



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ALINE FABIANA PALADINI MOREIRA

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO DE
CARACTERES AGRONÔMICOS EM *Capsicum chinense*
POR MEIO DE MARCADORES AFLP.**

Londrina
2017

ALINE FABIANA PALADINI MOREIRA

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO DE
CARACTERES AGRONÔMICOS EM *Capsicum chinense*
POR MEIO DE MARCADORES AFLP.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de mestre em Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Maurício Ruas

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Simões
Azeredo Gonçalves

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Moreira, Aline Fabiana Paladini.

Diversidade genética e análise de associação de caracteres agronômicos em *Capsicum chinense* por meio de marcadores AFLP. / Aline Fabiana Paladini Moreira. - Londrina, 2017.
87 f. : il.

Orientador: Paulo Maurício Ruas.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.
Inclui bibliografia.

1. Marcadores moleculares - Tese. 2. Melhoramento genético de plantas - Tese. 3. *Capsicum chinense* - Tese. I. Ruas, Paulo Maurício . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

ALINE FABIANA PALADINI MOREIRA

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO DE
CARACTERES AGRONÔMICOS EM *Capsicum chinense* POR MEIO
DE MARCADORES AFLP.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de mestre em Fitotecnia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Paulo Maurício Ruas
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Simões
Azeredo Gonçalves
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Maria Paula Barion Alves
Nunes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 23 de fevereiro de 2017.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela vida, por ter me concedido graça, sabedoria e força e por ter me permitido chegar até aqui.

À Universidade Estadual de Londrina, pela oportunidade concedida para a realização do curso de pós-graduação em nível de mestrado.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Maurício Ruas, pelo apoio, por todo conhecimento que me foi passado, pela paciência e amizade.

Ao Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves, pela coorientação, pelos ensinamentos, amizade, incentivo e por ter acreditado em mim.

Ao meu marido, Eurico Machado Moreira, que me apoiou e me ajudou durante todo o curso e me deu forças para seguir em frente e não desistir dos meus sonhos.

À toda minha família, em especial ao meu pai Sérgio Roberto Paladini e minha mãe Sônia Maria Paladini, por terem me apoiado e me ajudado desde quando decidi cursar agronomia.

A todos os meus amigos, que de forma direta ou indireta estiveram presentes no decorrer do mestrado.

À Viviane Yumi Baba e à Marli de Moraes Gomes, pela amizade, por toda ajuda e conhecimento transmitido.

A todas os colegas, estagiários e funcionários da UEL, especialmente ao Sr. BIÉ, que se fizeram presentes nesse período da minha vida.

A todos, meu muito obrigada!

MOREIRA, Aline Fabiana Paladini. **Diversidade genética e análise de associação de caracteres agronômicos em *Capsicum chinense* por meio de marcadores AFLP**. 2017. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

RESUMO

Capsicum chinense destaca-se pela enorme diversidade de tamanhos, coloração, formatos e níveis de pungência dos frutos. No Brasil é consumida na forma *in natura*, em conserva, como temperos e condimentos. Há uma crescente demanda por cultivares de pimenta de qualidade que associem resistência às pragas e doenças. Entretanto, o que define o sucesso de um programa de melhoramento é o conhecimento da variabilidade agronômica e genética. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi estudar a diversidade agronômica e molecular de 65 acessos de *C. chinense* e identificar marcadores AFLP associados com os caracteres agronômicos. Os acessos foram avaliados sob o delineamento experimental de blocos ao acaso, com duas repetições. A caracterização agronômica foi baseada em seis descritores (comprimento do fruto - CF, diâmetro do fruto - DF, espessura do pericarpo - EP, massa média do fruto - MMF, massa seca do fruto – MSF, e teor de sólidos solúveis - TSS). Foram estimados os parâmetros genéticos para cada característica e os acessos foram agrupados pelo método Ward com base na distância euclidiana média padronizada. Os acessos apresentaram grande variabilidade para todas as características agronômicas, sendo separados em três grupos pelo método Ward. Valores de baixa e alta magnitude para herdabilidade foram encontrados (0,31 a 0,90). Foram utilizadas quatro combinações de primers AFLP. A distância genética variou de 0,5 a 0,99 e a maioria dos genótipos ficaram concentrados nas classes de 0,6 --| 0,7 e de 0,7 --| 0,8, o que evidencia uma alta variabilidade genética entre os acessos. Dois grupos parcialmente concordantes foram identificados utilizando o agrupamento Hierárquico de Ward e o software Structure. A análise de associação utilizando o software Tassel mostrou que alguns marcadores foram associados com mais de uma característica agronômica. O modelo de associação baseado apenas na estrutura de população e *kinship*, restringiu o número de associações significativas, reduzindo a chance de ocorrência de falsos positivos.

Palavras-chave: Pimentas. Parâmetros genéticos. Marcadores moleculares. Estrutura de população. Modelos mistos.

MOREIRA, Aline Fabiana Paladini. **Genetic diversity and association analysis of the agronomic traits in *Capsicum chinense* by AFLP markers.** 2017. 87p. Dissertation (Master's Degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Parana State - Brazil. 2017.

ABSTRACT

Capsicum chinense is highlighted by the huge diversity of size, color, shape and fruit pungence. This species in Brazil is consumed in natura, seasoning and condiments. There is an increasing demand for high quality pepper cultivars that associate pest and disease resistances. However, what defines the success of a breeding program is the knowledge of the agronomic and genetic variabilities. Thus, the objective of this study was to study the agronomic and molecular diversity of 65 accessions of *C. chinense* and the identification of AFLP markers associated with the agronomic traits. The accessions were evaluated in randomized block design, with two replications. The agronomic characterization was based on six descriptors (fruit length - FL, fruit diameter - FD, pericarp thickness - PT, average fruit weight - AFW, fruit dry mass - FDM and total soluble solids - TSS). The genetic parameters for each characteristic were estimated and the accessions were grouped by Ward method based on the standardized average euclidean distance. The accessions showed high variability for all traits and were separated into three groups. Low and high magnitude values for heritability were found (0,31 to 0,90). Four AFLP primer combinations were used. The genetic distance varied from 0.5 to 0.99 and most genotypes were concentrated in classes from 0.6 --| 0.7 and from 0.7 --| 0.8, which showed high genetic variability among the accessions. Two groups partially concordants were identified using the Hierarchical clustering of Ward and the Structure software. Association analysis using Tassel software showed that some markers were associated with more than one agronomic characteristic. Then, the association Tassel model based on population structure and kinship restricted the number of significant associations, reducing the chance of occurrence of false positives.

Keywords: Peppers. Genetic parameters. Molecular markers. Population structure. Mixed models.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Cálice com apresentação de constrição anelar (direita) exclusiva da espécie *Capsicum chinense*15
- Figura 2** – Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre sete variáveis agronômicas de 65 acessos de *C. chinense*. CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; EP: espessura do pericarpo; MMF: massa média do fruto; MSF: massa seca do fruto; TMS: teor de massa seca; TSS: teor de sólidos solúveis 105
- Figura 3** – Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método Ward, a partir das características agronômicas (A) e moleculares (B) de 65 acessos de *C. chinense* 106
- Figura 4** – Distribuição da frequência da dissimilaridade baseada em marcadores AFLP entre os 65 acessos de *C. chinense*.....498
- Figura 5** – Estrutura populacional de 65 acessos de *Capsicum chinense*50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Modelos matemáticos utilizados em estudos de associação32
- Tabela 2** – Estimativa dos componentes de variância (REML) e parâmetros genéticos para sete características em 65 acessos de *Capsicum chinense*44
- Tabela 3** – Marcadores associados a caracteres agronômicos por quatro modelos estatísticos utilizando marcadores AFLP e fenotipagem realizada em 65 acessos de *C. chinense*53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	ORIGEM E ASPECTOS BOTÂNICOS DE <i>Capsicum</i>	12
2.1.1	<i>Capsicum chinense</i>	14
2.2	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E NUTRICIONAL DE <i>Capsicum</i>	16
2.3	MELHORAMENTO DE <i>Capsicum</i>	17
2.4	MARCADORES MOLECULARES	19
2.5	MAPEAMENTO GENÉTICO.....	22
2.5.1	Mapas Genéticos.....	22
2.5.2	Mapeamento de QTL's	25
2.6	MAPEAMENTO ASSOCIATIVO	27
2.7	DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO	28
2.8	ESTRUTURA DE POPULAÇÃO.....	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	MATERIAL GENÉTICO.....	33
3.1.1	Fenotipagem.....	33
3.1.2	Coleta, Extração de DNA e Genotipagem das Amostras	34
3.2	ANÁLISE DOS DADOS.....	37
3.2.1	Dados Agronômicos	37
3.2.2	Dados Genéticos	38
3.2.3	Análise de Associação.....	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA	41
4.2	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	47
5	CONCLUSÕES	55

REFERÊNCIAS	56
APÊNDICES	78
APÊNDICE A - Identificação dos 65 acessos de <i>Capsicum chinense</i> pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.....	79
APÊNDICE B - Fotos dos 65 acessos de <i>Capsicum chinense</i> pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.....	80
APÊNDICE C - Valores genotípicos preditos para sete características agrônômicas de 65 acessos de <i>C. chinense</i>	81
APÊNDICE D - Polimorfismo de AFLP de 10 acessos de <i>C. chinense</i> , gerado por quatro diferentes combinações de <i>primers</i> seletivos, em gel de poliacrilamida	83
APÊNDICE E - Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Comprimento do Fruto (CF).....	84
APÊNDICE F - Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Diâmetro do Fruto (DF).....	85
APÊNDICE G - Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Espessura do Pericarpo (EP)	86
APÊNDICE H - Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Massa Média do Fruto (MMF)	87
APÊNDICE I - Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando	

	quatro modelos matemáticos para a característica Massa Seca do Fruto (MSF)	88
APÊNDICE J -	Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Teor de Massa Seca (TMS)	89
APÊNDICE K -	Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Teor de Sólidos Solúveis (TSS)	90

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, ao qual pertence as pimentas e pimentões, é amplamente cultivado em todo mundo e compõe uma importante parte do mercado de hortaliças frescas do Brasil (DUTRA et al., 2010). As pimentas também desempenham papel significativo para a indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (YAMAMOTO; NAWATA, 2005). Atualmente existem 38 espécies descritas, entre as quais *C. annuum* var. *annuum* L., *C. baccatum* var. *pendulum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. e *C. pubescens* Ruiz et Pavon são consideradas domesticadas (DeWITT; BOSLAND, 2009; POZZOBON; SCHIFINO-WITTMANN; BIANCHETTI, 2006).

O Brasil é um importante centro de diversidade de *Capsicum* spp. sendo considerado o centro de domesticação da espécie *C. chinense* (MOSES; UMAHARAN, 2012). Essa espécie apresenta grande variabilidade de tamanhos, coloração, formatos e níveis de pungência dos frutos (LANNES et al., 2007). Engloba pimentas conhecidas como Pimenta de Cheiro, Habanero, Biquinho, Pimenta de Bode, Cumari do Pará e Murupi.

Devido à grande importância econômica e social de *Capsicum* spp., o conhecimento da variabilidade genética é fundamental para um programa de melhoramento, pois permite a identificação de genitores de uso potencial. Dentre as ferramentas utilizadas para conhecimento da variabilidade genética estão os marcadores moleculares. Para o gênero *Capsicum*, marcadores moleculares como RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (INCE; KARACA; ONUS, 2010; SIKORA; NOWACZYK, 2014), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (KRISHNAMURTHY et al., 2015; WAHYUNI et al., 2013), SSR (*Simple Sequence Repeats*) (MINAMIYAMA et al., 2007; CHENG et al., 2016), ISSR (*Inter Single Sequence Repeats*) (AHMED, 2013; PATEL et al., 2011) e SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (TARANTO et al., 2016) têm sido empregados para diferentes finalidades.

Além do estudo da diversidade genética, os marcadores moleculares são aplicados para construção de mapas de ligação (SEMAGN; BJONSTAD; NDJIONDJOP, 2006) e também para entender a herança de características poligênicas por meio da detecção dos locos responsáveis pela expressão desses

caracteres, que são denominados QTLs (*Quantitative Trait Loci*) (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

As pesquisas com diferentes espécies de *Capsicum* têm relatado QTLs relacionados a diversas características. Ben-Chaim et al. (2001) utilizaram marcadores RFLP, AFLP, RAPD e marcadores morfológicos e identificaram 55 QTLs relacionados a características de frutos, por meio do estudo da geração F₃ derivada do cruzamento entre dois genótipos de *Capsicum annum*. Brand et al. (2012) identificaram dois QTLs responsáveis pelo controle dos níveis de clorofila em pimenta. Lee et al. (2016) estudando uma população derivada do cruzamento de *Capsicum annum* “NB1” x *Capsicum chinense* “Bhut Jolokia” verificaram que os QTLs *qcap3.1* e *qcap6.1* são responsáveis pelo teor de capsaicina. Mongkolporn (2015) encontrou QTLs associados à resistência à antracnose em populações derivadas do cruzamento entre *C. annum* e *C. chinense* e do cruzamento interespecífico de *C. baccatum*.

A maioria dos mapeamentos de QTLs baseiam-se em populações obtidas a partir de cruzamentos controlados, o que demanda alto custo e possui baixa resolução na detecção de QTLs (FLINT-GARCIA; THORNSBERRY; BUCKLER, 2003). Entretanto, há um outro método que utiliza o histórico de desequilíbrio de ligação de uma espécie para relacionar fenótipos a genótipos, definido como mapeamento associativo (YU et al., 2008). Essa técnica é baseada no princípio que quanto menor o desequilíbrio de ligação da região do genoma avaliado, mais próximo se estará do loco gênico responsável pela variação.

No melhoramento de plantas o mapeamento associativo pode apresentar várias vantagens sobre a análise de ligação clássica, como a ampla variabilidade que pode ser incluída na população de origem, o que permite explorar a variabilidade genética encontrada em bancos de germoplasma. Um segundo fator seria a busca por locos gênicos simultâneos responsáveis por caracteres múltiplos sem a necessidade de desenvolver populações em permanente segregação (YU; BUCKLER, 2006).

O objetivo do presente trabalho foi estudar a diversidade agronômica e molecular de 65 acessos de *C. chinense* e identificar marcadores AFLP associados com os caracteres agronômicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ORIGEM E ASPECTOS BOTÂNICOS DE *Capsicum*

As pimentas pertencem ao gênero *Capsicum*, o qual tem origem na América do Sul e Central (DJIAN-CAPORALINO et al. 2007; NICOLAI et al., 2013). É um gênero com ampla variabilidade, sendo descritas 38 espécies, entre as quais apenas *C. annuum* var. *annuum* L., *C. baccatum* var. *pendulum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. e *C. pubescens* Ruiz et Pavon são domesticadas (DeWITT; BOSLAND, 2009; POZZOBON; SCHIFINO-WITTMANN; BIANCHETTI, 2006).

Pickersgill (2007) acredita que as espécies de *Capsicum* provavelmente foram domesticadas independentemente em pelo menos três regiões: *C. annuum* var. *annuum* e *C. frutescens* na Mesoamérica, *C. baccatum* var. *pendulum* e *C. pubescens* na região Andina, e *C. chinense* na região da planície tropical da América do Sul.

Moscone et al. (2007) consideram quatro centros de distribuição do gênero, sendo: (1) a região compreendida pelo sul dos Estados Unidos da América e México até o oeste da América do Sul; (2) região nordeste do Brasil e região costeira da Venezuela; (3) região costa leste do Brasil; e (4) região central da Bolívia, norte do Paraguai e centro da Argentina, sendo que o maior número de espécies está concentrado no Brasil. Fósseis encontrados em sítios arqueológicos mostraram que as pimentas juntamente com vestígios de outros alimentos datam de 6000-7500 anos antes de Cristo e são consideradas o primeiro tempero utilizado por humanos (BASU; DE, 2003; HILL et al., 2013; PERRY et al., 2007).

Baseadas nas características citogenéticas, morfológicas e de cruzabilidade, as espécies que compõem este gênero são distribuídas em três complexos gênicos. O complexo *C. annuum* reúne as espécies *C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens*; o complexo *C. baccatum* reúne *C. baccatum* var. *baccatum* (forma silvestre) e *C. baccatum* var. *pendulum* (forma cultivada); e o complexo *C. pubescens* reúne algumas espécies silvestres e apenas uma cultivada, a *C. pubescens* (INCE; KARACA; ONUS, 2010; MARTINS et al., 2010).

As espécies desse gênero pertencem à Divisão *Spermatophyta*, Filo *Angiospermae*, Classe *Dicotyledoneae*, Ordem *Solanales* e Família *Solanaceae*

(ANDREWS, 1995). As diferentes espécies e variedades de *Capsicum* são usualmente discriminadas com base nas características morfológicas de frutos, folhas e, principalmente, das flores (DIAS et al., 2013; MOREIRA et al., 2006).

As características das flores podem claramente diferenciar as espécies *C. baccatum* e *C. pubescens*, na qual a primeira apresenta corola branca e anteras amarelas, já a segunda tem corola púrpura e anteras púrpuras ou violetas. Porém, entre as espécies *C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens*, essa diferenciação se torna um pouco mais complicada, pois nas três a cor da corola varia de branco a amarelo esverdeado e as anteras de púrpura a violeta. O que as diferencia, ao nível de chaves taxonômicas, é o número de flores por nó e a constrição do cálice (GUERRA, 2001). As principais espécies domesticadas do gênero também podem ser identificadas pela posição da flor e do pedicelo, presença ou ausência de manchas nos lobos das pétalas e margem do cálice (CARVALHO; BIANCHETTI, 2004).

As pimentas podem ser anuais, bienais e perenes. Crescem predominantemente como arbustos perenes, embora várias espécies apresentem crescimento herbáceo bienal como *C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens*, sendo *C. parvifolium* uma das poucas espécies que se desenvolvem em árvores (MARTINS et al., 2010).

As pimentas do gênero *Capsicum* apresentam flores hermafroditas e reproduzem-se principalmente por autofecundação. Não obstante, a polinização cruzada também pode ocorrer entre indivíduos dentro da mesma espécie e entre espécies do gênero (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008), sendo proporcionada por alterações morfológicas na flor, pela ação de insetos polinizadores e por práticas de cultivo, tais como, adensamento ou cultivo misto (RIBEIRO; REIFSCHNEIDER, 2008). Estudos demonstraram que a polinização cruzada pode ocorrer em uma faixa de 2 a 90% (BOSLAND; VOTAVA, 1999; NASCIMENTO; DIAS; FREITAS, 2006) e Costa et al. (2008) afirmam que essa faixa varia de 0,5 a 70%. Nas espécies domesticadas, o estigma se encontra no mesmo nível das anteras aumentando a possibilidade de autopolinização, enquanto que nas espécies selvagens o estigma está acima das anteras, o que facilita a fecundação cruzada (CASALI; COUTO, 1984).

As espécies cultivadas de *Capsicum* são todas diploides, com $2n = 2x = 24$ cromossomos, sendo os cariótipos variáveis dependendo da espécie;

todavia, há um grupo de espécies silvestres diploides, com $2n = 2x = 26$ cromossomos (POZZOBON; SCHIFINO-WITTMANN; BIANCHETTI, 2006).

Uma característica intrínseca que diferencia o gênero *Capsicum* é a pungência devido à presença de alcaloides que se acumulam na superfície da placenta, local onde as sementes estão inseridas, denominados capsaicinóides. Entretanto, a concentração desses compostos varia nos frutos de espécies distintas e entre genótipos da mesma espécie (BOSLAND; VOTAVA, 1999). Logo, é possível encontrar frutos de *Capsicum* com diferentes níveis de pungência e outros não pungentes dentro de uma mesma espécie (LANNES, 2005).

2.1.1 *Capsicum chinense*

A espécie *C. chinense* engloba as pimentas conhecidas como Pimenta de Cheiro, Habanero, Biquinho, Pimenta de Bode, Cumari do Pará e Murupi. Essa espécie é amplamente difundida na América tropical, na qual, apresenta grande diversidade biológica (PICKERSGILL, 2007). Possui a região da Bacia Amazônica como seu centro de domesticação (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008; MOSES; UMAHARAN, 2012).

O nome *C. chinense*, foi designado pelo holandês Kikolaus von Jacquinomist, que surgiu de um equívoco, quando este considerava ser a espécie originária da China, mesmo que na época, já houvessem relatos de que esse não era o seu centro de origem (BOSLAND; VOTAVA, 1999).

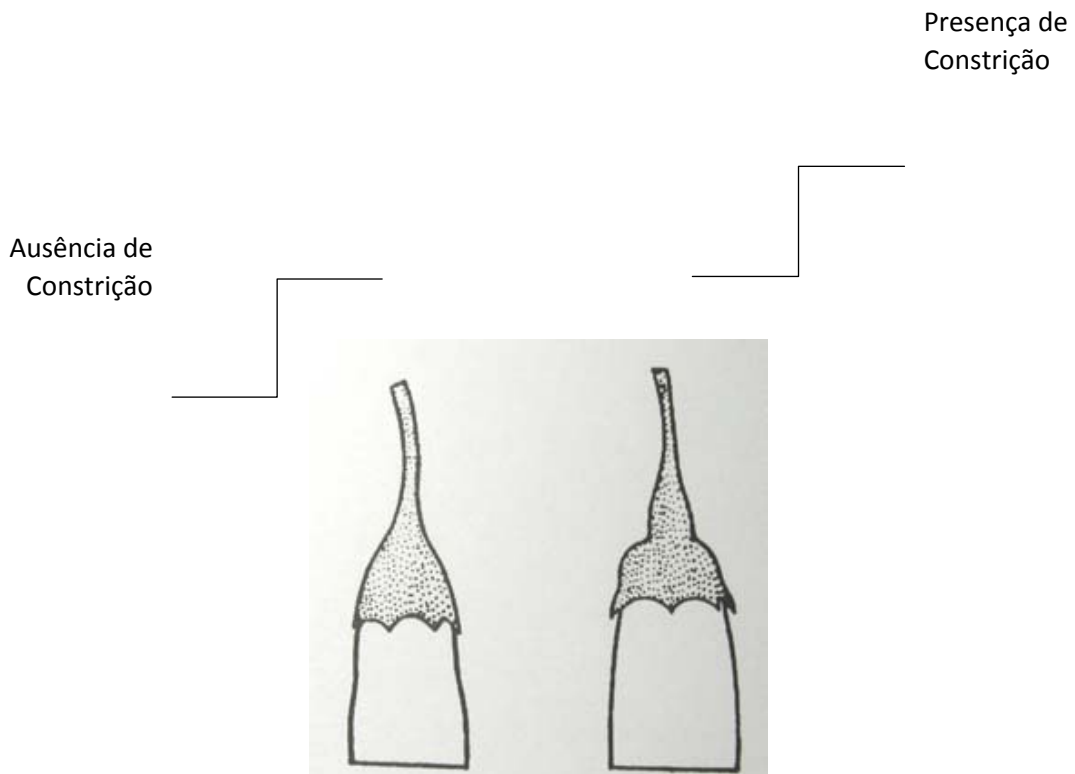
Tem grande importância devido a sua variabilidade fenotípica, principalmente nos frutos que possuem diferentes tamanhos, coloração, formatos e níveis de pungência. Adaptação às condições tropicais e maiores níveis de resistência às principais doenças tropicais também são características importantes dessa espécie (CARVALHO et al., 2006).

Segundo Smith e Heiser (1957), a espécie apresenta originalmente a seguinte descrição botânica: plantas com 45 a 76 cm de altura; folhas e ramos essencialmente glabros, raramente densos e com pequena pubescência, folhas ovadas a ovado-lanceoladas de 10,5 cm, largas, macias ou rugosas, de tonalidades verdes claras a escuro; as flores aparecem de três a cinco por nó, exceto em plantas depauperadas; o pedicelo é pendente, raramente ereto, relativamente curto e grosso na antese; cálice apresenta-se sem dentes com forte constrição na base; corola

verde-amarelada ou raramente esbranquiçada, medindo de 0,5 a 1,0 cm de comprimento; anteras azuis, púrpuras ou amareladas; os frutos variam de 1,0 a 12,0 cm de comprimento, com formas variadas, de esféricos a alongados, pouco ou muito enrugados, com coloração salmão, laranja, amarela, vermelha ou marrom; a margem da semente é sempre ondulada e raramente suave.

O que a diferencia das outras espécies é a presença de uma constrição anelar (Figura 1), localizada no cálice com a sua união com o pedicelo do fruto (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008; NUEZ-VINÁLS et al., 1998).

Figura 1 – Cálice com apresentação de constrição anelar (direita) exclusiva da espécie *Capsicum chinense*.



Fonte: LUZ (2007)

Seus frutos podem ser suaves, doces e aromáticos ou até mesmo extremamente picantes (RIBEIRO et al., 2008). Uma de suas representantes, a 'Bhut Jolokia' é considerada como uma das pimentas mais picantes do mundo com mais de 1.000.000 unidades Scoville (DeWITT; BOSLAND, 2009), que é uma medida desenvolvida pelo farmacologista Wilbur L. Scoville, que classifica as pimentas de acordo com sua pungência (REIFSCHNEIDER, 2000).

2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E NUTRICIONAL DE *Capsicum*

As espécies de *Capsicum* se destacam por englobarem uma das culturas mais importantes mundialmente como condimento (DeWITT; BOSLAND, 2009). No mundo, cerca de 89% de toda a área cultivada está localizado no continente asiático. A segunda região mais importante no cultivo de pimentas compreende os Estados Unidos e o México, com cerca de 7% do total mundial. (PINTO et al., 2010; RUFINO; PENTEADO, 2006).

Segundo dados da FAOSTAT (2014), a produção mundial de pimentas no ano de 2014 ultrapassou 36 bilhões de toneladas, sendo China, México, Turquia, Indonésia e Índia os países que concentraram mais de 68% de toda produção. Não se tem uma estimativa exata da produção no Brasil em razão de grande parte ser cultivada por pequenos agricultores de diversas regiões brasileiras, mas acredita-se que a área cultivada anualmente chega próximo de cinco mil hectares, com uma produção de 75 mil toneladas (RIBEIRO et al., 2011).

No Brasil as pimentas do gênero *Capsicum* recebem destaque no mercado de hortaliças frescas e no segmento de condimentos, temperos e conservas (BIANCHETTI; CARVALHO, 2005; DUTRA et al., 2010), além de servirem de matéria-prima para as indústrias farmacêutica e cosmética (YAMAMOTO; NAWATA, 2005). Também são utilizadas como plantas ornamentais, por possuírem caracteres que conferem valor estético, como folhagem variegada, pequeno porte e frutos de coloração intensa que contrastam com a folhagem (CARVALHO et al., 2006).

Os estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul são os principais produtores, com uma produtividade de 10 ton ha⁻¹ a 30 ton ha⁻¹, dependendo do tipo de pimenta (MADAIL et al., 2005; REIFSCHNEIDER; RIBEIRO, 2008; RUFINO; PENTEADO, 2006).

