

CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E ANÁLISE
CITOGENÉTICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE
CAPSICUM

SARA IOLANDA OLIVEIRA DA SILVA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2018

CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E ANÁLISE
CITOGENÉTICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE
CAPSICUM

SARA IOLANDA OLIVEIRA DA SILVA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”

Orientadora: Prof^a. Telma Nair Santana Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

051/2018

S586 Silva, Sara Iolanda Oliveira da.

Caracterização morfoagronômica e análise citogenética de híbridos interespecíficos de *Capsicum* / Sara Iolanda Oliveira da Silva. – Campos dos Goytacazes, RJ, 2018.

67 f. : il.

Bibliografia: 46 – 54.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2018.

Orientadora: Telma Nair Santana Pereira.

1. Meiose. 2. Pimenta. 3. Diversidade Genética. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 635.643

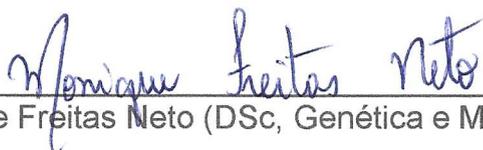
CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E ANÁLISE
CITOGENÉTICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE
CAPSICUM

SARA IOLANDA OLIVEIRA DA SILVA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”

Aprovada em 28 de fevereiro de 2018.

Comissão Examinadora:



Prof.^a Monique Freitas Neto (DSc, Genética e Melhoramento de Plantas) IFF-RJ



Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph. D. Melhoramento de Plantas) - UENF



Dra. Elba Honorato Ribeiro (DSc, Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF



Prof.^a Telma Nair Santana Pereira (Ph.D. Melhoramento de Plantas) - UENF
(Orientadora)

DEDICATÓRIA

A Deus

Agradeço.

Aos meus Pais, com todo o meu amor.

A todos os meus amigos, que dividiram comigo as alegrias e as tristezas.

DEDICO

É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores, mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida.

(Bob Marley)

AGRADECIMENTO

A Deus por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade concedida para a realização do curso de Mestrado.

Aos meus amados pais, Manoel Ivaldo e Francisca, por sempre me apoiarem e me incentivarem para correr atrás dos meus sonhos e por vibrarem a cada conquista.

À minha orientadora, Telma Nair Santana Pereira, que me acolheu (e que teve uma grande paciência), e por cada puxão de orelha, com carinho, a mim dado.

À minha co-orientadora, Elba Honorato, pelo companheirismo no campo e em laboratório, por cada ensinamento.

Aos meus colegas de laboratório, pelos momentos de convivência, e aprendizagem.

Às minhas colegas de laboratório, Lorraine, Larissa e Nádia, que mais que colegas, foram amigas e portos onde podia atracar meu barco nos momentos de mar agitado, obrigada por sempre me estenderem as mãos, por me motivarem e me alegrarem durante esses dois anos, sempre as guardarei em meu coração..

Às minhas amigas nordestinas, Gessica, Samua, Ruth, Selsiane e, é claro, a “paulista/Campista”, Ellen, com vocês eu tive meus melhores momentos, rimos e choramos juntas e sempre as levarei em meu coração.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa.

Aos docentes do Programa de Genética e Melhoramento de Plantas da UENF, pelos ensinamentos concedidos durante toda a realização do curso.

Ao José Daniel, secretário, pela dedicação e comprometimento que tem com cada aluno do programa.

A todos que, de alguma forma, ajudaram-me até aqui.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVO.....	03
2.1. Objetivo Geral.....	03
2.1 Objetivos Específicos.....	03
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
3.1. Aspectos botânicos.....	04
3.2. Complexos gênicos.....	06
3.2.1 Complexo <i>C. annuum</i>	06
3.2.2 Complexo <i>C. baccatum</i>	07
3.2.3 Complexo <i>C. pubescens</i>	08
3.3. Aspectos econômicos.....	08
3.4. Melhoramento Genético.....	09
3.5. Hibridação Interespecífica no gênero <i>Capsicum</i>	10
3.6. Citogenética.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	15

