

## **DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE PIMENTA SILVESTRE (*Capsicum flexuosum* Sendt)<sup>1</sup>**

Adilson Ricken Schuelter<sup>2</sup>

Vicente Wagner Dias Casali<sup>2</sup>

Cosme Damião Cruz<sup>3</sup>

Antônio Daniel Fernandes Coelho<sup>2</sup>

Antônio Teixeira do Amaral Júnior<sup>4</sup>

### **1. INTRODUÇÃO**

A escolha do método de melhoramento a ser empregado no desenvolvimento de variedades de uma espécie depende, em parte, do seu modo de reprodução, que pode influenciar também o tipo de variedade a ser recomendado ao produtor. Do ponto de vista do melhoramento, as espécies podem ser divididas em dois grupos: autógamas, que se reproduzem por autopolinização, e alógamas, que apresentam, predominantemente, polinização cruzada (2, 3).

Ao contrário das espécies autógamas, as populações das alógamas são caracterizadas pela grande heterogeneidade (3). Desta maneira, estudos da diversidade genética entre progênies de uma referida planta permitem

---

<sup>1</sup> Parte da tese de mestrado do primeiro autor, apresentado à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

<sup>2</sup> Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa-MG.

<sup>3</sup> Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa-MG.

<sup>4</sup> CCTA/UENF, 28015-620 Campos dos Goytacazes-RJ.

especular sobre o seu modo de reprodução.

Nos estudos da diversidade genética podem ser empregados tanto caracteres morfoagronômicos como moleculares. Segundo CRUZ e REGAZZI (7), as metodologias de análise multivariada de caracteres morfoagronômicos incluem os métodos de agrupamento, componentes principais ou variáveis canônicas. Dentre as técnicas moleculares, podem ser mencionadas análises de isoenzimas, RFLP, RAPD, dentre outras (18).

As espécies do gênero *Capsicum*, de considerável antigüidade e com história de muitos séculos de cultivo sob condições diversas, possuem muitas variedades conhecidas e disseminadas, mostrando grande variabilidade genética, sendo empregadas para diferentes fins. Segundo MONSEREENUSORN *et alii* (14), a pungência, típica desse gênero, se deve à presença do alcalóide capsaicina e apresenta importância econômica nas indústrias alimentícia e farmacêutica, e as pimentas mais pungentes têm maior valor comercial. CLARKE (6) menciona o uso da capsaicina, nos últimos cinquenta anos, no tratamento de reumatismos e nevralgias, além de sua reintrodução como analgésico de ampla aplicação. Além disso, essas espécies apresentam alto valor vitamínico, se destacando principalmente pelo conteúdo de vitaminas A e C (9, 11). As espécies do gênero *Capsicum* apresentam potencial muito grande em termos de ornamentação, visto que têm ampla variabilidade em termos de cores, formas e tamanhos de frutos, já existindo, segundo GRAF (8) e BRICKELL (4), variedades ornamentais de *C. annum*.

Embora essas plantas sejam reconhecidas por sua importância econômica, investigações sobre a variabilidade genética potencialmente útil em futuros programas de melhoramento têm sido incipientes. Em trabalhos realizados por PICKERSGILL (16) e CASALI e COUTO (5), concluiu-se não haver barreira reprodutiva entre as diferentes espécies do referido gênero, sejam silvestres ou cultivadas, possibilitando a introgressão de genes de interesse.

O Brasil apresenta posição de destaque no que se refere à variabilidade genética dentro desse gênero, sendo a Amazônia o maior centro de *C. chinense*. O Sul do Brasil, por sua vez, contém várias espécies silvestres que não foram caracterizadas geneticamente e tão pouco estudadas para verificar seu potencial fitotécnico (13). Dentre essas, pode ser citada *C. flexuosum*, denominada "pimenta-braba", devido aos altos níveis de capsaicinóides. Essa espécie apresenta vasta dispersão pelo Planalto Catarinense, ocorrendo preferencialmente em grande abundância nas associações mais evoluídas dos pinhais (21).