As pimentas têm grande importância socioeconômica, pois seu cultivo contribui para o aumento da renda nas pequenas propriedades e para a fixação de trabalhadores na área rural, já que demanda grande mão-de-obra para a colheita (SUDRÉ et al., 2010).

Quanto ao aspecto nutricional, os frutos das pimentas são ricos em carotenóides, flavonóides, fenóis, ácido ascórbico e capsaicina (ZAKI et al., 2013).

Também possuem altos níveis de vitamina C e são ótimas fontes de vitaminas A, B, E e K (DJIAN-CAPORALINO et al., 2007).

Segundo Leung (2008), a capsaicina em ação conjunta com o β -caroteno e as vitaminas A e C atuam na diminuição do nível de gordura no sangue, possuem ação expectorante ajudando a descongestionar vias respiratórias (XU et al., 2005), ação anti-inflamatória e antioxidante (TEWKSBURY et al., 2008).

Os frutos desse gênero contêm baixos teores de sódio e colesterol e estimulam o sistema urinário (MATERSKA; PERUCKA, 2005; SUN et al., 2007), possuem também proteínas, glicídios, lipídios, minerais, água e pequena taxa de matéria seca (BOSLAND; VOTAVA, 2003). O consumo regular de pimenta também influencia a liberação de endorfinas, mediadores químicos responsáveis pelo bem-estar e pela variação do bom humor, além de reduzir o apetite e a ingestão de calorias (ADAMS, 2007).

2.3 MELHORAMENTO DE *Capsicum*

O melhoramento genético de pimentas iniciou-se com os primeiros agricultores que, ao selecionarem e preservarem alguns tipos de pimentas que se mostravam mais atrativas e interessantes, involuntariamente praticaram o melhoramento por seleção em massa, conhecido como seleção massal (REIFSCHNEIDER, 2000). Os programas de melhoramento têm explorado a diversidade genética de *Capsicum*, principalmente das espécies *C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum* e *C. frutescens* (WAGNER, 2003).

Há uma crescente demanda por cultivares que associem resistência às pragas e doenças, além de qualidade e produtividade, principalmente para atender o processamento industrial (BENTO et al., 2007). Características desejáveis, como, firmeza, uniformidade da maturação, sólidos solúveis e vitamina C (LANNES et al., 2007), presentes em *C. chinense*, despertam interesse de incluir essa espécie em programas de melhoramento da espécie mais cultivada do gênero *Capsicum*, a *C. annuum*.

Segundo Carvalho et al. (2006) o desenvolvimento de cultivares ricas em compostos funcionais (alimentos que beneficiam uma ou mais funções orgânicas, além da nutrição básica) tem se consolidado como um dos principais focos dos programas de melhoramento genético de hortaliças.

Os autores Moreira et al. (2006), Rêgo et al. (2011) e Ribeiro e Reifschneider (2008), destacam que os principais métodos de melhoramento utilizados no desenvolvimento de cultivares de pimenta são: Método Genealógico ou *Pedigree*, que se baseia na seleção individual de plantas superiores, sendo mantido um registro de todas as relações entre os genitores e as respectivas progênes. A seleção é iniciada na geração F₂, na qual, segundo o julgamento do melhorista, são escolhidos os indivíduos que deverão dar as melhores progênes; Método dos Descendentes de Uma Única Semente - SSD (*Single Seed Descent*) em que as gerações são avançadas a partir da F₂ tomando-se uma única semente de cada indivíduo em cada geração, até se chegar a um nível satisfatório de uniformidade; Retrocruzamento, que envolve o cruzamento de uma cultivar selecionada com um genitor que apresenta uma ou poucas características de grande interesse e o cruzamento da geração filial com o progenitor recorrente; Retrocruzamento de Linhagens - IBLS (*Inbred Backcross Line System*), que é uma mistura dos métodos de Retrocruzamento e SSD.

Em várias partes do mundo programas de melhoramento de pimentas e pimentões têm sido realizados. A *New México State University* desenvolve programas que visam o melhoramento para resistência a doenças e teor de pungência (COON, 2004). A *Texas A & M University* busca desenvolver linhagens com maiores teores de carotenoides, de ácido ascórbico e flavonoides (CROSBY et al., 2004).

Os programas nacionais de melhoramento de pimentas são restritos, principalmente em função do pouco interesse das companhias em comercializar sementes de pimenta. Apesar do crescente interesse no cultivo pimentas, este ainda é feito por pequenos produtores que produzem suas próprias sementes ou compram frutos maduros em mercados e feiras e deles extraem as sementes que serão utilizadas para plantio (MOREIRA et al., 2006).

Os programas de melhoramento de *Capsicum* desenvolvidos no Brasil são conduzidos por empresas públicas e também por universidades, as quais trabalham na coleta e caracterização da variabilidade genética das espécies. Destacam-se a: Embrapa Hortaliças (CARVALHO; BIANCHETTI; HENZ, 2003; NASCIMENTO FILHO; BARBOSA; LUZ, 2007; VILELA; RIBEIRO; MADAIL, 2008); Universidade Federal de Viçosa (PEREIRA, FINGER; CASALI, 2008; RÊGO et al., 2003; SEGATTO, 2007; VIDIGAL, 2008); Universidade Estadual do Norte

Fluminense-Darcy Ribeiro (COSTA et al., 2006; SOUZA, 2008; SUDRÉ et al., 2006) e Universidade Federal de Lavras (CAIXETA, 2009; GOMIDE; MALUF; GOMES, 2003; NASCIMENTO et al., 2004; SOUSA; MALUF, 2003).

Entre as cultivares lançadas nos últimos anos estão duas de *C. annuum*, a BRS Sarakura (pimenta do tipo jalapeño vermelha) e a BRS Garça (pimenta do tipo jalapeño vermelha); uma *C. baccatum*, BRS Mari (pimenta do tipo dedo-de-moça) e quatro *C. chinense*, a BRS Moema (pimenta do tipo biquinho), BRS Seriema (pimenta do tipo bode), BRS Juruti e BRS Nandaia (pimentas do tipo habanero); todas lançadas pela EMBRAPA (CARVALHO; BIANCHETTI; REIFSCHNEIDER, 2009; RIBEIRO et al., 2015).

2.4 MARCADORES MOLECULARES

Para se obter sucesso em um programa de melhoramento é necessário o conhecimento da quantidade de variação pertencente à espécie de interesse. Com o avanço da genética molecular, diversas técnicas têm sido utilizadas em estudos de diversidade genética, gerando informações importantes para apoiar diferentes ações de pesquisa, desde a coleta até o uso dos recursos genéticos em programas de melhoramento (FALEIRO, 2007).

Para avaliação da diversidade genética e construção de mapas de ligação, a caracterização molecular é muito útil, pois os marcadores moleculares permitem a detecção de polimorfismo de sequência de DNA entre acessos de uma coleção de germoplasma. O sítio do genoma estudado também pode ser utilizado em diferentes estudos genéticos como o mapeamento e isolamento de genes (FERREIRA; MORETZSOHN; BUSO, 2007).

Culturas de interesse econômico, incluindo as do gênero *Capsicum*, contam com o advento dos marcadores moleculares ligados a genes de importância econômica (BEN-CHAIM et al., 2006; DJIAN-CAPORALINO et al., 2001; HUH et al., 2001; LEFEBVRE et al., 2001), visando à transferência e piramidação de genes para variedades cultivadas.

São também utilizados para distinguir as espécies de *Capsicum*, (BARAL; BOSLAND, 2004; TOQUICA et al., 2003), resolver incertezas relacionadas a taxonomia (RODRIGUEZ et al., 1999; TOQUICA et al., 2003), e avaliar a diversidade genética em coleções de germoplasma (BARAL; BOSLAND, 2002;

BUSO et al., 2003; HERNANDEZ-VERDUGO; LUNA-REYES; OYAMA, 2001; LANTERI et al., 2003; VOTAVA; BARAL; BOSLAND, 2005).

A espécie *C. chinense* possui grande variabilidade, sendo assim, estudos de caracterização molecular e citogenética são de fundamental importância, por revelarem informações significativas tanto para o melhoramento genético quanto para estudos citotaxonômicos (PICKERSGILL, 2007).

Os principais tipos de marcadores moleculares utilizados são Microssatélite (ou SSR - *Simple Sequence Repeats*), ISSR (Inter Single Sequence Repeats), SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). A diferença entre os tipos de marcadores moleculares está na tecnologia utilizada para revelar a variabilidade ao nível de DNA, assim variam de acordo com a habilidade de detectar diferenças entre os indivíduos, custos, facilidade de uso, consistência e repetibilidade (BORÉM; CAIXETA, 2009).

Os marcadores moleculares podem ser dominantes, isto é, detectam a presença ou ausência do segmento amplificado, assim não são capazes de distinguir os indivíduos heterozigotos dos homozigotos (BARDAKCI, 2001). Neste caso, o genótipo homozigoto recessivo é identificado pela ausência da banda no gel e os genótipos homozigoto dominante e heterozigoto são alocados na mesma classe fenotípica, ou seja, a presença da banda no gel. Ou podem ser codominantes, o que significa que em cada loco estudado é possível identificar genótipos heterozigotos e homozigotos, trazendo mais informações a nível genético. (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores microssatélites ou SSRs (*Simple sequence repeats*) foram desenvolvidos por Hamada, Petrino e Kakunaga (1982). Destacam-se devido à herança codominante, possibilitam uma boa cobertura do genoma de qualquer eucarioto por serem amplamente distribuídos e frequentes no genoma, mostrando grande diversidade genética, além de apresentar alta reprodutibilidade (AGARWAL; SHRIVASTAVA; PADH, 2008; KALIA et al., 2011).

Os marcadores SSR são baseados em PCR e constam de sequências curtas compostas de um a seis nucleotídeos, que podem estar repetidas em *tandem* e diferem quanto à composição dos nucleotídeos. Geralmente, no genoma de plantas, as sequências repetidas de di-nucleotídeo, tri-nucleotídeo, tetra-nucleotídeos estão mais amplamente distribuídas. O número dessas repetições varia entre os indivíduos e são responsáveis pelo polimorfismo gerado. Enquanto o

número de repetições é variável, as sequências que flanqueiam o microsatélite são conservadas, sendo utilizadas para o ancoramento dos iniciadores e à amplificação do loco (JIANG, 2013).

Esses marcadores são utilizados em diversos campos do estudo genético de espécies cultivadas e silvestres, pois fornecem informações importantes para a construção de mapas de ligação (OLIVEIRA et al., 2006), para avaliação do germoplasma de populações melhoradas e servem para estimar a similaridade ou diversidade genética (LACAPE; DESSAUW; RAJAB, 2007).

Os marcadores ISSR (*Inter Single Sequence Repeats*) são marcadores dominantes e são baseados na técnica de amplificação de DNA por PCR, utilizando um único *primer* composto de uma sequência de microsatélite, ancorado na região 3' ou 5' por dois nucleotídeos arbitrários (GONZALEZ et al., 2005).

São utilizados para inferências filogenéticas (DOGAN; DURAN; HAKKI, 2007), avaliação da diversidade genética (AGUILERA et al., 2011), estudos de complexos de espécies (MICHELAN et al., 2012), entre outros. Ahmed (2013) descreve que, além desses marcadores serem amplamente utilizados para caracterização e discriminação dos acessos, atuam também como excelentes ferramentas para o mapeamento genético.

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) ou seja, polimorfismo de base individual é uma pequena mudança ou variação genética que ocorre dentro da sequência de DNA. A maioria dos polimorfismos ocorrem na forma bialélica, pois a probabilidade de alteração de duas bases independentes, presentes em uma mesma posição, é baixa. Porém, polimorfismos do tipo inserções, deleções, tri- ou tetra-alélicos são também denominados SNPs, quando encontrados em pelo menos 1% da população (LIAO; LEE, 2010)

Os SNPs são marcadores codominantes e podem ser classificados de acordo com a substituição de nucleotídeos, transições (C / T ou G / A) ou transversões (C / G, A / T, C / A ou T / G). As transições C / T constituem 67% dos SNPs observados em seres humanos e praticamente a mesma taxa, também foi encontrada em plantas (EDWARDS et al., 2007).

O AFLP baseia-se no corte do DNA do organismo por enzimas de restrição sem conhecimento prévio do genoma desse organismo (BONIN; EHRICH; MANEL, 2007; LOPES et al., 2003). Consiste de três etapas principais: digestão do

DNA genômico com enzimas de restrição, ligação de adaptadores específicos aos fragmentos digeridos e amplificação via PCR utilizando *primers* específicos que reconhecem as sequências nos adaptadores. A análise dos fragmentos amplificados é feita em gel de alta resolução, ou por meio da eletroforese capilar (VOS et al., 1995).

São marcadores dominantes, evidenciam a presença ou ausência de bandas, que correspondem aos sítios referentes às enzimas de restrição utilizadas. O polimorfismo detectado por esses marcadores equivale a mudanças dos nucleotídeos localizados nos sítios das enzimas e nas regiões flanqueadoras, correspondentes a região na qual o adaptador irá se ligar (BENSCH; AKESSON, 2005).

Marcadores AFLP são considerados como a classe de marcadores que tem o maior poder de detecção de variabilidade genética, posto que exploram polimorfismo de restrição e de amplificação, o que os tornam uma ferramenta valiosa pela geração de grande número de locos polimórficos e de grande reprodutibilidade (RODRIGUES; COSTA, 2011).

Para estudos com *Capsicum* esses marcadores são frequentemente utilizados com diversos objetivos, Castañón-Najera et al. (2011) utilizaram marcadores AFLP para explorar heteroses em *Capsicum*; Baba et al. (2016) estudaram a diversidade genética de 71 acessos de *Capsicum chinense*; Gaikwad, Arckak e Gautam (2013) aplicaram alguns marcadores, entre eles o AFLP, para obtenção de DNA *fingerprint* e diversidade genética em 30 cultivares de *Capsicum L.*

2.5 MAPEAMENTO GENÉTICO

2.5.1 Mapas Genéticos

Dentre as várias aplicações dos marcadores moleculares, destacam-se estudos de diversidade genética (LANZA et al., 1997; WADT; EHRINGHAUS; KAGEYAMA, 2004; WOUW et al., 2010), construção de mapas de ligação (SEMAGN; BJONSTAD; NDJIONDJOP, 2006), estudos sobre a base genética de um determinado caráter quantitativo (MING et al., 2002), detecção de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) relacionados a caracteres de interesse agrônomico (KATO, 2004; KING et al., 2000; LU et al., 1997), mapeamento de QTLs (MACKAY, 2001) e

seleção assistida por marcadores (DEKKERS; HOSPITAL, 2002). Por meio desses estudos é possível obter informações detalhadas a respeito da organização genômica, além de que contribuem marcadamente para a compreensão da arquitetura genética de diversos caracteres em várias espécies vegetais (SCHLÖTTERER, 2004).

Em particular, os mapas de ligação servem tanto para estudos de cunho teórico quanto para o uso no melhoramento genético de plantas, sendo considerados uma das aplicações de maior impacto da tecnologia de marcadores moleculares (CARNEIRO; VIEIRA, 2002). Alguns procedimentos com base em mapas genéticos se tornaram ferramentas importantes a serem consideradas em programas de melhoramento das mais variadas espécies vegetais, como os estudos de sintenia, clonagem de genes, localização e mapeamento de QTLs (LEE, 1995; SHIRASAWA et al., 2012).

Os estudos de sintenia se tratam da localização dos genes em posições equivalentes e colaboram para o entendimento sobre a evolução dos genomas, o que permite a comparação entre os genomas das diferentes espécies (CARNEIRO; VIEIRA, 2002). Os marcadores estreitamente ligados a genes de interesse também podem servir para seu isolamento e clonagem com base no seu posicionamento no mapa (CARLIER, 2006). E uma das mais importantes utilidades dos mapas genéticos é o mapeamento de QTLs, pois a partir dele é possível estudar a base genética dos caracteres complexos (BHERING; CRUZ, 2008).

O desenvolvimento da metodologia para construção de mapas de ligação advém do início do século passado. Logo após a redescoberta do trabalho de Mendel (1866), inúmeras pesquisas foram desenvolvidas a fim de se obter conclusões sobre os mecanismos de herança de diversos caracteres de várias espécies.

Em 1902, W. Bateson, E.R. Saunders e R.C. Punnet demonstraram, em ervilha-doce, que as segregações dos caracteres cor da flor e formato do pólen não ocorriam de forma independente (LANDER; WEINBERG, 2000). No entanto, o primeiro trabalho a demonstrar que os genes estão localizados em posições definidas nos cromossomos e que podem ser manipulados e avaliados experimentalmente foi o estudo de um gene mutante ligado ao sexo, para a cor dos olhos em *Drosophila melanogaster*, publicado por MORGAN (1910), onde também sugeriu que alguns genes estariam situados no mesmo cromossomo e que durante

a meiose, ocasionalmente, ocorreriam, entre os homólogos, *crossing-over* ou permuta.

Em seguida, Sturtevant (1913) sugeriu que se poderia utilizar a porcentagem de indivíduos recombinantes, ou seja, com fenótipos diferentes dos pais, como uma medida da fração de recombinação entre os genes sob estudo e desenvolveu então o primeiro mapa genético, no qual determinou a posição e a ordem de seis genes em *D. melanogaster*.

A construção dos primeiros mapas genéticos foi baseada em marcadores morfológicos e citológicos, mapas mais completos só eram possíveis para espécies que eram geneticamente muito estudadas, como o milho (CARNEIRO; VIEIRA, 2002). Na década de 80, com o surgimento dos marcadores de DNA, a construção de mapas genéticos tornou-se relativamente fácil e ilimitada para todas as espécies. (CARNEIRO; VIEIRA, 2002; PEREIRA; PEREIRA, 2006).

Mapas genéticos de *Capsicum* foram construídos utilizando populações obtidas por cruzamentos intra e interespecíficos. O primeiro mapa de ligação de *Capsicum* foi construído através de poucos marcadores, usando uma população interespecífica de *C. annuum* cv. NuMex RNaky e *C. chinense* PI 159234, para mapear genes que codificam enzimas (TANKSLEY, 1984).

A partir de então, foram construídos vários mapas derivados do cruzamento de populações intraespecíficas de *C. annuum*. Blum et al. (2002) a partir de um cruzamento entre *C. annuum* (não pungente) e *C. frutescens* (pungente), utilizando marcadores RFLP, mapearam o gene C, responsável pela produção de capsaicina.

Rao et al. (2003) utilizaram uma população derivada do cruzamento de *C. frutescens* BG2816 com *C. annuum* cv. Maor para estudar caracteres relativos à produção. Uma integração de seis mapas distintos de *Capsicum* contendo 2262 marcas obtidas por RAPD, RFLP e AFLP foi publicado por Paran et al. (2004).

Lee et al. (2011) construíram um mapa a partir de uma população F2 constituída por 93 plantas, derivada do cruzamento entre *C. chinense* "Habanero" e *C. annuum* "F68" e detectaram um QTL responsável por explicar 27% da característica comprimento do fruto.

2.5.2 Mapeamento de QTL's

Grande parte dos caracteres de importância agrônômica, visados em programas de melhoramento, são determinados por vários locos, apresentando variação contínua e sendo influenciados pelo ambiente. Esses, enfim, são denominados caracteres quantitativos. Em plantas cultivadas, estima-se que aproximadamente 98% das características fenotípicas de importância econômica sejam quantitativas (WIPO, 2001).

Os locos gênicos que afetam um caráter quantitativo são denominados QTLs (*Quantitative Trait Loci*) e podem ser definidos como associações entre dados relativos a uma região genômica e a variabilidade fenotípica existente entre populações segregantes (COLLARD et al., 2005).

Os conhecimentos sobre os QTLs foram ampliados a partir do surgimento dos marcadores moleculares, pois por meio das informações geradas por eles é possível mapear individualmente os QTLs, o que é fundamental para o entendimento da herança dos caracteres poligênicos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

O mapeamento genético é definido por um conjunto de procedimentos experimentais e estatísticos que buscam fazer inferências sobre a relação entre os valores fenotípicos de caracteres quantitativos e os QTLs no genoma, também possibilita estimar os efeitos genéticos (aditividade, dominância, epistasia e pleiotropia) e localizações genômicas correspondentes (GRIFFITHS, 2000). Sendo assim, é possível aumentar a eficiência dos programas de melhoramento (GAZAFFI et al., 2010).

Dentre os métodos de mapeamento clássicos, destacam-se a análise de marcas simples, o mapeamento por intervalo, o mapeamento por intervalo composto e o mapeamento de múltiplos intervalos (COLLARD et al., 2005). O método de análise de marcas simples geralmente utiliza algum modelo, enquanto que os demais empregam a máxima verossimilhança, baseados na informação da distribuição conjunta dos marcadores e QTL's (LIU, 1998).

A eficiência do mapeamento de QTL depende do método de mapeamento adotado, do tipo de população de mapeamento e da saturação do mapa de ligação, além do tamanho da população e da herdabilidade do caráter a ser investigado (MACHAY, 2001). Quanto maior o efeito, o tamanho da população e a

herdabilidade e mais próximo o marcador do QTL, mais fácil será esta detecção (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Outro ponto a se considerar é que os caracteres quantitativos são também influenciados pelo ambiente e tendem a mostrar distintos graus de interação entre genótipo e ambiente (G x E). Essa interação reduz a associação entre os valores fenotípicos e genotípicos e gera distintos níveis de significância do efeito de um QTL em diferentes ambientes (VIEIRA et al., 2006).

Segundo El-Soda et al. (2014), a base genética da interação G x E e da interação QTL x E origina-se da expressão diferencial dos genes ao longo dos ambientes e pode ocorrer de três maneiras: 1) um QTL pode afetar o mesmo caráter em ambientes diferentes, porém com efeitos significativamente diferentes entre os ambientes; 2) um QTL pode se expressar em um ambiente e não em outro, o que faz com que ele seja detectado de forma inconsistente entre os diferentes ambientes e 3) um QTL pode se expressar de forma muito diferente em certos ambientes e apresentar efeito oposto em outros.

Assim, os delineamentos experimentais devem envolver a medição e genotipagem, com marcadores moleculares, de um grande número de indivíduos ou famílias para permitir a precisão necessária à identificação do QTL (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996).

Em *Capsicum* spp., a maioria dos estudos de QTLs tem foco em características comerciais, tais como características do fruto e produtividade (ALIMI et al., 2013; BARCHI et al., 2009; LEE et al., 2011; ZYGIER et al., 2005) e também estudos relacionados com a identificação de QTLs associados com resistência a doenças (KIM et al., 2011; MIMURA et al., 2009).

Ben-Chaim et al. (2001) utilizaram marcadores RFLP, AFLP, RAPD e marcadores morfológicos para avaliar QTLs relacionados a características de frutos em *Capsicum*, por meio do estudo da geração F₃ derivada do cruzamento entre dois genótipos de *Capsicum annum*. Um total de 55 QTLs foram identificados e vários deles mostraram alta correlação genética, tais como diâmetro e peso do fruto, espessura do pericarpo e diâmetro do pedicelo.

Com relação a outras características, Brand et al. (2012), por exemplo, mostraram que *pc8.1* e *pc10.1* são os QTLs responsáveis pelo controle dos níveis de clorofila em pimenta. Lee et al. (2016) estudando uma população derivada do cruzamento de *Capsicum annum* "NB1" x *Capsicum chinense* "Bhut

Jolokia” identificaram dois QTLs (*qcap3.1* e *qcap6.1*) responsáveis pelo teor de capsaicina.

2.6 MAPEAMENTO ASSOCIATIVO

O mapeamento associativo é uma abordagem analítica utilizada na busca de QTLs com caracteres de interesse (ZIEMS et al., 2014), onde avalia o desequilíbrio de ligação (DL) entre polimorfismo de DNA e os locos e alelos responsáveis por essas características (SIGRIST, 2012).

É um método de mapeamento de QTLs que utiliza o histórico de desequilíbrio de ligação de uma espécie para relacionar fenótipos a genótipos (YU et al., 2008). Por consequência, neste tipo de estudo há uma maior resolução do mapeamento, aumentando a precisão na localização dos QTL's.

Foi inicialmente proposto para mapear regiões genômicas relacionadas com importantes doenças humanas, sendo posteriormente empregado para o mapeamento de genes de interesse agrícola (GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005; PRITCHARD; PRZEWORSKI, 2001). Em plantas, um dos primeiros trabalhos teve como objetivo testar a associação do gene candidato *dwarf8* com tempo de florescimento em 92 linhagens de milho (HUANG; AITKEN; GEORGE, 2010).

Se divide em duas metodologias, o mapeamento a partir de genes candidatos e mapeamento em todo o genoma. No mapeamento por gene candidato a genotipagem é feita em regiões específicas do genoma que contenham os genes de interesse (GEBHARDT, 2007), é uma alternativa quando o desequilíbrio de ligação decresce mais rapidamente ou em culturas com informação genômica limitada (SAÏDOU et al., 2014). Já o mapeamento em todo o genoma busca associações entre os marcadores e a característica de interesse em todo o genoma e todos os genes são avaliados simultaneamente. Sendo assim, necessita de uma maior cobertura de marcadores e maior desequilíbrio de ligação (ZHU et al., 2008)

No melhoramento de plantas o mapeamento associativo pode ter várias vantagens sobre a análise de ligação clássica. Um dos fatores a se considerar é a ampla variabilidade genética que pode ser incluída na população de origem, permitindo explorar a variabilidade genética encontrada em bancos de germoplasma. Um segundo fator seria a busca por locos gênicos simultâneos

responsáveis por caracteres múltiplos sem a necessidade de desenvolver populações em permanente segregação (YU; BUCKLER, 2006).

Vários trabalhos com foco em desequilíbrio de ligação e mapeamento associativo têm sido publicados. Como por exemplo, o milho (*Zea mays* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e batata (*Solanum tuberosum* L.) (ZHU et al., 2008).

Nimmakayala et al. (2013), por meio de marcadores SSR, desenvolveram uma pesquisa para analisar o desequilíbrio de ligação e seu uso no mapeamento associativo de germoplasma de *Capsicum annum* e identificaram oito marcadores provenientes de sete cromossomos diferentes significativamente associados com o peso do fruto, contribuindo com um efeito médio de 15%.

2.7 DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO

Para análise do mapeamento associativo, o estudo do desequilíbrio de ligação (DL) ao longo do genoma é de extrema importância. O DL pode ser definido como uma associação não-aleatória, ou preferencial, de alelos de diferentes locos em uma população (FLINT-GARCIA; THORNSBERRY; BUCKLER, 2003; HEDRICK, 2010). Conforme a lei de equilíbrio de Hardy-Weinberg, o desequilíbrio de ligação é definido como qualquer desvio nas frequências alélicas esperadas sob cruzamentos ao acaso (SILVA, 2001). Esse conceito pode ser estendido às associações não aleatórias que ocorrem entre dois marcadores moleculares, entre dois genes, entre dois QTLs ou entre um gene (ou QTL) e um loco marcador (GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005).

