

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE *Capsicum* UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES

Tulio Cesar de Lima Lins¹, Rodrigo Tristan Lourenço², Hélio Márcio Ferreira Tavares³, Francisco B. Reifschneider⁴, Márcio Elias Ferreira⁵ e Gláucia Salles Cortopassi Buso⁶

¹ Bolsista, Estudante de graduação, Química, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70770-900, Brasília, DF;

² Eng^o.Agr^o., Consultor Científico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia;

³ Bolsista, Estudante de graduação, Biologia, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia;

⁴ Eng^o.Agr^o., Dr., Embrapa Hortaliças;

⁵ Eng^o.Agr^o., Dr., Universidade Católica de Brasília;

⁶ Eng^a.Agr^a., Dr^a., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. e-mail: tuliocesar@ambr.com.br

A pimenta (*Capsicum* spp.) é um dos condimentos de maior uso no mundo. O gênero *Capsicum* é composto de 20 a 25 espécies, das quais cinco são cultivadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. pubescens*. Todas essas espécies domesticadas, exceto *C. pubescens*, são cultivadas no Brasil. O cultivo da pimenta e pimentão no Brasil é extenso e demanda por novas variedades mais produtivas e resistentes a doenças e estresses ambientais, bem como por diferentes tamanhos, cores, sabores e pungências dos frutos. O programa de melhoramento de *Capsicum* visa atender a essas demandas com base em dados de variabilidade genética obtidos em estudos de caracterização morfológica, citogenética e molecular de acessos cultivados e silvestres de pimenta.

Esse trabalho teve como objetivo a caracterização molecular de variedades cultivadas de pimenta e pimentões conservadas no Banco de Germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Hortaliças. Padrões de amplificação de DNA de diferentes acessos foram analisados em centenas de locos distribuídos ao acaso por todo o genoma através da técnica de RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA").

O material utilizado para análise incluiu 245 acessos de pimenta, sendo 187 acessos de *C. annuum*, 33 de *C. baccatum*, 7 de *C. frutescens* e 18 de *C. chinense*. A extração do DNA genômico de cada acesso foi feita diretamente das folhas tenras de plantas crescidas em casa de vegetação. A amplificação do DNA foi feita através de reações RAPD, utilizando um coquetel contendo os seguintes reagentes: Tris-HCl 10 mM pH 8,3, MgCl₂ 1,5 mM, BSA 1,0 μg/μL, dNTP 0,2 mM, primer 0,4 μM, 7,5 ng de DNA genômico e 1 unidade de Taq DNA Polimerase, em um volume total de 13

μL. No total foram utilizados 15 primers (Operon Technologies Corp.) com alta capacidade multiplex, selecionados entre cerca de 200 primers testados previamente. Os produtos de amplificação foram submetidos a eletroforese de gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados sobre luz ultravioleta.

Para a análise da similaridade genética entre os acessos foram estimadas as distâncias genéticas par-a-par entre cada um dos acessos estudados. Estas estimativas foram baseadas no polimorfismo de marcadores RAPD, computados como presença e ausência de bandas. A matriz de similaridade usando o coeficiente de Jaccard e a análise aglomerativa hierárquica por UPGMA foram geradas através do software NTSYS versão 2.02pc.

Um total de 55 fragmentos RAPD polimórficos foi selecionado através da amplificação de 15 primers (OPAB08, OPAB09, OPAB11, OPAB14, OPC20, OPF13, OPG04, OPJ04, OPJ07, OPO07, OPR06, OPR10, OPU10, OPW04 e OPW13). A variabilidade genética dos acessos de *Capsicum* foi evidenciada pelos fragmentos RAPD polimórficos entre e dentro das espécies, o que permitiu a organização do germoplasma em quatro grandes grupos, subdivididos por espécie: acessos de *C.*

annuum, *C. baccatum*, *C. frutescens* e *C. chinense* (Figura 1).

