expressa em gramas;

- porcentagem de matéria seca (%MS): a porcentagem de matéria seca foi determinada pela expressão:

$$\%MS = \frac{MTS}{MTF} * 100$$

Em que: MTS = matéria seca total

MTF = matéria fresca total

- teor de sólidos solúveis (TSS): média de vinte frutos maduros escolhidos ao acaso para cada bloco. A medição do teor de sólidos solúveis foi feita por meio de refratômetro do tipo abbé, expresso em grau brix. Cada fruto fresco foi macerado, sendo recolhida uma amostra do suco de cada um, aplicada sobre a superfície luminosa do refratômetro e realizada a leitura. Após a leitura, esta era corrigida para a temperatura de 25° C;

- teor de vitamina C (Vit C): o teor de vitamina C foi determinado pelo método titulométrico de Tillmans, descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (1985). Cerca de dois gramas da polpa do fruto fresco foram macerados em solução ácida. Nessa solução, foram dissolvidos 30 g de ácido metafosfórico e 80 mL de ácido acético por litro. Esse macerado foi filtrado e titulado com solução de Tillmans;

- intensidade de cor extraível (INTC): a intensidade de cor foi determinada de acordo com a metodologia 20.1 de ASTA (1997), através da qual 100 mg da polpa do fruto de pimenta seca e moída foram imersos em 25 mL de acetona (P.A.). Essa mistura permaneceu no escuro, sob agitação, durante 24 horas. Após esse período, completava-se o volume novamente para 25mL devido à evaporação da acetona e realizava-se a leitura da intensidade de cor extraível em espectrofotômetro em comprimento de onda de 550 nm;

- capsaicina total (CAPT): a capsaicina total dos frutos foi avaliada por HPLC, de acordo com a metodologia proposta por Maillard *et al.* (1997), com modificações. Cerca de 100 mg da matéria seca dos frutos de pimenta finamente triturada foram misturados a 10 mL de metanol:água (60:40, v/v) e

sonicados por 15 minutos a temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 4000 rpm por 15 minutos e o supernadante coletado para análise após filtração em filtro Millipore 0,2 µm. Amostras de 20 µL do filtrado foram injetadas em HPLC-Waters, com detector UV a 229 nm, equipado com coluna C18 Hypersyl (250 x 4,4 mm, com tamanho de partícula de 5µm de diâmetro). O tampão de corrida para análise e separação dos capsaicinóides foi composto por metanol:água:ácido acético (70:29:1, v/v/v), com fluxo de 1,0 mL/min a 20°C. A identificação e concentração capsacinóides foram estimadas pela comparação com o tempo de retenção e a curva de calibração, que continha a mistura dos padrões de capsaicina e dihidrocapsaicina (Sigma, EUA).

Os caracteres morfológicos dos acessos foram avaliados segundo descritores do gênero *Capsicum* (IBPGRI, 1995), tais como:

- | | |
|------------------------------|--|
| - hábito de crescimento (HC) | Prostrado (3)
Compacto (5)
Ereto (7) |
| - pubescência da haste (HP) | Ausência de pêlos (1)
Presença escassa de pêlos (3)
Presença intermediária de pêlos (5)
Presença abundante de pêlos (7) |
| - cor da haste: (CH) | Verde (1)
Roxo (2) |
| -cor da corola (CC) | Branco (1)
Branco-Esverdeada (2)
Verde (3) |
| - formato do fruto: (FORM) | Alongado (1)
Triangular (2)
Arredondado (3) |

	Cônico (4)
	Campanulado (5)
	Forma de sino (6)
- cor do fruto imaturo: (CMI)	Verde (1)
	Amarelo (2)
	Laranja (3)
	Vermelho (4)
	Roxo (5)
	Marrom (6)
	Preto (7)
- cor do fruto maduro: (CFM)	Verde (1)
	Amarelo (2)
	Laranja (3)
	Vermelho (4)
	Roxo (5)
	Marrom (6)
	Preto (7)
- ponta dos frutos: (PF)	Pontudo (3)
	Rombudo e sem ponta (5)
	Afundado ou rebaixado (7)

3.3. Análise Molecular por Marcadores RAPD

A caracterização molecular dos acessos foi realizada mediante o emprego da técnica de RAPD (Willians *et al.*, 1990), no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Paranaense - Campus Toledo.

O protocolo de extração e purificação descrito por Fulton *et al.* (1995) consistiu na coleta de 3 discos de 1 cm de diâmetro de folhas novas das plântulas dos acessos de pimenta. Em microtubos (1,5mL), os discos foliares foram mergulhados em 200 µL de tampão de extração – composto por Tris-

Base (200mM), Na-EDTA (50mM), NaCl (2mM), CTAB (2%), Sorbitol (0,35mM) e sarcosil (10%) – e macerados com auxílio de um triturador, até desmanchar todo o tecido vegetal. Após a maceração, foram adicionados mais 550 µL de tampão de extração, sendo esses discos foliares em seguida incubados a 65° C por 30 minutos, em banho-maria. Após o período no banho-maria, reduzida a amostra à temperatura ambiente, foram adicionados 700 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1). A mistura foi homogeneizada e em seguida centrifugada por 10 minutos a 10.000 rotações por minuto (RPM). Após a centrifugação, coletou-se o sobrenadante e transferiu-se para um novo microtubo de 1,5 mL. Sobre o volume coletado foram adicionados 700 µL de álcool isopropílico gelado, causando a precipitação dos ácidos nucleicos. Na seqüência, centrifugou-se esse material novamente, por 10 minutos, a 10.000 rotações por minuto. Descartou-se o sobrenadante e lavou-se o *pellet* com álcool etílico a 70%, deixando secar por cerca de uma hora e meia. O *pellet* foi ressuspenso com 300 µL de solução contendo TE (Tris-EDTA) e RNase (0,2%). A seguir, incubou-se essa solução em banho-maria a 65°C por 10 minutos, visando hidrolisar o RNA.

A quantificação do DNA foi realizada em gel de agarose a 1%, em que 1µL de cada amostra foi aplicada no gel de agarose, comparando-se com quantidades conhecidas de 10, 25, 50, 75 e 100ng do DNA do fago λ. Após essa comparação, as amostras foram padronizadas em concentração de 10 nanogramas por microlitros.

O protocolo da técnica de RAPD consistiu na amplificação de 25 µL de uma mistura de 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM de KCl, 2,8 mM de MgCl₂, 200 µM de cada um dos deoxinucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 0,4 µM de oligonucleotídeo iniciador (*primer*) com 10 bases, uma unidade de TAQ polimerase e 40 ng de DNA. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados e suas respectivas seqüências encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Oligonucleotídeos iniciadores de RAPD utilizados na detecção de diversidade genética entre quarenta e nove acessos de *C. chinense*.

Primer	Seqüência (5'→3')	Primer	Seqüência (5'→3')	Primer	Seqüência (5'→3')
A01	CAGGCCCTTC	B04	GGA CTGGAGT	C07	GTCCCGACGA
A02	TGCCGAGCTG	B05	TGCGCCCTTC	C08	TGGACCGGTG
A03	AGTCAGCCAC	B06	TGCTCTGCCC	C09	CTCACCGTCC
A04	AATCGGGCTG	B07	GGTGACGCAG	AQ16	CCCGGAAGAG
A05	AGGGGTCTTG	B08	GTCCACACGG	AS8	GGCTGCCAGT
A06	GGTCCCTGAT	B09	TGGGGGACTC	OAB03	TGGCGCACAC
A07	GAAACGGGTG	B10	CTGCTGGGAC	OAH01	TCCGCAACCA
A08	GTGACGTAGG	B11	GTAGACCCGT	OAK20	TGATGGCGTC
A09	GGGTAACGCC	B12	CCTTGACGCA	OPB07	GGTGACGACG
A10	GTGATCGCAG	B13	TTCCCCCGCT	OPB11	GTAGACCCGT
A11	CAATCGCCGT	B14	TCCGCTCTGG	OPF01	ACGGATCCTG
A12	TCGGCGATAG	B15	GGAGGGTGTT	OPK17	CCCAGCTGTG
A13	CAGCACCCAC	B16	TTTGCCCGGA	AP09	GTGGTCCAGA
A14	TCTGTGCTGG	B17	AGGGAACGAG	AQ12	CAGCTCCTGT
A15	TTCCGAACCC	B18	CCACAGCAGT	AQ20	GTGAAGGCTC
A16	AGCCAGCGAA	B19	ACCCCCGAAG	P05	CCCCGGTAAC
A17	GACCGCTTGT	B20	GGACCCTTAC	AU09	ACGGCCAATC
A18	AGGTGACCGT	C01	TTCGAGCCAG	AV08	TGAGAAGCGG
A19	CAAACGTCCG	C02	GTGAGGCGTC	AH14	TGTGGCCGAA
A20	GTTGCGATCC	C03	GGGGGTCTTT	AX15	CAGCAATCCC
B01	GTTTCGCTCC	C04	CCGCATCTAC	AQ15	TGCGATGCGA
B02	TCATCCCTGG	C05	GATGACCGCC		
B03	CATCCCCCTG	C06	GAACGGACTC		

As reações de amplificação ocorreram em termociclador Thermo PX2. Após permanecerem por quatro minutos a 94 °C, 42 ciclos foram efetuados por 1 minuto a 94 °C , 2 minutos a 35 °C e 1 minuto a 72 °C e uma extensão final por 4 minutos a 72 °C. Os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose (1%), sendo posteriormente corados com brometo de etídio na concentração de 2mg.L⁻¹ e revelados em sistema de fotodocumentação.

3.4 Análise Estatística dos Caracteres Morfo-Agronômicos

3.4.1 Análise de Variância

Os dados oriundos de atributos quantitativos mais valorizados pela indústria alimentícia e de produção de páprica foram submetidos, com o uso do pacote estatístico GENES (Cruz, 2001), à análise da variância, testando-se, por meio do teste F a 1% de probabilidade, a existência de variabilidade genética entre os acessos.

O valor de cada observação foi descrito pelo método estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

em que

Y_{ij} = valor observado no tratamento i no bloco j ($i = 1, 2, \dots, g = 49$; $j = 1, 2, \dots, b = 3$)

μ = média geral do experimento

G_i = efeito do i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, g = 49$)

β_j = efeito do j -ésimo bloco ($j = 1, 2, \dots, b = 3$) e

ϵ_{ij} = erro experimental associado à observação Y_{ij} .

O esquema da análise da variância e as respectivas esperanças de quadrados médios da fonte de variação do modelo estatístico encontram-se apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Esquema da análise de variância e das esperanças de quadrados médios e respectivas expressões da soma de quadrado.

Fontes de Variação	GL	SQ	QM	E(QM)
Bloco	b-1	SQB	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_b^2$
Genótipo	g-1	SQG	QMG	$\sigma^2 + b\hat{\phi}_g$
Resíduo	(b-1)(g-1)	SQR	QMR	σ^2
Total	bg-1	SQTotal		

As estimativas dos componentes de variância e de parâmetros genéticos e ambientais foram obtidas considerando-se as seguintes expressões descritas por Cruz e Carneiro (2003):

a) variabilidade genotípica ($\hat{\phi}_g$)

$$\hat{\phi}_g = \frac{QMG - QMR}{b}$$

b) variância fenotípica em médias de acesso ($\hat{\sigma}_f^2$)

$$\hat{\sigma}_f^2 = \frac{QMG}{b}$$

c) coeficiente de determinação genotípica (H^2)

$$H^2 = \frac{\hat{\phi}_g}{(QMG / b)}$$

d) coeficiente de variação genética (CV_g)

$$CV_g = \frac{100\sqrt{\hat{\phi}_g}}{\hat{\mu}}$$

e) coeficiente de variação ambiental (CV_e)

$$CV_e = \frac{100\sqrt{QMR}}{\hat{\mu}}$$

f) índice de variação (b)

$$b = \frac{CV_g}{CV_e} = \frac{\sqrt{\hat{\phi}_g}}{\sqrt{\hat{\sigma}^2}}, \text{ quando } b \geq 1,0 \text{ indica situação favorável à seleção.}$$

Os acessos foram agrupados pelo teste de Scott e Knott (1974) com probabilidade de 5%.

3.4.2 Coeficientes de Correlações Simples

Os coeficientes de correlações fenotípicas, genotípicas e de ambiente foram calculadas visando estimar o grau de relacionamento entre duas variáveis, de acordo com as expressões:

a) coeficiente de correlação fenotípica (r_f):

$$r_f = \frac{C\hat{v}_f(x, y)}{\sqrt{\hat{\sigma}_f^2(x) \cdot \hat{\sigma}_f^2(y)}}$$

b) coeficiente de correlação genotípica (r_g):

$$r_g = \frac{C\hat{v}_g(x, y)}{\sqrt{\hat{\phi}_g(x) \cdot \hat{\phi}_g(y)}}$$

c) coeficiente de correlação de ambiente (r_e):

$$r_e = \frac{C\hat{v}_e(x, y)}{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2(x) \cdot \hat{\sigma}_e^2(y)}}$$

em que

$C\hat{v}_f(x,y)$, $C\hat{v}_g(x,y)$ e $C\hat{v}_e(x,y)$ são estimadores, respectivamente, da covariância fenotípica, genotípica e de ambiente entre duas variáveis x e y;

$\hat{\sigma}_f^2(x)$, $\hat{\phi}_g(x)$ e $\hat{\sigma}_e^2(x)$ são estimadores, respectivamente, da variância fenotípica, genotípica e de ambiente da variável x;

$\hat{\sigma}_f^2(y)$, $\hat{\phi}_g(y)$ e $\hat{\sigma}_e^2(y)$ são estimadores, respectivamente, da variância fenotípica, genotípica e de ambiente da variável y.

3.4.3 Análise Multivariada

3.4.3.1 Medidas de Dissimilaridade

As distâncias, ou medidas de dissimilaridade, entre acessos, considerando as variáveis quantitativas, foram determinadas pela distância generalizada de Mahalanobis. A dissimilaridade estimada a partir das

características multicatóricas foi determinada pelo índice de dissimilaridade de Cole-Rodgers (1997), e a dissimilaridade dos dados moleculares foi analisada pelo complemento aritmético do coeficiente de Nei e Li, mediante o emprego do programa computacional GENES (Cruz, 2001).

3.4.3.1.1 Análise de Dissimilaridade dos Caracteres Quantitativos

Para análise da diversidade genética dos acessos de pimenta, considerando os caracteres quantitativos, foi empregada a distância generalizada de Mahalanobis, estimada por

$$D_{ii'}^2 = \delta \psi^{-1} \delta$$

em que

$D_{ii'}^2$: distância de Mahalanobis entre os acessos i e i' ;

ψ : matriz de variâncias e covariâncias residuais;

δ : $[d_1, d_2, \dots, d_n]$, sendo $d_j = y_{ij} - y_{ij'}$, representando a diferença entre as médias de dois acessos i e i' para cada característica;

y_{ij} : média do i -ésimo genótipo em relação a j -ésima variável.

A contribuição relativa dos caracteres na divergência genética foi avaliada pelo método de Singh (1981).

3.4.3.1.2 Análise de Dissimilaridade para Variáveis Multicatóricas

A dissimilaridade entre os acessos de pimenta, considerando o conjunto de variáveis multicatóricas, foi estimada por meio do índice de dissimilaridade de Cole-Rodgers, função da discordância e concordância de categorias das várias características analisadas.