Na detecção de QTLs por meio de marcadores genéticos é importante que a população estudada esteja em desequilíbrio de ligação, para verificar se há ligação genética entre marcadores e QTLs. Caso isso não ocorra, os alelos dos locos marcadores e dos poligenes terão combinações aleatórias, equivalentes a distribuição independente, e os poligenes não serão detectados. Tanksley (1993) comenta que, devido essa razão, é necessária a geração de populações especiais, como retrocruzamentos, F₂, F₃ e linhagens recombinantes.

Várias estatísticas têm sido propostas para medir o DL, sendo as mais importantes D' e r^2 . A estatística D' serve para estimar a ocorrência de recombinação entre pares de alelos e é dada pela fórmula:

$$|D'| = \frac{(D)^2}{\min(p_A p_b \cdot p_a p_B)} \text{ se } D > 0$$

$$|D'| = \frac{(D)^2}{\min(p_A p_B \cdot p_a p_b)} \text{ se } D < 0$$

A medida D é a diferença entre a frequência de haplótipos observados e esperados com base na frequência de alelos (ZHU et al., 2008; ARDLIE; KRUGLYAK; SEIELSTAD, 2002). Então D é dado pela fórmula:

$$D = p_{AB} - p_A p_B$$

onde p_{AB} é a frequência de gametas AB; p_A e p_B são a frequência esperada do alelo A e B separadamente (ARDLIE; KRUGLYAK; SEIELSTAD, 2002; ZHU et al., 2008)

A medida r^2 é dada pela fórmula:

$$r^2 = \frac{D^2}{p_A p_a p_B p_b}$$

A estatística r^2 é o mesmo que o valor ao quadrado do coeficiente de correlação de Pearson, é o teste estatístico de Pearson em uma tabela 2x2 de contagem de haplótipos e tem uma expectativa de $1 / (1 + 4NC)$, onde N é o tamanho efetivo da população e C é a taxa de recombinação em Morgan (HILL; ROBERTSON, 1968). O valor máximo que r^2 pode atingir é fortemente determinado pelas frequências alélicas nos dois locos (WRAY, 2005).

D' e r^2 variam de 0 a 1. Valores de desequilíbrio de ligação próximos de zero indicam equilíbrio ou independência entre os alelos de diferentes genes, e valores próximos de um indicam desequilíbrio ou ligação entre alelos de diferentes genes (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 2006; RESENDE et al., 2008).

Geralmente, o desequilíbrio de ligação ocorre de forma aleatória no genoma e depende da espécie e da população estudada (ORAGUZIE et al., 2007; ROSA, 2011). Sendo assim, o estudo da extensão do desequilíbrio é muito

importante, devido a possibilidade de determinar a resolução de mapeamento e o número de marcadores necessários para identificar os QTLs (ZHU et al., 2008; ROSA, 2011). Após avaliar o grau de DL da população, realiza-se a associação propriamente dita entre marcadores e fenótipo por meio de testes de associação.

2.8 ESTRUTURA DE POPULAÇÃO

Alguns fatores como, tamanho populacional; estrutura de população; endogamia; sistema reprodutivo; inversão e conversão de genes; entre outros, podem afetar o desequilíbrio de ligação de uma população (HARTL; CLARK, 2007; SLATKIN, 2008; HEDRICK, 2010). A ação desses fatores promove o surgimento de DL tanto entre locos não ligados quanto ligados, os quais permanecem em associação preferencial mesmo após muitas gerações (ROSA, 2011).

Em nível genético, a estrutura populacional pode ser definida pela frequência dos alelos que compõem os diferentes genótipos dos diferentes indivíduos integrantes da população (CRUZ, 2005) e é possivelmente, a principal causa da ocorrência de falsos positivos em estudos de associação (ABDUKARIMOV; ABDUKARIMOV, 2008). O problema ocorre porque qualquer característica fenotípica que também estiver correlacionada com marcadores relacionados com a estrutura da população, resultará em um número inflacionado de associações significativas (HALL; TEGSTRÖM; INGVARSSON, 2010).

Entre as diversas metodologias para inferência de estrutura de população estão a utilização da genealogia, utilização dos componentes principais (PRICE et al., 2006) e o método proposto por Pritchard, Stephens e Donnelly (2000) implementado no software Structure, que é um dos mais usados em humanos, animais e em plantas (KAEUFFER et al. 2007).

Diversas pesquisas relacionadas a estrutura genética de populações de *Capsicum* spp. já foram realizadas utilizando o software Structure (BABA et al., 2016; HILL et al., 2013; GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2014; ISLAM et al., 2016; NIMMAKAYALA et al., 2013).

Para controle da taxa de falsos positivos na identificação de locos relacionados aos caracteres em estudo, uma prática comum é utilizar a estrutura populacional e o parentesco como fatores dentro de um modelo de associação (PRITCHARD et al., 2000). Uma ferramenta efetiva que permite a incorporação

desses fatores em estudos de associação é a metodologia de modelos mistos lineares, mais popularmente conhecidos por modelos mistos (ZHOU; STEPHENS, 2012).

Ao contrário dos modelos lineares tradicionais, os quais assumem independência estatística entre observações, ao considerar a análise de associação via modelagem mista é possível incorporar a correlação ou dependência existente entre indivíduos por meio de informações de estrutura populacional e parentesco (HOFFMAN, 2013). Geralmente, a correlação entre indivíduos é modelada por meio da regressão dos fenótipos em função de uma matriz de marcadores moleculares, usando a estrutura populacional como covariável fixa do modelo genético estatístico. Já o coeficiente de parentesco, estimado com base em marcadores moleculares é incluído na parte aleatória do modelo, na forma de matriz de variâncias e covariâncias, a qual representa a dependência entre os indivíduos (KANG et al., 2010).

Os principais modelos matemáticos utilizados em estudos de associação estão apresentados na Tabela 1. A escolha do modelo que apresentará o melhor ajuste de dados dependerá da presença da estrutura de população e de sua relação com a característica de interesse. Na maioria dos casos o uso do modelo $Q + K$ apresenta um melhor ajuste dos dados quando comparado a outros modelos (YU et al., 2006).

Tabela 1 – Modelos matemáticos utilizados em estudos de associação.

Modelo	Descrição	Expressão matemática
<i>Naive</i>	Modelo de regressão, sem correção de estrutura de população, simples teste de associação F ou (Kruskal-Wallis)	$y = X\beta + \varepsilon$
Q	Modelo de regressão, estrutura de população inferida como cofator por meio critério baysiano	$y = X\beta + Qv + \varepsilon$
K	Modelo Misto, <i>kinship</i> contabilizada, sem estrutura de população inferida como cofator	$y = X\beta + Zu + \varepsilon$
Q+K	Modelo Misto, <i>Kinship</i> contabilizada, com estrutura de população inferida como cofator	$y = X\beta + Zu + \varepsilon$ ou $y = X\beta + Qv + Zu + \varepsilon$

Em que: y é o valor do fenótipo; β no modelo “*Naive*” contém apenas o vetor de efeito fixo dos marcadores, enquanto que no modelo Q e Q + K, conterem ambos marcadores e a estrutura de população; v é o vetor de efeito fixo da estrutura de população; u é o vetor efeito aleatório do relacionamento dos indivíduos ou Kinship; X , Q e Z , são matrizes de incidência dos efeitos explicados nos vetores; ε : é o efeito residual.

Fonte: Adaptado de YU et al. (2006) e ZHAO et al. (2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL GENÉTICO

Foram avaliados 65 acessos de *C. chinense* oriundos de oito estados brasileiros e quatro regiões geográficas do Brasil, obtidos do banco de Germoplasma da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (Apêndices A e B).

3.1.1 Fenotipagem

O experimento foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, na cidade de Londrina, PR. O clima do local é classificado como Cfa, segundo a classificação Köppen, caracterizado por verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida, com temperatura média do mês mais frio inferior a 18°C e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C. O solo predominante é do tipo Latossolo Vermelho Eutroférico.

As sementes dos genótipos foram semeadas em bandejas de poliestireno, em substrato comercial. Após 30 dias as mudas foram transplantadas individualmente para campo. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, com duas repetições e quatro plantas por parcela, adotando o espaçamento de 0,5 x 0,9 m entre plantas e entre linhas, respectivamente.

Os acessos foram avaliados em dois anos, sendo o primeiro entre abril a setembro de 2015 e o segundo entre julho a novembro de 2016. Cinco frutos maduros de cada acesso foram caracterizados utilizando-se seis descritores quantitativos, estabelecidos pelo IPGRI (1995), atualmente *Bioversity International*, sendo eles:

CF – Comprimento do fruto (cm): obtido com auxílio de paquímetro.

DF – Diâmetro do fruto (cm): obtido com auxílio de paquímetro, na parte mais larga de cinco frutos de cada acesso.

EP – Espessura do pericarpo (mm): medição do ponto de maior largura.

MMF – Massa média do fruto (g): os resultados foram obtidos pela média dos cinco frutos, com a utilização de balança analítica.

MSF – Massa seca do fruto (g): após a coleta dos dados de massa média os frutos foram secos em estufa a 65° por sete dias e pesados em balança analítica.

TMS – Teor de massa seca (%): determinado pela expressão:

$$TMS = \frac{\text{Massa seca do fruto}}{\text{Massa média do fruto}} \times 100$$

TSS – Teor de sólidos solúveis: obtido através de um refratômetro e expresso em grau Brix.

3.1.2 Coleta, Extração de DNA e Genotipagem das Amostras

Folhas jovens de cada acesso foram coletadas, acondicionadas em papel alumínio, identificadas, mergulhadas em gelo para não ocorrer a degradação do DNA e em seguida armazenadas em ultrafreezer a -80 °C. A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo modificado de Ferreira e Grattapaglia (1998).

Primeiramente os acessos foram macerados em nitrogênio líquido e transferidos para microtubos de 2,0 ml, devidamente identificados. Posteriormente 1500 µl de tampão de extração (CTAB 2%) e 20 µl de β – mercaptoetanol foram adicionados em cada tubo. Esse material foi incubado a 65 °C por 30 minutos e agitado manualmente a cada 10 minutos. Após a incubação os microtubos foram centrifugados por cinco minutos a 12000 rotações por minutos (rpm). Em seguida coletou-se o sobrenadante (cerca de 600 µl) que foi transferido para novos microtubos (1,5 mL) devidamente identificados.

Adicionou-se aos tubos com o sobrenadante o mesmo volume (600 µl) de clorofórmio-isoamílico (24:1), o material foi vertido suavemente por 8 minutos e em seguida centrifugado por 8 minutos a 14000 rpm. Após esta etapa o sobrenadante foi retirado (cerca de 400 µl) e colocado em tubos novos de 1,5 ml, em cada tubo foram adicionados 400 µl de isopropanol gelado (1:1) (-20°C), misturado cuidadosamente por inversão, e incubados a 4°C por 1 hora. Após este período o material foi centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos.

Após esse processo o sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado foi lavado duas vezes com 500 µl de etanol (70%) gelado (entre cada lavagem o material foi centrifugado a 9500 rpm por 2 minutos). O último sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi seco em condições naturais. Para finalizar a extração, o *pellet* foi ressuspensado em 100 µl de TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA,

pH=8) com 3 µl de RNase. A seguir, a solução foi incubada em estufa por 30 minutos a 37°C e em seguida incubada *over night* a 4°C.

Após o isolamento do DNA as amostras foram purificadas. Aos 100 µl de DNA foram acrescentados 100 µl de isopropanol gelado (1:1) (-20°C), que foi suavemente misturado por inversão, em seguida as soluções foram incubadas a 4°C por 10 minutos. Em seguida, o material foi centrifugado por 5 minutos a 14000 rpm e o sobrenadante foi descartado. Ao *pellet* formado adicionou-se 100 µl de NaCl 5M, 100 µl de EDTA 0,5M e 300 µl de H₂O, nessa ordem. Após essa etapa, o material foi incubado por 20 minutos a 4°C e posteriormente centrifugado por 10 minutos a 14000 rpm. O sobrenadante formado (cerca de 450 µl) foi coletado e transferido para microtubos novos.

Adicionou-se aos tubos com o sobrenadante o mesmo volume (450 µl) de isopropanol, o material foi incubado por 10 minutos a 4°C e posteriormente centrifugado por 4 minutos a 14000 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado foi lavado duas vezes com 500 µl etanol (70%) gelado. O último sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi seco em condições naturais. Ao final da purificação, o *pellet* foi ressuspenso em 30 µl de TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH=8) com 3 µl de RNase.

A integridade do DNA foi confirmada por eletroforese em gel de agarose a 1%. Já a concentração e a pureza foram determinadas por espectrofotometria, utilizando-se o NanoDrop® 2000/2000c (Thermo Fisher Scientific). Foram utilizadas amostras que apresentaram razões A₂₆₀/A₂₈₀ nm entre 1.8 e 2.0.

Realizou-se a técnica de AFLP seguindo o protocolo descrito por Vos et al., (1995), com modificações. Aproximadamente 700 ng de DNA de cada acesso foram duplamente digeridos pelas enzimas EcoRI e MseI (5U cada), em presença de 2 µl de tampão de ensaio MseI 10X, com volume final de 20 µl, incubados por 18 horas a 37 °C. Os fragmentos gerados foram ligados aos adaptadores, EcoRI (0,5 µM) e MseI (5 µM), com a enzima T4 DNA ligase (2U); tampão T4 DNA ligase 1X; NaCl (0,05 M); BSA (50 µg/µL); DTT (0,25 mM) para um volume final de 10 µL. A reação foi incubada a 37 °C por 3 horas, 17 °C por 30 minutos e 70 °C por 10 minutos, em termociclador. Após a confirmação da amplificação da PCR por eletroforese em gel de agarose 1%, o produto amplificado foi diluído 1:4 vezes em água ultrapura.

Posteriormente, os fragmentos foram amplificados com um par de *primers* pré-seletivo contendo uma base seletiva. A amplificação pré-seletiva foi realizada para um volume final de 10 μL , utilizando 3,5 μL do kit GoTaq® Green Master Mix (Promega); 0,58 μL do *primer* pré-seletivo (4,75 μM); e 3,0 μL da diluição da reação de restrição/ligação. A programação do termociclador consistiu de: 2 minutos a 72 °C, seguidos de 20 ciclos de 1 segundo a 94 °C, 30 segundos a 56 °C e 2 minutos a 72 °C, e por fim, 30 minutos a 60 °C. A confirmação da PCR pré-seletiva foi obtida em gel de agarose 2% e o produto amplificado foi diluído 1:16 vezes em água ultrapura.

Para a amplificação seletiva utilizou-se 2,5 μL do pré-seletivo diluído, composto de 0,54 μL de cada *primer* seletivo de MseI (5 μM) e EcoRI (1 μM); 3,5 μL GoTaq® Green Master Mix (Promega), para um volume final de 10 μL . As reações para o seletivo foram realizadas no termociclador, da seguinte maneira: ciclo inicial de 2 minutos a 94 °C; 30 segundos a 65 °C e 2 minutos a 72 °C; 8 ciclos de 1 segundo a 94 °C, 30 segundos a 64 °C e 2 minutos a 72 °C, decrescendo 1 °C a cada ciclo; 23 ciclos de 1 segundo a 94 °C, 30 segundos a 56 °C e 2 minutos a 72 °C, e por fim, 30 minutos a 60 °C. Foram testadas quatro combinações de *primers* EcoRI e MseI (E-ACA/M-CAC, E-ACG/M-CAA, E-ACT/M-CAA, E-ACG/M-GAC), contendo três nucleotídeos seletivos, observados em gel de poliacrilamida 7% (APÊNDICE D). A escolha dos *primers* baseou-se no trabalho desenvolvido por Baba et al. (2016), que utilizaram duas (E-ACA/M-CAC e E-ACG/M-CAA) das quatro combinações para estudar diversidade genética de acessos de *Capsicum chinense*.

As quatro combinações foram selecionadas e submetidas a eletroforese capilar em sistema automatizado, para isso os *primers* foram marcados com fluoróforos FAM, NED, VIC e PET, nas cores azul, amarela, verde e vermelho, respectivamente. Para visualizar os produtos da reação seletiva, as amostras amplificadas com os *primers* marcados foram combinadas seguindo a proporção de: 1 μL de FAM: 2 μL de NED: 2 μL de VIC: 2 μL de PET, com 3,0 μL de água ultrapura. Para a corrida em sequenciador utilizou-se um volume final igual a 10 μL , sendo composto por 1,0 μL da mistura dos *primers*, 0,2 μL de GeneScan™ 600 LIZ. ® Size Standard v2.0 e 8,8 μL de formamida Hi-Di (Applied Biosystems). Em seguida a reação passou por um processo de desnaturação a 95°C por 3 minutos e foi

submetida à eletroforese capilar em sistema automatizado (Applied Biosystems, 3500xL).

Os resultados da eletroforese dos fragmentos foram combinados em uma matriz binária pelo *software* GeneMapper® v.4.1 (Applied Biosystems). Todas as amplificações foram realizadas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems).

3.2 ANÁLISE DOS DADOS

3.2.1 Dados Agronômicos

Para estimativa dos parâmetros genéticos as variáveis foram analisadas por meio do programa Selegen REML/BLUP (RESENDE, 2006), utilizando o modelo 25, indicado para avaliação em local com delineamento experimental em blocos ao acaso.

Utilizou-se o seguinte modelo estatístico:

$$y = Xr + Zg + Wl + e$$

em que y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, g é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), l é o vetor dos efeitos da interação genótipo x ambiente (aleatórios) e e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). X , W e Z representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Os dados foram representados pela estimativa dos componentes de variância e parâmetros genéticos, seguida dos valores genotípicos de cada característica avaliada, resultado da soma da média geral do ganho genético.

Componentes de Variância:

Vg: variância genotípica.

Vint: variância da interação genótipos x ambientes.

Ve: variância residual.

Vf: variância fenotípica individual.

$h^2g = h^2$: herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo, ou seja, dos efeitos genotípicos totais.

$c2_{int} = c2$: coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipos x ambientes.

h^2_{mc} : herdabilidade da média de genótipo, assumindo sobrevivência completa.

Acclinh: acurácia da seleção de genótipos, assumindo sobrevivência completa.

rgloc: correlação genotípica entre o desempenho nos vários ambientes.

Média geral do experimento.

Por meio do *software* R (<http://www.R-project.org/>) realizou-se o teste de correlação de Pearson para medir o grau de associação entre as características agrônômicas avaliadas. Os acessos foram agrupados pelo método hierárquico aglomerativo de Ward a partir da distância euclidiana média padronizada.

3.2.2 Dados Genéticos

A análise do padrão de bandas gerada por cada *primer* utilizado para os marcadores AFLP possibilitou a montagem de uma matriz binária, em que foi conferido o valor (1) para a presença da banda e (0) para a ausência. A partir desses dados, foi determinado o coeficiente de similaridade de Jaccard para estimar a distância genética entre os acessos. Com a matriz de similaridade foi realizada a análise de agrupamento pelo método hierárquico aglomerativo de Ward.

A matriz baseada no coeficiente de Jaccard, obtida da caracterização molecular e a matriz com base na distância Euclidiana média padronizada, proveniente da caracterização morfoagronômica foram comparadas utilizando-se o teste de Mantel e o teste t com 1000 permutações. As análises foram realizadas por meio dos programas computacionais GENES (CRUZ, 2013) e R (<http://www.R-project.org/>).

A detecção da estrutura populacional foi realizada com o *software* Structure V 2.3.4 (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000), utilizando o conjunto de marcadores moleculares AFLP da genotipagem dos acessos. Para esta análise utilizou-se o método descrito por Evano, Regnaut e Goudet (2005), com 100000 iterações MCMC (Monte Carlo Markov Chain) com descarte (burn-in) de

10000 mil iterações, em modelo assumindo *clusters* mistos (*admixture*) e frequências alélicas correlacionadas. Foram testados valores de k variando de 1 a 66, com 10 iterações independentes para cada valor de k. A determinação do número k foi realizada utilizando-se o Structure Harvester v0.6.92 (EARL; vonHOLDT, 2012). A partir do valor do k selecionado, foi gerado um gráfico utilizando o programa Structure.

3.2.3 Análise de Associação

A partir da informação genotípica dos 645 marcadores, foi construída a matriz dos coeficientes da estrutura de população (Q), obtidos pelo *software* Structure. E com o auxílio do software SPAGEDI (HARDY; VEKEMANS, 2002) foi gerada a matriz de parentesco (*kinship*), conforme a metodologia proposta por Hardy (2003).

Para a realização do estudo de associação foram utilizados quatro modelos: (i) *naive* - sem controle da estrutura de população e do grau de parentesco, (ii) GLM (Modelo Linear Generalizado) – utilizando a matriz Q, (iii) MLM (Modelo Linear Misto) – utilizando a matriz *kinship* (K) para controle do parentesco e (iv) MLM - utilizando a matriz Q e a matriz K. A estrutura populacional foi considerada sempre como efeito fixo, enquanto a matriz K foi utilizada para analisar a estrutura de variância e covariância do efeito individual aleatório (YU et al., 2006; ZHANG et al., 2010). Para obtenção dos 645 marcadores utilizados foram retirados aqueles que apresentaram frequência menor que 5% e maior que 95%, visando reduzir a chance de identificação de falsos positivos, devido à presença de marcadores raros.

O nível de significância da associação foi verificado considerando um limiar de corte moderadamente restritivo ($1 / \text{número de hipóteses}$) (WANG et al., 2012), ou seja, $1/645$, assim, foram consideradas associações significativas aquelas que apresentaram p-valor abaixo de $1,55 \cdot 10^{-3}$. A utilização do teste foi escolhida devido ao limitado número de genótipos testados. Além disso, vários autores têm proposto e utilizado metodologias alternativas que diminuem o limiar estatístico visando obter maior número de associações (JOHNSON et al., 2010; LU et al., 2010; WANG et al., 2012). Todas as análises de associação foram realizadas por meio do

software TASSEL 5.2 (BRADBURY et al., 2007). Para os MLM foi utilizado o método P3D.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA

Pelos valores genotípicos preditos para cada indivíduo observa-se que a maioria das características agronômicas apresentaram grande amplitude de variação, o que evidencia a variabilidade entre os genótipos avaliados (APÊNDICE C). Essa variabilidade pode ser em virtude desses acessos serem de diferentes regiões geográficas, além dos frutos apresentarem diferenças morfológicas, como mostrado no APÊNDICE B.

A característica comprimento do fruto apresentou grande amplitude, onde os valores variaram de 3,50 a 9,94 cm. Essa amplitude é maior do que a relatada por Finger et al. (2010), que verificou frutos com comprimentos de 1,42 até 7,6 cm. Variação similar foi observada por Jarret e Berke (2008) que verificaram valores de 0,8 a 11,4 cm na caracterização de 330 acessos de *C. chinense*. Fonseca et al. (2008), estudando 38 genótipos de *C. chinense*, relataram desde frutos menores que 1,0 cm até frutos entre 8,0 e 12,0 cm.

Para diâmetro do fruto (DF) a variação foi de 1,73 a 4,10 cm, porém a maioria dos acessos (86%) apresentaram frutos com diâmetros menores que 3 cm. Esse resultado também foi observado por Finger et al. (2010), em que 87% dos acessos tinham DF menor que 3 cm. Heiden et al. (2007) afirmam que os caracteres formato, comprimento e diâmetro estão relacionados principalmente com a comercialização *in natura* dos frutos do gênero *Capsicum*. Sudré et al. (2005) e Bento et al. (2007) analisando a importância das características pelo método de Singh (1981), afirmam que comprimento e diâmetro do fruto estão entre as características mais importantes para a divergência em *Capsicum*.

A característica espessura do pericarpo variou de 1,7 a 2,7 mm. Finger et al. (2010) observaram medidas semelhantes que variaram de 1,0 a 3,5 mm, já Batista e Filho (2014) encontraram uma variação menor, entre 0,77 a 2,3 mm. Nem sempre os frutos com maior peso apresentaram paredes mais espessas, o que contradiz estudos que mostraram que há relação linear positiva entre peso do fruto e espessura do pericarpo, como nos trabalhos desenvolvidos por Barroso et al.

(2011) e Rêgo et al. (2011). Segundo Lannes et al. (2007), essa característica é importante para o melhoramento de frutos para consumo *in natura*, pois frutos mais espessos são mais resistentes a danos causados no manuseio pós-colheita.

Ribeiro e Reifshneider (2008) comentam que a espessura da parede deve ser levada em consideração no melhoramento de pimenta doce para produção de páprica, pois frutos com pericarpo mais fino são ideais para o processamento, devido menor gasto no processo de desidratação.

Com relação à massa média do fruto, verificou-se uma ampla variabilidade entre os acessos, com valores de 5,34 a 19,05 g. Os acessos que tiveram a maior massa média do fruto também apresentaram os maiores valores de massa seca do fruto, que mostrou variação entre 0,64 a 2,01 g. Não obstante, é possível observar que nem sempre a maior massa média do fruto resultou necessariamente em maior massa seca, o que também foi confirmado por Schuelter et al (2010). A massa média do fruto contribui diretamente para a produção total e tem papel importante na aceitação dos produtos pelos consumidores (SINGH et al., 2014). E frutos com maior seca servem para a indústria na produção de temperos secos como frutos inteiros ou na forma de pó (LIN et al., 2013).

As médias do teor de massa seca variaram de 14,71 a 22,42%. Lannes et al. (2007) encontrou valores mais baixos, variando entre 4,57% a 16,20%. Nota-se que não foram os frutos maiores e mais pesados que apresentaram maior teor de massa seca. Segundo Rêgo et al. (2011), o teor de massa seca é inversamente relacionado com o comprimento do fruto, assim, quanto maior o fruto, menor o teor de matéria seca.

O teor de sólidos solúveis apresentou variação entre 8,11 a 11,02° Brix. Resultados semelhantes foram encontrados por Faria et al. (2013) que ao estudar a variabilidade genética de 49 acessos de *C. chinense* verificaram uma faixa de 5,37 a 12,90° Brix e Moura et al. (2010) que verificaram valores entre 5,1 e 15,4° Brix. Segundo Lannes et al. (2007), quanto maior o teor de sólidos solúveis, menor o teor de água em frutos. Sendo assim, esta característica é muito importante no melhoramento de *Capsicum* visando o uso industrial, pois reduz o custo para a desidratação do fruto. Koetz et al. (2010) sugerem que, quanto maior o teor de sólidos solúveis nos frutos, menor é o consumo de energia gasta nas indústrias para a obtenção da polpa concentrada e ainda afirma que, para cada °Brix de aumento na matéria-prima, existe um aumento de 20 % no rendimento industrial.

Os resultados das estimativas dos componentes da variância e dos parâmetros genéticos se encontram na Tabela 2. A estimativa de herdabilidade (h^2g) apresentou valores de baixa a alta magnitude, variando de 0,31 a 0,90. Rêgo et al. (2011) estudando 40 acessos de *C. baccatum* verificaram uma variação de 83,2 a 99,1%, sendo que para as características estudadas no presente trabalho os autores encontraram valores de 0,99 (CF); 0,97 (MMF); 0,87 (TMS); 0,98 (MSF) e 0,93 (TSS). Trabalhando com 49 acessos de *C. chinense*, Finger et al. (2010) verificaram coeficientes de herdabilidade de 77,87 a 99,83% para as sete variáveis avaliadas neste trabalho, sendo 0,92 (CF); 0,96 (DF); 0,82 (EP); 0,93 (MMF); 0,84 (MSF); 0,78 (TMS) e 0,78 (TSS).