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a diversidade genética e o possível modo de reprodução entre indivíduos de uma

população de *C. flexuosum*, por meio da técnica de componentes principais e de análises isoenzimáticas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O material original do presente trabalho foi constituído pela amostragem de sementes do acesso LL-1952 de *Capsicum flexuosum*, pertencente ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa (UFV). As sementes foram obtidas a 25 km da entrada

As características morfológicas avaliadas foram as seguintes: número de dias da semente até o florescimento (ANT); altura da planta com a antese da primeira flor (ALTA); altura da planta 150 dias após a semente (ALT150); diâmetro da copa com a antese da primeira flor (DCA); maior diâmetro da copa aos 150 dias após a semente (DC150) e número de nós no segmento de caule compreendido entre os cotilédones e a primeira bifurcação dos ramos (NOS). Para os caracteres isoenzimáticos, foram feitas análises eletroforéticas para os sistemas malato desidrogenase (MDH), fosfatase ácida (ACP) e peroxidase (PO).

O experimento, constituído de 74 plantas, foi conduzido em casa de vegetação. A semente foi realizada em caixa de areia. Sessenta dias após, foi feito o transplante para vasos plásticos, contendo 3 litros da mistura de subsolo, composto orgânico e areia lavada, na proporção de 5:3:2. Essa mistura apresentou fertilidade média e pH 5,5, corrigido para 6,0, com calcário.

A avaliação da diversidade genética de características morfológicas foi realizada empregando-se a técnica multivariada dos componentes principais, originalmente descrita por Pearson (1901) e citada por CRUZ e REGAZZI (7). Para tal, foram utilizados os recursos computacionais do programa "Genes", desenvolvido pelo setor de Genética do Departamento de Biologia Geral da UFV. Como medida de dissimilaridade, foi utilizada a distância Euclidiana média baseada em dados padronizados.

As análises eletroforéticas isoenzimáticas para os sistemas ACP, MDH e PO foram realizadas no Laboratório de Melhoramento de Hortaliças do Departamento de Fitotecnia da UFV. Amostras de cerca de 1,0 g da quinta folha definitiva foram coletadas de cada planta e maceradas imediatamente, recebendo, parte das amostras, 2,0 ml de uma solução extratora composta por 0,1M Tris-HCl pH 7,2, PVP a 40% e  $\beta$ -

mercaptoetanol a 0,1%. O extrato de cada amostra foi absorvido em tiras de papel cromatográfico Whatman 3 MM e aplicado, em seguida, no gel previamente preparado. A eletroforese foi conduzida em géis de amido hidrolisado de batata (Sigma) a 12%, composta de uma pré-corrída de 30 min, com a fonte fornecedora de corrente elétrica a 150 V, e a corrída propriamente dita, com a voltagem regulada para 300 V até o término da corrída. Em seguida, os géis foram cortados em fatias, com posterior imersão em soluções com substratos específicos para cada sistema. Nos sistemas avaliados foram empregadas as seguintes metodologias: fosfatase ácida, metodologia desenvolvida por HILDEBRANT *et alii* (12); malato desidrogenase, segundo SHAW e PRASAD (19); e peroxidase, segundo SHIELDS *et alii* (20). Após a revelação das bandas, os géis foram submetidos ao processo de fixação, com o emprego de glicerina a 10%, durante 12 horas, à temperatura de 4° C. Em seguida, foram secos conforme o método descrito por ALFENAS *et alii* (1). Após a confecção e a interpretação dos géis, foram calculadas as freqüências gênicas e o grau de heterozigose dos locos gênicos, conforme proposto por NEI (15).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelas estimativas dos autovalores correspondentes, os dois primeiros componentes principais explicaram 71,26% da variação total (Quadro 1). Geralmente, esses componentes têm sido utilizados, em estudos de divergência genética, quando envolvem pelo menos 80% da variação total. Caso contrário, a análise é complementada com a dispersão gráfica em relação ao terceiro e quarto componentes (7). Como os dois primeiros componentes não atingiram os 80%, além da dispersão gráfica dos componentes 1 e 2 (Figura 1), foi analisada a dispersão do 1 com 3, para ratificar as informações obtidas com a primeira.