Verifica-se, pelo índice de dissimilaridade de Cole-Rodgers, que o valor de concordância de ausência de uma categoria em cada variável multicatórica contribui para reduzir a dissimilaridade; quando isso não for desejado, deve-se optar pelo índice obtido por:

$$d_{ii'} = \frac{D_1}{C_{p1} + D_1} + \frac{D_2}{C_{p2} + D_2} + \dots + \frac{D_v}{C_{pv} + D_v} = \sum_{j=1}^v \frac{D_j}{C_{pj} + D_j}$$

em que

C_{pj} = número de concordâncias envolvendo presença de categoria no par de genótipos;

C_{nj} = número de concordâncias envolvendo ausência de categoria no par de genótipos;

C_j = número de concordâncias entre categorias para j-ésima variável multicategórica, em que $C_j = C_{pj} + C_{nj}$;

D_j = número de discordâncias entre categorias para a j-ésima variável multicategórica.

3.4.3.1.3 Análise de Dissimilaridade do Perfil Molecular

A dissimilaridade dos acessos de pimenta a partir de dados de DNA foi determinada pelo complemento aritmético do coeficiente de Nei e Li (1979), pela seguinte expressão:

$$D_{ij} = 1 - \left[\frac{2a}{(2a + b + c)} \right] \text{ em que}$$

D_{ij} : coeficiente de dissimilaridade de Nei & Li do i-ésimo acesso com o j-ésimo acesso;

a: valor que quantifica o número de coincidência do tipo 1-1 para cada par de acessos;

b: valor que quantifica o número de discordância do tipo 1-0 para cada par de acessos;

c: valor que quantifica o número de discordância do tipo 0-1 para cada par de acessos.

Os fragmentos obtidos pela amplificação do DNA dos acessos pela técnica de RAPD foram analisados considerando-se um para a presença de banda e zero para a ausência de banda no loco em questão. Com a codificação dos dados, procedeu-se à determinação das medidas de dissimilaridade entre os acessos.

3.4.3.2 Análise de Agrupamento

A composição de grupos formados por acessos de pimenta mais similares entre si foi determinada pelos métodos de otimização de Tocher (Rao, 1952) e pelo método da ligação média entre grupos (UPGMA).

3.4.3.2.1 Método de Otimização de Tocher

O agrupamento dos acessos por meio do método de otimização de Tocher consiste na identificação do par mais similar dentro da matriz de dissimilaridade, isto é, aquele com menor estimativa de distância. Esses genótipos formarão o primeiro grupo e, a partir deste, é avaliada a possibilidade de inclusão de novos genótipos no grupo, adotando o critério de que a distância média intragrupo deve ser menor que a distância média intergrupo (Cruz e Carneiro, 2003).

A inclusão, ou não do indivíduo k no grupo é, então, feita considerando que,

- se $\frac{d(\text{grupo})k}{n} \leq \theta$, inclui-se o indivíduo k no grupo;

- se $\frac{d(\text{grupo})k}{n} > \theta$, não se inclui o indivíduo k no grupo;

sendo: n , o número de indivíduos que constitui o grupo original,

θ , o valor máximo da medida de dissimilaridade encontrado no conjunto das menores distâncias envolvendo cada indivíduo.

Nesse caso, a distância entre o indivíduo k e o grupo formado pelos indivíduos ij é dada por:

$$D_{(ij)k} = d_{ik} + d_{jk}$$

3.4.3.2.2 Método de Ligação Média Entre Grupos (UPGMA)

O método de ligação média entre grupos (UPGMA) é um método de agrupamento seqüencial, aglomerativo, hierárquico, sem superposição, com base na média aritmética. Nesse método, a distância entre dois agrupamentos é a distância média entre todos os pares de observações, um em cada agrupamento.

De acordo com Cruz & Carneiro (2003), devido ao fato de haver vários tipos de médias, vários métodos de ligações médias foram propostos, entre os quais o UPGMA, um método não ponderado de agrupamento aos pares, que utiliza médias aritméticas das medidas de dissimilaridade e que evita caracterizar a dissimilaridade por valores extremos (máximos ou mínimos) entre os genótipos considerados. Pelo método UPGMA, o dendrograma é estabelecido pelos genótipos com maior similaridade, e a distância entre os indivíduos k e um grupo formado pelos indivíduos i e j é dada por:

$$d_{(ij)k} = \text{média}\{d_{ik}; d_{jk}\} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2},$$

isto é, $d_{(ij)k}$ é dada pela média do conjunto das distâncias dos pares de indivíduos (i e k) e (j e k).

A distância entre os dois agrupamentos é definida por :

$$d_{(ij)(kl)} = \text{média}\{d_{ik}; d_{il}; d_{jk}; d_{jl}\} = \frac{d_{ik} + d_{il} + d_{jk} + d_{jl}}{4},$$

ou seja, a distância entre dois grupos formados, respectivamente, pelos indivíduos (i e j) e (k e l) é dada pela média do conjunto, cujos elementos são as distâncias entre os pares de indivíduos (i e k), (i e l), (j e k) e (j e l).

3.4.4 Teste de Mantel

O teste de Mantel (Mantel, 1967) permite correlacionar duas matrizes padronizadas de distâncias genéticas, possibilitando identificar se os dados dessas matrizes são associados. As matrizes de distâncias de Mahalanobis, Cole-Rodgers e Nei & Li foram correlacionadas duas a duas e a significância avaliada pelo teste de Mantel, com mil simulações.

Após, as matrizes de dissimilaridade foram somadas algebricamente, para determinação da diversidade genética, em conjunto com a utilização dos métodos otimização de Tocher e o método hierárquico UPGMA.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variabilidade Genética Entre Acessos

Pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 5), detectou-se diferença significativa para as características avaliadas nos 49 acessos, indicando a presença de variabilidade genética.

Nas características comprimento, largura, capsaicina total, teor de sólidos solúveis, vitamina C e espessura do pericarpo, o coeficiente de variação situou-se entre 5,34% e 19,41%, indicando boa precisão experimental. Quanto à massa total do fruto fresco, o coeficiente de variação foi de 29,98%. A massa total do fruto seco e a cor extraível possuíam coeficiente de variação de 33,60% e 36,82%, respectivamente (Tabela 5).

O coeficiente de determinação genotípica (H^2) é um dos parâmetros genéticos que mais contribui no trabalho do melhorista, informando a proporção da variabilidade genética presente na variância fenotípica total. Sendo assim, verificou-se, de acordo com a Tabela 06, que, em todos os caracteres, o coeficiente de determinação genotípica foi alto, variando de 77,99% a 99,82%. Esses valores em *C. chinense* são semelhantes aos encontrados nas mesmas características de *C. baccatum* (Rêgo, 2001).

Tabela 5: Análise da variância de nove características quantitativas de qualidade de fruto de *C. chinense*, valores do coeficiente de variação e média de cada característica.

		Quadrado médio										
Fontes de Variação	GL	COMP ⁺	LARG	MTS	MTF	CAPT	TSS	Vit C	INTC	ESP		
Bloco	2	50,770	6,610	0,0120	0,9780	0,187	0,341	20,200	4960,780	0,0002		
Acessos	48	761,470*	187,580*	0,300*	46,110*	39,200*	5,400*	1315,010*	33198,140*	0,0076*		
Resíduo	96	59,900	7,890	0,047	3,100	0,681	1,190	286,310	2769,690	0,0013		
CV%		18,810	13,450	33,600	29,980	5,340	13,430	17,320	36,820	17,380		
Média		41,140	20,870	0,649	5,870	4,880	8,110	97,650	142,910	0,207		

⁺ COMP: Comprimento do fruto maduro (mm); LARG: Largura do fruto maduro (mm); MTS: Massa total do fruto seco (g); MTF: Massa total do fruto fresco (g); CAPT: Capsaicina total(mg.gms⁻¹); TSS: Teor de Sólidos Solúveis (°Brix); Vit C: Vitamina C (mg/100 g de fruto fresco); INTC: Cor extraível (unid. ASTA de cor); ESP: espessura do pericarpo(mm).
* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

As magnitudes das relações CVg/Cve (Tabela 6) ficaram acima da unidade, o que permite que todos os caracteres possam ser empregados visando ao melhoramento genético da qualidade de frutos. Contudo, as características comprimento, largura, massa fresca, capsaicina total, cor extraível, matéria seca e espessura do pericarpo podem ser selecionadas por métodos simples, como seleção massal, visto que os coeficientes de determinação genotípica foram acima de 80%, com CVg/Cve acima de um e alta variância genética. Na seleção das características teor de sólidos solúveis e vitamina C, devem ser adotadas outras metodologias, visto que o coeficiente de determinação genotípica foi considerado baixo.

Tabela 6: Estimativas do coeficiente de determinação genotípica (H^2), relação CVg/CVe e variâncias genotípicas, fenotípicas e de ambiente para nove características quantitativas de qualidade de fruto em quarenta e nove acessos de *C. chinense*

	H^2	CVg/CVe	$\hat{\sigma}_g^2$	$\hat{\sigma}_f^2$	$\hat{\sigma}_e^2$
Comprimento	92,130	1,970	233,850	253,820	19,960
Largura	95,790	2,750	59,890	62,520	2,620
Massa total do fruto seco	84,100	1,327	0,084	0,100	0,015
Massa total do fruto fresco	93,260	2,140	14,330	15,370	1,030
Capsaicina total	99,820	13,830	13,040	13,060	0,022
Teor de Sólidos Solúveis	77,990	1,080	1,406	1,802	0,396
Vitamina C	78,220	1,090	342,900	438,330	95,430
Cor extraível	91,650	1,913	10142,810	11066,040	923,230
Espessura pericarpo	82,870	1,270	0,002	0,002	0,0004

4.2 Desempenho de Acessos de Pimenta em Relação a Caracteres Quantitativos de Frutos

As médias das características avaliadas encontram-se nas Tabelas 7, 8 e 9, agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

O comprimento dos frutos variou de 14,00 mm a 76,22 mm, sendo que, pelo Scott-Knott a 5% de probabilidade, formaram-se cinco grupos de acessos, dos quais 36,73% ficaram reunidos no grupo quatro, com variação dentro do grupo de 32,78g a 42,31g. Os acessos BGH 6371-93, BGH 4733-54, BGH 4223-39 e BGH 4285-40 formaram o grupo com maior comprimento de fruto, sendo o acesso BGH 6371-93 aquele que possuía o maior comprimento entre os acessos avaliados.

A largura dos frutos variou de 8,68 mm a 42,89 mm, verificando-se a formação de seis grupos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. 87% dos acessos possuíam largura inferior a 30 mm. O acesso BGH 6009-78 apresentou maior largura entre os acessos estudados, com mais de 42 mm, não formando grupo com os demais acessos.

A relação comprimento/largura variou de 0,68 a 6,61. Os frutos compridos eram predominantes entre os acessos estudados, representando 84% deles. Em menor proporção havia frutos arredondados (10%) e achatados (6%). O acesso com maior relação comprimento/largura foi o acesso BGH 6371-94, que, de acordo com o teste de Scott-Knott, não foi agrupado com os demais acessos.

A espessura de pericarpo variou de 1,0 mm a 3,5 mm (Tabela 7). 40% dos acessos estudados apresentavam espessura de pericarpo com mais de 2,0 mm. De acordo com o teste de Scott-Knott, os acessos foram reunidos em três grupos, sendo o maior com cerca de 60% dos acessos com espessura menor que 2,0 mm. O acesso BGH6009-78 possuía o pericarpo mais espesso, formando grupo com BGH 4223-39, BGH 6233-85, BGH 6378-98, BGH 6369-90 e BGH 1694-07, com cerca de 3,0 mm de espessura do pericarpo.

Tabela 7: Médias de sete características físicas de qualidade de fruto em quarenta e nove acessos de *C.chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

Acesso	Comprimento (mm)	Largura (mm)	C/L	Espessura (cm)	Massa total fresca (g)	Massa total seca (g)	%MS
5	27,780 e*	22,173 d	1,266 e	0,182 c	3,555 e	0,498 c	13,905 b
6	23,433 e	21,273 d	1,104 e	0,174 c	3,178 e	0,410 d	12,915 b
7	33,400 d	28,546 c	1,170 e	0,280 a	9,652 c	0,984 b	10,209 b
9	41,820 d	21,986 d	1,899 d	0,240 b	5,918 d	0,860 b	16,727 a
11	40,320 d	25,460 c	1,598 d	0,221 b	5,584 d	0,620 c	10,790 b
14	36,806 d	19,086 d	1,936 d	0,202 c	4,278 d	0,495 c	11,684 b
16	37,740 d	20,766 d	1,819 d	0,253 b	6,060 d	0,722 c	12,450 b
17	52,293 c	13,726 e	3,949 b	0,203 c	4,279 d	0,523 c	12,515 b
18	54,686 c	17,546 d	3,115 c	0,192 c	5,802 d	0,659 c	11,835 b
19	62,826 b	14,166 e	4,440 b	0,162 c	5,292 d	0,574 c	11,627 b
22	29,560 e	22,320 d	1,327 e	0,196 c	4,810 d	0,502 c	10,451 b
23	21,706 e	12,866 e	1,878 d	0,162 c	1,646 e	0,230 d	14,722 a
26	16,566 e	15,273 e	1,084 e	0,193 c	1,379 e	0,246 d	18,269 a
27	37,186 d	19,533 d	1,902 d	0,185 c	4,221 d	0,536 c	13,681 b
30	39,466 d	26,706 c	1,482 e	0,238 b	6,956 d	0,684 c	10,403 b
32	48,326 c	17,906 d	2,713 c	0,241 b	5,667 d	0,754 b	12,738 b
34	25,393 e	18,580 d	1,362 e	0,205 c	2,878 e	0,452 c	16,049 a
39	70,433 a	22,980 d	3,056 c	0,300 a	13,080 b	1,420 a	10,912 b
40	70,266 a	24,813 c	2,836 c	0,204 c	9,502 c	0,948 b	10,336 b
44	19,413 e	10,886 f	1,796 d	0,145 c	0,987 e	0,198 d	20,532 a
45	40,126 d	11,433 f	3,512 b	0,152 c	2,419 e	0,376 d	15,533 a
46	27,273 e	34,680 b	0,789 e	0,171 c	6,772 d	0,644 c	10,565 b
51	33,920 d	20,073 d	1,712 d	0,246 b	4,242 d	0,554 c	13,662 b
53	58,173 b	33,946 b	1,724 d	0,237 b	12,461 b	1,172 a	09,756 b
54	74,160 a	20,020 d	3,744 b	0,151 c	6,652 d	0,856 b	12,827 b
55	61,026 b	20,520 d	3,103 c	0,183 c	6,212 d	0,696 c	11,653 b
56	41,353 d	10,660 f	3,936 b	0,111 c	1,860 e	0,339 d	20,922 a
57	42,813 d	26,273 c	1,707 d	0,232 b	7,470 d	0,848 b	11,804 b
59	26,686 e	14,030 e	1,919 d	0,174 c	2,465 e	0,416 d	17,434 a
67	36,226 d	15,066 e	2,380 d	0,178 c	2,904 e	0,382 d	13,780 b
70	23,093 e	12,246 f	1,887 d	0,196 c	1,336 e	0,175 d	13,264 b
71	35,846 d	15,986 e	2,240 d	0,231 b	4,210 d	0,465 c	10,850 b
72	25,653 e	10,366 f	2,474 d	0,145 c	1,260 e	0,222 d	17,639 a
76	38,746 d	10,580 f	3,703 b	0,152 c	1,935 e	0,283 d	14,425 a
78	38,313 d	42,896 a	0,899 e	0,358 a	19,153 a	1,376 a	07,046 b
79	47,006 c	12,860 e	3,644 b	0,158 c	3,024 e	0,522 c	17,040 a
82	37,066 d	24,260 c	1,520 d	0,234 b	5,896 d	0,646 c	11,990 b
83	61,526 b	21,160 d	2,909 c	0,220 b	8,502 c	0,860 b	10,681 b
84	50,313 c	37,380 b	1,348 e	0,245 b	13,280 b	1,047 b	08,275 b
85	56,940 b	30,546 c	1,869 d	0,298 a	12,404 b	0,954 b	08,058 b
86	62,193 b	22,726 d	2,732 c	0,173 c	7,654 d	0,905 b	13,025 b
87	23,740 e	14,893 e	1,593 d	0,202 c	2,404 e	0,450 c	19,129 a
90	32,780 d	32,953 b	0,990 e	0,286 a	11,000 c	0,928 b	09,289 b
93	76,220 a	23,693 c	3,419 b	0,200 c	9,382 c	1,334 a	14,517 a
94	57,566 b	8,6867 f	6,618 a	0,117 c	2,254 e	0,384 d	17,464 a
95	21,673 e	31,826 b	0,680 e	0,236 b	6,899 d	0,648 c	09,565 b
98	48,740 c	25,893 c	1,867 d	0,295 a	10,585 c	1,026 b	09,371 b
100	33,193 d	28,766 c	1,151 e	0,225 b	7,587 d	0,830 b	10,908 b
101	14,146 e	11,700 f	1,213 e	0,172 c	1,022 e	0,174 d	16,913 a