4.1. Material genético e condições de cultivo.....	15
4.2. Caracterização Morfoagronômica.....	16
4.3. Análise estatística.....	21
4.3.1. Anova – Análise de variância.....	21
4.3.2. Teste de médias.....	21
4.4. Análise meiótica dos híbridos.....	22
4.4.1. Meiose.....	22
4.4.2. Frequência de gametas não reduzidos.....	22
4.4.3. Índice Meiótico.....	23
4.4.4 Estimativa da Viabilidade polínica.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1. Caracterização morfoagronômica.....	25
6. Análise Meiótica.....	38
7. CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

RESUMO

SILVA, Sara Iolanda Oliveira; M.Sc.; Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, fevereiro, 2018; Caracterização morfoagronômica e análise citogenética de híbridos interespecíficos de *Capsicum*. Orientadora: Telma Nair Santana Pereira; Conselheiros: Messias Gonzaga Pereira e Alexandre Pio Viana.

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar morfoagronômicamente e analisar o comportamento meiótico de quatro híbridos interespecíficos de *Capsicum* contendo as espécies, *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, *C. frutescens*, *C. chinense* e *Capsicum baccatum* var. *baccatum*; e analisar o comportamento meiótico. Para a caracterização morfoagronômica foram utilizados vinte e seis descritores morfológicos, sendo feita a comparação das médias obtidas para cada variável nas combinações híbridas e para os genitores. Para a análise de características qualitativas e quantitativas, foi possível observar diferenças significativas para todas as características analisadas. Para a análise meiótica botões florais de diferentes estágios de desenvolvimento foram coletados e fixados em etanol e ácido acético (3:1), as lâminas foram preparadas por squash e coradas com Carmim acético 1%. Anormalidades meióticas foram registradas à medida que ocorreram e foram estimados o índice meiótico (IM), Índice de gametas não reduzidos $2n$, índice de recombinação (IR) e a viabilidade polínica. A meiose do híbrido foi anormal, não sendo observados 12 bivalentes na diacinese e presença de anomalias meióticas. O IM para as combinações híbridas variou de 79,95 a 86,6%, o IR variou de 16,06 a 17,46%, para o índice de gametas não reduzidos $2n$

a estimativa variou de 10,35 a 15,84% e a viabilidade polínica para as combinações híbridas variou de 17,9 a 34,85%. Considerando-se os resultados, conclui-se que as espécies apresentam uma considerável distância genética em função do pareamento imperfeito dos cromossomos. Esses resultados estão de acordo com a literatura que classifica as espécies utilizadas nas combinações híbridas em diferentes complexos gênicos. Apesar da baixa viabilidade polínica dos híbridos em estudo (que implicam na baixa produção de sementes) que resultou da sua fertilidade parcial, estes poderão ser utilizados em futuros programas de melhoramento como receptores de pólen.

ABSTRACT

SILVA, Sara Iolanda Oliveira; M.Sc.; Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, fevereiro, 2018; Caracterização morfoagronômica e análise citogenética de híbridos interespecíficos de *Capsicum*. Orientadora: Telma Nair Santana Pereira; Conselheiros: Messias Gonzaga Pereira e Alexandre Pio Viana.

The objectives of this work were to characterize morphoagronomically and to analyze the meiotic behavior of four interspecific hybrids of *Capsicum* containing the species, *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, *C. frutescens*, *C. chinense* and *Capsicum baccatum* var. *baccatum*; and to analyze the meiotic behavior. For the morphoagronomic characterization twenty-six morphological descriptors were used, comparing the means obtained for each variable in the hybrid combinations and for the parents. For the analysis of qualitative and quantitative characteristics it was possible to observe significant differences for all analyzed characteristics. For the meiotic analysis flower buds of different stages of development were collected and fixed in ethanol and acetic acid (3: 1), the slides were prepared by squash and stained with 1% acetic Carmine. Meiotic abnormalities were recorded as they occurred and the meiotic index (MI), unreduced gametes index $2n$, recombination index (RI) and pollen viability were estimated. Hybrid meiosis was abnormal, with no bivalents being present in the diakinesis and presence of meiotic anomalies. The MI for the hybrid combinations ranged from 79.95 to 86.6%, IR ranged from 16.06 to 17.46%, for the index of non-reduced gametes $2n$ the estimate ranged from 10.35 to 15.84% and the pollen viability for the hybrid combinations ranged from 17.9 to

34.85%. Considering the results, it is concluded that the species present a considerable genetic distance due to the imperfect pairing of the chromosomes. These results are in agreement with the literature that classifies the species used in the hybrid combinations in different gene complexes. Despite the low pollen viability of the hybrids under study (which imply low seed production) that resulted from their partial fertility, these could be used in future breeding programs such as pollen recipients.