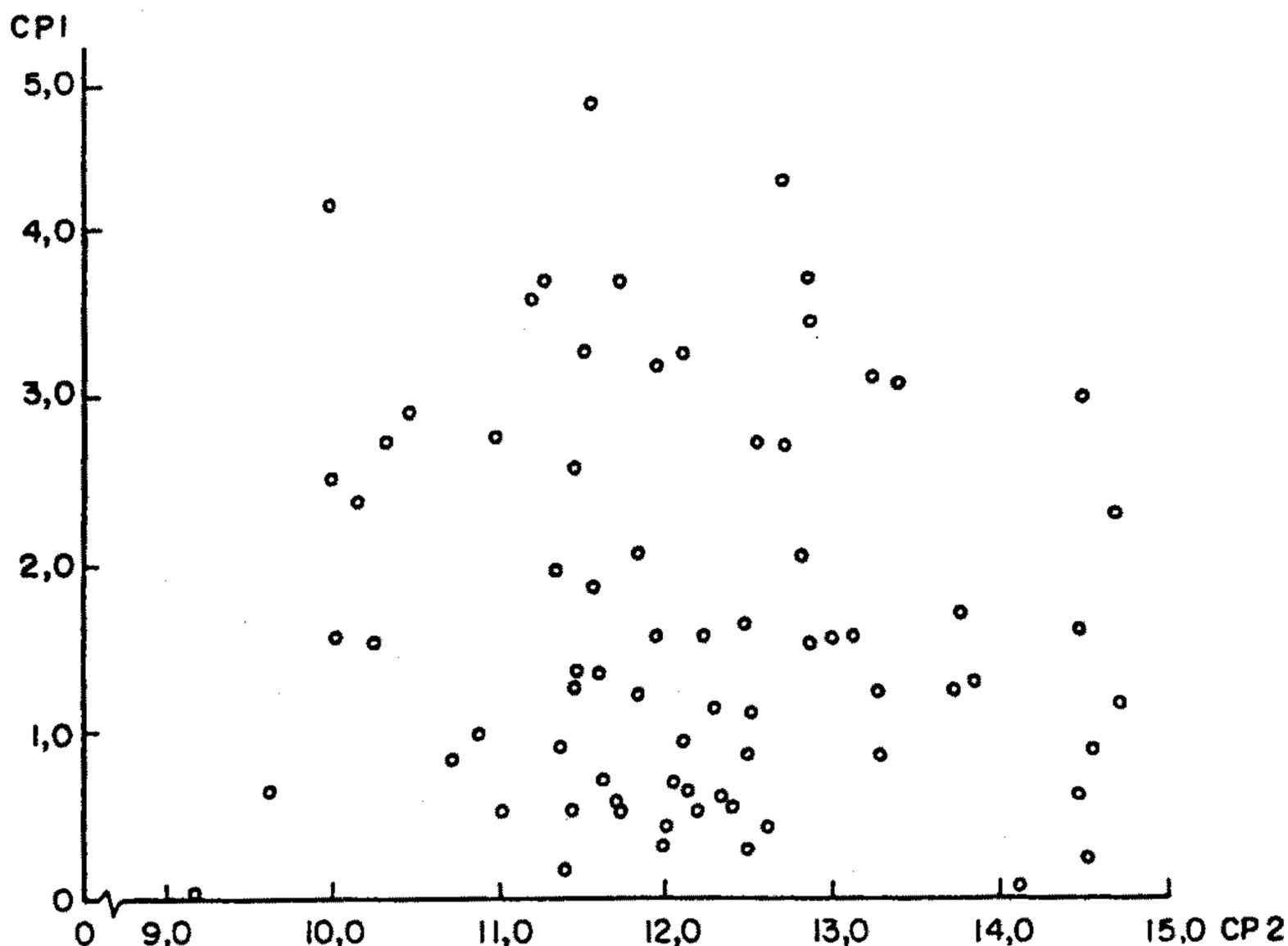
A distribuição espacial dos indivíduos analisados revela ampla diversidade genética (Figura 1), indicando que o modo de reprodução do progenitor dessas plantas foi, pelo menos em parte, por polinização cruzada. As espécies do gênero *Capsicum* têm sido classificadas como autógamias, apresentando certo grau de alogamia. Em trabalhos realizados com pimentão, tem sido encontrada ampla variação na taxa de fecundação cruzada, podendo ser tão baixa quanto 0,5% (5) ou podendo alcançar mais de 50%, dependendo das condições de cultivo e da população de insetos polinizadores (17).