Nota-se que os autores verificaram altos valores de herdabilidade para teor de sólidos solúveis, o que se opõe ao baixo coeficiente encontrado neste trabalho (0,31). Entretanto, Bento et al (2016) avaliando plantas derivadas do cruzamento de espécies de *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, relataram coeficiente semelhante para TSS (38%).

A importância da herdabilidade para um programa de melhoramento está na previsão da possibilidade de sucesso no processo de seleção, uma vez que ela é a medida da variação fenotípica atribuída a causa genéticas, ou seja, reflete a proporção da variação fenotípica herdada (FALCONER, 1987). Assim, as características que apresentaram altos coeficientes de herdabilidade sofrem pouca influência do ambiente, ou seja, o fenótipo constitui indicação segura do valor genético dos indivíduos. Porém, para o teor de sólidos solúveis, a seleção pode ser consideravelmente difícil devido à sua sensibilidade a interação com o ambiente, desse modo devem ser utilizados métodos de melhoramento capazes de controlar os efeitos ambientais (FINGER et al, 2010).

Apesar da baixa herdabilidade encontrada para o TSS, o coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipos x ambientes (c^2_{int}) foi baixo para todas as características. Esse resultado conduziu a altos valores de correlação genotípica (rg_{loc}), segundo Resende (2007). De acordo com Vencovsky e Barriga (1992) valores altos de correlação entre os ambientes indicam que a interação não é de natureza complexa.

Os valores de acurácia variaram de 0,43 a 0,90. Essa medida está associada à precisão da seleção e refere-se à correlação entre valores genéticos preditos e valores genéticos verdadeiros dos indivíduos (RESENDE, 2002), sendo o

parâmetro mais importante no contexto da avaliação genotípica (HENDERSON, 1984). De acordo com Resende e Duarte (2007), foi considerada baixa para TSS, moderada para TMS e alta para as demais características, sendo que estimativas de acurácia superiores a 0,7 são consideradas suficientes para inferir sobre o valor genético dos indivíduos em avaliação (RESENDE, 2002; BRASILEIRO et al., 2013).

Tabela 2 – Estimativa dos componentes de variância (REML) e parâmetros genéticos para sete características em 65 acessos de *Capsicum chinense*.

Parâmetros ¹	Características agrônômicas ²						
	CF	DF	EP	MMF	MSF	TMS	TSS
Vg	3.62	0.51	$2.25 \cdot 10^{-3}$	25.81	0.23	14.82	1.45
Vint	0.05	0.01	$1.30 \cdot 10^{-4}$	0.49	0.01	1.33	0.36
Ve	0.42	0.05	$1.01 \cdot 10^{-3}$	3.95	0.04	10.60	2.85
Vf	4.09	0.57	$3.39 \cdot 10^{-3}$	30.26	0.28	26.74	4.65
h²g	0.89	0.90	0.66	0.85	0.83	0.55	0.31
c²int	0.01	0.01	0.04	0.02	0.02	0.05	0.08
h²mlin	0.79	0.82	0.49	0.74	0.71	0.38	0.18
Aclin	0.89	0.90	0.70	0.86	0.84	0.62	0.43
rgloc	0.99	0.99	0.95	0.98	0.98	0.92	0.80
Média	3.50	1.73	0.17	5.34	0.64	14.71	8.11

¹ Vg: variância genotípica; Vint: variância da interação genótipos x ambientes; Ve: variância residual; Vf: variância fenotípica individual; h²g: herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo; c²int: coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipos x ambientes; h²mlin: herdabilidade da média de genótipo, assumindo sobrevivência completa; Aclin: acurácia da seleção de genótipos, assumindo sobrevivência completa; rgloc: correlação genotípica entre o desempenho nos vários ambientes e Média geral do experimento.

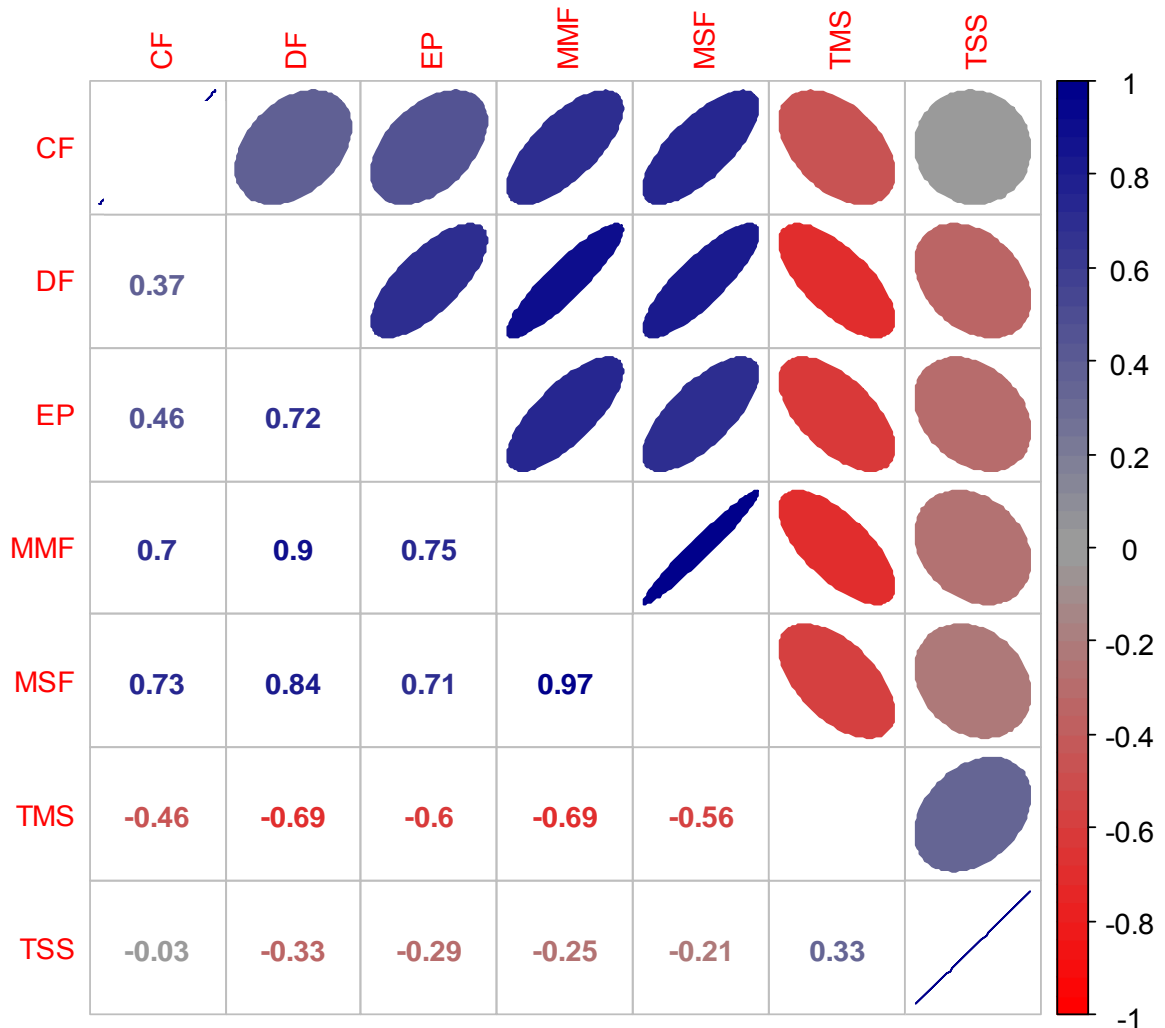
² CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; EP: espessura do pericarpo; MMF: massa média do fruto; MSF: massa seca do fruto; TMS: teor de massa seca; TSS: teor de sólidos solúveis.

A característica CF apresentou correlação positiva com MMF (70%) e MSF (73%), já com DF e EP verifica-se correlações mais baixas (37 e 46%, respectivamente). As correlações mais altas foram observadas entre MMF e MSF (97%) e entre MMF e DF (90%). Moreira et al. (2013) avaliando pimentas do gênero *Capsicum* verificaram uma associação de natureza herdável entre peso e diâmetro do fruto, o que é de grande interesse para o melhoramento, podendo ser utilizada para a realização de seleção indireta.

A correlação permite avaliar o quanto a alteração em um caráter pode afetar os demais e a maioria dos programas de melhoramento leva em consideração muitas características simultaneamente, assim, o entendimento da associação genética entre as variáveis pode contribuir para a escolha do

procedimento de seleção para maximizar o ganho genético (SANTOS; VENCOVSKY, 1986).

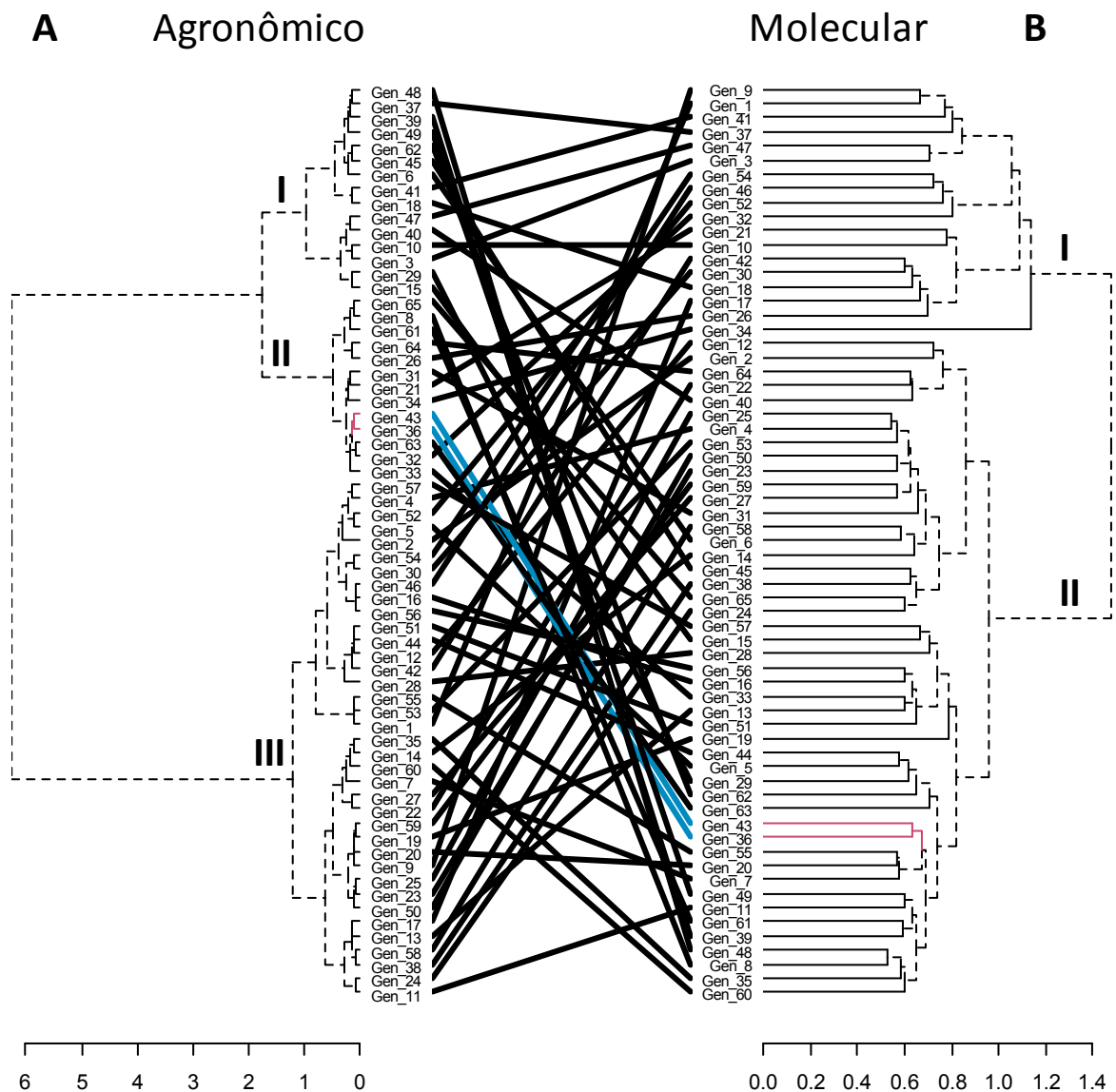
Figura 2 – Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre sete variáveis agrônômicas de 65 acessos de *C. chinense*. CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; EP: espessura do pericarpo; MMF: massa média do fruto; MSF: massa seca do fruto; TMS: teor de massa seca; TSS: teor de sólidos solúveis.



Pela análise de agrupamento estabelecido pelo método Ward, definindo como ponto de corte a região onde ocorreu a mudança mais abrupta no dendrograma, foram formados três grupos (Figura 3 A). O primeiro grupo foi composto por 15 acessos, sendo aqueles com maiores massa média e massa seca do fruto e grande parte desses acessos também apresentaram maiores valores para diâmetro do fruto. O segundo foi formado por 13 acessos, que se caracterizam por

possuírem valores intermediários de massa média e massa seca do fruto e estão entre os que apresentaram baixos valores de teor de massa seca. O terceiro e maior grupo, reuniu 38 acessos, os quais em sua maioria, obtiveram teores de massa seca mais altos e, em contrapartida, apresentaram frutos mais leves.

Figura 3 – Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método Ward, a partir das características agronômicas (A) e moleculares (B) de 65 acessos de *C. chinense*.



Vasconcelos et al. (2014) utilizando 22 acessos de *C. chinense* também encontraram o mesmo número de grupos através do método UPGMA baseado na distância euclidiana, avaliando 6 descritores quantitativos. Büttow et al., (2010), ao analisarem a diversidade fenotípica em 20 acessos de *Capsicum* e Carvalho et al. (2014) utilizando 8 descritores e 30 acessos de *Capsicum* também relataram a formação de três grupos.

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir acessos por meio de algum critério, algum padrão de comportamento. Neste estudo, nota-se que os agrupamentos foram divididos de acordo com as características agrônômicas, entretanto a origem geográfica não foi um padrão para essa separação. Por exemplo, a maioria dos acessos são originários do estado do Mato Grosso e ficaram divididos entre 5 no grupo I, 3 no grupo II e 18 no grupo III. Tal observação foi constatada por Baba et al. (2016); Finger et al. (2010) e Vasconcelos et al. (2012), que também relataram que os acessos não foram agrupados de acordo com sua região de origem.

4.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

Os marcadores AFLP evidenciaram a variabilidade genética entre os acessos avaliados. Os quatro pares de *primers* utilizados produziram 695 bandas, das quais 645 foram polimórficas, o que representa 92% de polimorfismo. As combinações E-ACA/M-CAC, E-ACG/M-CAA, E-ACT/M-CAA, E-ACG/M-GAC produziram 127, 175, 164 e 179 bandas, respectivamente. Baba et al. (2016) estudando a variabilidade genética de 71 acessos de *C. chinense* também utilizaram as combinações E-ACA/M-CAC, E-ACG/M-CAA e verificaram a produção de 60 e 124 bandas, respectivamente.

O nível de polimorfismo encontrado é maior do que os relatados por Aktas, Abak e Sensoy (2009); Castañon-Najera et al. (2011) e Islam et al. (2016), que também utilizaram marcadores AFLP em *Capsicum*. Essa diferença pode ser possível devido aos *primers* utilizados, à diversidade dos genótipos avaliados em cada estudo e à utilização do sequenciamento capilar.

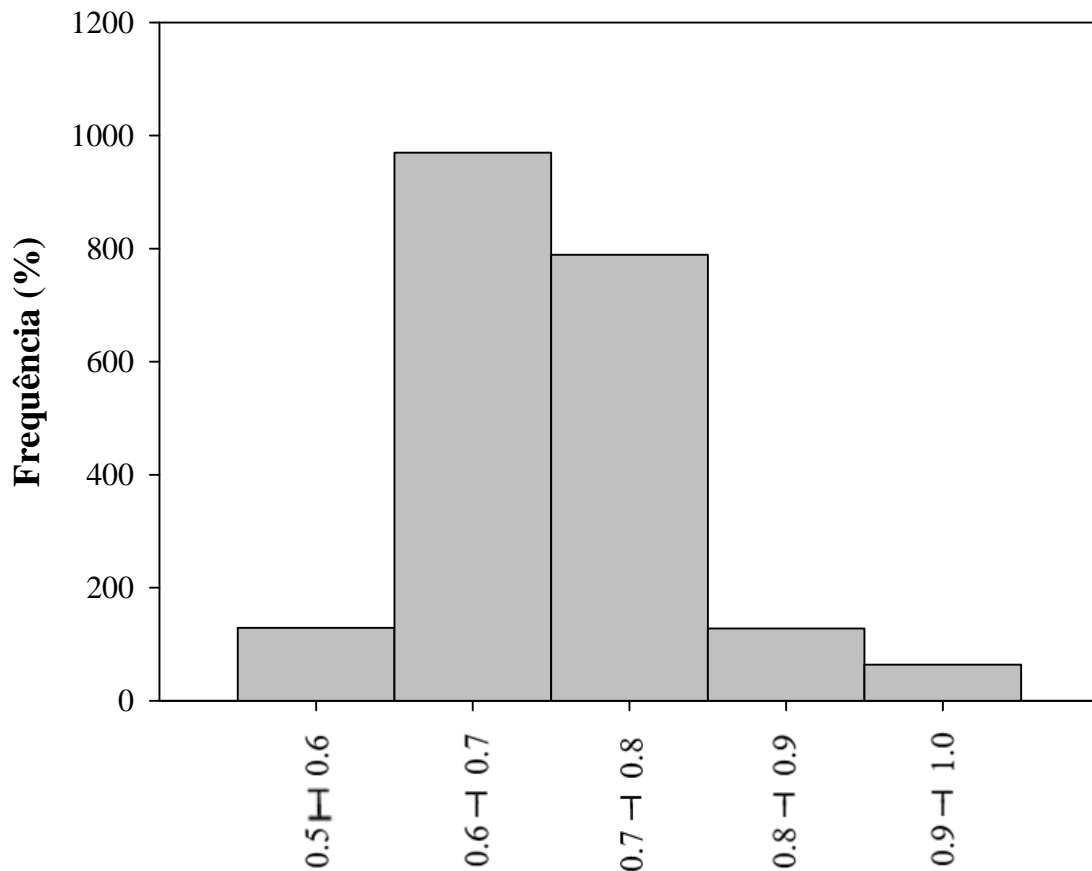
O coeficiente de similaridade usado para calcular a distância genética entre os 65 acessos de *Capsicum chinense* variou de 0,53 a 0,99, com uma distância média de 0,7 ($\pm 0,08$). A análise das frequências de distribuição dos pares

de genótipos comparados mostrou uma concentração de valores nas classes de 0,6 --| 0,7 e de 0,7 --| 0,8 (Figura 4), isso revela a ampla variabilidade genética presente entre os acessos, pois quanto mais próximo de 1, mais distante geneticamente são os indivíduos. Moura et al. (2010) observaram que entre 56 acessos de *C. chinense*, a distância média obtida foi de 0,40 ($\pm 0,08$) e Baba et al. (2016) relataram uma distância média de 0,73 ($\pm 0,10$) entre 71 acessos.

A distância mais alta ocorreu entre Gen_34 e Gen_52 (0,99), enquanto que Gen_8 e Gen_48 são os acessos mais próximos, pois apresentaram a menor distância (0,53). Interessante notar que os mais similares são provenientes de regiões geográficas diferentes.

Os estudos de distância genética são de grande importância na diferenciação de populações e acessos de bancos de germoplasma, assim como na identificação de genitores adequados à obtenção de híbridos, com maior efeito heterótico e que proporcionem maior segregação em recombinações, possibilitando o aparecimento de transgressivos (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

Figura 4 – Distribuição da frequência da dissimilaridade baseada em marcadores AFLP entre os 65 acessos de *C. chinense*.



O agrupamento obtido pelo método aglomerativo de Ward, a partir das características moleculares, separou os acessos em dois grupos (Figura 3 B), os quais mostraram grande variabilidade para as sete características avaliadas. O grupo I foi formado por 18 acessos e o grupo II por 47. Novamente os genótipos não foram alocados de acordo com sua região de origem, o que significa que as distâncias geográficas não tiveram correlação com as distâncias genéticas entre os acessos de *C. chinense*. Esta observação pode ser atribuída provavelmente à rápida disseminação de sementes pelos pássaros, troca de sementes entre os agricultores e o transporte de frutos livremente entre as diferentes regiões do Brasil.

Quando comparados os dendrogramas (Figura 3 A e B), verifica-se que a análise de agrupamento baseada na dissimilaridade genética morfológica mostrou comportamento diferenciado daquela baseada em marcadores moleculares. O coeficiente de correlação encontrado entre as matrizes de dissimilaridade foi de 0,02, não significativo pelo teste t e pelo teste de Mantel. Essa baixa correlação confirma a diferença apresentada entre os dois dendrogramas. Nota-se que o grupo

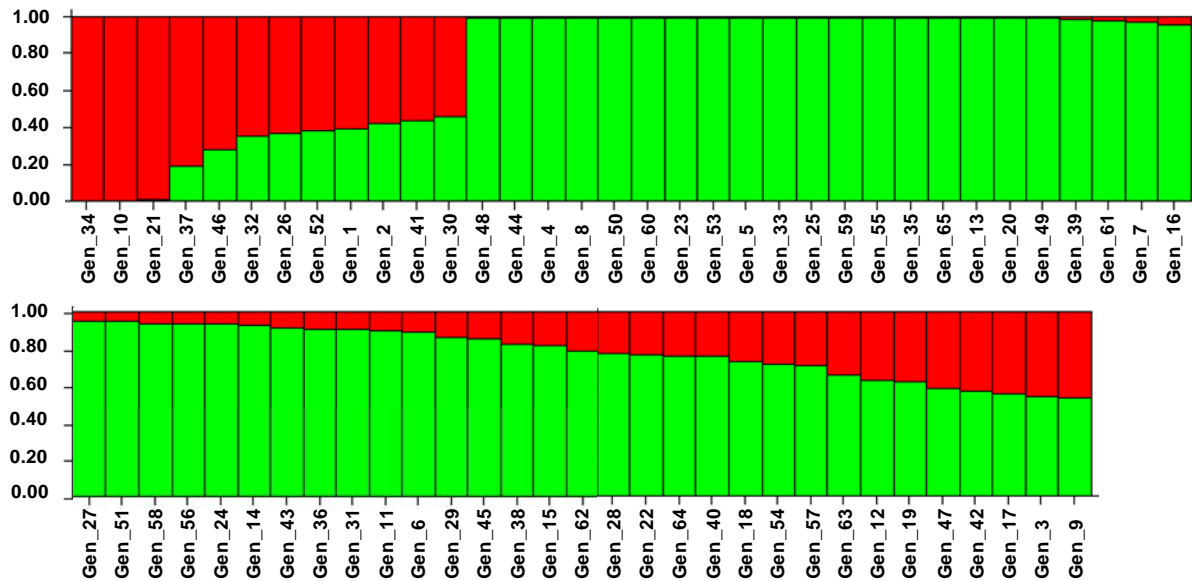
II da análise molecular reuniu a maioria dos acessos dos três grupos da análise agronômica. Há uma pequena semelhança em relação aos acessos Gen_3, Gen_10, Gen_18, Gen_37, Gen_41 e Gen_47, os quais foram alocados no grupo I da análise molecular e estão reunidos no mesmo grupo (I) na análise agronômica, que se caracteriza por reunir aqueles com os valores mais altos de massa média, massa seca do fruto e diâmetro do fruto.

A partir das simulações realizadas pelo software Structure e por meio da metodologia do valor de Δk proposto por Evanno, Regnaut e Goudet (2005), verificou-se o número ótimo de $K=2$, indicando a formação de dois grupos (Figura 5). No grupo I ficaram 9 acessos. Outros 48 acessos foram classificados como grupo II e 8 acessos foram classificados como *admixture*, porque apresentaram coeficiente de adesão menor que 0,6 para ambos os grupos.

Os grupos formados são parcialmente concordantes com os agrupamentos obtidos utilizando-se o coeficiente de Jaccard. Os grupos I e II formados pelo método Ward com base nos dados moleculares correspondem aos grupos I e II do método Bayesiano (vermelho e verde, respectivamente). No agrupamento hierárquico os acessos Gen_3, Gen_9, Gen_17, Gen_18, Gen_30, Gen_41, Gen_42, Gen_47 e Gen_54 foram alocados no grupo I, enquanto que pelo Structure, os acessos Gen_18 e Gen_54 ficaram no grupo II, porém os outros foram classificados como *admixture*, o que sugere que estes compartilham locos comuns aos dois grupos. Islam et al. (2016), estudando a estrutura populacional de 171 acessos de *Capsicum* spp. também utilizaram o coeficiente de Jaccard e a análise Bayesiana para verificar o agrupamento dos acessos e relataram dois grupos para os dois métodos. Assim como no presente trabalho, os autores verificaram algumas discrepâncias entre os agrupamentos. Taranto et al. (2016) caracterizando 222 acessos de diferentes espécies de *Capsicum*, verificaram a formação de três grupos por meio do software Structure, mas quando realizaram o agrupamento hierárquico foram formados apenas dois grupos.

Os modelos Bayesianos têm grande vantagem por serem caracterizados como métodos probabilísticos, enquanto os métodos baseados nas distâncias entre os indivíduos são fortemente dependentes da medida de distância utilizada e do método de representação gráfica escolhido. Assim, modelos baseados em distâncias genéticas são mais apropriados para análise exploratória dos dados do que para inferência estatística (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000).

Figura 5 – Estrutura populacional de 65 acessos de *Capsicum chinense*.



Análise de associação

Pela análise de associação o modelo *naive* (GLM: G + P) identificou o maior número de marcadores significativos para a maioria das características avaliadas (Tabela 3). Entretanto, esse modelo não utiliza a estrutura de população, o que pode levar a um alto número de associações espúrias (PRITCHARD; ROSENBERG, 1999). Quando comparados os gráficos *Q-Q plots* (APÊNDICES E e K), verifica-se que com exceção da característica DF, para todas as outras o modelo *naive* não se ajustou adequadamente à distribuição normal, o que significa que não teve eficiência no controle das falsas associações, principalmente para CF, MMF e MSF.

O modelo GLM: G + P + Q que leva em em consideração a estrutura populacional pelo método do Structure, indicou que para a característica DF e TSS os marcadores identificados foram os mesmos obtidos pelo *naive*. Para MSF foi obtido um marcador que não esteve presente pelo primeiro modelo, enquanto que para as demais características houve uma redução do número de associações significativas. O controle de falsas associações pode ser confirmado pelos *Q-Q plots* que mostraram um melhor ajuste quando comparados com o modelo *naive*.