1. INTRODUÇÃO

As pimentas pertencem ao gênero *Capsicum* família Solanaceae, composta de espécies com grande importância dentre as olerícolas. O gênero *Capsicum* compreende um grupo diverso de pimentas e pimentões originários da região tropical do continente americano; contudo, atualmente são utilizados por um quarto da população mundial (Pickersgill, 1997; Bosland e Votava, 1999; Moreira et al., 2006).

No Brasil, os estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás são os que possuem maior expressividade no cultivo dessas espécies, ocupando lugar de destaque entre as espécies condimentares mais utilizadas, superada apenas pelo alho e cebola (Dias et al., 2008). Apesar da importância do gênero para a agricultura, há vários problemas que o produtor tem que enfrentar no cultivo da sua lavoura. Um desses problemas é a ocorrência de doenças, que acaba causando problemas na produção de frutos. Uma das formas de se combater esses problemas é o desenvolvimento de cultivares resistentes através de programas de melhoramento usando a hibridação interespecífica.

A hibridação interespecífica tem sido utilizada para transferir genes de espécies silvestres e relacionadas, para espécies cultivadas em muitas Solanáceas, principalmente em termos de resistência, porém, em *Capsicum* são poucos os programas de hibridação bem sucedidos em função da falta de conhecimento das barreiras existentes (Yoon et al., 2006). As espécies de *Capsicum* são classificadas em Complexos gênicos; Complexo *annuum*, C.

bacatum e *C. pubescens*. Não são obtidos híbridos férteis quando espécies pertencentes a complexos diferentes são hibridizadas. Isso se dá em função da proximidade genética entre as espécies, que por sua vez é dependente da homologia cromossômica. Para algumas espécies, existem barreiras de incongruidade em cruzamentos interespecíficos que podem manifestar-se antes da fertilização (barreiras pré-zigóticas) e após a fertilização (barreiras pós-zigóticas). Dentre as primeiras, podem ser citadas a falta de germinação dos grãos de pólen no estigma da planta receptora e o crescimento lento dos tubos polínicos em direção ao óvulo. Já entre as barreiras pós-zigóticas, citam-se a morte do embrião causada pela degeneração do endosperma, a falta de vigor e a esterilidade da planta híbrida obtida (Pickersgill, 1991).

Quanto mais próximas geneticamente forem as espécies envolvidas no cruzamento interespecífico maior será a chance do híbrido ser obtido e ser viável ou fértil. Existem várias formas de se estudar a proximidade genética entre duas espécies e uma delas é através da meiose e fertilidade do híbrido interespecífico obtido (Singh, 1993).

Em programas de melhoramento genético de plantas, a análise citogenética é uma das ferramentas usadas para analisar a homologia cromossômica, via análise da meiose e consequente fertilidade do híbrido. Se não houver homologia cromossômica entre os genitores, a transferência gênica entre espécies não se dará, pois não haverá o pareamento entre cromossomos e o crossing over (Brambatti, 2010).

Sendo assim, este trabalho visa à análise de híbridos oriundos do cruzamento entre espécies pertencentes a diferentes complexos gênicos, que possam ser utilizados como híbridos ponte em futuros trabalhos. E a caracterização morfoagronômica e análise citogenética é uma ferramenta que irá ajudar na escolha dos mesmos.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral dessa pesquisa foi caracterizar morfoagronomicamente e analisar o comportamento meiótico de híbridos interespecíficos (HI) obtidos entre espécies de *Capsicum*.