A metodologia de componentes principais permite verificar as características que menos contribuem para a discriminação dos genótipos, possibilitando descartá-las em futuros estudos, reduzindo, dessa forma,

**QUADRO 1** - Estimativas das variâncias (autovalores,  $\lambda_i$ ), associadas aos componentes principais, e respectivos coeficientes de ponderação (elementos dos autovetores) de seis caracteres morfológicos, avaliados do acesso LL-1156 do BGH de *Capsicum flexuosum*

CP <sub>i</sub>	Autovalores		Coeficientes de Ponderação Associados A <sup>1</sup>					
	$\lambda_i$	Acumulado %	ANT <sup>1</sup>	ALTA	ALT150	DCA	DC150	NOS
CP <sub>1</sub>	2,30	38,34	-0,3794	0,3264	0,3981	0,4836	0,5359	-0,2642
CP <sub>2</sub>	1,97	71,26	0,2915	0,5728	0,5114	-0,2534	-0,0427	0,5093
CP <sub>3</sub>	0,69	82,81	0,8272	0,0726	-0,073	0,5013	0,0292	-0,2304
CP <sub>4</sub>	0,54	91,80	0,0952	-0,2449	-0,3001	0,0799	0,6723	0,6185
CP <sub>5</sub>	0,36	97,76	0,2304	0,1281	-0,0789	-0,6617	0,5024	-0,4837
CP <sub>6</sub>	0,13	100,00	0,1573	-0,6955	0,6916	-0,0793	0,0752	-0,0355

<sup>1</sup> ANT: Número de dias para a antese da primeira flor.  
 ALTA: Altura da planta com a antese da primeira flor.  
 ALT150: Altura da planta aos 150 dias de cultivo.  
 DCA: Diâmetro da copa com a antese da primeira flor.  
 DC150: Diâmetro da copa aos 150 dias de cultivo.  
 NOS: Número de nós do ramo principal até a bifurcação.



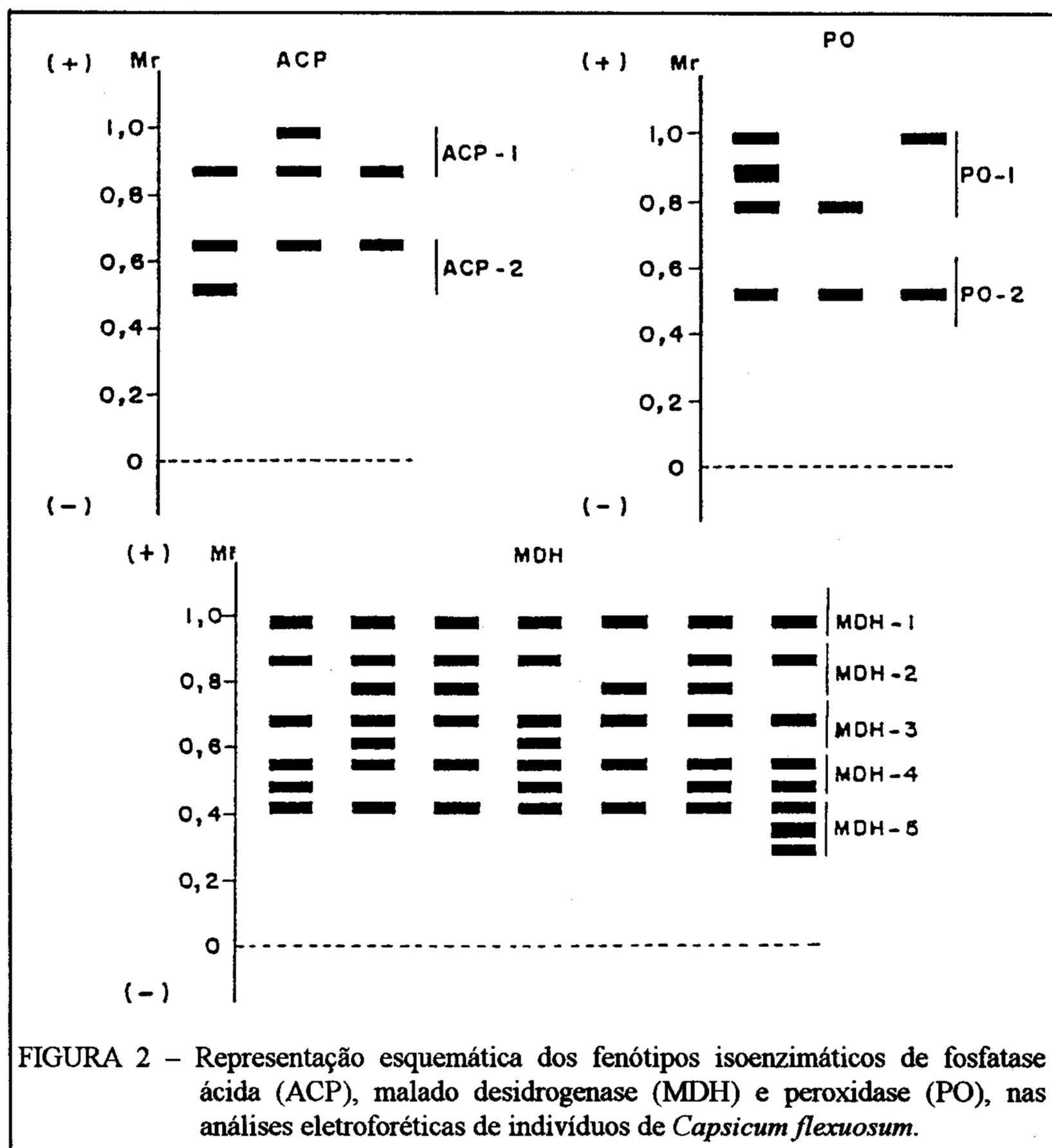
**FIGURA 1** - Dispersão gráfica dos escores em relação aos eixos representativos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) de seis características morfológicas, avaliadas em indivíduos de *Capsicum flexuosum*.