* Médias seguidas de mesma letra constituem grupo homogêneo pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tabela 8: Médias de três características quantitativas e uma qualitativa de qualidade de fruto em quarenta e nove acessos de *C.chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

Acesso	TSS (%)	Vit C (mg.100g MF ⁻¹)	Cor extraível (Unid ASTA.mg MS ⁻¹)	Cor de Frutos maduros
5	8,365 c*	98,649 a	88,779 e	L
6	8,494 c	81,410 b	229,079 c	V
7	6,484 c	83,649 b	123,966 d	V
9	8,902 b	91,647 b	105,537 e	V
11	7,205 c	86,422 b	181,916 d	L
14	8,593 b	80,948 b	56,663 e	L
16	9,441 b	86,315 b	30,352 e	A
17	8,292 c	101,315 a	75,253 e	A
18	8,800 b	106,149 a	56,747 e	L
19	8,300 c	100,924 a	60,210 e	L
22	7,746 c	99,466 a	130,928 d	L
23	8,265 c	78,602 b	234,567 c	V
26	7,641 c	118,945 a	383,743 b	V
27	8,812 b	97,476 a	273,767 c	V
30	7,190 c	107,570 a	140,489 d	V
32	9,086 b	113,151 a	38,956 e	L
34	7,876 c	112,049 a	111,503 e	A
39	7,034 c	100,071 a	133,855 d	V
40	6,590 c	111,658 a	174,510 d	V
44	10,869 a	76,007 b	34,872 e	V
45	11,748 a	119,016 a	80,878 e	L
46	6,754 c	56,174 c	50,697 e	L
51	7,462 c	113,400 a	62,821 e	A
53	7,202 c	81,623 b	54,657 e	L
54	8,092 c	134,300 a	185,394 d	V
55	7,836 c	103,661 a	158,299 d	V
56	12,905 a	105,473 a	595,841 a	V
57	7,469 c	91,895 b	188,451 d	V
59	9,306 b	115,959 a	315,238 b	V
67	7,050 c	127,013 a	99,610 e	A
70	9,082 b	135,224 a	72,316 e	A
71	7,865 c	108,246 a	171,163 d	V
72	9,688 b	97,120 a	49,278 e	L
76	8,848 b	117,985 a	65,907 e	L
78	6,756 c	73,981 b	87,495 e	V
79	7,986 c	138,849 a	109,162 e	A
82	7,800 c	110,094 a	328,736 b	V
83	7,205 c	76,540 b	113,111 e	V
84	7,042 c	116,066 a	154,640 d	V
85	5,934 c	101,315 a	214,375 d	V
86	5,972 c	70,605 b	137,934 d	V
87	8,696 b	112,902 a	44,504 e	L
90	6,196 c	86,813 b	97,247 e	L
93	9,177 b	51,375 c	152,534 d	V
94	8,466 c	38,757 c	286,356 c	V
95	7,800 c	89,407 b	128,466 d	V
98	7,172 c	74,905 b	142,157 d	V
100	8,297 c	96,552 a	81,366 e	L
101	8,042 c	107,570 a	108,720 e	L

* Médias seguidas de mesma letra constituem grupo homogêneo pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tabela 9: Médias de Capsaicina, Dihidrocapsaicina e Capsaicina Total em quarenta e nove acessos de *C. chinense*. do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

Acesso	Capsaicina (mg.g ms ⁻¹)	Dihidrocapsaicina (mg.g ms ⁻¹)	Capsaicina Total (mg.g ms ⁻¹)	Capsaicina Total (HSU)
05	3,911 k*	0,621 k	4,532 l	68000
06	3,886 K	0,810 j	4,697 l	71000
07	1,418 o	0,446 l	1,865 q	28000
09	1,700 o	0,435 l	2,136 p	33000
11	1,890 n	0,471 l	2,362 p	36000
14	-	-	-	-
16	-	-	-	-
17	10,325a	3,301 a	13,627 a	205000
18	5,585 h	1,184 h	6,770 i	102000
19	1,453 o	0,395 l	1,849 q	28000
22	3,129 m	1,778 e	4,908 k	74000
23	7,154 f	1,350 g	8,504 f	128000
26	2,805 m	0,556 l	3,362 n	51000
27	3,838 k	0,997 i	4,835 l	73000
30	4,041 k	1,001 i	5,042 k	76000
32	-	-	-	-
34	4,862 i	1,761 e	6,623 i	100000
39	-	-	-	-
40	3,990 k	1,070 i	5,060 k	76000
44	4,710 i	3,421 a	8,131 f	122000
45	4,817 i	1,356 g	6,174 j	93000
46	4,938 i	1,051 i	5,989 j	90000
51	3,692 k	1,035 i	4,728 l	71000
53	-	-	-	-
54	7,482 e	2,343 b	9,826 d	148000
55	4,882 i	1,175 h	6,057 j	91000
56	6,968 f	1,677 f	8,646 f	130000
57	0,000 q	0,023 m	0,023 s	350
59	6,841 f	2,159 c	9,001 e	136000
67	6,718 f	1,581 f	8,300 f	125000
70	6,280 g	1,110 h	7,391 h	111000
71	3,865 k	0,834 j	4,700 l	71000
72	8,299 d	1,233 h	9,532 d	143000
76	6,878 f	1,052 i	7,931 g	119000
78	-	-	-	-
79	9,420 b	1,959 d	11,380 b	171000
82	7,756 e	1,595 f	9,351 d	141000
83	0,638 p	0,083 m	0,722 r	11000
84	3,425 l	0,660 k	4,086 m	62000
85	-	-	-	-
86	4,375 j	1,444 g	5,819 j	88000
87	2,183 n	0,491 l	2,674 o	41000
90	2,060 n	0,791 j	2,851 o	43000
93	0,243 q	0,456 l	0,699 r	11000
94	2,954 m	0,999 i	3,954 m	60000
95	7,576 e	1,879 d	9,455 d	142000
98	-	-	-	-
100	4,422 j	0,787 j	5,209 k	79000
101	8,810 c	1,850 d	10,661 c	160000

* Médias seguidas de mesma letra constituem grupo homogêneo pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade

A massa total de fruto fresco variou de 0,98g a 19,15g, agrupando os acessos por meio do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade em cinco grupos, dos quais 42,85% ficaram reunidos no grupo quatro. A maioria dos acessos estudados, isto é, 77,55% possuía massa total de fruto fresco abaixo de 7,70g. O acesso BGH 6009-78 pesava cerca de 20,0 gramas de massa total de fruto fresco, sendo o acesso com maior massa total de fruto fresco, não formando grupo com os demais acessos (Tabela 7).

A massa total de fruto seco variou entre 0,1g e 1,5g, sendo que o emprego do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, para essa característica, possibilitou a formação de quatro grupos de acessos, dos quais 39% estavam reunidos no grupo três, variando de 0,45g a 0,722g. O grupo um reuniu os acessos com maior massa total de fruto seco, com variação de 1,17g a 1,56g. O acesso BGH 4223-39 possuía a maior massa total de fruto seco (Tabela 7).

A porcentagem de matéria seca dos acessos variou entre 7,04% e 20,92%. (Tabela 7), formando apenas dois grupos, de acordo com teste de Scott-knott a 5% de probabilidade. 30% dos acessos estudados apresentaram porcentagem de matéria seca acima de 14,5%, característica de grande importância no rendimento final da indústria de processamento de pimenta em pó. O acesso BGH 4733-56 possuía a maior porcentagem de matéria seca entre os acessos avaliados.

Ao avaliar acessos de *C. baccatum*, valores semelhantes foram encontrados por Rêgo (2001) em espessura do pericarpo, largura, comprimento, matéria seca total, matéria fresca total e porcentagem de matéria seca.

O teor de sólidos solúveis variou de 5,37° Brix a 12,90° Brix (Tabela 8); valores semelhantes foram encontrados por Rego (2001) em *C. baccatum*. Pelo teste de Scott-Knott, os acessos foram reunidos em três grupos, em que cerca de 70% possuíam valores menores que 8,5 ° Brix. O acesso BGH 4733-56 possuía o maior teor de sólidos solúveis, formando grupo juntamente com os acessos BGH 4289-44 e BGH 4289-45, com aproximadamente 13 ° Brix.

O conteúdo de Vitamina C nos frutos dos acessos estudados variou de 38,75 mg a 138,84 mg por 100 gramas de polpa fresca (Tabela 8). Esses valores são semelhantes ao descritos por Yahia *et al.* (2001) e Simonne *et al.* (1997) em *C. annuum*. Cerca de 60% dos acessos estudados possuíam concentração de vitamina C superior a 95 mg por 100 gramas de polpa fresca. Embora o teste de Scott-Knott tenha formado apenas três grupos entre os acessos, foi possível detectar variabilidade para concentração de vitamina C, uma vez que foi de cerca de 100 mg por 100 gramas de polpa fresca a diferença entre os acessos com menor e maior teor de vitamina C.

Os valores quantitativos para intensidades de cor variaram de 30,35 a 595,84 unidades ASTA de cor (Tabela 8), valores maiores quando comparados com variedades comerciais de *C. chinense*, que tiveram uma variação de 190 a 360 unidades ASTA de cor, quando cultivadas em casa de vegetação, e de 181 a 335 unidades ASTA, quando cultivadas em ambiente aberto (Gómez *et al.*, 1998). Pelo teste de Scott-Knott, os acessos foram reunidos em cinco grupos sendo o último, o maior, com cerca de 50% dos acessos. O acesso BGH 4733-56 apresentou o maior valor de intensidade de cor, isto é, menor perda de coloração quando da desidratação do fruto. De acordo com o teste de Scott-Knott, esse acesso não formou grupo com os demais acessos.

O teor de capsaicina total variou de 0,0 a 13,62 mg por grama de matéria seca (Tabela 9). Essas concentrações de capsaicina foram semelhantes aos teores descritos por Gibbs & O'Garro (2004), que, em *Capsicum chinense*, encontraram concentrações de capsaicinóides totais variando de 0,25 a 16,55 mg por grama de matéria seca. Baseado no teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, o teor de capsaicina total foi o que apresentou a maior diversidade entre os acessos, separando-os em 19 grupos. De acordo com a Escala Scoville de Calor (HSU), o valor máximo de capsaicina total foi de 205000 Unidades Scoville de Calor do acesso BGH 1716-17.

Dentre os principais capsaicinóides dos frutos (capsaicina e dihidrocapsaicina), pôde-se verificar que houve maior variabilidade nas concentrações de capsaicina, quando comparada com a dihidrocapsaicina. A

capsaicina variou de 0,0 a 10,32 mg por grama de matéria seca, formando, de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, 17 grupos, enquanto que, para o conteúdo de dihidrocapsaicina, detectou-se uma variação de 0,0 a 3,42 mg por grama de matéria seca (Tabela 9), daí resultando 13 grupos.

O teor de capsaicina foi superior aos de dihidrocapsaicina para todos os acessos, exceto para o acesso BGH 6371-93. Segundo Bosland (1993), diferentes combinações de capsaicinóides podem produzir as diferentes características individuais de pungência. Esse mesmo autor afirma que a capsaicina e a dihidrocapsaicina causam uma sensação de ardor na parte central da boca e no palato, bem como na parte posterior da língua e na garganta.

Os acessos, analisados de acordo com International Plant Genetic Resources Institute (1995), apresentavam, quanto ao hábito de crescimento, em sua maioria, hábito compacto (53,06%), seguido de plantas eretas em 44,89% dos acessos (Tabela 10, Figura 3). Apenas o acesso BGH 1716-14 possuía hábito de crescimento prostrado.

A maioria das hastes das plantas dos acessos possuía pubescência com pêlos escassos (61,22%) ou ainda com presença intermediária de pêlos (28,57%) (Tabela 10, Figura 4), característica importante para a resistência a pragas.

Uma grande parte dos acessos analisados possuía cor da haste verde (81,63%) e os demais possuíam cor de haste roxa (Tabela 10, Figura 5).

A cor da corola das flores, característica determinante da espécie, era branca em 95,91% dos acessos, tendo os demais, coloração branco-esverdeada, o que não descaracteriza a espécie *C. chinense* (Tabela 10, Figura 6).