2.1 Objetivos Específicos:

- i. Caracterizar morfoagronômicamente quatro híbridos interespecíficos;
- ii. Analisar o comportamento meiótico dos híbridos;
- iii. Estimar o índice de recombinação dos híbridos em estudo;
- iv. Estimar a frequência de gametas não reduzidos ($2n$) dos híbridos em estudo;
- v. Estimar o índice de meiótico (IM) para os quatro híbridos em estudo;
- vi. Estimar a viabilidade polínica de híbridos interespecíficos e seus parentais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos botânicos

As espécies do gênero *Capsicum* pertencem à Divisão Spermatophyta, Filo Angiospermae, Classe Dicotyledoneae, Ordem Solanales e Família Solanaceae (Andrews, 1995). O gênero é composto por aproximadamente 35 táxons (Moscone et al., 2007; Hill et al., 2013; USDA-ARS, 2014), sendo cinco espécies domesticadas, *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* (Pickersgill, 1997; Moscone et al., 2007). As espécies *C. baccatum* e *C. chinense* são predominantes no Brasil para uso comercial, uma vez que são mais bem adaptadas ao clima equatorial e tropical, com características ideais para o consumo *in natura* (Lannes et al., 2007), além de grande variabilidade de cores e formas dos frutos (Rêgo et al., 2012a).

A forma como crescem e o tamanho das plantas da espécie dependem das condições de cultivo. Possuem sistema radicular pivotante, com número elevado de ramificações laterais, chegando a profundidades de 70-120 cm. As folhas têm coloração, tamanho e forma variáveis. A presença de antocianina pode ser verificada ao longo do comprimento do caule ou nos nós. O fruto é uma baga, de estrutura oca e a forma lembra uma cápsula. As inúmeras formas, colorações, tamanhos e pungências mostram a grande variabilidade existente nos frutos (Carvalho e Bianchetti, 2004). A pubescência do caule e folhas varia de glabra a muito pubescente. As sementes são de cor creme, com exceção de *C. pubescens*,

que tem sementes pretas. A corola é rotada ou raramente campanulada com cores altamente variáveis entre e dentro das espécies (Walsh e Hoot, 2001).

As plantas de *Capsicum* têm flores hermafroditas, com número de pétalas variável, prevalecendo as pentâmeras (Reifschneider, 2000) e auto compatíveis, o que favorece a autopolinização (Rêgo et al., 2012b). Contudo, a polinização cruzada ocorre em níveis que variam de 0,5 a 70% entre e dentro das espécies (Costa et al., 2008).

A única espécie autoincompatível é a *C. cardenassii*, que apresenta flores morfológicamente atípicas para *Capsicum* (Pickersgill, 1997).

A pungência dos frutos, característica do gênero, se deve à presença de substâncias conhecidas como capsaicinoides. Os capsaicinoides são substâncias alcaloides das quais, aproximadamente, 90% encontram-se na placenta dos frutos (Ishikawa, et al., 1988). Já foram identificados 14 capsaicinoides (Zewdie e Bosland, 2000), bem como novas substâncias químicas vêm sendo descobertas em espécies silvestres de *Capsicum* e identificadas como possíveis capsaicinoides. Pun1 é o principal gene responsável pela biossíntese de capsaicinoides, sendo o único loco conhecido até o momento, com efeito quantitativo sobre o acúmulo de pungência (Blum et al., 2002; Lang et al., 2006; Stellari et al., 2010).

A maioria das pimentas mexicanas, pimentas pungentes da África e Ásia e muitas das cultivares de pimenta doce cultivadas em países temperados têm como representantes as espécies de *Capsicum annuum*.

C. annuum tem duas formas botânicas: *C. annuum* var. *annuum*, que inclui pimentas e pimentões, e *C. annuum* var. *glabriusculum*, representada por pimentas ornamentais. *C. annuum* var. *annuum* apresenta como características flores solitárias, corola branca, anteras azuis, ausência de manchas na corola e de constrição anular na junção do cálice com o pedicelo.

C. baccatum, tem duas variedades botânicas: *C. baccatum* var. *baccatum* e a *C. baccatum* var. *pendulum*. *C. baccatum* var. *baccatum* é a forma silvestre da espécie, com ampla distribuição geográfica, sendo encontrada na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Peru, com centro de diversidade/origem na Bolívia/Peru (Eshbaugh, 1970; Jarret et al., 2007). Esta variedade botânica se caracteriza por suas flores brancas com manchas esverdeadas na base, duas a três flores por nó, frutos pequenos, eretos e decíduos (Moreira et al., 2006; Albrecht et al., 2012a; Albrecht et al., 2012b).