mão-de-obra, tempo e custo despendidos na experimentação (7). Pela análise do Quadro 1, verifica-se que as características ALTA e DCA podem ser descartadas, pois têm, respectivamente, os maiores coeficientes de ponderação no último e penúltimo componentes principais. O descarte de ALTA é minimizado pela presença de ALT150, que apresenta coeficiente de correlação fenotípica com a primeira de 0,84; DCA, por sua vez, apresenta correlação de 0,54 com DC150.

Pelas análises eletroforéticas isoenzimáticas e confecção dos zimogramas (Figura 2) nos sistemas ACP, MDH e PO, foram detectados dois locos gênicos para as enzimas fosfatase ácida e peroxidase, enquanto para malato desidrogenase observaram-se cinco locos gênicos.

Com base no cálculo das frequências gênicas e grau de heterozigose nos sistemas ACP, MDH e PO (Quadro 2), pôde-se constatar, como na análise dos componentes principais, a ocorrência de variabilidade genética. No total de nove locos analisados, apenas Mdh-1, Mdh-5 e Po-2 se mostraram monomórficos, uma vez que, para ser considerado polimórfico, é necessário que o alelo mais comum se apresente numa frequência inferior a 0,95 (10). Em alguns locos, como Mdh-2 e Mdh-4, o nível de heterozigose chegou bem próximo ao máximo possível, típico de plantas alógamas, o que fortalece a hipótese da ocorrência de fecundação cruzada em nível considerável.

QUADRO 2 - Frequências alélicas correspondentes a amostras representadas na Figura 2; p(a) e p(b): frequências alélicas; H= heterozigose a cada loco gênico			
LOCOS	p (a)	p (b)	H
Acp-1	0,03	0,97	0,07
Acp-2	0,88	0,12	0,21
Mdh-1	1,00	-	0
Mdh-2	0,59	0,41	0,48
Mdh-3	0,89	0,11	0,20
Mdh-4	0,71	0,29	0,41
Mdh-5	0,99	0,01	0,01
Po-1	0,49	0,61	0,39
Po-2	1,00	-	0



#### 4. RESUMO

A diversidade genética no acesso LL-1952 de pimenta silvestre, *Capsicum flexuosum*, foi avaliada empregando-se análises isoenzimáticas para os sistemas fosfatase ácida (ACP), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PO) em géis de amido, e a técnica de componentes principais, usando-se caracteres morfológicos. A análise dos nove locos isoenzimáticos mostrou que, com exceção dos locos Mdh-1, Mdh-5 e Po-2, os demais foram polimórficos. Em alguns locos, como Mdh-2 e Mdh-4, o nível de heterozigose chegou bem próximo ao máximo possível, típico de plantas alógamas. Com relação à análise de componentes principais, a dispersão dos indivíduos no espaço bidimensional indicou variabilidade genética intrapopulacional. Constatou-se que os caracteres que menos contribuíram

para a diversidade foram altura e diâmetro da planta na ocasião da antese da primeira flor, podendo ser descartados em trabalhos futuros.