Tabela 10: Quatro características qualitativas de plantas de pimenta em quarenta e nove acessos de *C.chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

Genótipo	Hab de crescimento	Pubescência	Cor da haste	Cor da flor
5	Compacto	ausência de pêlos	verde	branca
6	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
7	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
9	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
11	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
14	Prostrado	presença escassa de pêlos	verde	branca
16	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
17	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
18	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
19	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
22	Ereto	presença intermediária de pêlos	roxa	branca
23	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
26	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
27	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
30	Compacto	presença abundante de pêlos	verde	branca
32	Ereto	presença escassa de pêlos	roxa	branca
34	Ereto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
39	Compacto	presença intermediária de pêlos	roxa	branca
40	Ereto	presença abundante de pêlos	verde	branca
44	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
45	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
46	Ereto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
51	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
53	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
54	Ereto	presença intermediária de pêlos	roxa	branca
55	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
56	Ereto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
57	Compacto	presença escassa de pêlos	roxa	branca
59	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
67	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
70	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
71	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
72	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
76	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
78	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
79	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
82	Ereto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
83	Compacto	presença intermediária de pêlos	verde	branca
84	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
85	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
86	Ereto	presença escassa de pêlos	verde	branca
87	Compacto	presença escassa de pêlos	roxa	branca
90	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
93	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca-esverdeada
94	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca-esverdeada
95	Ereto	ausência de pêlos	roxa	branca
98	Compacto	presença escassa de pêlos	verde	branca
100	Ereto	presença escassa de pêlos	roxa	branca
101	Ereto	ausência de pêlos	roxa	branca

Tabela 11: Quatro características físicas frutos de pimenta em quarenta e nove acessos de *C.chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

Genótipo	Forma de fruto	Cor fruto imaturo	Cor fruto maduro	Ponta do fruto
5	forma de sino	verde	laranja	rebaixado
6	forma de sino	verde	vermelho	rebaixado
7	forma de sino	verde	vermelho	rebaixado
9	Cônico	verde	laranja	pontudo
11	Campanulado	verde	vermelho	pontudo
14	Alongado	verde	laranja	pontudo
16	Cônico	amarelo	amarelo	pontudo
17	Alongado	verde	amarelo	pontudo
18	Alongado	verde	amarelo	pontudo
19	Alongado	verde	laranja	pontudo
22	Campanulado	verde	laranja	pontudo
23	Alongado	verde	vermelho	pontudo
26	Arredondado	verde	vermelho	pontudo
27	Cônico	verde	vermelho	pontudo
30	Campanulado	verde	vermelho	pontudo
32	Cônico	verde	laranja	pontudo
34	Alongado	roxo	laranja	rebaixado
39	Alongado	verde	vermelho	pontudo
40	Cônico	verde	vermelho	pontudo
44	Alongado	verde	vermelho	pontudo
45	Alongado	verde	laranja	pontudo
46	forma de sino	verde	laranja	sem ponta
51	Cônico	verde	laranja	pontudo
53	Cônico	verde	laranja	pontudo
54	Alongado	verde	vermelho	pontudo
55	Alongado	verde	vermelho	pontudo
56	Alongado	verde	vermelho	pontudo
57	Campanulado	verde	vermelho	pontudo
59	Alongado	verde	vermelho	pontudo
67	Alongado	verde	vermelho	pontudo
70	Alongado	verde	vermelho	pontudo
71	Alongado	amarelo	vermelho	pontudo
72	Alongado	amarelo	laranja	pontudo
76	Alongado	amarelo	laranja	pontudo
78	Campanulado	verde	vermelho	pontudo
79	Alongado	verde	laranja	pontudo
82	Cônico	verde	vermelho	pontudo
83	Alongado	verde	vermelho	pontudo
84	Cônico	verde	vermelho	pontudo
85	Cônico	verde	vermelho	pontudo
86	Alongado	verde	vermelho	pontudo
87	Triangular	roxo	laranja	sem ponta
90	Cônico	verde	vermelho	rebaixado
93	Alongado	verde	vermelho	pontudo
94	Alongado	verde	vermelho	pontudo
95	forma de sino	verde	vermelho	pontudo
98	Cônico	verde	vermelho	pontudo
100	forma de sino	verde	vermelho	rebaixado
101	Triangular	verde	laranja	pontudo

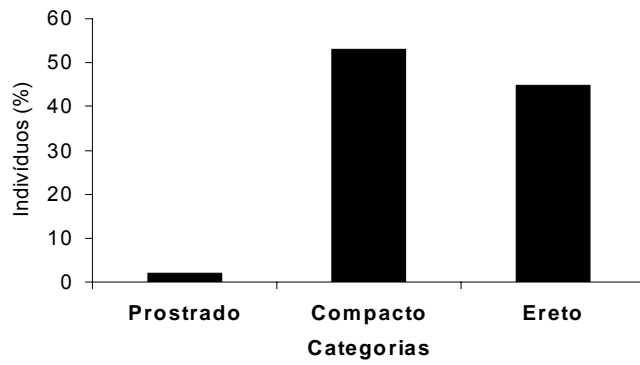


Figura 3: Histograma de frequência de hábito de crescimento de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

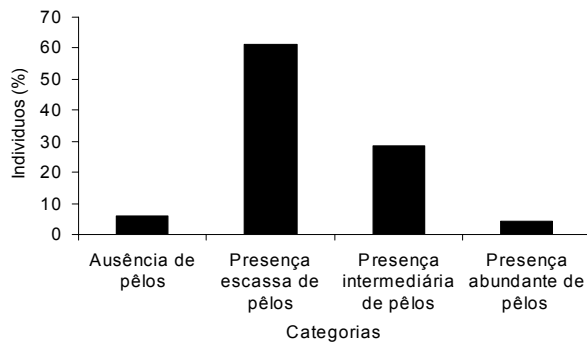


Figura 4: Histograma de frequência de pubescência da haste de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

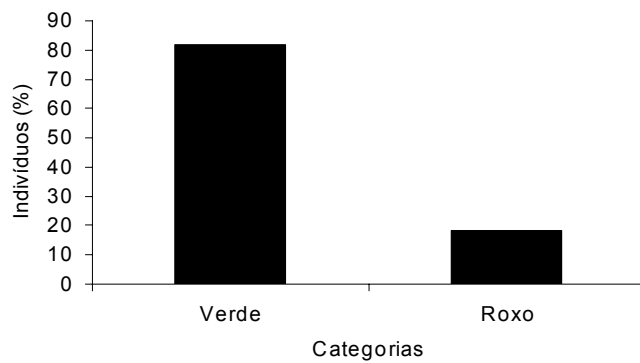


Figura 5: Histograma de frequência de cor da haste de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

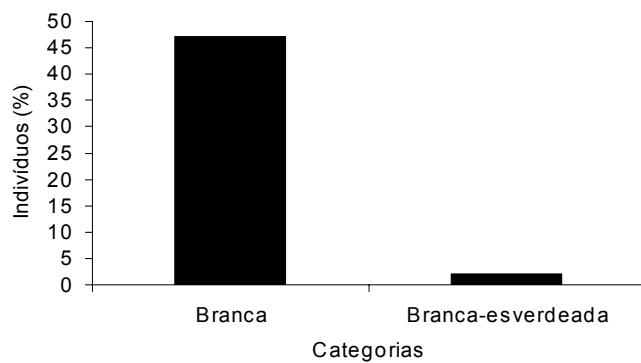


Figura 6: Histograma de frequência de cor da corola da flor de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

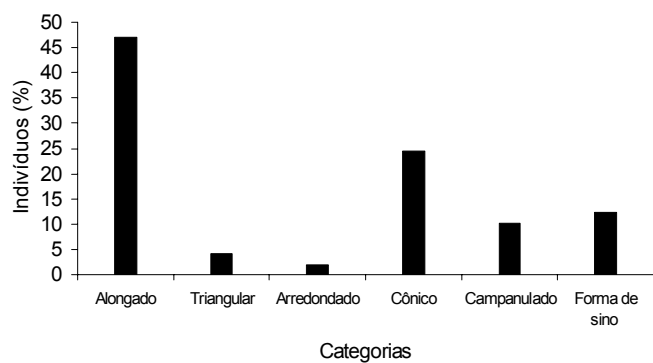


Figura 7: Histograma de frequência de forma de fruto de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

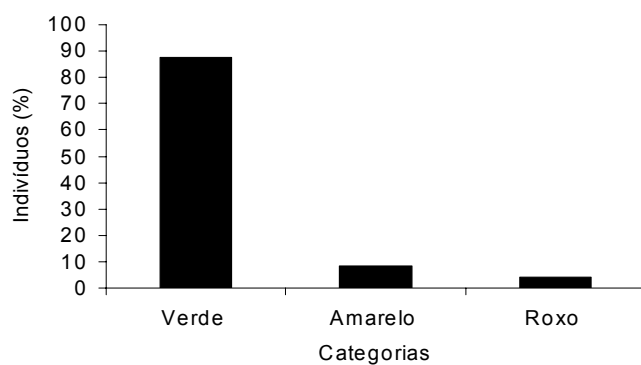


Figura 8: Histograma de frequência de cor de frutos imaturos de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

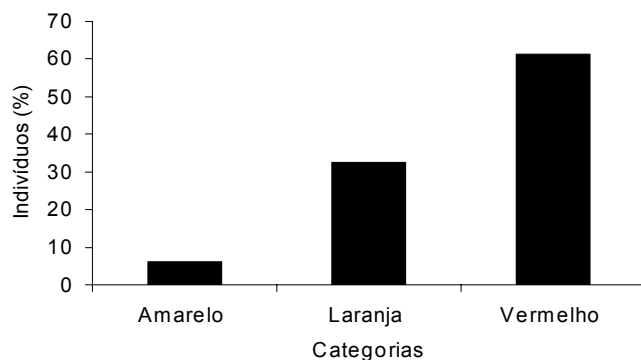


Figura 9: Histograma de frequência de cor de fruto maduro de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

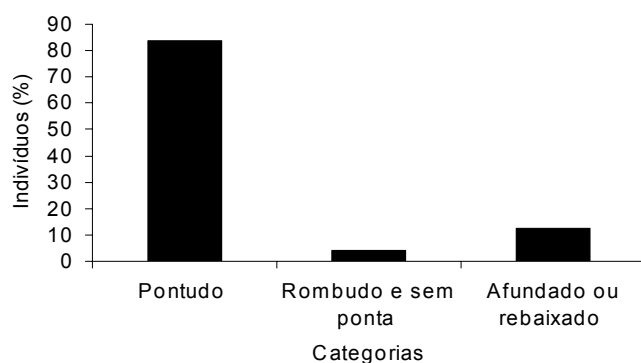


Figura 10: Histograma de frequência de ponta de frutos de acessos de *C. chinense*. Viçosa, 2005.

A forma dos frutos com maior frequência entre os acessos analisados foi a forma alongada – cerca de 47,0% deles – seguida pela forma cônica, com 25,0% dos acessos. Os demais acessos tinham forma campanulada (10,0%), de sino (12,0%), triangular (4,0%) e arredondada (2,0%) (Tabela 11, Figura 7).

A cor predominante de frutos imaturos foi verde, presente em 87,75% dos acessos. Os demais 12,25% ficaram distribuídos entre as cores amarela (8,16%) e roxa (4,08%) (Tabela 11, Figura 8). Os frutos maduros possuíam cor vermelha (61,22%), laranja (32,65%) e amarela (6,12%) (Tabela 11, Figura 9).

O ápice dos frutos, na maioria dos acessos, foi pontudo (83,67%), ficando os demais divididos em sem ponta (4,08%) e afundados (12,25) (Tabela 11, Figura 10).

Pelas tabelas 7, 8 e 9, os frutos do acesso 17 (BGH 1716-17) têm potencial em programas de melhoramento com objetivo de desenvolver cultivares para processamento, devido aos elevados teores de capsaicina, vitamina C e sólidos solúveis, assim como ao reduzido tamanho do fruto. Entretanto, esse acesso possui pericarpo fino e cor amarela, característica indesejável como corante e para a produção de páprica. Na indústria, o alto teor de sólidos solúveis e a alta porcentagem de matéria seca são características de grande importância, estando presentes no acesso 17. Assim, como fonte de genes das demais características, esse genótipo possui grande potencial.

O acesso 56 (BGH 4733-56) foi considerado de maior potencial para o cultivo, sem necessidade de ser submetido ao melhoramento. Pode-se afirmar que o acesso 56 tem alto teor de capsaicina, de vitamina C, de sólidos solúveis, de cor extraível e de porcentagem de matéria seca, entretanto, devido ao pericarpo fino, o rendimento de indústria pode ser insatisfatório.

O acesso 44 (BGH 4289-44) contém altos teores de sólidos solúveis, de vitamina C e de porcentagem de matéria seca; tem a coloração creme e ausência de capsaicina. O fato de o acesso possuir cor dos frutos creme e ausência de capsaicina torna-o com potencial para utilização em vasos e jardins, assim como para consumo *in natura*.

O acesso 93 (BGH 6371- 93) revelou potencial para o melhoramento de frutos destinados ao consumo *in natura*, na forma de salada. Isso se deve ao seu baixo teor de capsaicina, alto teor de vitamina C, alta porcentagem de matéria seca e pericarpo espesso, além do alto teor de sólidos solúveis, o que confere ao fruto aroma e sabor.

Com potencial uso no consumo *in natura*, destacou-se o acesso 78 (BGH 6009-78). Os frutos desse acesso possuíam características como mais de três milímetros de espessura do pericarpo, mais de quatro centímetros de comprimento e largura, média de vinte gramas de massa fresca total, concentrações de capsaicina próximas a zero, 6% de sólidos solúveis, cerca de 70 mg de vitamina C por 100 gramas de fruto fresco e coloração vermelha,

semelhantes às aquelas descritas por Casali *et al.* (1984) como ideais para esse objetivo de consumo.

O acesso 39 (BGH 4223-39) mostrou-se semelhante ao acesso 78 (BGH 6009-78), ou seja, apresentou pericarpo grosso – mais de três milímetros de espessura – sete centímetros de comprimento, treze gramas de massa fresca total, alto teor de vitamina C, concentrações de capsaicina próximas a zero, 7% de teor de sólidos solúveis, cerca de 100mg de vitamina C por 100g de fruto fresco e coloração vermelha.

De acordo com o teste Scott Knott para todos os parâmetros analisados, os acessos 14 (BGH 1716-14) e 16 (BGH 1716-16) foram semelhantes. Assim, tais acessos mostraram possuir um grande potencial de utilização no desenvolvimento de cultivares de pimentas destinadas ao consumo *in natura*, visto que possuíam concentração de capsaicina próxima a zero, espessura do pericarpo de aproximadamente dois milímetros, relação comprimento/largura de 2:1, com comprimento próximo a quatro centímetros e massa fresca total dos frutos de aproximadamente seis gramas. Ambos os acessos possuíam cerca de 10% de teor de sólidos solúveis, 80 mg de vitamina C por 100 gramas de fruto fresco e coloração amarelo-alaranjada.

Com características semelhantes aos acessos 14 e 16, o acesso 98 (BGH 6378-98) mostrou pericarpo grosso, frutos compridos e largos, matéria fresca total de 10 gramas por fruto, baixas concentrações de capsaicina, cerca de 7% de teor de sólidos solúveis, 70 mg de vitamina C por 100 gramas de fruto fresco e coloração vermelha (Tabelas 7, 8 e 9).

4.3 Estimativas de Correlações Fenotípicas, Genotípicas e de Ambiente

Na Tabela 12 estão os valores das estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental entre as dez características quantitativas estudadas. A maioria dos coeficientes de correlação genotípicas superou os dos fenotípicas, indicando a maior relevância dos fatores genéticos.

Tabela 12: Estimativas dos coeficientes de correlações fenotípicas, genotípicas e de ambiente entre nove características quantitativas envolvidas na determinação da qualidade de fruto de quarenta e nove acessos de *C. chinense*.