A outra variedade, *C. baccatum* var. *pendulum*, é encontrada nas regiões tropicais da América do Sul (Basu e De, 2003) e apresenta corola branca com manchas amareladas ou esverdeadas, anteras amarelas, uma flor por nó, caule ereto, frutos largos ou compridos, pendentes e persistentes (Carvalho et al., 2006; Jarret, 2007; Albrecht et al., 2012a; Albrecht et al., 2012b). Na espécie *C. baccatum* var. *pendulum*, os cálices dos frutos maduros são dentados e não têm constrição anular na junção do pedicelo (Carvalho e Bianchetti, 2004). Segundo Albrecht et al., (2012a), nessa variedade, o tamanho do fruto aumentou como resultado da pressão de seleção humana, o que favoreceu o aumento do peso dos frutos pela seleção indireta para frutos maiores. O nome “*pendulum*”, portanto, refere-se aos frutos pendentes, do latim *pendulus*, que significa pendurado.

A espécie *C. frutescens*, cujo exemplar mais conhecido é a pimenta malagueta, pode ser distinguida das outras espécies por conter de duas a cinco flores por nó, corola paleácea ou branco-esverdeada e por ser altamente ramificada (Vinãls et al., 1996). Na espécie *C. chinense* tem-se a pimenta-de-cheiro, pimenta-de-bode, murici e a habanero (Albrecht et al., 2012a), as quais apresentam frutos com uma constrição anular na junção do cálice com o pedicelo.

3.2 Complexos gênicos

O gênero *Capsicum* é classificado em três complexos gênicos: O Complexo *C.annuum* composto por *C. annum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. galapagoense*. O complexo *C.baccatum* composto por *C. baccatum* e *C. tovarii*. E o complexo *C. pubescens* consiste de *C. pubescens*, *C. cardenasii*, e *C. eximium* (Pickersgill, 1991; Zijlstra et al., 1991). O cruzamento interespecífico entre espécies de um mesmo complexo é tido como possível, o mesmo não acontece para cruzamento entre espécies de complexos diferentes em que podem ocorrer barreiras de pré e pós-fertilização. Cruzamentos interespecíficos no mesmo complexo são relativamente fáceis de serem realizados e, embora as barreiras entre os complexos gênicos possam ser quebradas, raramente isso ocorre na natureza (Eshbaugh, 1993).

3.2.1 Complexo *C.annuum*

As espécies do complexo *C. annuum* são as mais cultivadas, tanto nas Américas como em todo o mundo (Pickersgill, 1997). Todos os acessos apresentam flores brancas ou branco-esverdeadas, além da capacidade de se inter cruzarem, embora a fertilidade de alguns híbridos seja comprometida (Smith e Heiser, 1957). As espécies mais próximas entre si, dentro do complexo, são *C. chinense* e *C. frutescens* (Pickersgill, 1991). Segundo o IPGRI (1995), a principal diferença entre elas é a presença de uma constrição anular no cálice, característica da espécie *C. chinense*.

Capsicum annuum é a espécie mais cultivada e economicamente importante do gênero (Heiser, J.R., 1976). Essa espécie possui duas formas botânicas: *C. annuum var. annuum* (pimentão e pimentas) e *C. annuum var. glabriusculum* (pimenta ornamental) (Viñals et al., 1996). Essa espécie não é bem adaptada às planícies úmidas dos trópicos, onde, pelo menos na América Latina, é substituída por *C. frutescens* e *C. chinense* (Pickersgill, 1997).

Capsicum chinense é a espécie de pimenta mais difundida na América tropical, sendo encontrada na região Amazônica, seu provável centro de diversidade (Bosland, 1999; Reifschneider, 2000). Algumas variedades dessa espécie, encontradas em cultivo na África, são reportadas como as mais pungentes de todas as pimentas (Heiser, J.R., 1976). É, também, muito cultivada nas Índias Ocidentais, norte da América do Sul, na Bacia Amazônica, Peru e Bolívia (Pickersgill, 1971).