O terceiro modelo utiliza a informação de parentesco, ou seja, a matriz de *Kinship* (MLM: G + P + K), em que apenas CF e TMS apresentaram associações significativas. Os marcadores identificados para essas duas

características foram os mesmos obtidos pelos modelos *naive* e GLM: $G + P + Q$. Entretanto, quando comparados os *Q-Q plots* (APÊNDICES E e F), verifica-se que o modelo não apresentou um bom ajuste para TMS.

Por último foi testado o modelo MLM: $G + P + Q + K$, que é considerado o mais completo e assim pode apresentar o melhor ajuste dos dados (YU et al., 2006). Esse modelo utiliza as informações genóticas, fenóticas e incorpora tanto a matriz K como a matriz Q. Foram identificados os mesmos marcadores obtidos pelo modelo anterior para CF e TMS e para as duas características o modelo não se ajustou muito bem, ou seja, o teste mostrou baixo poder de associação. Provavelmente isso ocorreu devido ao reduzido número de indivíduos avaliados, pois o poder de detecção da ligação marcador-QTL está diretamente relacionado com o número de indivíduos genotipados (WANG et al., 2011), pois uma população menor apresenta uma redução na quantidade de variação genotípica explicada por um QTL (LIU et al., 2013).

Considerando todos os modelos, nota-se que o marcador EacgMcaa15 foi associado com mais de uma característica (DF, EP, MMF e MSF). A marca EacgMcaa14 também está relacionada com DF, MMF e MSF. No presente trabalho, essas características apresentaram correlação positiva. Ben-Chaim et al. (2001), também relataram que DF e MMF apresentaram QTLs em comum e foram positivamente correlacionadas. Além disso, esses autores afirmam que para DF e MMF, associações em comum se devem ao fato de que essas características são dependentes de complexos processos fisiológicos envolvidos no processo de desenvolvimento do fruto e ainda sugeriram que essa relação fisiológica aumenta a probabilidade de que a co-localização desses QTLs seja um resultado de pleiotropia.

Moulin et al. (2015) identificaram dois QTLs em comum para EP, MMF e MSF e um para DF e MMF em *Capsicum baccatum*. Han et al. (2016) também encontraram um QTL em comum para DF e MMF em *Capsicum annuum*. Nos dois trabalhos os autores também verificaram correlação positiva entre DF e MMF.

A variável TMS também apresentou as marcas EacgMcaa14 e EacgMcaa15. Entretanto, TMS foi negativamente correlacionada com as outras características, isso pode ser explicado pelo fato de que alguns efeitos pleiotrópicos podem aumentar as características enquanto outros podem diminuí-las (FALCONER, 1987).

Tabela 3 – Marcadores associados a caracteres agronômicos por quatro modelos estatísticos utilizando marcadores AFLP e fenotipagem realizada em 65 acessos de *C. chinense*.

Variáveis	Modelos											
	GLM: G + P			GLM: G + P + Q			MLM: G + P + K			MLM: G + P + Q + K		
	Marker	Size	Pvalue	Marker	Size	Pvalue	Marker	Size	Pvalue	Marker	Size	Pvalue
CF	EacgMcaa154	360pb	4.50E-05	EactMcaa136	332pb	9.82E-05	EactMcaa136	332pb	8.08E-05	EactMcaa136	332pb	4.12E-04
	EacaMcac15	93pb	5.22E-05	EacgMcaa163	398pb	3.53E-05						
	EactMcaa136	332pb	9.36E-04	EacgMcaa154	360pb	4.84E-04						
	EacgMcaa163	398pb	2.13E-04	EacaMcac15	93pb	5.04E-04						
	EactMcaa135	331pb	5.04E-04									
	EacaMcac44	163pb	0.00109									
DF	EacgMcaa15	82pb	2.37E-05	EacgMcaa15	82pb	4.95E-05						
	EacgMcaa14	81pb	1.27E-04	EacgMcaa14	81pb	7.87E-05						
EP	EacgMcaa15	82pb	8.11E-04	EacgMcaa15	82pb	0.00126						
	EacgMcaa121	279pb	0.00126									
MMF	EacgMcaa15	82pb	2.60E-06	EacgMcaa15	82pb	6.79E-06						
	EacgMcaa14	81pb	4.59E-04	EacgMcaa14	81pb	2.35E-04						
	EacgMcaa69	177pb	0.00125									
MSF	EacgMcaa15	82pb	4.09E-05	EacgMcaa15	82pb	9.97E-05						
				EacgMcaa14	81pb	0.00125						
TMS	EacgMcaa15	82pb	5.73E-08	EacgMcaa15	82pb	1.73E-07	EacgMcaa15	82pb	3.88E-04	EacgMcaa15	82pb	3.25E-04
	EacgMcaa14	81pb	2.38E-04	EacgMcaa14	81pb	1.01E-04						
	EacgMgac177	489pb	0.00133									
TSS	EactMcaa89	220pb	5.47E-04	EactMcaa89		0.00116						

GLM: Modelo linear generalizado. G: Matriz da presença/ausência dos marcadores identificados por AFLP. Q: Estrutura de população definida pelo meio do software STRUCTURE. MLM: Modelo linear misto. K: Matriz *kinship* estimada conforme Hardy (2003). P-valor significativo conforme teste moderadamente restritivo. CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; EP: espessura do pericarpo; MMF: massa média do fruto; MSF: massa seca do fruto; TMS: teor de massa seca.

5 CONCLUSÕES

A caracterização agronômica e molecular foi eficiente em demonstrar a diversidade genética presente em *Capsicum chinense*, fornecendo informações valiosas para programas de melhoramento da espécie.

Os dendrogramas oriundos de dados agronômicos e moleculares resultaram em diferenças nos agrupamentos, sendo encontrada baixa correlação, o que evidencia que cada tipo de abordagem acessa diferentemente a variabilidade existente entre os acessos avaliados.

Os resultados encontrados pelo *software Structure* confirmaram estudos anteriores para a espécie estudada.

Dentre os modelos de associação, o que foi baseado na estrutura de população e *kinship* restringiu o número de associações significativas, reduzindo a chance de ocorrência de falsos positivos.

REFERÊNCIAS

- ABDURAKHMONOV, I. Y.; ABDUKARIMOV, A. Application of association mapping to understanding the genetic diversity of plant germplasm resources. **International Journal of Plant Genomics**, p. 1-18. 2008.
- ADAMS, B. D. Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. **Nutrition and Food Science**, v. 37, n. 3, p. 178-183. 2007.
- AGARWAL; M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Report**, v. 27, n. 4, p. 617-631. 2008.
- AGUILERA, J. G.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, G. B.; ELSAYED, A. Y.; SILVA, D. J. H.; BARROS, E. G. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon* Mill). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, p. 243-252. 2011.
- AHMED, S. M. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian Capsicum L. hybrids. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 7, p. 665-669. 2013.
- AKTAS, H.; ABAK, K.; SENSOY, S. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 18, p. 4378-4386. 2009.
- ALIMI, N. A.; BINK, M. C. A. M.; DIELEMAN, J. A.; NICOLAI, M.; WUBS, M.; HEUVELINK, E.; MAGAN, J.; VOORRIPS, R. E.; JANSEN, J.; RODRIGUES, P. C.; VAN DER HEIJDEN, G. W. A. M.; VERCAUTEREN, A.; VUYLSTEKE, M.; SONG, Y.; GLASBEY, C.; BAROCSI, A.; LEFEBVRE, V.; PALLOIX, A.; EEUWIJK, A. F. Genetic and QTL analyses of yield and a set of physiological traits in pepper. **Euphytica**, v. 190, n. 2, p. 181-201. 2013.
- ANDREWS, J. **Peppers: the domesticated Capsicum**. Austin: University of Texas Press, 1995. 170p.
- ARDLIE, K. G., KRUGLYAK, L., SEIELSTAD, M., 2002. Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 4, p. 299-309. 2002.
- BABA, V. Y.; ROCHA, K. R.; GOMES, G. P.; RUAS, C. F.; RUAS, P. M.; RODRIGUES, R.; GONCALVES, L. S. A. Genetic diversity of *Capsicum chinense* accessions based on fruit morphological characterization and AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-11. 2016.
- BARAL, J. B.; BOSLAND, P. W. Genetic diversity of a Capsicum germplasm collection from Nepal as determined by randomly amplified polymorphic DNA

markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 127, n. 3, p. 318-324. 2002.

BARAL, J. B.; BOSLAND, P. W. Unraveling the species dilemma in *Capsicum frutescens* and *C. chinense* (Solanaceae): A multiple evidence approach using morphology, molecular analysis, and sexual compatibility. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 129, n. 6, p. 826-832. 2004.

BARCHI, L.; LEFEBVRE, V.; SAGE-PALLOIX, A. M.; LANTERI, S.; PALLOIX, A. QTL analysis of plant development and fruit traits in pepper and performance of selective phenotyping. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 6, p. 1157-1171. 2009.

BARDAKCI, F. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. **Turkish Journal of Biology**, v. 25, n. 2, p. 185-196. 2001.

BARROSO, P. A.; RÊGO, M. M.; RÊGO, E. R.; NASCIMENTO, M. F.; SOARES, W. S.; NASCIMENTO, K. S. Caracterização de frutos F2 de pimenteiras ornamentais. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, S2967- S2974. 2011.

BASU S. K.; DE, A. K. *Capsicum*: historical and botanical perspectives. In: DE A.K (Ed) **Capsicum**: The genus *Capsicum*. London & New York: Taylor & Francis, 2003. p. 1-15.

BATISTA, M. R. A.; da SILVA FILHO, D. F. Caracterização morfoagronômica de pimentas não pungentes do gênero *Capsicum* spp., da Amazônia. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 8, n. 2, p. 204-211. 2014.

BEN-CHAIM, A.; BOROVSKY, Y.; FALISE, M.; MAZOUREK, M.; KANG, B.; PARAN, I.; JAHN, M. QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. **Theoretical Applied Genetics**, v.113, n.8, p.1481-1490. 2006.

BEN-CHAIM, A.; PARAN, I.; GRUBE, R. C.; JAHN, M., VAN WIJK, R.; PELEMAN, J. QTL mapping of fruit related traits in pepper (*Capsicum annuum*). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, n. 6-7, p. 1016-1028. 2001.

BENSCH, S.; AKESSON, M. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? **Molecular Ecology**, v. 14, n. 10, p. 2899–2914. 2005.

BENTO, C. S.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; MEDEIROS, A. M.; MATHIAS, V. A.; GONÇALVES, L. S. A. Determining the inheritance of agronomic traits in chili pepper. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 367-373. 2016.

BENTO, C. S.; SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; PEREIRA, M. G. Descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 2, p.149-156. 2007.

BHERING, L. L.; CRUZ, C. D. Tamanho de população ideal para mapeamento genético em famílias de irmãos completos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 3, p. 379-385. 2008.

BIANCHETTI L.; CARVALHO, S. I. C. Subsídios à coleta de germoplasma de pimentas e pimentões do gênero *Capsicum* (Solanaceae). In: WALTER B.M.T.; CAVALCANTI T. B. (Ed). **Fundamentos para coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 355-385.

BLUM, E; LIU, K.; MAZOUREK, M.; YOO, E. Y.; JANH, M.; PARAN, I. Molecular mapping of the C locus for presence of pungency in *Capsicum*. **Genome**, v. 45, p. 702-705. 2002.

BONIN, A.; EHRICH, D.; MANEL, S. Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 18, p. 3737-3758. 2007.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; Brasília, DF: Embrapa Café, 2009. 532 p.

BOSLAND, P. W.; VOLTAVA, E. J. **Peppers: vegetable and spice Capsicums**. Wallingford: CABI Publishing, 1999. p. 204.

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers: vegetable and spice Capsicums** (Crop Production Science in Horticulture), v. 12, p. 34-40, 2003.

BRADBURY P. J.; ZHANG Z.; KROON D. E.; CASSTEVENS T. M.; RAMDOSS Y.; BUCKLER E. S. TASSEL: *software* for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics**, v. 23, n. 19, p. 2633-2635. 2007.

BRAND, A., BOROVSKY, Y., MEIR, S., ROGACHEV, I., AHARONI, A., PARAN, I. pc8.1, a major QTL for pigment content in pepper fruit, is associated with variation in plastid compartment size. **Planta**, v.235, n. 3, p.579-588. 2012.

BRASILEIRO, B. P; SILVA, S. A.; SOUZA, D. R.; SANTOS, P. A. OLIVEIRA, R. S.; LYRA, D. H. Genetic diversity and selection gain in the physic nut (*Jatropha curcas*). **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 2341-2350. 2013.

BUSO, G. S. C.; AMARAL, Z. P. S.; BIANCHETTI, L. B.; MACHADO, F. R.; FERREIRA, M. E. 2003. Genetic variability and phylogenetic analysis of Brazilian species of *Capsicum*. **Capsicum Eggplant Newsl**, v. 22, p. 13-16. 2003.

BÜTTOW, M. V.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; HEIDEN, G.; CARVALHO, F. I. F. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1264-1269. 2010.

CAIXETA, F. **Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento, a germinação e o armazenamento em sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e Habanero yellow (*Capsicum chinense*)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

- CARLIER, J. D. D. **Mapeamento genético do ananaseiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill)**. 2006. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade do Algarve, Faro.
- CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Mapas genéticos em plantas. **Bragantia**, v. 61, n. 2, p. 89-100. 2002.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B. **Botânica**. Embrapa hortaliças. 2004. Disponível em: <www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/botanica.htm>. Acesso em: 20 abr. 2016.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B. Botânica e recursos genéticos. In: RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.) **Pimentas *Capsicum***. Brasília: Embrapa Hortaliças. p.39–53. 2008.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; BUSTAMANTE, P. G.; SILVA, D. B. **Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2003. 49 p.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; HENZ, G. P. Germplasm collection of *Capsicum* spp. maintained by Embrapa Hortaliças (CNPH). ***Capsicum and Eggplant Newsletter***, v. 22, p. 17-20. 2003.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A. **Pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2006. 27p. (Embrapa Hortaliças, Documentos 94).
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. D. B.; REIFSCHNEIDER, F. J. Registro e proteção de cultivares pelo setor público: a experiência do programa de melhoramento de *Capsicum* da Embrapa Hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 135-138. 2009.
- CARVALHO, S. I. C.; RAGASSI, C. F.; BIANCHETTI, L. B.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; BUSO, G. S. C.; FALEIRO, F. G. Morphological and genetic relationships between wild and domesticated forms of peppers (*Capsicum frutescens* L. and *C. chinense* Jacquin). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 7447-7464. 2014.
- CASALI, V. W. D.; COUTO, F. A. A. Origem e botânica de *Capsicum*. **Informe Agropecuário**, v. 10, n. 11, p. 8-10. 1984.
- CASTAÑÓN-NAJERA, G.; RAMÍREZ-MERAZ, M.; RUIZ-SALAZAR, R.; MAYEK-PÉREZ, N. Aplicación de marcadores AFLP para explorar heterosis en *Capsicum* spp. **Phyton (Buenos Aires)**, v. 80, n. 1, p. 53-58. 2011.
- CHENG, J.; ZHAO, Z.; LI, B.; QIN, C.; WU, Z.; TREJO-SAAVEDRA, D. L.; LUO, X.; CUI.; RIVERA-BUSTAMANTE, R. F.; LI, S.; HU, K. A comprehensive

characterization of simple sequence repeats in pepper genomes provides valuable resources for marker development in *Capsicum*. **Scientific reports**, v. 6, 2016.

COLLARD, B. C. Y.; JAHUFER, M. Z. Z.; BROUWER, J. B.; PANG, E. C. K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, v. 142, n. 1-2, p. 169-196. 2005.

COON, D. Chili pepper research information dissemination, In: International Pepper Conference, 17, **Proceedings**. Naples: Florida, 2004. p.3.

COSTA, F. R., PEREIRA, T. N. S., VITÓRIA, A. P., CAMPOS, K. P., RODRIGUES, R., SILVA, D. H., PEREIRA M. G. Genetic diversity among *Capsicum* accessions using RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 18-23. 2006.

COSTA, L. V.; LOPES, M. T. G.; LOPES, R.; ALVES, S. R. M. Polinização e fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 2, p. 361-364. 2008.

CROSBY, K. M.; JIFON, J. L.; LESKOVER, D.I; YOO, K. S. Breeding peppers for enhanced beneficial phytochemical compounds. In: International Pepper Conference, 17, **Proceedings**. Naples: Florida, 2004. p.3-4.

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

CRUZ, C. D. GENES: a *software* package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.35, p.271-276. 2013.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005. 394 p.

DANOJEVIĆ, D.; MEDIĆ-PAP, S.; SAVIĆ, A.; ČERVENSKI, J. Fruit traits of pepper genotypes originating from open pollination. **Ratarstvo i povrtarstvo**, v. 53, n. 2, p. 69-73. 2016.

DEKKERS, J.C.M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 1, p. 22-32. 2002.

DeWITT, D.; BOSLAND, P. W. **The complete Chile Pepper Book**. A Gardener's Guide to Choosing, Growing, Preserving and Cooking. Portland London: Timber Press., 2009. 336 p.

DIAS, G. B., GOMES, V. M., MORAIS, T. M. S., ZOTTICH, U. P., RABELO, G. R., CARVALHO A. O., MOULIN, M. M., GONÇALVES, L. S. A., RODRIGUES, R., CUNHA, M. Characterization of *Capsicum* species using anatomical and molecular data. **Genetics and Molecular Research**, v, 12, n. 4, p. 6488-6501. 2013.

DJIAN-CAPORALINO, C.; LEFEBVRE V.; SAGE-DAUBÈZE A.M.; PALLOIX A. *Capsicum*. In: SINGH R.J.; JAUHAR P.P. (Ed). **Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement: Vegetable crops**. Vol 3. Boca Raton: CRC Press/Taylor and Francis Francis Group, p. 186-245. 2007.

DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; FAZARI, A.; SAMSON, M.; GAVEAU, L.; O'BYRNE, C.; LEFEBVRE, V.; CA-RANTA, C.; PALLOIX, A.; ABAD, P. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci Me3 and Me4 conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 103, n. 4, p. 592-600. 2001.

DOGAN, B.; DURAN, A.; HAKKI, E. E. Phylogenetic analysis of *Jurinea* (Asteraceae) species from Turkey based on ISSR amplification. **Annales Botanici Fennici**, v. 44, p. 353-358. 2007.

DUTRA, L. A.; BRANCO, I. G.; MADRONA, G. S.; HAMIÑUIK, W. I. Avaliação sensorial e Influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n. 2, p. 243-251. 2010.

EARL, D. A.; vonHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361. 2012.

EDWARDS, D.; FORSTER, J. W.; CHAGNE, D.; BATLEY, J. What is SNPs? In: ORAGUZIE, N. C.; RIKKERINK, E. H. A.; GARDINER, S. E.; SILVA, H. N. (ed.) **Association Mapping in Plants**. Berlin: Springer, 2007. p. 41–52.

EL-SODA, M.; MALOSETTI, M.; ZWAAN, B. J.; KOORNNEEF, M.; AARTS, M. G. Genotype x environment interaction QTL mapping in plants: lessons from *Arabidopsis*. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 6, p. 390-398. 2014.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the *software* STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620. 2005.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1987. 279 p.

FALEIRO, F.G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FARIA, P. N.; LAIA, G. A.; CARDOSO, K. A.; FINGER, F. L.; CECON, P. R. Estudo da variabilidade genética de amostras de pimenta (*Capsicum chinense* Jacq.) existentes num banco de germoplasma: um caso de estudo. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 17-22. 2013.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Genética de associação em plantas. In: Aluizio Borém; Eveline T. Caixeta. (Ed). **Marcadores Moleculares**. Viçosa: UFV, v. 1, 2006. p. 273-306.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1996. 220 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos da caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.) **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 377-420. 2007.

FINGER, F. L.; LANNES, S. D.; SCHUELTER, A. R.; DOEGE, J.; COMERLATO, A. P.; GONCALVES, L. S. A; FERREIRA, F. R. A.; CLOVIS, L. R.; SCAPIM, C. A. Genetic diversity of *Capsicum chinensis* (Solanaceae) accessions based on molecular markers and morphological and agronomic traits. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 3, p. 1852-1864. 2010.

FLINT-GARCIA, S. A.; THORNSBERRY, J. M.; BUCKLER, E. S. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annuals Reviews in Plant Biology**, v. 54, n. 1, p. 357-374. 2003.

FONSECA, R. M.; LOPES, R. W. S.; LOPES, M. T. G.; FERREIRA, F. M. Morphologic characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. Accessions along the upper Rio Negro – Amazonas. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, n. 3, p. 187-194. 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAOSTAT. 2014. **Production, crops**. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data> >. Acesso em: 20 nov. 2016.

GAIKWAD, A. B.; ARCHAK, S.; GAUTAM, D. DNA profiling of *Capsicum annum* L. cultivars based on AFLP and ISSR markers. **Gene Conserve**, v. 12, n. 49, p. 4-12. 2013.

GAZAFFI, R.; OLIVEIRA, K. M.; SOUZA, A. P.; GARCIA, A. A. F. Sugarcane: breeding and genetic mapping. In: CORTEZ, L.A.B. (Ed) **Sugarcane bioethanol: R&D for productivity and sustainability**. São Paulo: Blucher, 2010. p. 333-344.

GEBHARDT, C. Molecular markers, maps, and population genetics. In: VREUGDENHIL, D. (Ed). **Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p. 77-89.

GOMIDE, M. L.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A. A. Heterose e capacidade combinatória de linhagens de pimentão (*Capsicum annum* L.). **Ciência e agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1007-1015. 2003.

- GONZALES, A.; WONG, A.; DELGADO-SALINAS, A.; PAPA, R.; GEPTS, P. Assessment of inter simple sequence repeat markers to differentiate sympatric wild and domesticated populations of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Crop Science**, v. 45, n. 2, p. 606-615. 2005.
- GONZÁLEZ-PÉREZ, S.; GARCÉS-CLAVER, A.; MALLOR, C.; SÁENZ DE MIERA, L. E.; FAYOS, O.; POMAR, F.; MERINO, F.; SILVAR, C. New Insights into *Capsicum* spp Relatedness and the Diversification Process of *Capsicum annuum* in Spain. **PLoS one**, v. 9, n. 12, p. e116276. 2014
- GRIFFITHS, A. J.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M. **An introduction to genetic analysis**. 7. ed. New York: W. H. Freeman, 706 p.
- GUERRA, N. A. Estudios cromosómicos de cuatro selecciones de *Capsicum chinense* Jacq. **Revista UDO Agrícola**, v. 1, n. 1, p. 34-41. 2001.
- GUPTA, P. K.; RUSTGI, S.; KULWAL, P. L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. **Plant Molecular Biology**, v. 57, n. 4, p. 461-485. 2005.
- HALL, D.; TEGSTRÖM, C.; INGVARSSON, P. K. Using association mapping to dissect the genetic basis of complex traits in plants. **Briefings in Functional Genomics and Proteomics**, v. 9, n. 2, p 157-165. 2010.
- HAMADA, H.; PETRINO, M. G.; KAKUNAGA, T. A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 79, n. 21, p. 6465-6469. 1982.
- HAN, K.; JEONG, H. J.; YANG, H. B.; KANG, S. M.; KWON, J. K.; KIM, S.; CHOI, D.; KANG, B. C. An ultra-high-density bin map facilitates high-throughput QTL mapping of horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum*). **DNA Research**, v. 23, n. 2, p. 81-91. 2016.
- HARDY, O. J. Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterization of isolation-by-distance processes using dominant genetic markers. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 6, p. 1577-1588. 2003.
- HARDY, O. J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular ecology notes**, v. 2, n. 4, p. 618-620. 2002.
- HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. 4. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2007. 565 p.

HEDRICK, P. W. **Genetics of populations**. 4. ed. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers, 2010. 675 p.

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; COUTO, M. E. O.; DE MEDEIROS, A. R. M.; SINIGAGLIA, C. Pimentas e Pimentões do Sul do Brasil: Variedades Crioulas Mantidas pela Embrapa Clima Temperado. **Revista brasileira de agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 841-844. 2007.

HENDERSON, C. R. **Applications of linear models in animal breeding**. Guelph: University of Guelph, 1984. p. 462.

HERNANDEZ-VERDUGO, S.; LUNA-REYES, R.; OYAMA, K. Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Mexico. **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, n. 3-4, p. 129-142. 2001.

HILL, T. A.; ASHRAFI, H.; WO, R. C. S.; YAO, J.; STOFFEL, K.; TRUCO, J. M.; KOZIK, A.; MICHELMORE, R. W.; DEYNZE, A. V. Characterization of *Capsicum annuum* Genetic Diversity and Population Structure Based on Parallel Polymorphism Discovery with a 30K Unigene Pepper GeneChip. **Plos One**, v. 8, n. 2, p. 1-16. 2013.

HILL, W. G.; ROBERTSON, A. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 38, n. 6, p. 226-231. 1968.

HOFFMAN, G. E. Correcting for population structure and kinship using the linear mixed model: theory and extensions. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e75707. 2013.

HUANG, E.; AITKEN, K.; GEORGE, A. Association studies. In: HENRY, R. J.; KOLE, C. (Ed.). **Genetics, genomics and breeding of sugarcane**. New Hampshire: Science Publishers, p. 43-68. 2010.

HUH, J. H.; KANG, B. C.; NAHM, S. H.; KIM, S.; HA, K. S.; LEE, M. H.; KIM, B. D. A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v.102, n.4, p.524–530. 2001.

INCE, A. G.; KARACA, M.; ONUS, A. N. Genetic relationships within and between *Capsicum* species. **Biochemical Genetics**, v. 48, n. 1, p. 83-95. 2010.

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

ISLAM, M. A.; SINHA, P.; SHARMA, S. S.; NEGI, M. S.; NEOG, B.; TRIPATHI, S. B. Analysis of genetic diversity and population structure in *Capsicum* landraces from North Eastern India using TE-AFLP markers. **Plant Molecular Biology Reporter**, p. 1-7. 2016.

JARRET, R. L.; BERKE, T. Variation for fruit morphological characteristics in a *Capsicum chinense* Jacq. germoplasm collection. **HortScience**, v.43, n.6, p.1694-1697. 2008.

JIANG, G. L. Molecular Markers and Marker-Assisted Breeding in Plants. **Plant Breeding from Laboratories to Fields**, p. 45-83. 2013.

JOHNSON, R. C.; NELSON, G. W.; TROYER, J. L.; LAUTENBERGER, J. A.; KESSING, B. D.; WINKLER, C. A.; O'BRIEN, S. J. Accounting for multiple comparisons in a genome-wide association study (GWAS). **BMC genomics**, v. 11, n.1, p. 724. 2010.

KAEUFFER, R.; RÉALE, D.; COLTMAN, D.W.; PONTIER, D. Detecting population structure using STRUCTURE *software*: effect of background linkage disequilibrium. **Heredity**, v. 99, n. 4, p. 374-380. 2007.

KALIA, R. K.; RAI, M. K.; KALIA, S.; SINGH, R.; DHAWAN, A. K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, p. 309–334. 2011.