## 5. SUMMARY

### (GENETIC DIVERSITY IN A POPULATION OF WILD PEPPER (*Capsicum flexuosum* Sendt.))

Genetic diversity in *Capsicum* access LL-1952 was evaluated using isoenzymatic analysis of acid phosphatase (ACP), malate dehydrogenase (MDH) and peroxidase (PO) in starch gels. Principal components analysis of morphologic characters was also used. The analysis of nine isoenzymatic loci showed that all loci were polymorphic, except those of Mdh-1, Mdh-5 and Po-2. In some loci, such as Mdh-2 and Mdh-4, the level of heterozygosity was near maximum, following a typical random mating plant. Bi-dimensional dispersion graphs of principal components indicated that there was an intrapopulacional genetic variability. Plant height and plant diameter at the anthesis of the first flower contributed the least among characters and could be discarded in future works.

## 6. LITERATURA CITADA

1. ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. *Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais*. Viçosa, MG, UFV, 1991. 242 p.
2. ALLARD, R.W. *Princípios do melhoramento genético das plantas*. Rio de Janeiro, Edgard Blucher, 1971. 381p.
3. BORÉM, A. *Melhoramento de plantas*. Viçosa, MG, UFV, 1997. 547 p.
4. BRICKELL, C. *Encyclopedia of garden plants*. New York, Macmillan Publishing Company, 1989. 1354p.
5. CASALI, V.W.D. & COUTO, F.A. Origem botânica de *Capsicum*. *Informe Agropecuário* 10 (113): 8-10, 1984.
6. CLARKE, I.M.C. Peppering pain. *The Lancet* 342: 1130, 1993.
7. CRUZ, C.D. & REGAZZI, A.J. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa, UFV, 1994. 390 p.
8. GRAF, A.B. *Tropica; color cyclopedia of exotic plants and trees: for warm-region horticulture in cool climate the summer garden or sheltered in doors*. 3.ed. East Rutherford, N. J., Roehrs, 1986. 1151p.
9. GRUBBEN, G.J.H. *Tropical vegetables and their genetic resources*. Rome, IBPGR, 1977. 197 p.
10. HARTL, D.L. *A primer of population genetics*. Sunderland, Sinauer Associates, 1987. 305 p.
11. HEISER, C.B. Peppers *Capsicum* (Solanaceae). In: SIMMONDS, N.W. (ed). *Evolution of crop plants*. London, Longman, 1976. p. 265-268.
12. HILDEBRANT, D.F.; ORF, J.H. & HYMOWITZ, T. Inheritance of an acid

- literature survey. *Critical Review Toxicology* 521: 549-551, 1982.
15. NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of National Academy Science of U.S.A* 70: 3321-3323, 1973.
  16. PICKERSGILL, B. Some aspects of interspecific hybridization in *Capsicum*. In: MEETING OF THE EUCARPIA *Capsicum* WORKING GROUP, 4, Wageningen, 1980. Abstracts... Wageningen, 1980. p.25.
  17. POZO COMPODOMICO, O. Estimates of natural cross-pollination in serrano pepper (*Capsicum annuum* L.). *Capsicum Newsletter*, 2: 113-115, 1983.
  18. PRINCE, J.P.; LOIAZA-FIGUEROA, F. & TANKSLEY, S.D. Restriction fragment length polymorphism and genetic distance among Mexican accessions of *Capsicum*. *Genome* 35: 726-732, 1992.
  19. SHAW, C.R. & PRASAD, R. Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. *Biochemical Genetics* 4: 297-320, 1970.
  20. SHIELDS, C.R.; ORTON, T.J. & STUBER, C.W. An outline of general resource needs and procedures for the electrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. In: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (eds.). *Isozymes in plant genetics and breeding*. Amsterdam, Elsevier, 1983. v.1, p. 443-467.
  21. SMITH, L.B. & DOWNS, D.J. Solanáceas. In: REITZ, R. (ed.). *Flora ilustrada catarinense*. Itajaí, 1966. 321p.