Característica		Largura	Matéria Seca Total	Matéria Fresca Total	% matéria seca	Capsaicina total	Teor de Sólidos Solúveis	Vitamina C	Cor Extraível	Espessura de Pericarpo
Comprimento	r _F	0,1626	0,6474**	0,5036**	-0,3322*	-0,2909*	-0,2067	-0,1173	-0,0002	0,1037
	r _G	0,1613	0,6813**	0,4880**	-0,3438*	-0,3009*	-0,2162	-0,1455	0,0050	0,1037
	r _E	0,1938	0,4267**	0,7034**	-0,3104*	-0,1997*	-0,1779	0,0478	-0,0593	0,1124
Largura	r _F		0,7625**	0,8644**	-0,7855**	-0,4725**	-0,6311**	-0,3028*	-0,1410	0,7349**
	r _G		0,8006**	0,8763**	-0,8877**	-0,4825**	-0,7187**	-0,3492*	-0,1421	0,7902**
	r _E		0,5374**	0,6786**	-0,1952**	-0,0795**	-0,1022**	-0,0048*	-0,1318	0,3638**
Matéria Seca Total	r _F			0,9364**	-0,6507**	-0,6014**	-0,5047**	-0,3084*	-0,1398	0,7099**
	r _G			0,9841**	-0,8879**	-0,6536**	-0,6041**	-0,3941*	-0,1418	0,7938**
	r _E			0,6266**	0,3617**	-0,1541**	-0,0826**	0,0609*	-0,1327	0,2864**
Matéria Fresca Total	r _F				-0,7762**	-0,5742**	-0,5882**	-0,2884*	-0,1453	0,7928**
	r _G				-0,8683**	-0,5933**	-0,6669**	-0,3377*	-0,1495	0,8556**
	r _E				-0,2969**	-0,1614**	-0,1599**	0,0001*	-0,0952	0,3777**
% Matéria Seca	r _F					0,4254**	0,6915**	0,1577	0,2807*	-0,6992**
	r _G					0,4798**	0,8344**	0,1664	0,3356*	-0,8437**
	r _E					0,1410**	0,1865**	0,1267	-0,0212*	-0,1103**
Capsaicina Total	r _F						0,2932*	0,4132**	0,1547	-0,5966**
	r _G						0,3339*	0,4698**	0,1617	-0,6531**
	r _E						-0,0731*	-0,1010**	0,0019	-0,1446**

Teor de Sólidos	r_F	0,1351	0,2057	-0,5740**
Solúveis	r_G	0,1506	0,2276	-0,6689**
	r_E	0,0799	0,0980	-0,1868**
Vitamina C	r_F		0,0294	-0,1091
	r_G		0,0114	-0,0933
	r_E		0,1466	-0,1760
Cor Extraível	r_F			-0,2346
	r_G			-0,2466
	r_E			-0,1644

*,** : Significativo a 5 e 1%.

Para as correlações fenotípicas, empregou-se o teste t; para as correlações ambientais e genotípicas, a significância foi estabelecida por teste de permutação com 1000 simulações.

A porcentagem de matéria seca e o teor de sólidos solúveis possuem a correlação genotípica 0,8344 (Figura 11A). É a correlação mais importante na seleção de cultivares para a indústria, visto que são as duas características que determinam o rendimento final da pimenta em pó. Correlações positivas entre as mesmas variáveis também foram encontradas em cebola (Sinclair *et al.* 1995).

A correlação genotípica envolvendo a porcentagem de matéria seca e massa total do fruto seco foi de -0,8683 (Figura 11B), enquanto que entre porcentagem de matéria seca e matéria fresca total a correlação genotípica foi negativa e de elevada magnitude (-0,8879) (Figura 11C), possuindo, por isso, os frutos de menor matéria seca total e matéria fresca total maiores porcentagens de matéria seca.

Da mesma forma, os frutos com maior espessura de pericarpo apresentaram menor porcentagem de matéria seca, uma vez que a correlação genotípica entre essas duas características foi de -0,8437 (Tabela 12 e Figura 11D).

A correlação genotípica entre matéria seca total e matéria fresca total destacou-se pela maior magnitude (0,9841) (Figura 11E), seguida da correlação entre largura e matéria fresca total (0,8763) (Figura 11F) e matéria fresca total e espessura de pericarpo (0,8556) (Figura 11G). Matéria seca total e largura se correlacionaram com a magnitude de 0,8006 (Figura 11H).

Os valores de correlação entre espessura de pericarpo e largura (0,7902) (Figura 11I), espessura de pericarpo e matéria seca total (0,7938) (Figura 11J), juntamente com espessura de pericarpo e massa total do fruto fresco (0,8566) (Figura 11L) mostraram que, ao serem selecionados frutos com alta massa total do fruto fresco e alta espessura de pericarpo, será possível obter indiretamente frutos com alta massa total do fruto seco. Da mesma forma, seleção indireta de frutos mais largos, por meio de frutos com pericarpo espesso, será possível, visto que a correlação entre essas características foi de 0,7902. Entretanto, esses frutos terão baixa porcentagem de matéria seca, pela correlação entre a porcentagem de matéria seca com as demais.

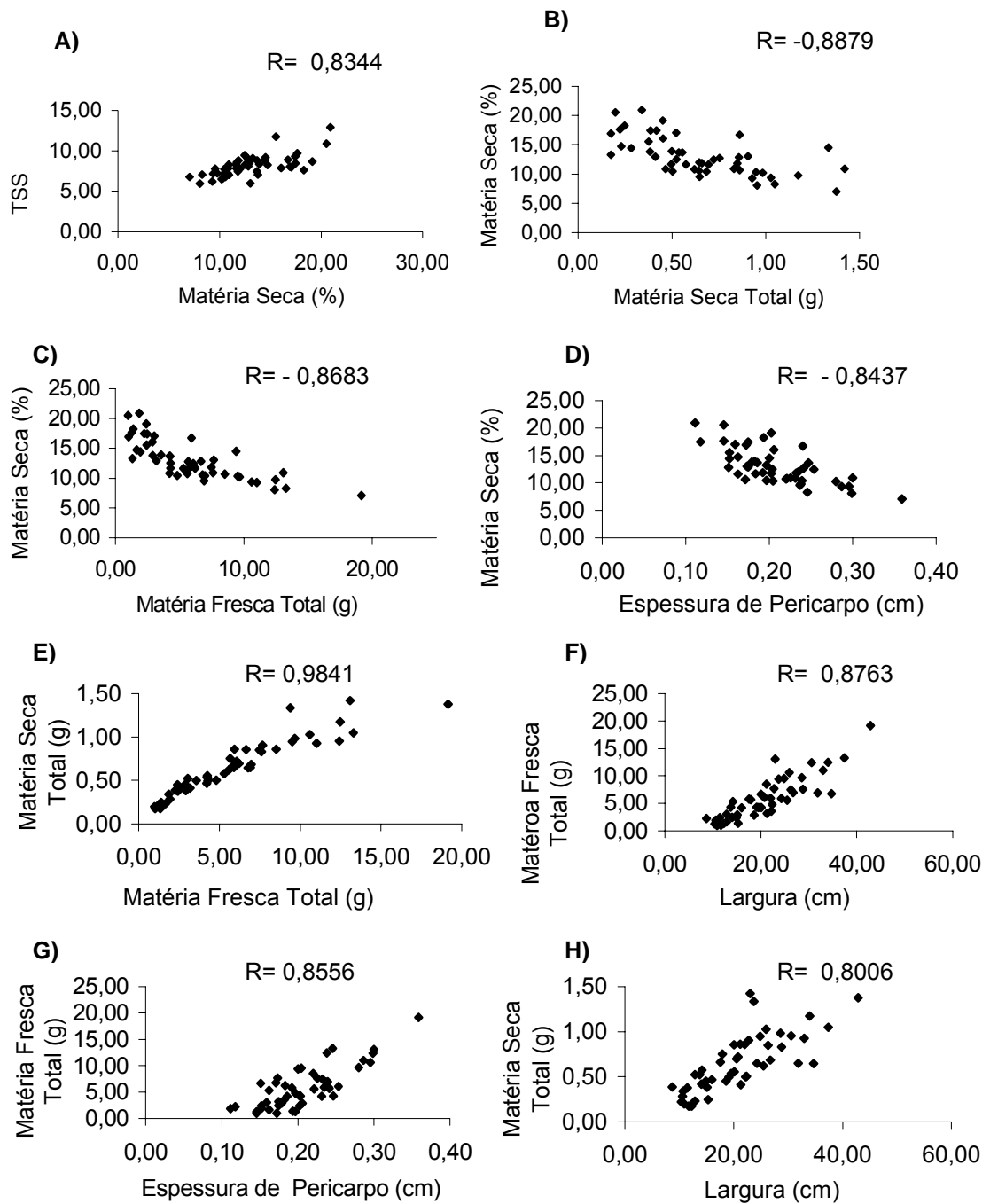


Figura 11: Correlação genética entre diferentes atributos morfo-agronômicos de pimenta. A) Teor de sólidos solúveis e Porcentagem de matéria seca; B) Porcentagem de matéria seca e Matéria seca total; C) Porcentagem de matéria seca e Matéria fresca total; D) Espessura do pericarpo e Porcentagem de matéria seca; E) Matéria seca total e Matéria fresca total; F) Largura e Matéria fresca total; G) Espessura do pericarpo e Matéria fresca total; H) Largura e Matéria seca total; I) Largura e Espessura do pericarpo; J) Espessura do pericarpo e Matéria seca total; L) Porcentagem de matéria seca e Capsaicina Total; M) Teor de sólidos solúveis e Capsaicina Total; N) Capsaicina Total e Matéria seca total; O) Teor de sólidos solúveis e Matéria seca total; P) Largura e Porcentagem de matéria seca; Q) Comprimento e Matéria seca total; R) Comprimento e Matéria fresca total; S) Teor de sólidos solúveis e Vitamina C.

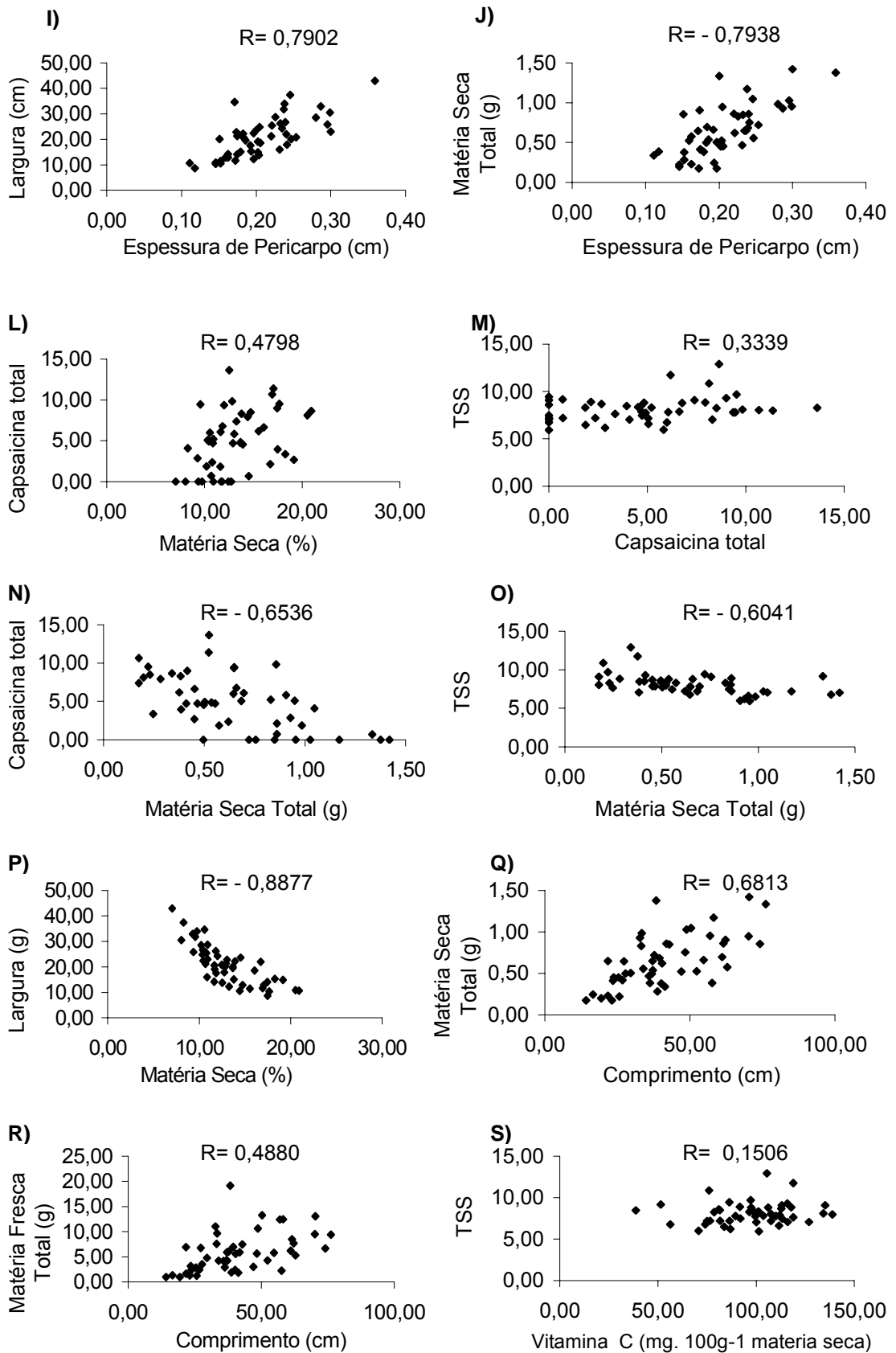


Figura 11: Continuação

Características físicas, como largura, massa total do fruto fresco, massa total do fruto seco e espessura de pericarpo foram negativas.

Na produção de páprica e pimenta em pó, o rendimento final da indústria está baseado em porcentagem de matéria seca. Dessa forma, a seleção pode ser feita em frutos com massa seca e fresca menores, pois a correlação entre porcentagem de matéria seca e matéria fresca e seca, assim como com largura foram negativas. A seleção indireta dessa característica, de extrema importância na produção de páprica ardida, pode ser obtida pela seleção de massa total de frutos frescos e largura, que, de acordo com Casali & Stringheta, (1984), são de fácil mensuração

Quanto à cor extraível e ao teor de vitamina C, a correlação com porcentagem de matéria seca foi baixa e não significativa, de acordo com o teste t a 1% (Tabela 12). A correlação genética entre capsaicina total e % de matéria seca foi 0,4798 (Figura 11M), o que indica que a seleção indireta visando ao aumento de capsaicina pelo aumento de porcentagem de matéria seca pode ser insatisfatória.

Realizar seleção de genótipos com alto teor de sólidos solúveis não significará selecionar indiretamente, de forma satisfatória, para alta concentração de capsaicina, visto que a correlação entre teor de sólidos solúveis e concentração de capsaicina foi 0,3339 (Figura 11N), considerada de magnitude baixa, além do que a seleção de alto teor de sólidos solúveis não indicará alto teor de capsaicina. Devido a isso, outros critérios devem ser utilizados na seleção de capsaicina.

A seleção indireta para altos teores de capsaicina total por meio dos valores de matéria seca total não será muito satisfatória, visto que a correlação genética entre as características citadas foi negativa e de média magnitude (-0,6536) (Figura 11O), assim como para o teor de sólidos solúveis (-0,6041) (Figura 11P). Em programas de melhoramento visando a frutos secos de *C. chinense*, é de interesse selecionar frutos menores, visto que estes possuem as melhores características exigidas pela indústria, isto é, altos teores de sólidos solúveis e capsaicina total. Não foi observada correlação significativa da característica cor extraível com as demais características.

A média correlação do comprimento do fruto com matéria seca total (0,6813) (Figura 11Q) e com matéria fresca total (0,4880) (Figura 11R) não permite seleção inicial de frutos com maior matéria seca total a partir do comprimento do fruto, visto que a seleção direta para frutos compridos não ocasiona seleção indireta para frutos com maior massa fresca e seca. A correlação entre teor de sólidos solúveis e vitamina C foi baixa (0,1506) (Figura 11S), porém, em tomate, Amaral Jr. (1996) encontrou correlação intermediária entre essas características.

Da mesma forma, a correlação entre espessura de pericarpo e vitamina C, em pimenta, foi negativa e baixa enquanto, em tomate, embora tenha sido também baixa, foi positiva.