KANG, H. M.; SUL, J. H.; SERVICE, S. K.; ZAITLEN, N. A.; KONG, S. Y.; FREIMER, N. B.; SABATTI, C.; ESKIN, E. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. **Nature genetics**, v. 42, n. 4, p. 348-354. 2010.

KATO, T. Quantitative trait loci controlling the number of spikelets and components traits in rice: their main effects and interaction with years. **Breeding Science**, v. 54, n. 2, p. 125-132. 2004.

KIM, H. J.; HAN, J. H.; KIM, S.; LEE, H. R.; SHIN, J. S.; KIM, J. H.; CHO, J.; KIM, Y. H.; LEE, H. J.; KIM, B. D.; CHOI, D. Trichome density of main stem is tightly linked to PepMoV resistance in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). **Theoretical and applied genetics**, v. 122, n. 6, p. 1051-1058. 2011.

KING, G. J.; MALIEPAARD, C.; LYNN, J. R.; ALSTON, F. H.; DUREL, C. E.; EVANS, K. M.; GRIFFON, B.; LAURENS, F.; MANGANARIS, A. G.; SCHREVEENS, E.; TARTARINI, S.; VERHAEGH, J. Quantitative genetic analysis and comparison of physical and sensory descriptors relating to fruit flesh firmness in apple (*Malus pumila* Mill.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, n. 7, p. 1074-1084. 2000.

KOETZ, M.; MASCA, M. G. C. C.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V. A.; DE SENA JÚNIOR, D. G.; GOMES FILHO, R. R. Caracterização agrônômica e° brix em frutos de tomate industrial sob irrigação por gotejamento no sudoeste de Goiás. **Revista Brasileira De Agricultura Irrigada-RBAI**, v. 4, n. 1. 2013.

KRISHNAMURTHY, S. L.; PRASHANTH, Y.; RAO, A. M.; REDDY, K. M.; RAMACHANDRA, R. Assessment of AFLP marker based genetic diversity in chilli

(*Capsicum annuum* L. & *C. baccatum* L.). **Indian Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 49-54. 2015.

LACAPE, J. M.; DESSAUW, D.; RAJAB, M. Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs. **Molecular Breeding**, v. 19, n. 1, p. 45-58. 2007.

LANDER, E. S.; WEINBERG, R. A. Journey to the center of biology. **Science**, v. 287, n. 5459, p. 1777-1782. 2000.

LANNES, S. D. **Diversidade em *Capsicum chinense*: Análise química, morfológica e molecular**. 2005. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LANNES, S. D.; FINGER, F. L.; SCHUELTER, A. R.; CASALI, V. W. D. Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. **Scientia Horticulture**, v. 112, n. 3, p. 266-270. 2007.

LANTERI, S.; ACQUADRO, A.; QUAGLIOTTI, L.; PORTIS, E. RAPD and AFLP assessment of genetic variation in a landrace of pepper (*Capsicum annuum* L.), grown in north-west Italy. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 50, n. 7, p. 723-735. 2003.

LANZA, L. L. B.; SOUZA JUNIOR., C. L.; OTTOBONI, L. M. M.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P. Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, n. 8, p. 1023-1030. 1997.

LEE, H. R.; KIM, K. T.; KIM, H. J.; HAN, J. H.; KIM, J. H.; YEOM, S. I.; KIM, H. J.; KANG, W. H.; SHI, J.; PARK, S. W.; BAE, I. H.; LEE, S.; CHO, J.; OH, D.; KIM, B. D. QTL analysis of fruit length using rRAMP, WRKY, and AFLP markers in chili pepper. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 52, n. 6, p. 602-613. 2011.

LEE, J.; PARK, S. J.; HONG, S. C.; HAN, J. H.; CHOI, D.; YOON, J. B. QTL mapping for capsaicin and dihydrocapsaicin content in a population of *Capsicum annuum* 'NB1' × *Capsicum chinense* 'Bhut Jolokia'. **Plant Breeding**, v. 135, n. 3, p. 376-383. 2016.

LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. **Advances in Agronomy**, v.55, p.265-344. 1995.

LEFEBVRE, V.; GOFFINET, B.; CHAUVET, J. C.; CAROMEL, B.; SIGNORET, P.; BRAND, R.; PALLOIX, A. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, n. 5, p. 741-750. 2001.

LEUNG, F. W. Capsaicin-sensitive intestinal mucosal afferent mechanism and body fat distribution. **Life Sciences**, v.83, n. 1-2, p.1-5. 2008.

LIAO, P. Y.; LEE, K. H. From SNPs to functional polymorphism: The insight into biotechnology applications. **Biochemical Engineering Journal**, v.49, n. 2, p.149-158, 2010.

LIN, S. W.; CHOU, Y. Y.; SHIEH, H. C.; EBERT, A. W.; KUMAR, S.; MAVLYANOVA, R.; ROUAMBA, A.; TENKOUANO, A.; AFARI-SEFA, V.; GNIFFKE, P. A. Pepper (*Capsicum* spp.) germplasm dissemination by AVRDC–The World Vegetable Center: an overview and introspection. **Chronica Horticulturae**, v. 53, n. 3, p. 21-27. 2013.

LIU, B. H. **Statistical genomics**. New York: CRC Press, 1998. 610 p.

LIU, W.; MAURER, H. P.; REIF, J. C.; MELCHINGER, A. E.; UTZ, H. F.; TUCKER, M. R.; RANC, N.; DELLA PORTA, G.; WÜRSCHUM, T. Optimum design of family structure and allocation of resources in association mapping with lines from multiple crosses. **Heredity**, v. 110, n. 1, p. 71-79. 2013.

LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; FIGUEIRA, A. V. D. O.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Marcadores moleculares dominantes (Rapl e Aflp). **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 5, n. 29, p. 56-60. 2003.

LU, C.; SHEN, L.; TAN, Z.; XU, Y.; HE, P.; CHEN, Y.; ZHU, L. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments by using a double- haploid population. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, n. 1, p. 145-150. 1997.

LUZ, F. J. F. **Caracterizações morfológica e molecular de acessos de pimenta (*Capsicum chinense* Jacq)**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal – UNESP, Jaboticabal.

LU, Y.; ZHANG, S.; SHAH, T.; XIE, C.; HAO, Z.; LI, X.; FARKHARI, M.; RIBAUT, J. M.; CAO, M.; RONG, T.; XU, Y. Joint linkage–linkage disequilibrium mapping is a powerful approach to detecting quantitative trait loci underlying drought tolerance in maize. **Pnas**, v. 107, n. 45, p. 19585–19590. 2010.

MACKAY, T. F. C. The genetic architecture of quantitative traits. **The character concept in evolutionary biology**, p. 391-411. 2001.

MADAIL, J. C. M.; SCHNEID, L. F.; SIMA, L. F.; WEDT, A. N. **Economia da produção de pimenta vermelha no município de Turuçu-RS**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n.19, 2005. 27p.

MARTINS, K. C.; PEREIRA, T. N. S.; SOUZA, S. A. M.; COSTA, F. R. Meiose e viabilidade polínica em acessos de *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1746-1751. 2010.

MATERSKA, M.; PERUCKA, I. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1750-1756. 2005.

- MENDEL, G. **Experiments in plant hybridization**. Tradução de William Bateson 1901. Disponível em: < <http://www.esp.org/foundations/genetics/classical/gm-65.pdf> >. Acesso em: 14 jun. 2016.
- MICHELAN, V. S.; TREVISAN, R.; SILVA, C. R. M.; SOUZA, R. F.; LUCENO, M.; VANZELA, A. L. L. Morphological and genomic characterization of *Rhynchospora tenuis* complex (*Cyperaceae*) and its taxonomic implications. **Rodriguésia**, v. 63, p. 775-784. 2012.
- MIMURA, Y.; KAGEYAMA, T.; MINAMIYAMA, Y.; HIRAI, M. QTL analysis for resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Capsicum* accession 'LS2341'. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 78, n. 3, p. 307-313. 2009.
- MINAMIYAMA, Y.; TSURO, M.; KUBO, T.; HIRAI, M. QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using a high density SSR-based map. **Breeding Science**, v.57, n. 2, p.129-134. 2007.
- MING, R.; WANG, Y.; DRAYE, X.; MOORE, P. H.; IRVINE, J. E.; PATERSON, A. H. Molecular dissection of complex traits in autopolyploids: mapping QTLs affecting sugar yield and related traits in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, n. 2-3, p. 332–345. 2002.
- MONGKOLPORN, O. SNP Mapping to Locate Anthracnose Resistance in *Capsicum* spp. In: **Proceedings of The Annual International Conference**, Syiah Kuala University-Life Sciences & Engineering Chapter, v. 5, n. 2.
- MOREIRA, G. R.; CALIMAN, F. R. B.; SILVA, D. J. H.; RIBEIRO, C. S. C. Espécies e variedades de pimenta. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 235, p. 16-29. 2006.
- MOREIRA, S. O.; GONÇALVES, L. S. A; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MEDEIROS, A. M. Correlações e análise de trilha sob multicolinearidade em linhas recombinadas de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 1, p. 15-20. 2013.
- MORGAN T. H. Sex limited inheritance in *Drosophila*. **Science**, v. 32, p. 120- 122. 1910.
- MOSCONE, E. A.; SCALDAFERRO, M. A.; GRABIELE, M.; CECCHINI, N. M.; GARCÍA, Y. S.; JARRET, R.; DAVIÑA, J. R.; DUCASSE, D. A.; BARBOZA, G. E.; EHRENDORFER, F. The evolution of chili peppers (*Capsicum – Solanaceae*): a cytogenetic perspective. **Acta Horticulturae**, v. 745, 137-169. 2007.
- MOSES, M.; UMAHARAN, P. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Capsicum chinense*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 137, n. 4, p. 250–262. 2012.

- MOULIN, M. M.; RODRIGUES, R.; BENTO, C. D.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, J. O.; SUDRÉ, C. P.; VIANA, A. P. Genetic dissection of agronomic traits in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 1, p. 2122-2132. 2015.
- MOURA, M. C. C. L.; GONÇALVES, L. S. A.; SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, T. N. S. Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.28, n.2, p.155-161. 2010.
- NASCIMENTO FILHO, H. R; BARBOSA, R. I.; LUZ, F. J. F. Pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia brasileira: II. Hábitos e formas de uso. **Acta amazonica**, v. 37, n. 4, p. 561-568. 2007.
- NASCIMENTO, I. R.; MALUF, W. R.; VALLE, L. A. C.; MENESES, C. B.; GANDOLFI BENITES, F. R. Capacidade combinatória e ação gênica na expressão de caracteres de importância econômica em pimentão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 2, p. 253-262. 2004.
- NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F.; FREITAS, R. A. Produção de sementes de pimentas. **Informe agropecuário**, v. 27, n. 235. P. 30-39. 2006.
- NICOLAI, M.; CANTET, M.; LEFEBVRE, V.; SAGE-PALLOIX, A. M.; PALLOIX, M. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, n. 8, p. 2375-2390. 2013.
- NIMMAKAYALA, P.; ABBURI, V. L.; ABBURI, L.; ALAPARTHI, S. B.; CANTRELL, R.; PARK, M.; CHOI, C.; HANKINS, G.; MALKARAM, S.; REDDY, U. K. Linkage disequilibrium and population-structure analysis among *Capsicum annuum* L. cultivars for use in association mapping. **Molecular genetics and genomics**, v. 289, n. 4, p. 513-521. 2014.
- NUEZ-VIÑALS, F.; DÍEZ, M. J.; RUIZ, J. J.; FÉRNANDEZ de CÓRDOVA, P.; COSTA, J.; CATALÁ, M. S.; GONZÁLEZ, J. A.; RODRIGUEZ, A. **Catálogo de semillas de pimienta**. Madrid: Ministério de Agricultura, Pesca y Alimentación (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria), 1998. 108 p.
- OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M. L. C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.2, p.294-307. 2006.
- ORAGUZIE, N. C.; RIKKERINK, E. H. A.; GARDINER, S. E.; SILVA, H. N. **Association mapping in plants**. New York: Springer, 2007. 277 p.
- PARAN, I.; VAN DER VOORT, J. R.; LEFEBVRE, V.; JAHN, M.; LANDRY, L.; SCHRIEK, M.; TANYOLAC, B.; CARANTA, C.; CHAIM, A. B.; LIVINGSTONE, K.;

- PALLOIX, A.; PELEMAN, J. An integrated genetic linkage map of pepper (*Capsicum* spp.). **Molecular Breeding**, v. 13, n. 3, p. 251-261. 2004.
- PATEL, A. S.; SASIDHARAN, N.; VALA, A. G.; KUMAR, V. Genetic relation in *Capsicum annum* [L.] cultivars through microsatellite markers: SSR and ISSR. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 2, n. 1, p. 67-76. 2011.
- PEREIRA, G. M., FINGER, F. L., CASALI, V. W. D., BROMMONSCHENKEL, S. H. Influência do tratamento com etileno sobre o teor de sólidos solúveis e a cor de pimentas. **Bragantia**, v. 67, n. 4, p. 1031-1036. 2008.
- PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S. Marcadores moleculares no pré-melhoramento de plantas. In BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (Ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, 2006. p.85-106.
- PERRY, L.; DICKAU, R.; ZARRILLO, S.; HOLST, I.; PEARSALL, D.M. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. **Science**, v. 315, n. 5814, p. 986-988. 2007.
- PICKERSGILL, B. Domestication of plants in the Americas: insights from mendelian and molecular genetics. **Annals of Botany**, v. 100, n. 5, p. 925-940. 2007.
- PINTO, C. M. F.; BARBOSA, J. M.; MESQUITA, D. Z.; OLIVEIRA, F.; MAPELI, A. M.; SEGATTO, F. B.; BARBOSA, J. G. Produção e qualidade de pimentas ornamentais comestíveis cultivadas em recipientes de diferentes volumes. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 16, n. 1, p. 113-122. 2010.
- POZZOBON, M. T.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; BIANCHETTI, L. B. Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species: do $x = 12$ and $x = 13$ represent two evolutionary lines? **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, n. 2, p. 259-269. 2006.
- PRICE, L.; PATTERSON, N. J.; PLENGE, R. M.; WEINBLATT, M. E.; SHADICK, N. A.; REICH, D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. **Nature Genetics**, v. 38, n. 8, p. 904–909. 2006.
- PRITCHARD, J. K.; ROSENBERG, N. A. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. **American Journal of Human Genetics**, Houston, v. 65, n.1, p. 220-228, 1999.
- PRITCHARD, J.K.; PRZEWORSKI, M. Linkage disequilibrium in humans: models and data. **American Journal of Human Genetics**, v. 69, n. 1, p. 1-14. 2001.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959. 2000.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; ROSENBERG, N. A.; DONNELLY, P. Association mapping in structured populations. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 1, p. 170-181. 2000.

RAO, G. U.; BEN-CHAIM, A.; BOROVSKY, Y.; PARAN, I. Mapping of yield-related QTLs in pepper in an interspecific cross of *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, n. 8, p. 1457-1466. 2003.

RÊGO, E. R.; RÊGO, M. M.; CRUZ, C. D.; CECON, P. R.; AMARAL, D. S. S.; FINGER, F. L. Genetic diversity analysis of peppers: a comparison of discarding variable methods. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 19-26. 2003.

RÊGO, E. R.; RÊGO, M. M.; CRUZ, C. D.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D. Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 6, p. 909-918. 2011.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Capsicum: Pimentas e Pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 133p.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, v. 37, n. 3, p. 182-194. 2007.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa, 2002. 975p.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 562p.

RESENDE, M. D. V.; LOPES, P. S.; SILVA, R. L.; PIRES, I. E. Seleção Genômica Ampla (GWS) e Maximização da Eficiência do Melhoramento Genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 56, p. 63-77. 2008.

RESENDE, M. D. V. **O Software Selegen – Reml/Blup**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 305p.

RIBEIRO, C. S. C.; HENZ, G. P.; VILELA, N. J.; AMARO, G. B.; MELO, F.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Árvore do conhecimento Pimenta**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. 2011. Disponível em: <
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/pimenta/arvore/CONT000gn05zz5y02wx5ok0liq1mqmbc6m9w.html>>. Acesso em: 21 dez. 2016.

RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Eds.). **Pimentas Capsicum**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. 200p.

RIBEIRO, C. S. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Genética e melhoramento. In: RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.;

REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Pimentas *Capsicum***. Brasília: Embrapa Hortaliças. p. 55-69. 2008.

RIBEIRO, C. S. C.; SOUZA, K. R.; CARVALHO, S. I.; REIFSCHNEIDER, F. J. BRS Juruti: the first Brazilian habanero-type hot pepper cultivar. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 527-529. 2015.

RODRIGUES, R.; COSTA, F. R. Marcadores moleculares em pimenteira. In: RÊGO, E. R., FINGER, F. L., & Rêgo, M. M. (2011). **Produção, genética e melhoramento de pimentas (*Capsicum spp.*)**. Recife: Imprima, 2011. p. 137-164.

RODRIGUEZ, J. M.; BERKE, T.; ENGLE, L.; NIENHUIS, J. Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, n. 1-2, p. 147-156. 1999.

ROSA, J. R. B. F. **Análise do desequilíbrio de ligação e da estrutura populacional do germoplasma brasileiro de cana-de-açúcar**. 2011. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP, Piracicaba.

RUFINO J. L. S.; PENTEADO D. C. S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 235, p. 7-15. 2006.

SAÏDOU, A. A.; CLOTAULT, J.; COUDERC, M.; MARIAC, C.; DEVOS, K. M.; THUILLET, A. C.; AMOUKOU, I. A.; VIGOUROUX, Y. Association mapping, patterns of linkage disequilibrium and selection in the vicinity of the PHYTOCHROME C gene in pearl millet. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, n. 1, p.19–32. 2014.

SANTOS, J.; VENCOSKY, R. Correlação fenotípica e genética entre alguns caracteres agronômicos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Prática**, v.10, n. 3, p.265-272. 1986.

SCHLÖTTERER, C. The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 1, p. 63-69. 2004.

SCHUELTER, A. R.; PEREIRA, G. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; CASALI, V. W. D.; SCAPIM, C. A.; BARROS, W. S.; FINGER, F. L. Genetic control of agronomically important traits of pepper fruits analyzed by Hayman's partial diallel cross scheme. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 1, p. 113-127. 2010.

SEGATTO, F. B. **Avaliação da qualidade "Pós-produção" de pimenta ornamental (*Capsicum annum* L) cultivada em vaso**. 2007. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SEMAGN, K.; BJØRNSTAD, Å; NDJIONDJOP, M. N. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 25, p. 2569-2587. 2006.

- SHIRASAWA, K.; ISHII, K.; KIM, C.; BAN, T.; SUZUKI, M.; ITO, T.; MURANAKA, T.; KOBAYASHI, M.; NAGATA, N.; ISOBE, S.; TABATA, S. Development of *Capsicum* EST–SSR markers for species identification and in silico mapping onto the tomato genome sequence. **Molecular Breeding**, v. 31, n. 1, p. 101-110. 2013.
- SIGRIST, M. S., **Mapeamento associativo de locos relacionados à produtividade de grãos em soja**. 2012. 98fls. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2012.
- SIKORA, B.; NOWACZYK, P. Application of RAPD technique for identification of interspecific hybrids from genus *Capsicum*. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v. 13, n. 1, p. 155-166. 2014.
- SILVA, H. D. **Aspectos Biométricos na detecção de QTLs (“Quantitative Trait Loci”) em espécies cultivadas**. 2001. Tese (Doutorado) - Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, Piracicaba.
- SILVA, A. R.; NASCIMENTO, M.; CECON, P. R.; SAPUCAY, M. J.; do Rêgo, E. R.; BARBOSA, L. A. Path analysis in multicollinearity for fruit traits of pepper. **IDESIA (Chile)**, v. 31, n. 2, p. 55-60. 2013.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (The)**, v. 41, n. 2, p. 237-245. 1981.
- SINGH, P.; CHEEMA, D. S.; DHALIWAL, M. S.; GARG, N. Heterosis and combining ability for earliness, plant growth, yield and fruit attributes in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) involving genetic and cytoplasmic-genetic male sterile lines. **Scientia Horticulturae**, v. 168, p. 175-188. 2014.
- SLATKIN, M. Linkage disequilibrium – understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, n. 6, p. 477-485. 2008.
- SMITH, P. G.; HEISER, C. B. Taxonomy of *Capsicum chinense* Jacq. and the geographic distribution of the cultivated *Capsicum* species. **Bulletim of the Torrey: Botanical Club**. v.84, n.6, p.413-420. 1957.
- SOUSA, J. A., MALUF, W. R. Diallel analysis and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 105-113. 2003.
- SOUZA, S. A. M. **Caracterização citogenética, química e molecular em *Capsicum chinense* Jacq.** 2008. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.

STURTEVANT, A. H. (1913) The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. **Journal of Experimental Zoology**, v. 14, n. 1, p. 43-59. 1913.

SUDRÉ, C. P., CRUZ, C. D., RODRIGUES, R., RIVA, E. M., AMARAL JÚNIOR, A. T., SILVA, D. J. H; PEREIRA, T. N. S. Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 88-93. 2006.

SUDRÉ C. P.; GONÇALVES L. S. A.; RODRIGUES R.; AMARAL JUNIOR A. T.; RIVA-SOUZA E. M.; BENTO C. S. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 1, p. 283-294. 2010.

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

SUN, T.; XU, Z.; WU, C. T.; JANES, M.; PRINYAWIWATKUL, W.; NO, H. K. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.) **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, p. 98-102. 2007.

TANKSLEY, S. D. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme-coding genes in pepper, *Capsicum annuum*. **Chromosoma**, v. 89, n. 5, p. 352-360. 1984.

TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Reviews of Genetics**, v. 27, n. 1, p. 205-233. 1993.

TARANTO, F.; D'AGOSTINO, N.; GRECO, B.; CARDI, T.; TRIPODI, P. Genome-wide SNP discovery and population structure analysis in pepper (*Capsicum annuum*) using genotyping by sequencing. **BMC genomics**, v. 17, n. 1, p. 943. 2016.

TEWKSBURY, J. J.; REAGAN, K.M.; MACHNICKI, N.J.; CARLO, T.A.; HAAK, D.C.; PENÁLOZA, A.L.; LEVEY, D.J. Evolutionary ecology of pungency in wild chilies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, n. 33, p.11808–11811. 2008.

TOQUICA, S. P.; RODRIGUEZ, F.; MARTINEZ, E.; DUQUE, M. C.; TOHME, J. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the Amazon department in Colombia. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 50, n. 6, p. 639-647. 2003.

VASCONCELOS, C. S.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; PRIORI, D.; FISCHER, S. Z.; MISTURA, C. C. Determinação da dissimilaridade genética entre acessos de *Capsicum chinense* com base em características de flores. **Ceres**, v. 59, n. 4, p. 493-498. 2012.

VASCONCELOS, C. S.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; PRIORI, D.; FISCHER, S. Z.; MISTURA, C. C. Distância genética entre variedades crioulas de *Capsicum chinense*. **Magistra**, v.26, n.2, p.178-185. 2014.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992.486p.

VIDIGAL, D. S. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta em função do estágio de maturação dos frutos**. 2008. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VIEIRA, E. A.; NODARI, R. O.; CARVALHO, F. I. F. DE; FIALHO, J. DE F. Mapeamento Genético de Caracteres Quantitativos e sua Interação com o Ambiente. **Documentos /Embrapa Cerrados**, ISSN 1517-5111; 170, p. 28. 2006.

VILELA, N. J., RIBEIRO, C. S. C., MADAIL, J. C. M. **Eficiência técnico- econômico de quatro sistemas de produção de pimentas Capsicum**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008 (Comunicado Técnico, 7)

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIGTRS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Reserach**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414. 1995.

VOTAVA, E. J.; BARAL, J. B.; BOSLAND, P. W. Genetic diversity of chile (*Capsicum annum* var. *annuum* L.) landraces from northern New Mexico, Colorado, and Mexico. **Economic Botany**, v. 59, n. 1, p. 8-17. 2005.

WADT, L. H. O; EHRINGHAUS, C.; KAGEYAMA, P. Y.; Genetic diversity of “Pimenta Longa” genotypes (Piper spp., Piperaceae) of the Embrapa Acre germplasm collection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 74-82. 2004.

WAGNER, C. M. **Variabilidade e base genética da pungência e de caracteres do fruto; Implicações no melhoramento de uma população de *Capsicum annum* L.** 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

WAHYUNI, Y.; BALLESTER, A. R.; TIKUNOV, Y.; DE VOS, R. C.; PELGROM, K. T.; MAHARIJAYA, A.; SUDARMONOWATI, A.; BINO, R. J.; BOVY, A. G. Metabolomics and molecular marker analysis to explore pepper (*Capsicum* sp.) biodiversity. **Metabolomics**, v. 9, n. 1, p. 130-144. 2013.

WANG, L.; WANG, A.; HUANG, X.; ZHAO, Q.; DONG, G.; QIAN, Q.; SANG, T.; HAN, B. Mapping 49 quantitative trait loci at high resolution through sequencing-based genotyping of rice recombinant inbred lines. **Theoretical and applied genetics**, v. 122, n. 2, p. 327-340. 2011.

- WANG, M.; YAN, J.; ZHAO, J.; SONG, W.; ZHANG, X.; XIAO, Y.; ZHENG, Y. Genome wide association study (GWAS) of resistance to head smut in maize. **Plant Science**, v. 196, n. 1, p. 125-131, 2012.
- WIPO. World Intellectual Property Organization International Bureau. In: KOROL, A.B.; RONIN, I.; EBRITVIN, E.; MINKOV, D. (eds.) **System and method for mapping of multiple trait complexes in multiple environments**. Annual Reports. New York, 2001. 50p.
- WRAY, N. R. Allele frequencies and the r^2 measure of linkage disequilibrium: impact on design and interpretation of association studies. **Twin Research and Human Genetics**, v. 8, p. 87-94. 2005.
- WOUW, M. VAN DE; HINTUM, T. VAN; KIK, C.; TREUREN, R. VAN; VISSER, B. Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 120, p. 1241-1252. 2010.
- XU, Q.; BARRIOS, C.A.; CUTRIGHT, T.; NEWBY, B.M. Assessment of antifouling effectiveness of two natural products anti-foulants by attachment study with freshwater bacteria. **Environmental Science and Pollution Research**, v.12, n. 5, p.278-284. 2005.
- YAMAMOTO, S.; NAWATA, E. *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia, and its dispersal routes into Japan. **Economic Botany**, v. 59, n. 1, p. 18-28. 2005.
- YU, J.; BUCKLER, E. S. Genetic Association mapping and genome organization of maize. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 155–160. 2006.
- YU, J.; HOLLAND, J.B.; MCMULLEN, M.D.; BUCKLER, E.S. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. **Genetics**, v.178, n. 1, p. 539-551. 2008.
- YU, J.; PRESSOIR, G.; BRIGGS, W.; VROH, Bi I.; YAMASAKI, M.; DOEBLEY, J.F.; McMULLEN, M. D.; GAUT, B. S.; NIELSEN, D. M.; HOLLAND, J. B.; KRESOVICH, S.; BUCKLER, E. S. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, v. 38, n. 2, p. 203-208, 2006.
- ZAKI, N.; HAKMAOUI, A.; OUATMAN, A.; HASIB, A.; FERNANDEZ-TRUJILLO, J.P. Morphological characterization and quality evaluation of some cultivated paprika morphotypes (*Capsicum annum* L.) from Tadla-Azilal region of Morocco. **Food Science and Quality Management**, v. 17, n. 1, p. 25-33. 2013.
- ZHANG, Y.; XU, L.; ZHANG, D.; DAI, J.; WANG, S. Mapping of southern corn rust-resistant genes in the W2D inbred line of maize (*Zea mays* L.). **Molecular breeding**, v. 25, n. 3, p. 433-439. 2010.
- ZHAO, K.; ARANZANA, M. J.; KIM, S; LISTER, C.; SHINDO, C.; TANG, C.; TOOMAJIAN, C.; ZHENG, H.; DEAN, C.; MARJORAM, P.; NORDBORG, M. An

Arabidopsis example of association mapping in structured samples. **PLoS Genetics**, v. 3, n. 1, p. e4. 2007.