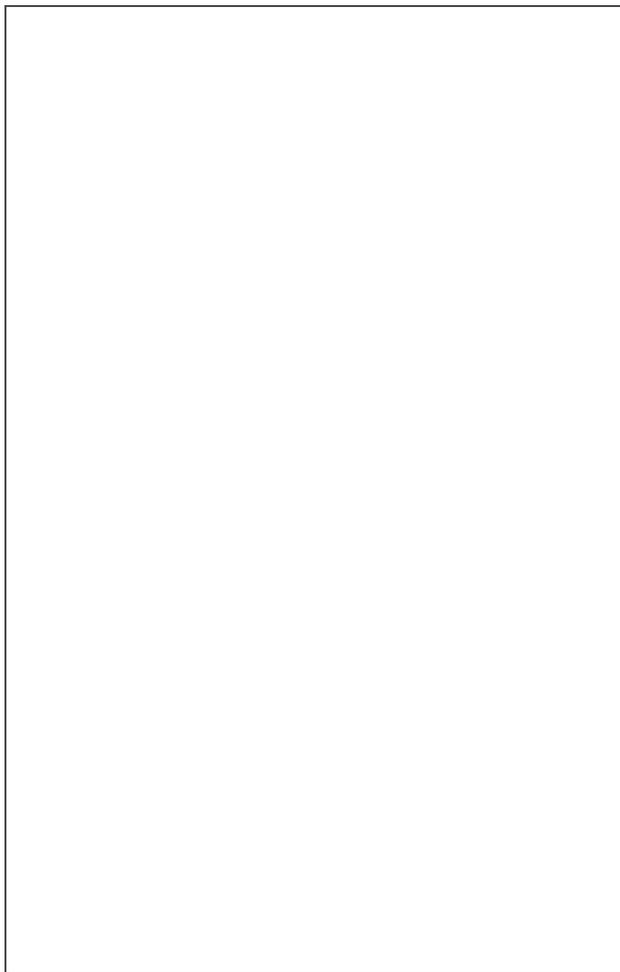


Figura 1. Análise aglomerativa hierárquica pelo método UPGMA de 245 acessos de *Capsicum* por meio de dados de polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD).

No grupo de *C. annum* as relações de similaridade genética permitem estabelecer paralelos com o conhecimento do *pedigree* de alguns acessos comerciais. Um dos agrupamentos inclui somente variedades comerciais brasileiras com alta similaridade genética, formando três subgrupos. Outro inclui cinco variedades do tipo "wonder" americano. A cultivar 192 está muito próxima do grupo tipo "wonder", podendo ter sido derivada de materiais deste tipo. Da mesma forma, o acesso 2722 se agrupou com o 2277 e 2721, sugerindo a participação de materiais deste grupo no desenvolvimento da variedade.

Os acessos 991, 3445, 1716 e 2726 são os mais dissimilares entre os materiais de *C. annum* analisados. No caso do acesso 991, a caracterização morfológica indicava pela alta pungência e pelo formato de fruto que deveria ser um acesso de *C. chinense*, quando na realidade trata-se de *C. annum*.

A alta similaridade genética entre algumas introduções do banco de germoplasma americano (PI) e algumas variedades comerciais sugerem as possíveis fontes de resistência ou de genes de interesse econômico que foram utilizadas no desenvolvimento de variedades comerciais de pimentão.

O grupo de acessos de *C. baccatum* ficou separado dos outros com semelhança de apenas 39%. Esse resultado era esperado devido a dissimilaridade genética desta espécie em relação às

outras. Neste grupo foi formado um composto de dois subgrupos dissimilares. No subgrupo 2, acessos originários do DF agruparam-se com similaridade acima de 85%, indicando estreita base genética entre os mesmos. Um acesso definido originalmente com *C. baccatum* (36) pela caracterização morfológica foi reclassificado como *C. annuum* pela caracterização molecular. O acesso 39 é muito diferente dos outros, com similaridade menor do que 50% quando comparado ao grupo dos acessos de *C. baccatum*.

O acesso 288 possui denominação comum de "Pimenta Malagueta". Essa denominação sugere que este acesso pertença à espécie *C. frutescens*, característica do tipo "malagueta". No entanto trata-se, sem sombra de dúvidas, de um acesso de *C. baccatum*, exemplificando uma denominação comum inconsistente com a classificação botânica de *Capsicum*.

A caracterização morfológica de alguns acessos evidenciou segregação ou heterogeneidade genética entre indivíduos do mesmo acesso. Foram coletadas folhas do indivíduo típico do acesso e dos "off-types" para a análise molecular. Os dados evidenciam segregação em alguns acessos, como o 675 e 725, e contaminação em outros, como 724 e 821. Neste último (821) o contaminante foi classificado como outra espécie (*C. baccatum*).

A avaliação de um maior número de acessos de pimenta juntamente com a ampliação da análise de polimorfismo molecular de cada acesso permitirá classificar eficientemente os acessos do Banco de Germoplasma de *Capsicum*. A compilação de informações biológicas sobre cada acesso facilitará o uso adequado deste germoplasma em programas de conservação e de melhoramento genético de pimentas e pimentões.