4.4 Diversidade Genética

4.4.1 Caracteres quantitativos

Pelo método proposto por Singh (1981) e com base nas distâncias de Mahalanobis, (Tabela 13), a capsaicina total foi, entre as características, aquela que apresentou maior importância relativa de Singh, representando 88,32% da variação genética entre os acessos. Esses valores concordam com as análises dos componentes genéticos em que a capsaicina possuía menor coeficiente de variação e maior coeficiente de determinação genotípica e também maior relação CVg/Cve.

Tabela 13: Importância relativa de nove características avaliadas em quarenta e nove acessos de *C. chinense* obtidas pelo método de Singh (1981).

Características	S _i	Valor em %
Comprimento	10678,85	1,9249
Largura	16104,95	2,903
Matéria Seca	1880,55	0,3390
Matéria fresca	11810,64	2,1289
Capsaicina total	490002,69	88,3246
Teor de sólidos solúveis	4741,14	0,8546
Vitamina c	5870,27	1,0581
Cor Extraível	9844,12	1,7744
Espessura de Pericarpo	3841,74	0,6925

De acordo com a distância de Mahalanobis, os acessos 05 e 22 mostraram-se mais similares geneticamente, tendo em vista a menor distância observada (4,87). Entre os acessos 17 e 78, observou-se a maior distância (3244,83), sendo, portanto, os acessos mais dissimilares.

Pelo método de otimização de Tocher (1952), os acessos foram subdivididos em dez grupos (Tabela 14). Os grupos um e dois reuniram 60% dos acessos. Os grupos 6, 7, 8, 9 e 10 compreenderam apenas um acesso cada um, 94, 78, 56, 54 e 17, respectivamente. O grupo 4 foi formado pelos acessos 79 e 101 e o grupo 5, pelos acessos 26, 87 e 90.

Tabela 14: Agrupamento de quarenta e nove acessos de *C. chinense* pelo método de Tocher (Rao,1952), obtidos pela distância de Mahalanobis.

Grupos	Acessos
01	05 22 06 27 30 51 71 100 40 86 55 34 45 18 46 84
02	14 16 32 57 98 83 39 85 53 93 07 09 19 11
03	67 76 70 44 23 59 72 82 95
04	79 101
05	26 87 90
06	94
07	78
08	56
09	54
10	17

A característica quantitativa que mais contribuiu para a formação dos grupos pela análise de Tocher foi concentração de capsaicina total. Isso pode ser afirmado uma vez que os acessos que possuíam concentrações similares desse alcalóide formavam grupos e, entre os grupos, as concentrações eram distintas. O teste de agrupamento de Scott-Knott (Tabela 8) também foi semelhante ao agrupamento de Tocher (Tabela 14), comprovando que capsaicina total foi a característica com maior influencia na formação dos grupos. Os acessos com maiores concentrações de capsaicinóides localizavam-se em grupos diferentes daqueles com menores concentrações. Essa distribuição dos grupos baseada na concentração de capsaicina total concorda com a importância relativa dos caracteres propostos por Singh (1981), em que esse atributo representou 88,32% da variação dos acessos.

Comparando o agrupamento pelo método de otimização de Tocher com o agrupamento hierárquico de UPGMA (Figura 12), detectou-se elevada concordância nos resultados. Ao nível de grupo, o acesso 17 também ficou isolado dos demais acessos, assim como os acessos 05 e 22 foram os menos divergentes, formando grupo no primeiro nó do dendrograma.

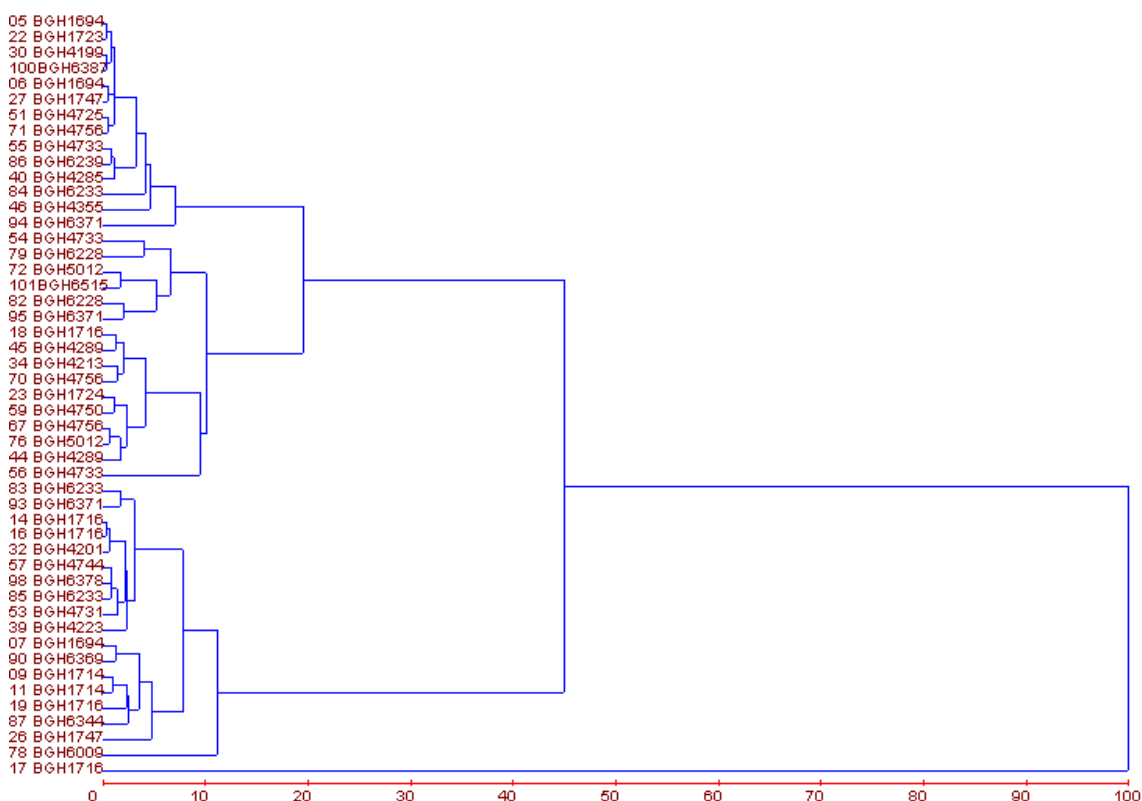


Figura 12: Dendrograma estabelecido do padrão de dissimilaridade quantificado pelo método UPGMA, de 49 acessos de *C. chinense*, baseado nas distâncias de Mahalanobis, Viçosa, 2005.

4.4.2 Variáveis Multicategóricas

De acordo com o índice de similaridade de Cole-Rodgers, os acessos mais divergentes foram 85 e 94 (23,10) enquanto que 93 e 94 (0,014), os mais similares.

Pelo método de otimização de Tocher, baseado nas distâncias de Cole-Rodgers, detectou-se a formação de nove grupos. O grupo dois agregou 55,10% dos acessos e os demais acessos foram distribuídos nos oito grupos restantes (Tabela 15).

Tabela 15: Agrupamento de quarenta e nove acessos de *C. chinense* pelo método de Tocher obtidos pela distância de Cole-Rodgers.

GRUPO	INDIVÍDUOS														
1	93	94													
2	27	82	83	67	55	51	70	85	79	19	23	98	11	30	90
	78	26	46	71	59	84	53	09	06	40	16	17			
3	56	86	45												
4	95	100	57	54	22	32									
5	72	76	18	14											
6	34	44													
7	05	07													
8	87	101													
9	39														

A formação dos grupos com características morfológicas baseados nas distâncias de Cole-Rodgers, não seguiu a distribuição geográfica de origem dos genótipos. Os acessos 93 e 94 se diferenciaram dos demais pela cor da corola branco-esverdeada enquanto os demais tinham corola branca.

Entretanto, cor de corola não é uma característica importante em programas de melhoramento, visando à qualidade de fruto. Entre as características de planta, a mais importante é hábito de crescimento, pois plantas mais eretas permitem melhor penetração da luz nas folhas inferiores assim como há menor perda de frutos próximos ao solo.

Hábito de crescimento não foi característica determinante na formação dos grupos por características morfológicas de planta, uma vez que o acesso 14 era o mais distinto individualmente, sendo o único com hábito de crescimento prostrado; entretanto, esse acesso foi agrupado com aqueles que apresentaram hábito de crescimento compacto e ereto.

Os resultados da análise, empregando-se o método do UPGMA, mostraram concordância com os obtidos no método de otimização de Tocher, ao separarem os acessos 93 e 94 dos demais (Figura 13). O acesso 39 permaneceu isolado, como no agrupamento de Tocher, porém próximo do grupo 4, em que todos apresentavam cor da haste roxa, inclusive o acesso 39.

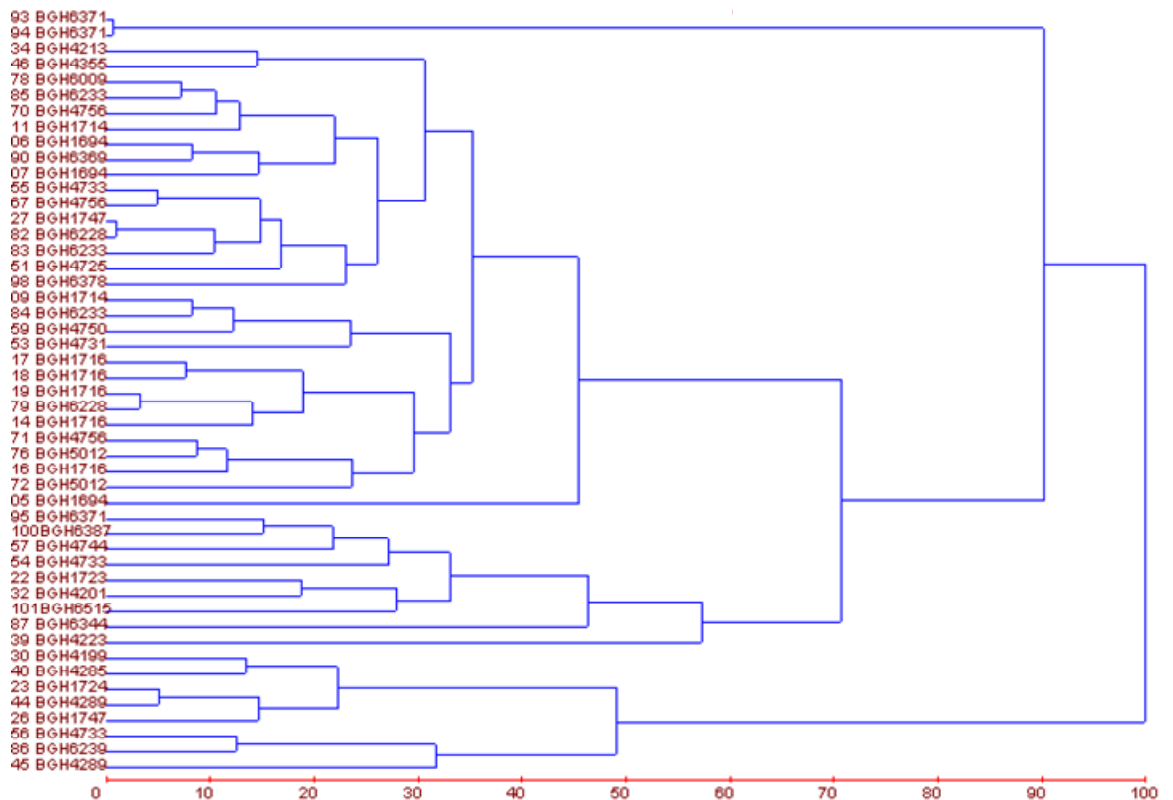


Figura 13: Dendrograma estabelecido do padrão de dissimilaridade quantificado pelo método UPGMA, de 49 acessos de *C. chinense*, baseado no índice de dissimilaridade de Cole-Rodgers, Viçosa, 2005.

4.4.3 Caracterização Molecular

Do total de 32 *primers* testados, 13 foram polimórficos (Tabela 16), o que representa 41% dos *primers* polimórficos. Do total de 286 bandas amplificadas, 44 foram polimórficas quanto aos *loci* identificados (Figura 14), perfazendo 15,4% de bandas polimórficas. Resultados semelhantes de polimorfismo foram encontrados por Paran *et al.*, (1998) que, ao estudar diversidade em *C. annuum*, encontraram cerca de 20% de bandas polimórficas. São também concordantes com Rodriguez *et al.* (1999), que detectaram 20% de bandas polimórficas com uso de RAPD, ao analisar diversidade genética entre várias espécies cultivadas de *Capsicum*.

Tabela 16 *Primers* de RAPD que amplificaram fragmentos polimórficos no DNA genômico dos acessos de *Capsicum chinense*.

<i>Primer</i>	Seqüência	Número de fragmentos polimórficas
A01	CAGGCCCTTC	05
A05	AGGGGTCTTG	04
A07	GAAACGGGTG	03
A08	GTGACGTAGG	03
A09	GGGTAACGCC	02
A10	GTGATCGCAG	03
A14	TCTGTGCTGG	03
A15	TTCCGAACCC	03
A18	AGGTGACCGT	04
B12	CCTTGACGCA	04
B18	CCACAGCAGT	01
OAB03	TGGCGCACAC	04
OPK17	CCCAGCTGTG	05

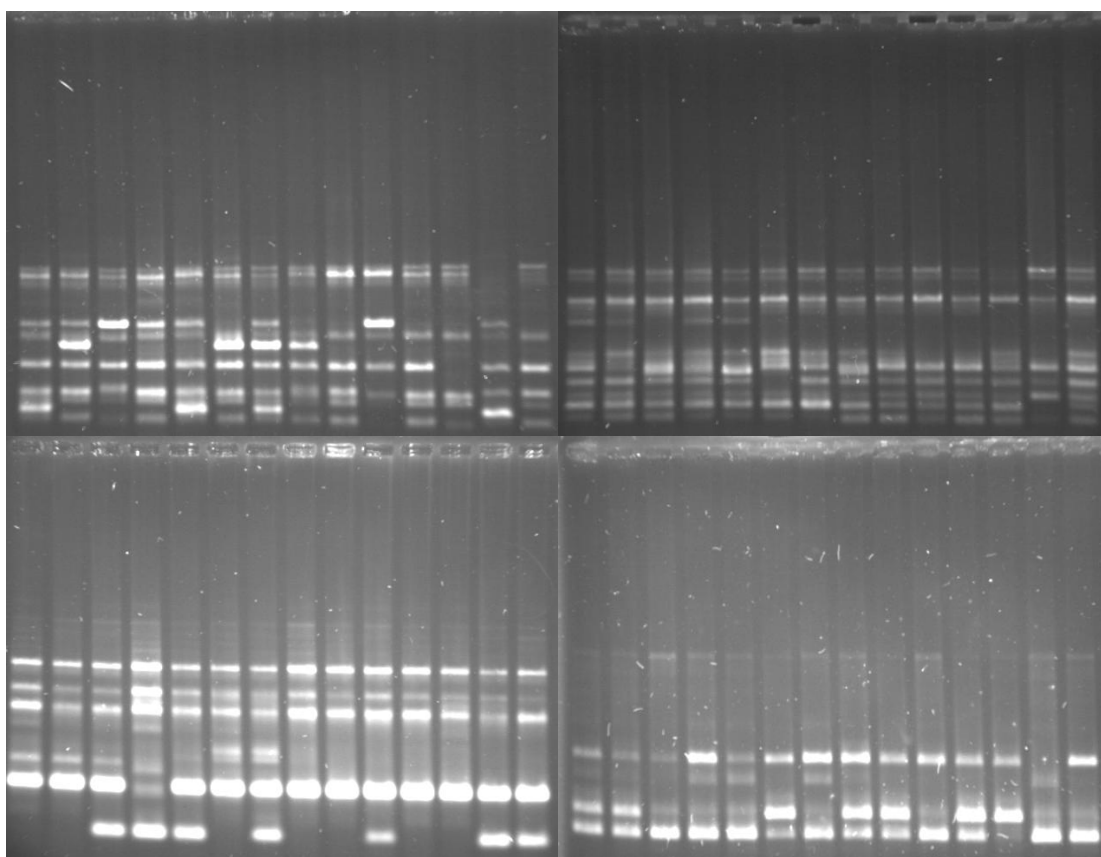


Figura 14: Bandas polimórficas de RAPD de quatro diferentes *primers* de 49 acessos de *C. chinense* pertencentes ao banco de germoplasma da UFV. Viçosa, 2005.