ZHOU, X.; STEPHENS, M. Genome-wide efficient mixed-model analysis for association studies. **Nature genetics**, v. 44, n. 7, p. 821-824. 2012.

ZHU, C.; GORE, M.; BUCKLER, E.S.; YU, J. Status and prospects of association mapping in plants. **Plant Genome**, Madison, v. 1, n. 1, p. 5-20. 2008.

ZIEMS, L. A.; HICKEY, L. T.; HUNT, C. H.; MACE, E. S.; PLATZ, G. J.; FRANCKOWIAK, J. D.; JORDAN, D. R. Association mapping of resistance to *Puccinia hordei* in Australian barley breeding germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, n. 5, p. 1199–1212. 2014.

ZYGIER, S.; CHAIM, A. B.; EFRATI, A.; KALUZKY, G.; BOROVSKY, Y.; PARAN, I. QTL mapping for fruit size and shape in chromosomes 2 and 4 in pepper and a comparison of the pepper QTL map with that of tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, n. 3, p. 437-445. 2005.

APÊNDICES

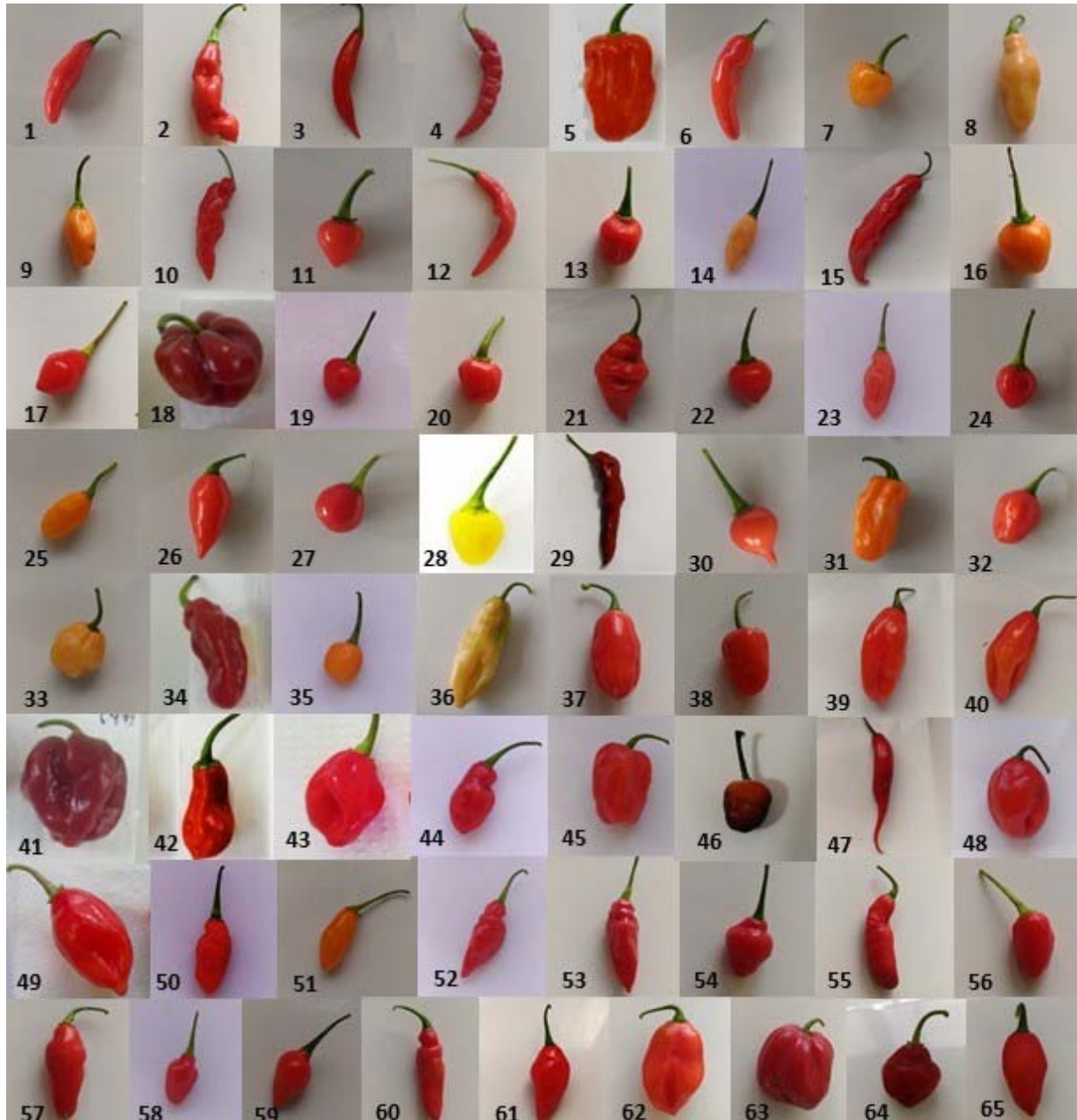
APÊNDICE A

Identificação dos 65 acessos de *Capsicum chinense* pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.

ID	Acesso	Procedência	ID	Acesso	Procedência
Gen_1	MT 71	Mato Grosso	Gen_34	UENF 1726	Bahia
Gen_2	MT 75	Mato Grosso	Gen_35	UENF 1739	Rio de Janeiro
Gen_3	MT 85	Mato Grosso	Gen_36	UENF 1743	Pará
Gen_4	MT 86	Mato Grosso	Gen_37	UENF 1753	Bahia
Gen_5	MT 107	Mato Grosso	Gen_38	UENF 1759	Pará
Gen_6	MT 108	Mato Grosso	Gen_39	UENF 1763	Pará
Gen_7	MT 127	Mato Grosso	Gen_40	UENF 1764	Pará
Gen_8	MT 136	Mato Grosso	Gen_41	UENF 1771	Maranhão
Gen_9	MT 141	Mato Grosso	Gen_42	UENF 1773	Maranhão
Gen_10	MT 145	Mato Grosso	Gen_43	UENF 1781	Maranhão
Gen_11	MT 148	Mato Grosso	Gen_44	UENF 1782	Maranhão
Gen_12	MT 157	Mato Grosso	Gen_45	UENF 1789	Maranhão
Gen_13	MT 158	Mato Grosso	Gen_46	UENF 1791	Maranhão
Gen_14	MT 195	Mato Grosso	Gen_47	UENF 1804	Rio de Janeiro
Gen_15	MT 196	Mato Grosso	Gen_48	UENF 1634 A	Espírito Santo
Gen_16	MT 72 B	Mato Grosso	Gen_49	UENF 1634 AB	Espírito Santo
Gen_17	MT 84 B	Mato Grosso	Gen_50	UENF 1708 A	Maranhão
Gen_18	MT 118 A	Mato Grosso	Gen_51	UENF 1708 B	Maranhão
Gen_19	MT 125 A	Mato Grosso	Gen_52	UENF 1709 A	Maranhão
Gen_20	MT 125 B	Mato Grosso	Gen_53	UENF 1709 AB	Maranhão
Gen_21	MT 144 A	Mato Grosso	Gen_54	UENF 1725 A	Bahia
Gen_22	MT 149 A	Mato Grosso	Gen_55	UENF 1726 A	Bahia
Gen_23	MT 149 AB	Mato Grosso	Gen_56	UENF 1744 A	Pará
Gen_24	MT 149 B	Mato Grosso	Gen_57	UENF 1744 AB	Pará
Gen_25	MT 149 BC	Mato Grosso	Gen_58	UENF 1746 A	Pará
Gen_26	MT 193 A	Mato Grosso	Gen_59	UENF 1746 B	Pará
Gen_27	UENF 1554	Goiás	Gen_60	UENF 1759 A	Pará
Gen_28	UENF 1555	Goiás	Gen_61	UENF 1768 A	Pará
Gen_29	UENF 1615	Minas Gerais	Gen_62	UENF 1768 B	Pará
Gen_30	UENF 1703	Minas Gerais	Gen_63	UENF 1784 A	Maranhão
Gen_31	UENF 1706	Minas Gerais	Gen_64	UENF 1798 AB	Rio de Janeiro
Gen_32	UENF 1720	Bahia	Gen_65	UENF 1798 B	Rio de Janeiro
Gen_33	UENF 1724	Bahia			

APÊNDICE B

Fotos dos 65 acessos de *Capsicum chinense* pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.



APÊNDICE C
Valores genotípicos preditos para sete características agronômicas de 65 acessos
de *C. chinense*.

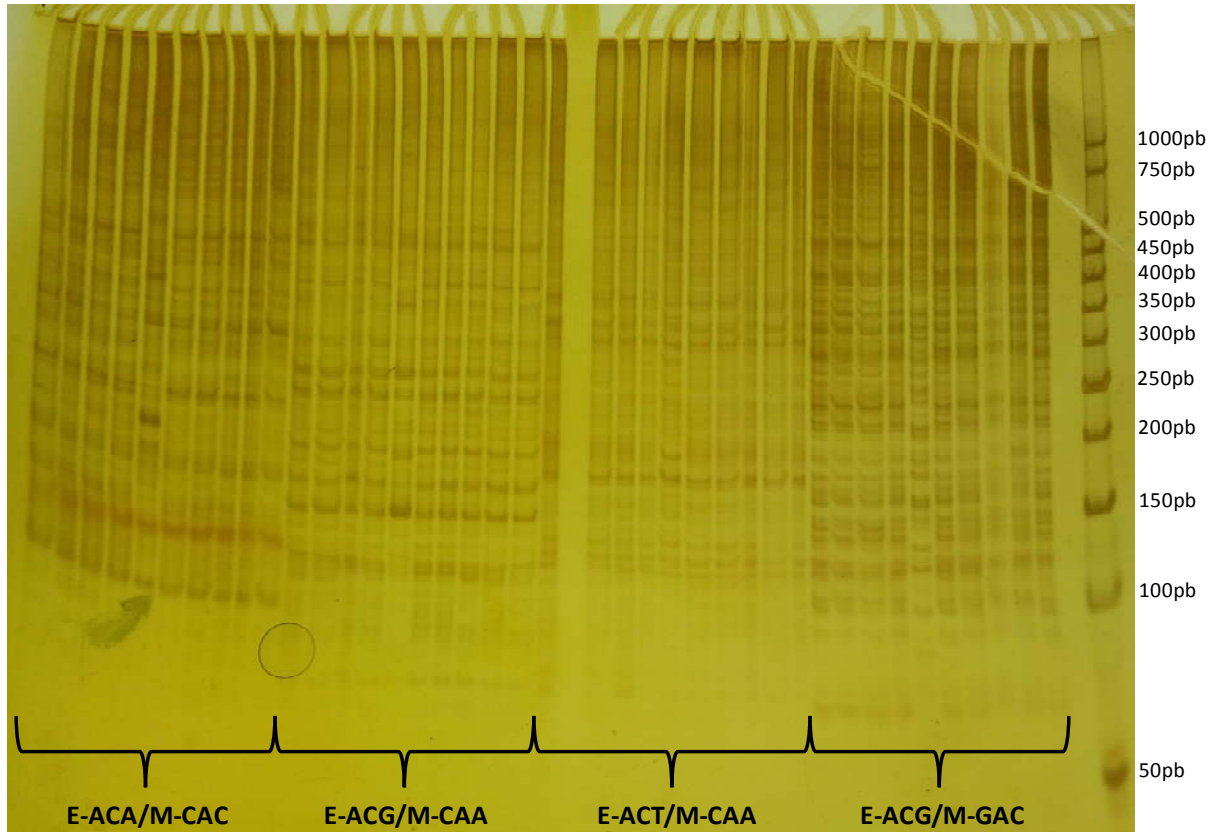
Características agronômicas							
Acesso	CF	DF	EP	MMF	MSF	TMS	TSS
Gen_1	6.24	1.79	0.19	8.30	0.96	18.38	10.56
Gen_2	6.79	2.13	0.21	10.08	1.36	21.22	8.44
Gen_3	8.28	2.27	0.23	13.74	1.50	17.14	9.74
Gen_4	6.35	1.96	0.21	8.77	0.99	17.24	9.39
Gen_5	4.59	2.17	0.23	8.46	1.10	18.81	8.82
Gen_6	7.15	2.56	0.26	14.12	1.47	16.64	8.40
Gen_7	3.54	2.19	0.19	6.55	0.78	20.47	11.02
Gen_8	5.73	2.41	0.24	9.87	1.01	15.38	9.09
Gen_9	4.32	2.25	0.18	6.46	0.71	19.39	9.43
Gen_10	7.95	2.69	0.22	14.96	1.56	16.94	9.12
Gen_11	3.61	1.87	0.21	5.77	0.74	21.38	8.66
Gen_12	5.67	1.81	0.18	7.19	0.75	17.75	9.35
Gen_13	3.57	1.92	0.19	5.70	0.73	21.59	9.02
Gen_14	4.18	1.76	0.18	5.85	0.76	22.42	10.37
Gen_15	9.32	2.62	0.23	16.53	1.67	16.08	8.29
Gen_16	4.00	2.06	0.20	7.84	0.91	19.02	8.37
Gen_17	3.96	2.09	0.19	6.10	0.72	20.29	8.35
Gen_18	4.86	4.04	0.24	19.03	2.01	15.81	8.58
Gen_19	3.68	1.80	0.20	5.48	0.66	18.72	9.15
Gen_20	3.72	2.00	0.18	5.55	0.67	19.13	8.86
Gen_21	6.96	2.78	0.22	12.59	1.27	16.17	8.33
Gen_22	3.76	1.95	0.22	6.36	0.75	19.96	10.14
Gen_23	4.14	1.78	0.18	6.01	0.69	19.69	9.88
Gen_24	3.65	1.88	0.22	6.65	0.84	21.89	8.42
Gen_25	3.92	1.75	0.18	5.41	0.65	19.82	9.58
Gen_26	5.08	2.50	0.24	10.54	1.33	18.28	8.51
Gen_27	3.84	2.35	0.21	8.14	0.87	19.26	9.53
Gen_28	3.50	1.73	0.18	5.34	0.64	14.71	8.76
Gen_29	8.65	2.47	0.21	14.53	1.53	16.83	8.16
Gen_30	4.23	2.07	0.23	7.07	0.77	18.06	8.56
Gen_31	5.87	2.53	0.20	11.03	1.24	17.85	8.14

Acesso	CF	DF	EP	MMF	MSF	TMS	TSS
Gen_32	4.80	2.98	0.21	12.26	1.30	16.26	8.61
Gen_33	4.65	3.17	0.22	11.59	1.06	15.05	8.31
Gen_34	5.80	2.30	0.20	9.67	0.93	15.13	8.20
Gen_35	3.88	1.89	0.18	6.27	0.83	22.38	9.69
Gen_36	5.61	2.65	0.22	11.91	1.12	15.64	8.89
Gen_37	6.63	3.46	0.27	17.47	1.63	14.88	8.22
Gen_38	4.09	2.03	0.17	6.75	0.86	20.12	8.71
Gen_39	7.35	3.25	0.25	17.99	1.80	15.90	8.79
Gen_40	7.61	3.10	0.24	17.01	1.76	15.99	9.96
Gen_41	5.02	4.10	0.23	19.05	1.91	15.21	9.21
Gen_42	4.50	1.85	0.19	6.18	0.66	16.45	9.18
Gen_43	5.27	2.82	0.20	10.78	1.14	16.36	8.99
Gen_44	4.54	2.11	0.20	7.70	0.80	17.96	9.48
Gen_45	5.21	3.04	0.27	13.36	1.40	15.55	8.95
Gen_46	3.80	2.01	0.20	6.96	0.81	18.60	8.18
Gen_47	9.94	2.73	0.24	16.15	1.85	17.04	9.63
Gen_48	5.55	3.83	0.26	18.66	1.71	14.79	8.68
Gen_49	5.95	3.61	0.23	15.42	1.44	14.97	8.25
Gen_50	4.45	1.94	0.18	5.93	0.70	20.84	9.80
Gen_51	4.70	1.91	0.19	7.56	0.79	17.65	9.05
Gen_52	5.35	2.33	0.21	8.61	1.02	18.17	8.49
Gen_53	6.13	2.21	0.20	8.94	1.08	18.49	10.23
Gen_54	4.27	2.23	0.22	6.86	0.70	16.55	8.47
Gen_55	6.48	2.04	0.21	9.30	1.04	17.33	10.69
Gen_56	4.75	2.15	0.20	7.43	0.85	18.91	8.27
Gen_57	4.91	2.38	0.21	9.11	0.90	17.54	9.27
Gen_58	4.05	1.98	0.17	7.31	0.97	21.05	8.74
Gen_59	4.41	1.83	0.19	5.62	0.68	19.54	9.31
Gen_60	5.49	1.84	0.19	7.99	0.94	20.67	10.05
Gen_61	5.41	2.59	0.25	11.30	1.19	16.73	9.24
Gen_62	6.04	3.34	0.26	15.84	1.59	15.47	8.92
Gen_63	5.14	2.92	0.21	12.95	1.22	15.72	8.54
Gen_64	4.36	2.87	0.24	10.30	1.17	17.44	8.11
Gen_65	4.97	2.44	0.25	9.48	0.89	15.30	8.63

CF: comprimento do fruto (cm); DF: diâmetro do fruto (cm); EP: espessura do pericarpo (cm); MMF: massa média do fruto (g); MSF: massa seca do fruto (g); TMS: teor de massa seca (%); TSS: teor de sólidos solúveis (°Brix).

APÊNDICE D

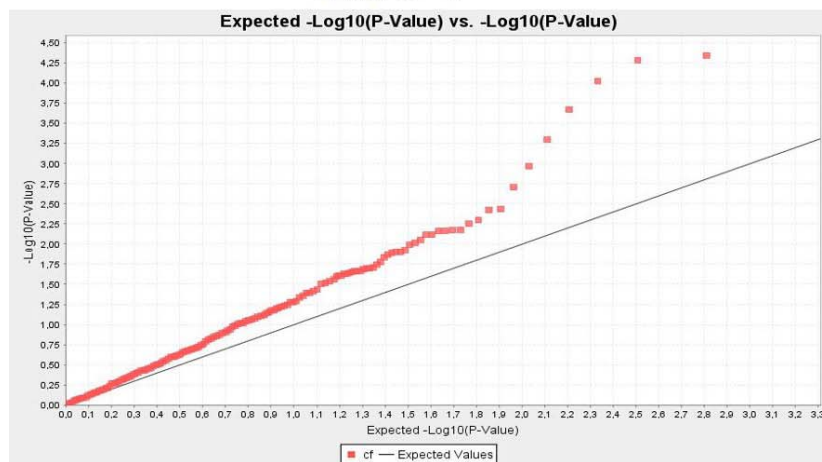
Polimorfismo de AFLP de 10 acessos de *C. chinense*, gerado por quatro diferentes combinações de *primers* seletivos, em gel de poliacrilamida 7%.



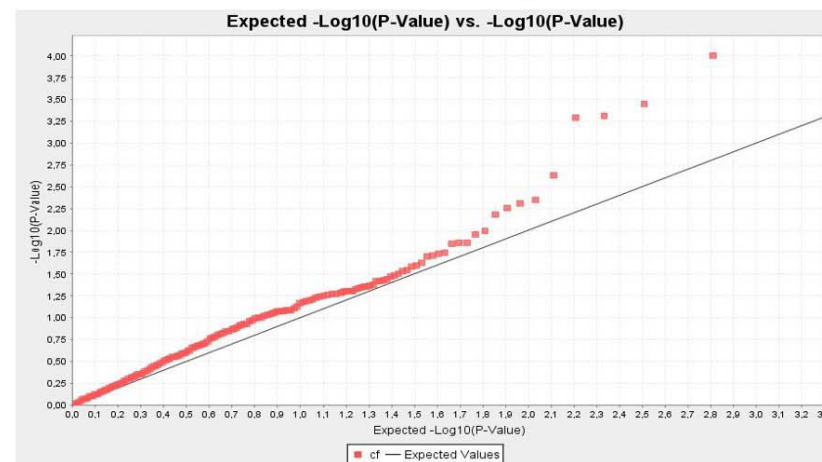
APÊNDICE E

Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Comprimento do Fruto (CF).

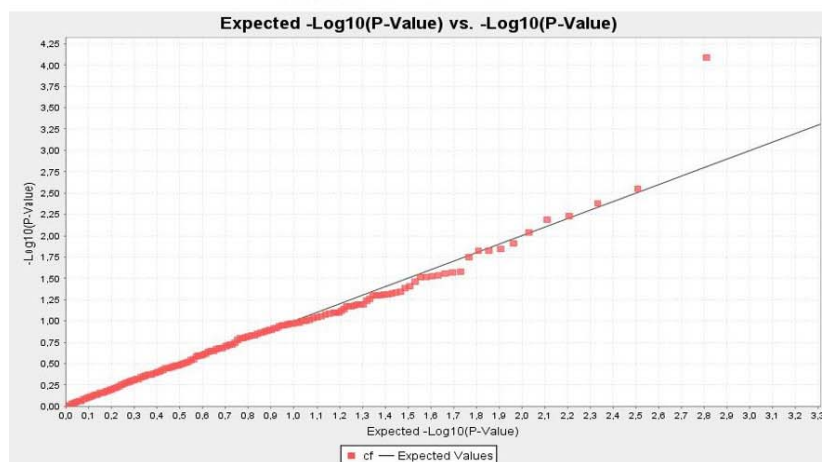
GLM: G + P



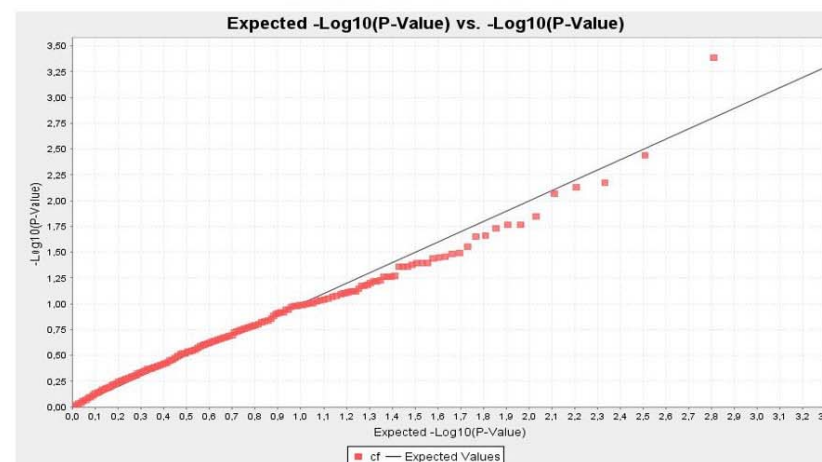
GLM: G + P + Q



MLM: G + P + K



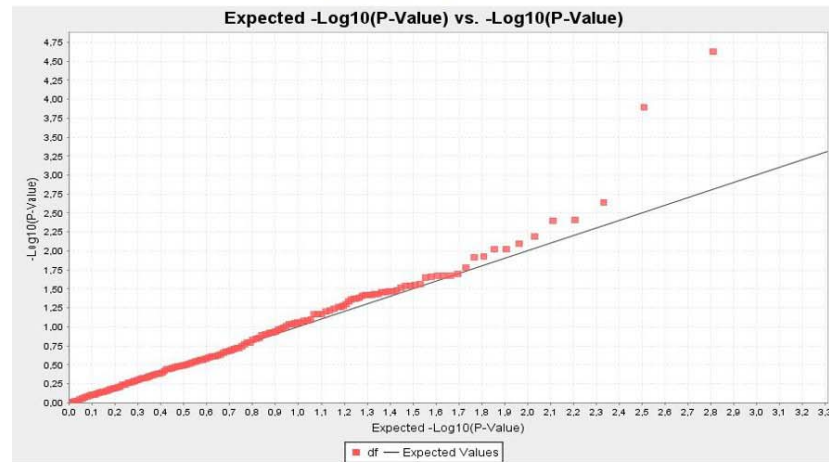
MLM: G + P + Q + K



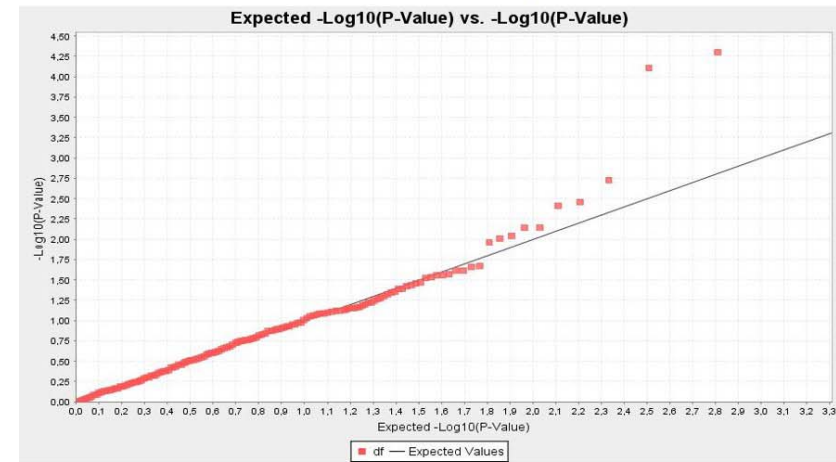
APÊNDICE F

Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Diâmetro do Fruto (DF).