De acordo com as distâncias determinadas pelo complemento aritmético do coeficiente de similaridade de Nei & Li, os acessos 09 e 100 foram os mais dissimilares (0.67), enquanto que 71 e 85 foram os mais similares (0,07). O estudo da diversidade genética com o uso de RAPD não mostrou nenhum acesso em duplicata.

Pelo método de otimização de Tocher, os acessos foram distribuídos em 8 grupos, dos quais os pertencentes ao grupo 1 foram reanalisados, obtendo-se, então, 12 subgrupos. Assim, os acessos foram distribuídos da seguinte forma: os acessos 71, 85, 78, 70, 82, 83, 84, 67, 56, 45, 34, 22, 55, 18, 19, 14, 16, 17, 05, 06, 40, 54, 26, 27, 30, 46, 79, 87, 101, 95, 76, 57, 07, 23, 53, 39, 98 e 51 foram alocados no grupo 1; os acessos 93 e 94 foram reunidos no grupo 2; os nove acessos restantes foram distribuídos nos demais grupos, sendo os grupos 5, 6, 7, 8 formados pelos acessos 72, 90, 44 e 32, respectivamente (Tabela 17).

O agrupamento com base nos dados de DNA, que abrangia todo o genoma dos acessos, mostrou que a distribuição geográfica (Tabela 1) não foi bom parâmetro pré-estabelecido de agrupamento, pois determinados acessos de um mesmo grupo eram de diferentes regiões geográficas, enquanto aqueles de um mesmo local foram alocados em grupos diferentes.

O grupo 1 reuniu 75,51% dos acessos, mostrando que, entre os acessos de *Capsicum*, a variabilidade é relativamente baixa. Rodriguez *et al.* (1999), ao avaliarem diversidade genética em acessos de *Capsicum*, encontraram maior diversidade entre as espécies do que dentro delas.

Da mesma forma, os grupos 2, 3 e 4 também não tiveram como forma de agrupamento a origem geográfica. Pode-se verificar que, de acordo com a Tabela 17, os acessos do grupo 2 foram coletados na mesma cidade. No entanto, esses acessos tinham a mesma identificação e foram separados na seleção inicial deste estudo. Os acessos do grupo 3 foram coletados no estado Maranhão e do Amazonas, estados que não fazem fronteira, não podendo, pois, haver cruzamento natural entre esses acessos. O mesmo pode ser afirmado para o grupo 4, em que a distância entre Bahia e Distrito Federal impede que a similaridade intra-grupo tenha relação geográfica.

Tabela 17: Agrupamento de quarenta e nove acessos de *C. chinense* pelo método de Tocher (Rao,1952), obtidos pelo complemento aritmético do coeficiente de similaridade de Nei e Li

GRUPO	ACESSOS												
1a	71	85	78	70	82	83	84	67	56	45	34	22	55
1b	18	19	14	16	17	05	06						
1c	40	54											
1d	26	27	30										
1e	46	79											
1f	87	101	95										
1g	76												
1h	57												
1i	07												
1j	23												
1k	53												
1l	39												
1m	98												
1n	51												
2	93	94											
3	09	11	59										
4	86	100											
5	72												
6	90												
7	44												
8	32												

Nos demais grupos, a proximidade geográfica não mostrou ser o critério de agrupamento, visto que a origem dos acessos dentro dos grupos, embora com poucos acessos por grupo, não tenha sido de estados próximos geograficamente. É possível ter havido cruzamento entre esses acessos durante as etapas de multiplicação de sementes que antecederam este estudo, já que, nessa espécie, ocorre alta frequência de alogamia, como mostra Tanksley (1984), para o qual a taxa de polinização cruzada natural em *Capsicum annuum* foi 42%. Era esperado que os acessos originados do mesmo acesso ficassem agrupados próximos e que as distâncias fossem as menores possíveis. Isso ocorreu com o acessos 14, 16, 17, 18 e 19, que permaneceram no mesmo grupo, sendo pequenas as distâncias entre eles.

O método hierárquico UPGMA possibilitou distribuição dos acessos dentro dos grupos, ao formar dendrograma (Figura 15) semelhante ao agrupamento formado pelo método de otimização de Tocher (Tabela 17).

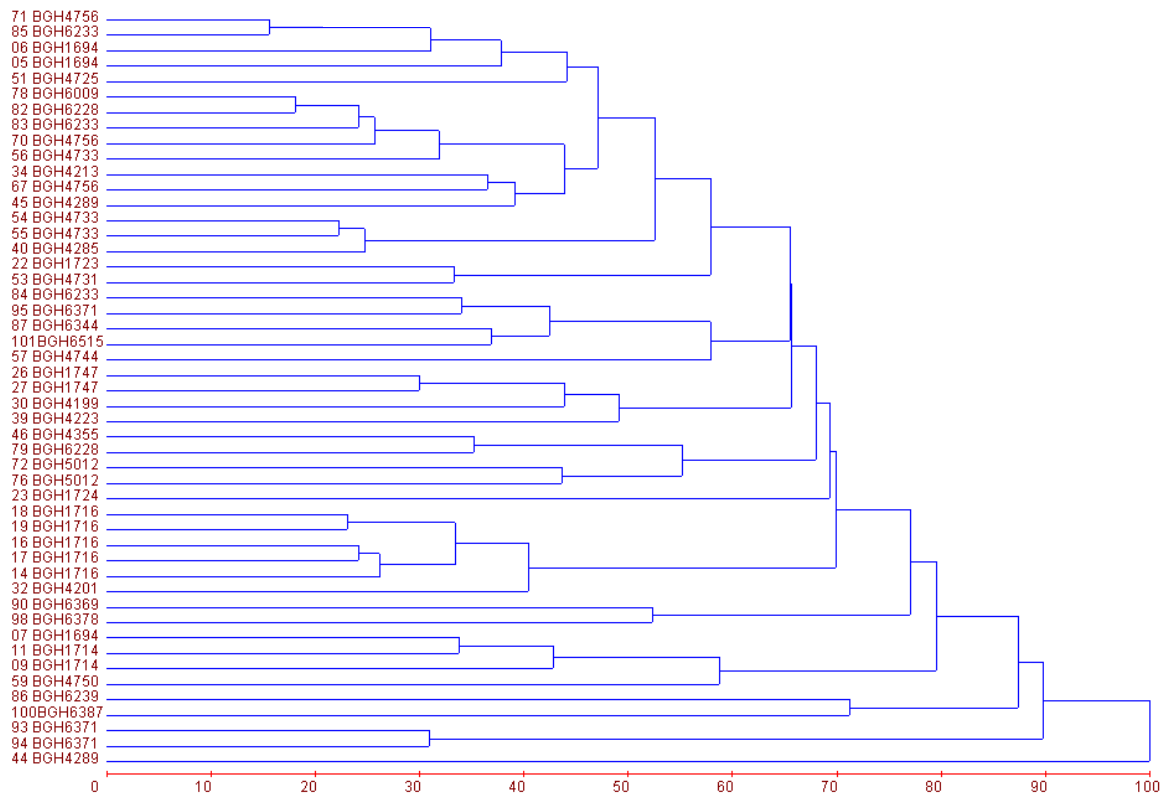


Figura 15 Dendrograma estabelecido do padrão de dissimilaridade quantificado pelo método UPGMA, de 49 acessos de *C. chinense*, baseado nas distâncias de Nei & Li . Viçosa, 2005.

Comparando o agrupamento pelo método de Tocher com o dendrograma baseado no método hierárquico UPGMA, verificou-se a formação de um grande grupo com 75 % dos acessos, sem a formação de grupos definidos, mas, sim, um conjunto de pequenos grupos. Por meio desses métodos de agrupamento, pôde-se verificar que a divergência entre os acessos de *Capsicum chinense* é pequena, pois a maioria dos acessos encontrava-se agrupada numa única chave.

O acesso 44 mostrou-se bastante divergente dos demais, visto que formou um grupo exclusivo pelo método de Tocher e permaneceu isolado dos demais acessos, no dendrograma.

A elevada concentração dos acessos em apenas um grupo indica que a técnica de RAPD não foi eficiente para detectar a diversidade, uma vez que o número de locos polimórficos não permitiu abranger todo o genoma em estudo.

Dessa forma, a diversidade detectada com o uso de marcadores moleculares pode ser parcial, podendo ser ampliada com maior número de polimorfismos.

A pequena diversidade detectada com o uso de marcadores pode, em parte, ser explicada pelo fato de todos os acessos serem da mesma espécie e terem sido coletados em regiões próximas, isto é, a região centro-norte do Brasil. Abreu *et al.* (2004), ao estudarem divergência entre acessos de feijão-de-vagem, mostraram que acessos geograficamente mais próximos são geneticamente mais similares. Resultados semelhantes foram encontrados por Votava & Bosland (2001) ao estudarem diversidade em acessos de *Capsicum pubescens*.

4.4.4 Análise da Diversidade Genética Conjunta

Tendo como base a soma das matrizes de dissimilaridade originadas da distância generalizada de Mahalanobis, pelo índice de dissimilaridade de Cole-Rodgers e pelo coeficiente de dissimilaridade de Nei & Li, os acessos 78 e 85 foram mais similares geneticamente (1,2003), enquanto que 86 e 94 foram os mais dissimilares (16,9683). De acordo com a metodologia proposta por Tocher, ocorreu a formação de dez grupos (Tabela 18), sendo o grupo um o maior, composto por vinte e seis acessos. Os grupos 8, 9 e 10 foram formados apenas por um acesso, respectivamente, 09, 86 e 44. O grupo 7 foi formado pelos acessos 39 e 57. O grupo 6 foi formado pelos acessos 72, 79 e 17. Os acessos 54, 56 e 59 formaram o grupo 5. Os acessos que formaram o grupo 4 foram 95, 101 e 100. Os acessos 93 e 94 formaram o grupo 3. O grupo dois foi composto pelos acessos 14, 16, 32, 98 e 90. Os demais acessos, isto é, os acessos 78, 85, 83, 84, 71, 70, 06, 05, 51, 34, 67, 46, 55, 22, 45, 40, 82, 27, 26, 07, 30, 19, 18, 53, 87, 76, 23 e 11 formaram o grupo um.

Tabela 18: Agrupamento de quarenta e nove acessos de *C. chinense* pelo método de Tocher, obtidos pelos métodos distâncias de Mahalanobis, Cole - Rodgers e Nei & Li.

GRUPO	ACESSOS													
01	78	85	83	84	71	70	06	05	51	34	67	46	55	
	22	45	40	82	27	26	07	30	19	18	53	87	76	
	23	11												
02	14	16	32	98	90									
03	93	94												
04	95	101	100											
05	54	56	59											
06	72	79	17											
07	39	57												
08	09													
09	86													
10	44													

Pode-se verificar que a diversidade resultante da análise em conjunto foi maior que a obtida quando analisadas as características morfológicas, quantitativas e moleculares individualmente. Isso demonstra a contribuição dos diferentes tipos de característica para a diversidade.

Pela comparação dos agrupamentos de Tocher, com base nas características morfológicas e quantitativas, com grupos formados a partir da análise molecular, constata-se semelhança entre grupos. Pode-se verificar que os acessos 93 e 94, nos dois métodos, formaram um grupo único. Da mesma forma, no agrupamento formado com características em conjunto, não prevaleceu a seqüência lógica da concentração de capsaicina nos frutos; da mesma forma, o agrupamento não seguiu a origem geográfica pré-estabelecida na coleta dos acessos.

A importância da diversidade genética na determinação de cruzamentos entre os acessos mais divergentes visando explorar a heterose entre eles mostra que os acessos 86 e 94 foram os que tiveram o melhor resultado. Isso pode ser afirmado, uma vez que foram os mais distintos no conjunto das características estudadas.

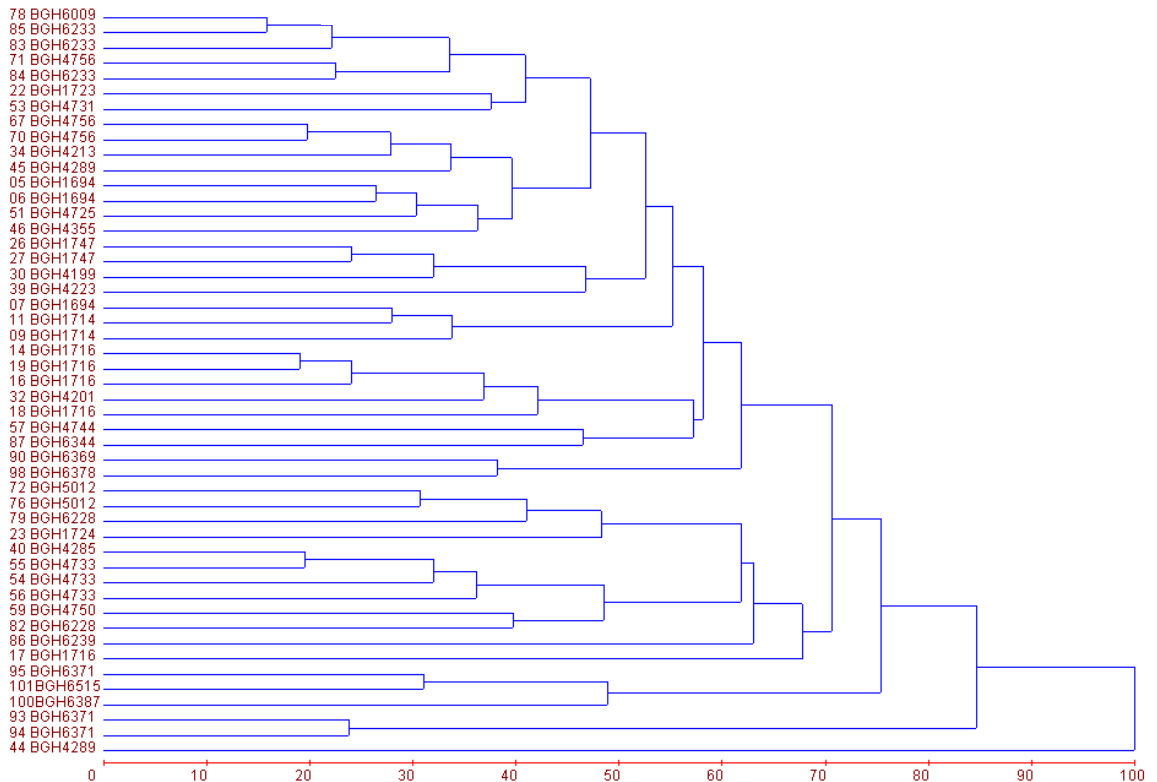


Figura16: Dendrograma estabelecido do padrão de dissimilaridade quantificado pelo método UPGMA, de 49 acessos de *C. chinense*, baseado nas distâncias de Mahalanobis, Cole-Rodgers e Nei e Li em conjunto. Viçosa, 2005.