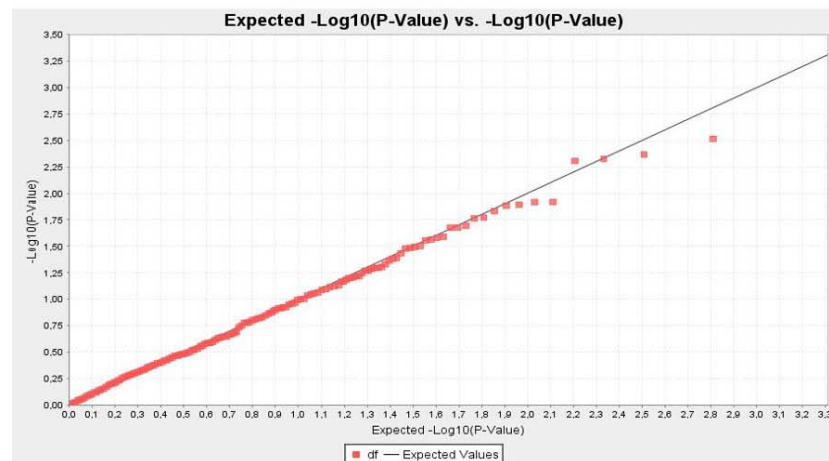
GLM: G + P



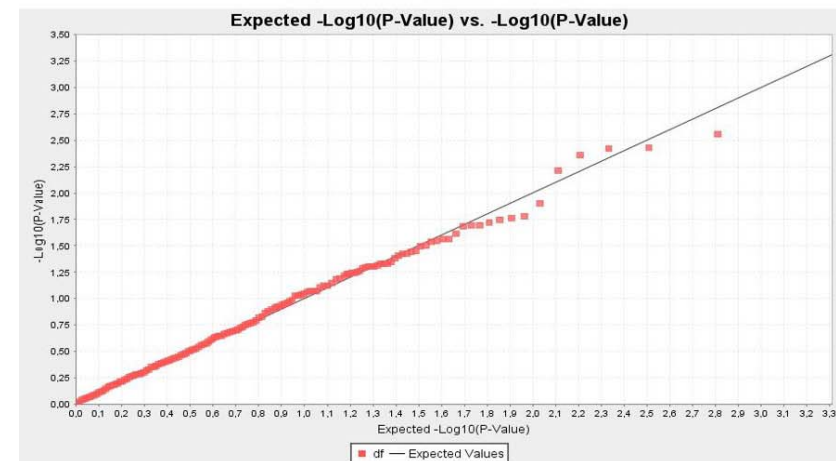
GLM: G + P + Q



MLM: G + P + K

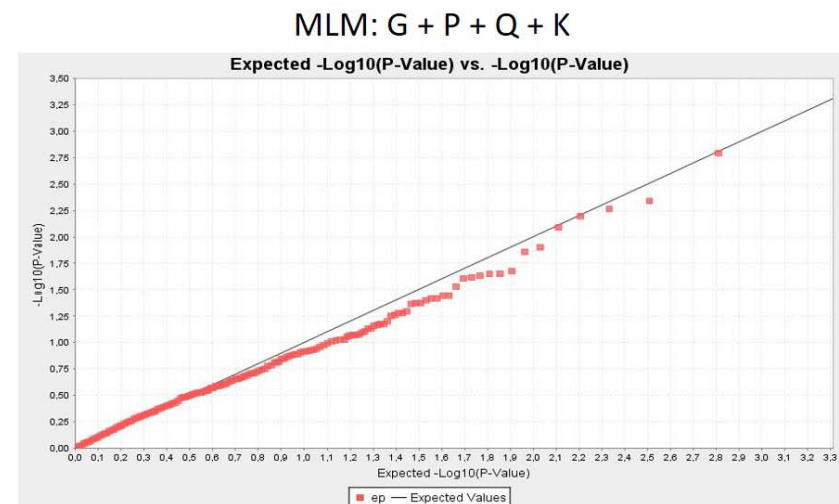
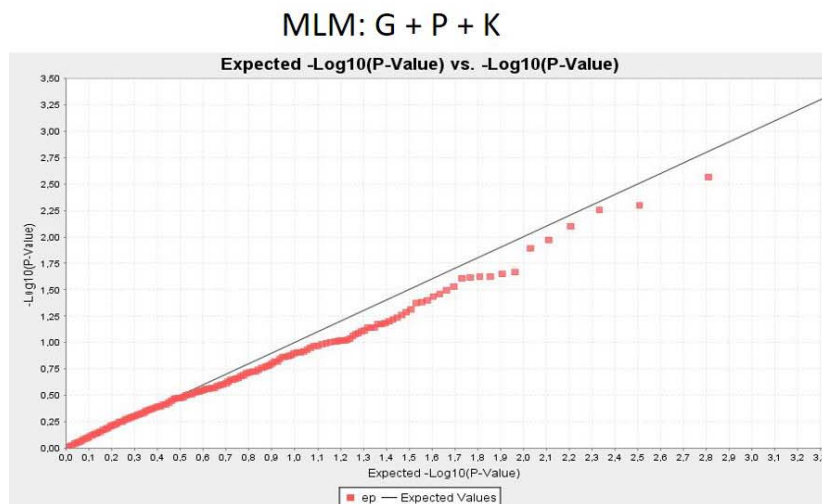
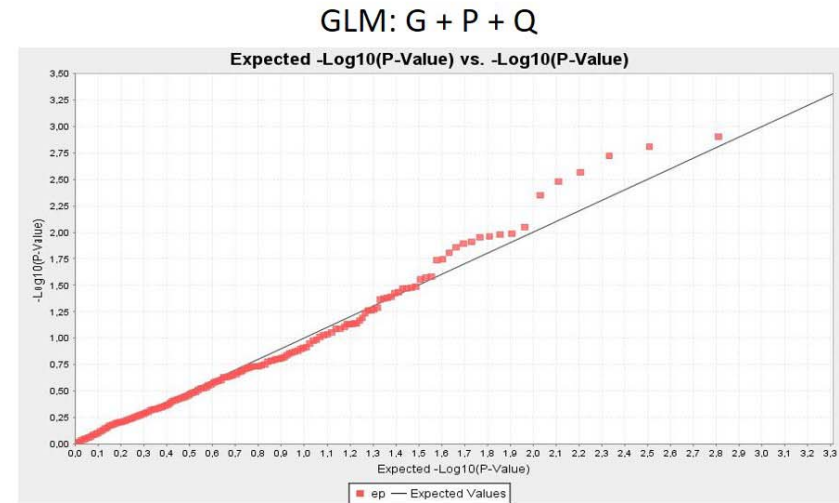
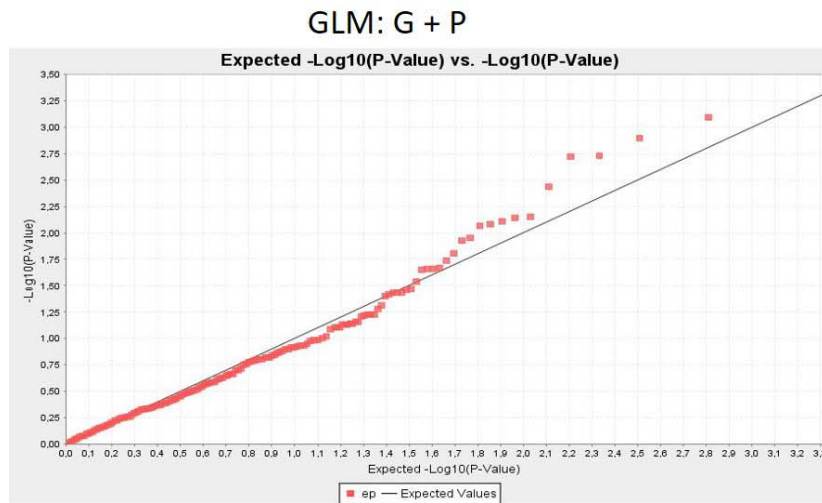


MLM: G + P + Q + K



APÊNDICE G

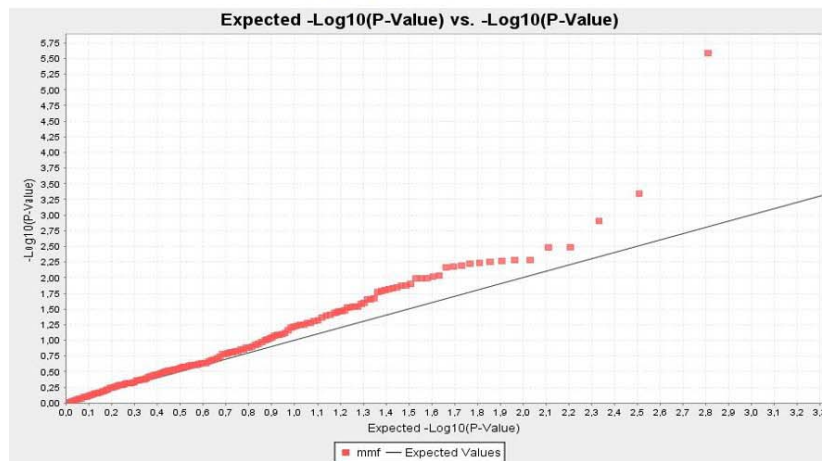
Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Espessura do Pericارpo (EP).



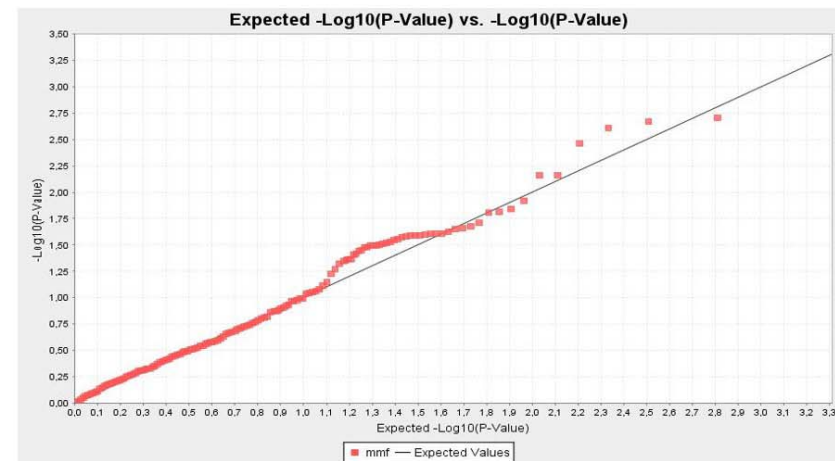
APÊNDICE H

Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Massa Média do Fruto (MMF).

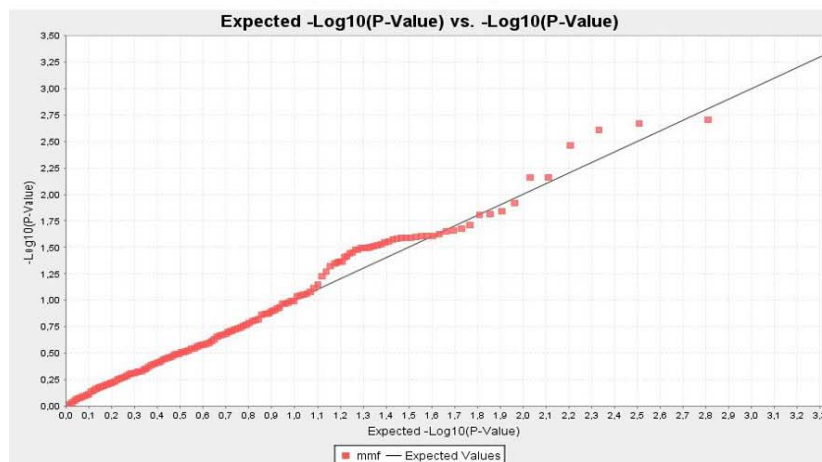
GLM: G + P



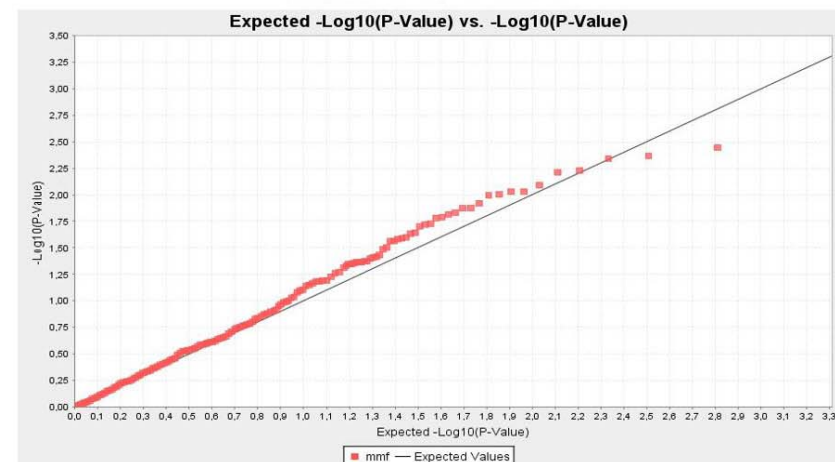
GLM: G + P + Q



MLM: G + P + K

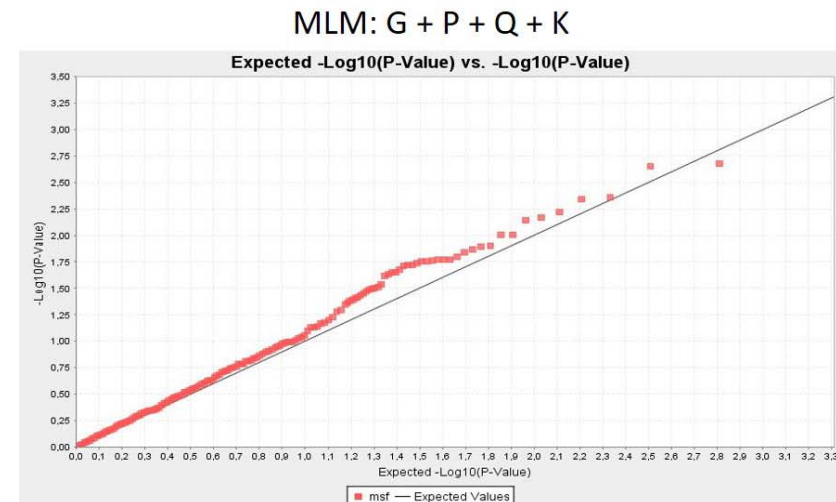
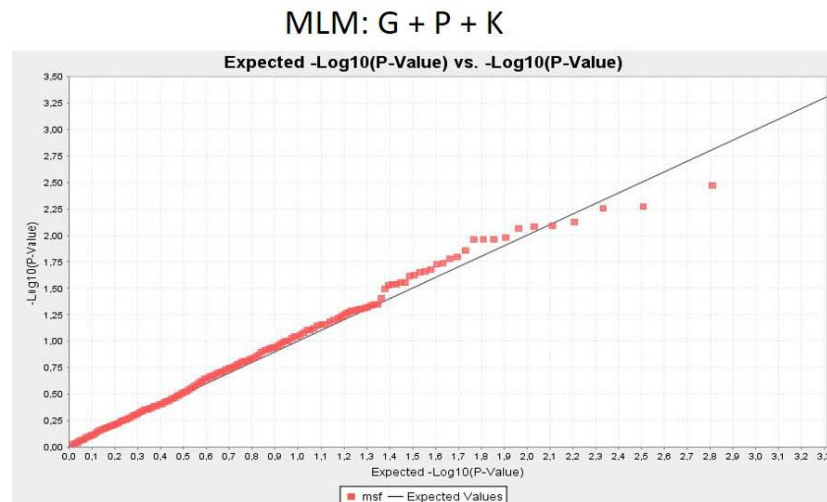
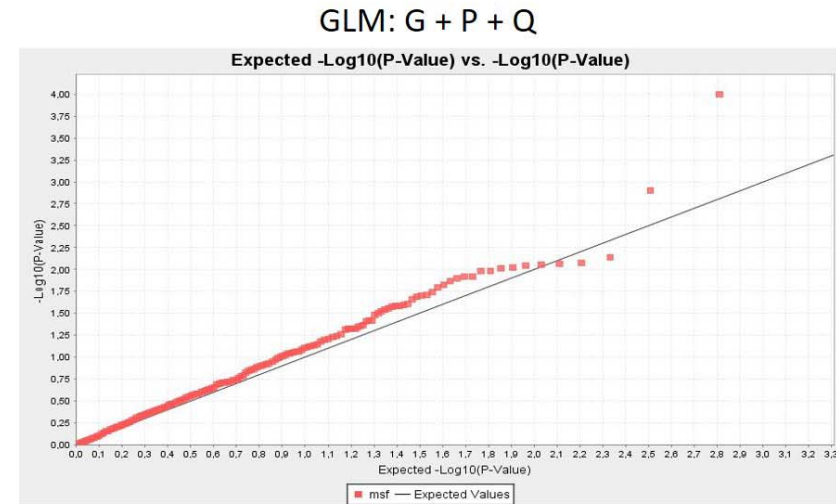
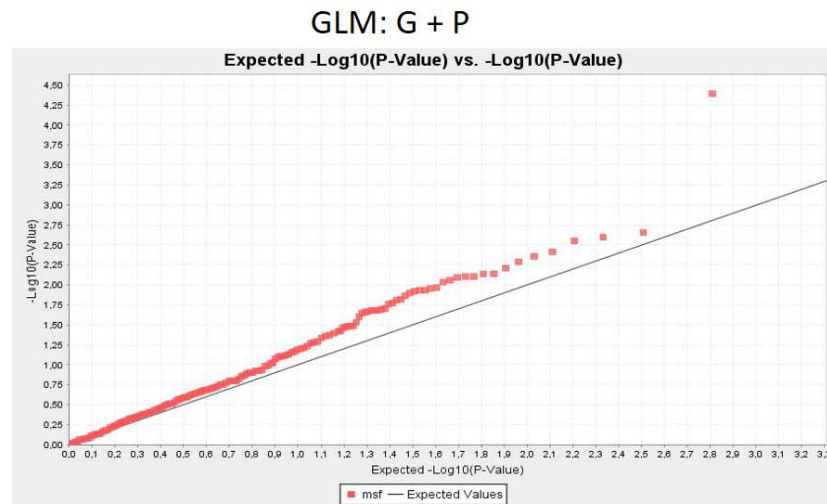


MLM: G + P + Q + K



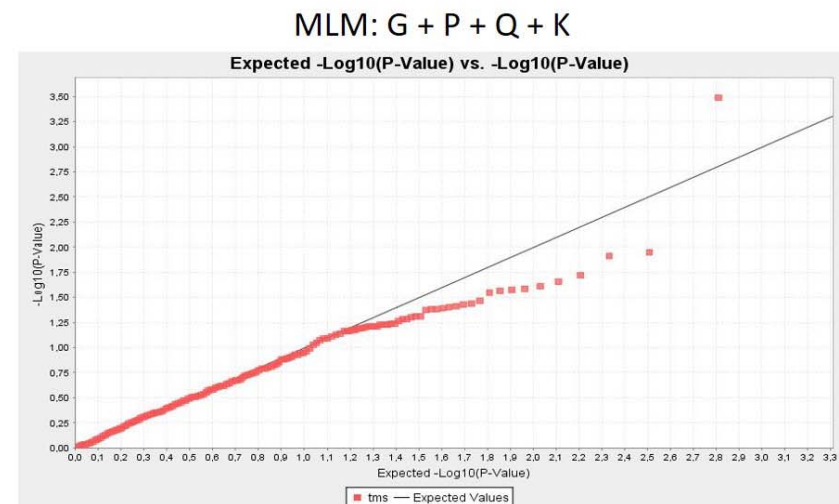
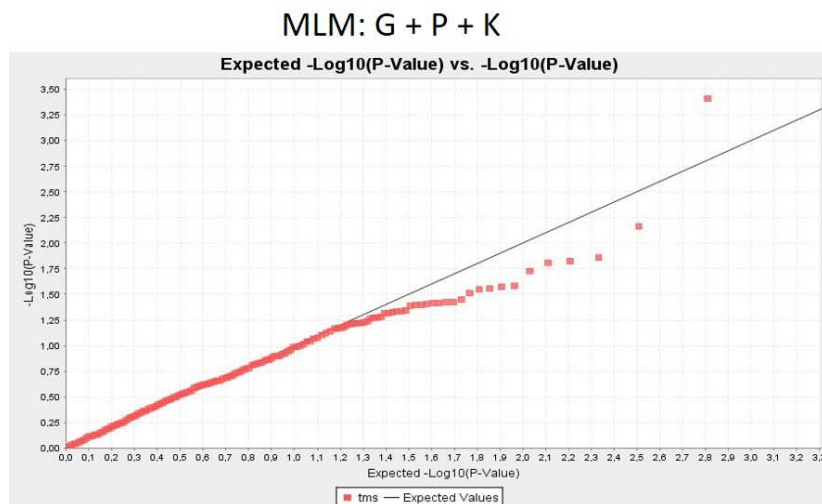
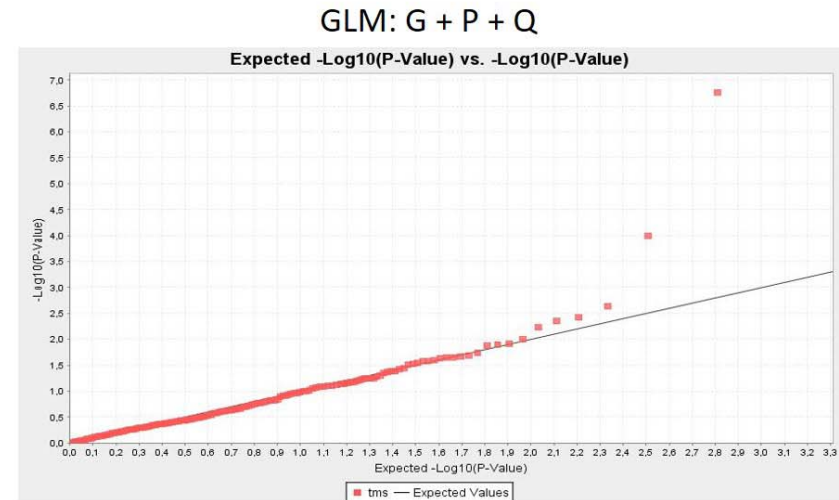
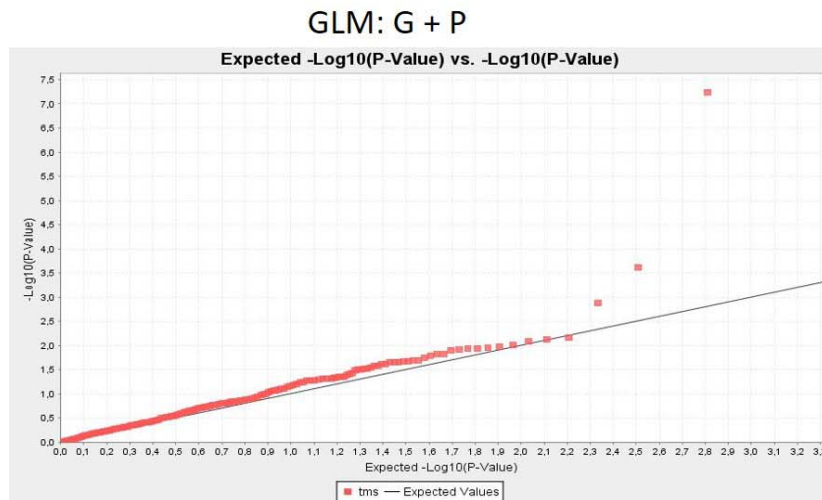
APÊNDICE I

Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Massa Seca do Fruto (MSF).



APÊNDICE J

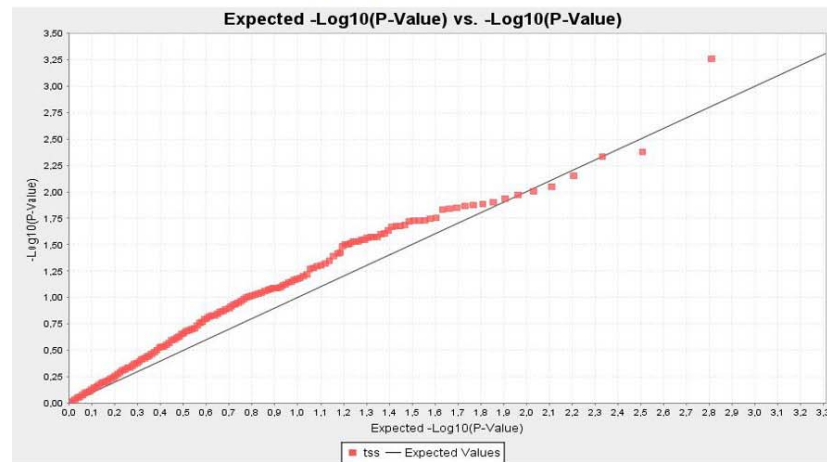
Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Teor de Massa Seca (TMS).



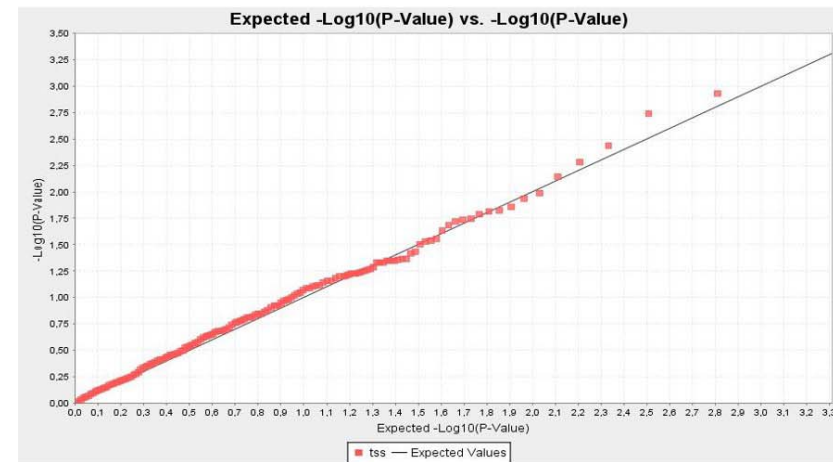
APÊNDICE K

Gráficos Q-Q (Quantil-Quantil) dos valores de significância (p) dos testes de associação utilizando quatro modelos matemáticos para a característica Teor de Sólidos Solúveis (TSS).

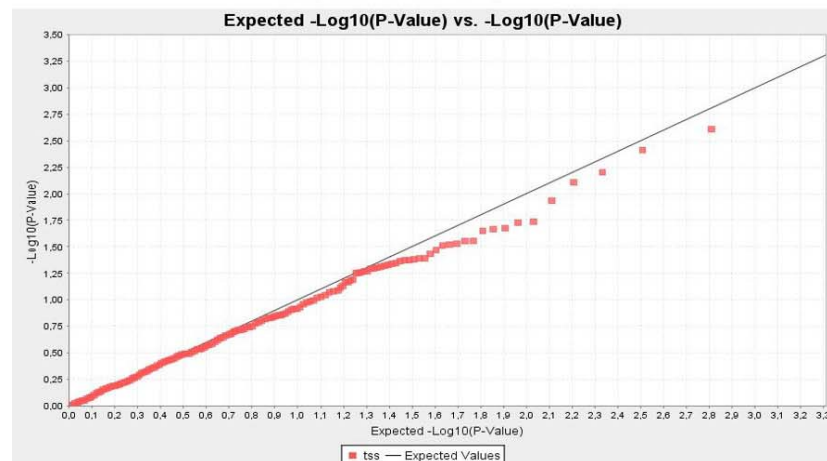
GLM: G + P



GLM: G + P + Q



MLM: G + P + K



MLM: G + P + Q + K