4.5 Teste de Mantel

As matrizes de distância de Mahalanobis, de dissimilaridade de Cole-Rodgers e do complemento aritmético do índice de Nei & Li foram testadas pelo teste de Mantel, e não foram significativas (Tabela 19). Como as correlações de Mantel não apresentam significância, cada conjunto de caracteres avaliados, é independente quanto à avaliação da diversidade.

Tabela 19: Estimativas dos coeficientes de correlação de Mantel entre as matrizes de dissimilaridade de Mahalanobis, Cole-Rodgers e Nei & Li. Viçosa, 2005

	Mahalanobis	Cole-Rodgers	Nei & Li
Mahalanobis	-	-0,00834 ^{ns}	-0,03699 ^{ns}
Cole-Rodgers	-0,00834 ^{ns}	-	0,16816 ^{ns}
Nei & Li	-0,02699 ^{ns}	0,16916 ^{ns}	-

A detecção de correlação não significativa entre as matrizes de dissimilaridade era esperada entre as matrizes de distância de Mahalanobis e Cole-Rodgers, pois não havia sobreposição nas características analisadas. Entretanto, a correlação entre a matriz do complemento aritmético do índice de Nei e Li com as demais matrizes era esperada, uma vez que a análise molecular envolve todo o genoma em estudo. Por fim, os resultados indicam que as regiões analisadas por marcador molecular RAPD não correspondem às regiões gênicas que controlam as características quantitativas de fruto e as características morfológicas de planta.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pôde-se concluir que há diversidade genética entre os acessos de *C. chinense* avaliados.

O desempenho apresentado por alguns acessos permitiu selecionar acessos para programas de melhoramento com diferentes objetivos, como fonte de genes para o desenvolvimento de novas cultivares, para tipos de indústria alimentícia, ornamental e farmacêutica.

A característica capsaicina total foi a que mais contribuiu para a divergência entre os acessos.

O melhor acesso com características de indústria foi o BGH 4733-56 (56), e, para consumo *in natura*, o melhor acesso foi o BGH 6371-93 (93).

Os acessos mais divergentes, no geral, foram os acessos BGH 6239-86 (86) e BGH 6371-94 (94). Os mais similares foram BGH 6371-93 (93) e BGH 9371-94 (94).

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F. B.; LEAL, N. R.; RODRIGUES, R.; AMARAL JR., A. T.; SILVA, D. J. H. Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem de hábito de crescimento indeterminado. **Horticultura Brasileira**. v. 22, n. 3, p. 547 - 552, set., 2004.

AMARAL JR., A. T. **Análise dialélica de betacaroteno, vitamina C, sólidos solúveis e produção e variabilidade em cultivares de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* MILL.) via marcadores RAPD**. Viçosa: UFV, 1996. 198p. (Tese de Doutorado).

AMERICAN SPICE TRADE ASSOCIATION - ASTA. **Official analytical methods**, 2nd ed. Englewood Cliffs, New Jersey: ASTA, Inc 1997.

ANDREWS, J. **Peppers: the domesticated Capsicum**. Austin: University of Texas Press, 1984. 170p.

BLUM, E.; MAZOUREK, M.; O' CONNELL, M.; CURRY, J.; THORUP, T.; LIU, K.; MOLLY, J.; PARAN, I. Molecular mapping of capsaicinoid biosynthesis genes and quantitative trait loci analysis for capsaicinoid content in Capsicum. **Theor. Appl. Genet.** v.108, p. 79-86, 2003.

BOREM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 1997, 453p.

BOSLAND, P.W. Chiles: A diverse Crop. **HortTechnology**, v. 2(1), p. 7-10, Jan-Mar, 1992.

_____ Breeding for quality Capsicum. **Capsicum and Eggplant Newsletter**, v.12, p.25-31, 1993.

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers: vegetable and Spice Capsicums**. CABI Publishing, 2000. 204p.

CARDOSO, A. I.I. Melhoramento de Hortaliças. *in*: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas**. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001. cap. 12, p. 293-326.

CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; HENZI, G. P. Germplasm collection of *capsicum* spp. maintained by Embrapa Hortaliças (CNPH) **Capsicum and Eggplant Newsletter**, v. 22, p. 17-20, 2003.

CARVALHO, V. D. Características químicas de pimentões e pimentas. **Informe agropecuário**, v. 10(113), p. 76-78, maio, 1984.

CASALI, V. W. D.; PÁDUA. J. G.; BRAZ, L.T. Melhoramento de pimentão e pimenta. **Informe agropecuário**, v. 10(113), p. 19-22, maio, 1984.

CASALI, V. W. D.; STRINGHETA, P.C. Melhoramento de pimentão e pimenta para fins industriais. **Informe agropecuário**, v.10(113), p. 23-25, maio, 1984.

CASALI, V.W.D.; COUTO, F. A. A. Origem e botânica de *Capsicum*. **Informe Agropecuário**, v.10(113), p. 8-10, maio, 1984.

COLE-RODGERS, P.; SMITH, D. W.; BOSLAND, P. W. A novel statistical approach to analyze genetic resource evaluations using Capsicum as an example. **Crop Science**. v. 37 n. 3, p. 1000(3), 1997.

CONTI, J. H.; MINAMI, K.; GOMES, L. H.; TAVARES, F. C. A. Estimativa de similaridade genética e identificação de cultivares do morangueiro por análise de RAPD. **Horticultura Brasileira**, v.20, n. 2, p. 145-152, jun, 2002a.

CONTI, J. H.; MINAMI, K.; TAVARES, C. A. Comparação de caracteres morfológicos e agronômicos com moleculares em morangueiros cultivados no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 419-423, set, 2002b.

COSTA, M. J. C.; TERTO, A. L. Q.; SANTOS, L. M. P. Efeito da suplementação com acerola nos níveis sanguíneos de vitamina C e de hemoglobina em crianças pré-escolares. **Rev. Nutr. Ab**, v. 14 , p. 13-20, 2001.

CORRÊA, R. X.; ABDELNOOR, R. V.; FALEIRO, F. G.; CRUZ, C. D.; MOEREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Genetic distances in soybean based on rapd markers. **Bragantia**, v. 58(1), p. 15-22, 1999.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001. 442 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos aplicados ao melhoramento genético- Volume 2**. Viçosa: UFV, 2003. 585p.

CURRY, J.; ALURU, M.; MENDOZA, M.; NEVAREZ, J.; MELENDREZ, M.; O'CONNELL, M. A. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent capsicum spp. **Plant Science**, v.148, p. 45-47, 1999.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) **Capsicum Pimentas e Pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/ Embrapa Hortaliças. 2000. 113p.

FERRREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1996. 220p.

FULTON, T.; CHUNWONGSE, J.J.; TANKSLEY, S.D. Microped protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. **Plant Mol. Biol. Rep.**, v. 13, n. 13, p. 207-209, 1995.

GIBBS, H. A. A.; O' GARRO, L. W. Capsaicin content of West Indies hot pepper cultivars using colorimetric and chromatographic techniques. **HortScience**, v. 39 (1) p. 132-135, 2004.

GOMEZ, R.; PARDO, J. E.; NAVARRO, F.; VARÓN, R. Color differences in paprika pepper varieties (*Capsicum annuum* L.) cultivated in a greenhouse and in the open air. **J. Sci. Food Agric**, v.77, p. 268-272, 1998.

GREENLEAF, W.M. Pepper breeding. *in*: BASSETT, M.J. (ed.) **Breeding Vegetable Crops**. Westport: AVI Publishing Company, 1986, p. 67.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo, v.1, 533p. 1985.

INTERNATIONAL PLANT GENETIC RESOURCES INSTITUTE. IPGRI. **Descriptors for Capsicum (Capsicum spp.)**, Rome, IBPGRI. 49p. 1995.

LEE, J. M.; NAHM, S. H.; KIM, Y. M.; KIM, B. D. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. **Theor. Appl. Genet.** v.108, p. 619-627, 2004.

MAILLARD, M. N.; GIAMPAOLI, P.; RICHARD, H. J. Analysis of eleven capsaicinoids by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Flavour and fragrance journal.** v. 12, p.409-413, 1997.

MANTEL, N. A. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Can. Res.**, v.27, p.209-220, 1967.

MARTINELLO, G. E.; LEAL, N. R.; AMARAL JR., A. T.; PEREIRA, M. G.; DAHER, R. F. Diversidade genética em quiabeiro em marcadores RAPD. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 20-25, mar., 2003.

MARTINELLO, G. E.; LEAL, N. R.; AMARAL JR., A. T.; PEREIRA, M. G.; DAHER, R. F. Divergência genética em acessos de quiabeiro com base em marcadores morfológicos. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 52-58, mar., 2001.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Comparative study of the effect of paprika processing on the carotenoids in peppers (*Capsicum annuum*) of the bola and agridulce varieties. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, p. 1555-1560, 1994.

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** v. 34, n. 2, p. 217-224, fev. 1999.

NASS, L. L., MIRANDA FILHO, J. B., SANTOS, M. X. Uso de germoplasma exótico no melhoramento. *in*: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas**. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001. cap. 5, 101-122.

NEI, M.; LI, W-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction in terms of restriction endonucleases. **Proc. Nat. Academy Sci. USA**, v. 76, p. 5269-5273, 1979.

NUEZ, F.; ORTEGA, G.; COSTA, J. **El Cultivo de pimientos, chiles y ajies**. Ediciones mundi-prensa, México. 1996. 607p.

OLIVEIRA, A. C. B.;SEDIYAMA, M.A. N.; SEDIYAMA, T.; FINGER, F. L.; CRUZ, C. D. Variabilidade genética em batata-doce com base em marcadores isoenzimáticos. **Horticultura Brasileira**, v. 20 n. 4, p. 576-582, dez. 2002.

OLIVEIRA, V. R.; CASALI, V. W. D.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, P. R. G.; BRACCINI, A. L. Avaliação da diversidade genética em pimentão através de análise multivariada. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 1 p. 19-24, mar, 1999.

PAIVA, W. O. Divergência genética entre linhagens de melão e a heterose de seus híbridos. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 34-37, mar., 2002.

PARAN, I.; AFTERGOOT, E.; SHIFRISS, C. Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and RFLP markers. **Euphytica**, v. 99, p. 167-173, 1998.

PICKRSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. **Euphytica**. 96: 129-133. 1997.

RAO, C. R. **An advanced statistical method in biometric research**. New York, Ed. John Wiley e Sons, 1952. 390 p.

RÊGO, E. R. **Diversidade, herança e capacidade combinatória em pimenta (*Capsicum baccatum*)**. Viçosa: UFV, 2001. (Tese de Doutorado)

RIZZO, A. A. N.; BRAZ, L. T. Divergência genética entre cinco genótipos de melão rendilhado. **Horticultura Brasileira**, v. 20 n. 2 p. 171-173, jun. 2002.

RODRIGUEZ, J. M.; BERKE, T.; ENGLE, L.; NIENHUIS, J. Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. **Theor. Appl. Genet.**, v. 99, p. 147-156, 1999.

SANGITA, Y.; MANDAL, S.; VERMA, S. K.; MUNEEM, K.C.; SINGH, M.; YADAV, S. Content of some mineral constituents in sweet pepper fruits. **Biologiczne i agrotechniczne czynniki plonowania i jakosci warzyw**, Lublin, Polska, 15-16 czerwca 2000 *in*: *Annales-Universitatis-Mariae-Curie-Sklodowska.-Sectio-EEE, Horticultura*, 8: Supplementum, 377-382; 2000

SANWEN, H.; BAOXI, Z.; DAN, M.; LINDA, C.; GUIMEI, Y.; JIAZHEN, G. Development of pepper SSR markers from sequence databases. **Euphytica**, v.117, p.163-167, 2000.

SCOTT, A. T.; KNOTT, M. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30 (3) p. 507-512, 1974.

SIMONNE, A. H.; SIMONNE, E.H.; EITENMILLER, R.R.; MILLS, H. A. GREEN, N.R. Ascorbic acid and provitamin A contents in unusually colored bell peppers (*Capsicum annuum* L.) **Jornal of Food Composition and Analysis**, v.10, p. 299-311, 1997.

SINCLAIR, P. J.; BLAKENEY, A. B.; BARLOW, E.W. R. Relationships between bulb dry matter content, soluble solids concentration and non-structural carbohydrate composition in the onion (*Allium cepa*) **J. Sci. Food. Agric**, v. 69 p. 203-209, 1995.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal Genetics & Plant Breeding**, New Delhi, v. 41, p. 237-245, 1981.

SMARTT, J.; SIMMONDS, N.W. **Evolution of crop plants**. Longman Scientific & Technical, Essex, 1995. 530p.

SMITH, P. G.; VILLALON, B.; VILLA, P. L. Horticultural classification of peppers grown in the United States. **HortScience**, v. 22(1), Feb, 1987.

SOUZA, A. P. Biologia Molecular aplicada ao melhoramento. *in*: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos e Melhoramento- Plantas**. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001. cap. 29, p.939-966.

SOUZA, R.J. de; CASALI, V. W. D. Cultivares de pimentão e pimenta. **Informe Agropecuário**, v.10 (113), p. 14-18, maio, 1984.

SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; KARASAWA, M; AMARAL JR., A. T. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 22-27, jan-mar. 2005.

TANKSLEY, S. D. High rates of cross-pollination in chile pepper. **HortScience** v. 19(4), p. 580-582, 1984.

TEIXEIRA, R. **Diversidade em Capsicum: Análise Molecular, Morfoagronômica e Química**. Viçosa: UFV, 1996. 81 p. (Tese de Mestrado).

TOQUICA, S. P.; RODRÍGUEZ, F.; MARTINEZ, E.; DUQUE, M. C.; TOHME, J. Molecular characterization by AFLP of Capsicum germoplasm from the amazon department in Colômbia, characterization by AFLPs of Capsicum. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 50, p. 639- 647, 2003.

VALL, J. F. M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. *in*: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais**. Jaboticabal: FCAV/ UNESP, 1988, p. 106- 128.

VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L.; GÓES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais. *in*: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas**. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001, cap. 6, 123-149.

VIRK, P. S.; FORD-LLOYD, B. V.; JACKSON, M. T.; NEWBURY, H. J. Use of RAPD for the study of diversity within plan germoplasm collections. **Heredity**, v. 74, p.170-179, 1995.

VOTAVA, E. J.; BOSLAND, P. W. Genetic diversity of *Capsicum pubescens* revealed via RAPD. **Capsicum and Eggplant Newsletter**, v.20, p.60-63, 2001.

YAHIA, E.M.; CONTRETAS-PADILHA, M.; GONZALEZ-AGUILAR, G. Ascorbic acid content in relation to ascorbic acid oxidase activity and polyamine content in tomato and bell pepper fruit during development, maturation and senescence. **Lebensm.-wiss.u. technol.**, v. 34, p. 452-457, 2001.

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

ZEWDIE, Y.; BOSLAND, P. W. Combining ability and heterosis for capsaicinoids in *Capsicum pubescens*. **HortScience**, v. 36(7), p. 1315-1317, 2001.