C. frutescens tem ampla distribuição nos trópicos, são pimentas extremamente pungentes (Heiser, J.R., 1976), que, aparentemente, possuem uma única forma domesticada, popularmente chamada de “tabasco”. Foi sugerido que *C. frutescens*, em sua forma primitiva, possa ser ancestral de *C. chinense*, visto que as mesmas são muito próximas e, no passado, já foram consideradas como a mesma espécie (Heiser, J.R., 1976; Reifschneider, 2000).

3.2.2 Complexo *C.baccatum*

No complexo *C.baccatum*, encontram-se as espécies *C. baccatum* (Pickersgill, 1991) e *C. tovarii* (Tong e Bosland, 1999). A espécie *C. baccatum* é comumente cultivada na América do Sul, onde, também, é chamada de “aji” (Bosland, 1996). No entanto, essa espécie é pouco conhecida fora do continente

sul-americano (Heiser, J.R., 1976), apesar de ser, também, encontrada no México, na Índia e no Hawaí (Eshbaugh, 1993).

O nome “baccatum” significa fruto igual à baga, fruto pequeno, pois os frutos dessa espécie de pimenta são bem pequenos, arredondados ou ovalados. Existem, dentro desse grupo, cultivares considerados doces (Reifschneider, 2000), além das pimentas mais picantes (tanto frescas quanto secas) dos países andinos (Pickersgill, 1997).

Dentro de *C. baccatum*, existem as variedades botânicas *C. baccatum var. pendulum*, *C. baccatum var. baccatum* (Dewitt e Bosland 1993) *C. baccatum var. pendulum* é representada, no Brasil, pelas pimentas “Dedo-de-moça” e “Cambuci” ou “Chapéu-de-frade”, sendo, preferencialmente, encontrada na Região Sul, mas também tendo boa representatividade na Região Sudeste (Carvalho e Bianchetti, 2008).

3.2.3 Complexo *C. pubescens*

O complexo *C. pubescens* é constituído pelas espécies *C. eximium*, *C. cardenasii* e *C. pubescens* (Choong, 1998). *C. pubescens* tem como região de domesticação uma região subtropical da Bolívia (McLeod et al., 1982; Eshbaugh, 1993). Moscone et al. (2007) sugerem que a região compreendida entre o sul do Peru e norte da Bolívia, a qual inclui as espécies *C. tovarii* e *C. cardenasii*, deve ser o local mais provável de domesticação dessas espécies.

3.3 Aspectos econômicos

No Brasil, a produção de pimentas tem crescido consideravelmente, tanto por suas características de rentabilidade, sobretudo quando há agregação de valor ao produto, quanto por sua importância social, por empregar elevado número de mão de obra, principalmente na época da colheita e processamento (Pinto e Silva, 2006). O cultivo de pimentas e pimentões concentra-se principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, sendo os Estados de Goiás, Bahia, Minas Gerais e São Paulo os principais produtores.

O mercado brasileiro de pimenta vem experimentando grandes mudanças. Novos tipos de pimentas e produtos estão sendo explorados, o que gera produtos

com valor agregado, como pimentas em conserva, compotas exóticas, chocolate com pimenta e outras formas processadas (Rêgo et al., 2012b).

As pimentas são utilizadas principalmente pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (Yamamoto e Nawata, 2005), além de serem utilizadas como plantas ornamentais (Moreira et al., 2006 e Rêgo et al., 2012b). Cada tipo de pimenta possui características que a tornam comercialmente atraente e aceitável aos consumidores, dependendo do modo como será utilizada (Rêgo et al., 2011). Os principais centros de cultivo de pimentas são o Continente Asiático, seguido pelos continentes Africano e Americano. Dentre os países com maior produção mundial destacam-se a China, seguida pelo México, Peru e Indonésia (FAOSTAT, 2013).

Os frutos são consumidos na alimentação como condimento, tanto na forma *in natura* quanto em conservas (Carvalho et al., 2006). No país, a espécie *C. baccatum* var. *pendulum*, conhecida popularmente como pimenta dedo-de-moça é mais consumida, principalmente nas regiões Sul e Sudeste (Carvalho et al., 2003).

3.4 Melhoramento Genético

O melhoramento genético tem sido uma das alternativas mais viáveis para solucionar problemas relacionados à cultura de *Capsicum*, principalmente aqueles referentes a doenças. A hibridação interespecífica é uma ferramenta bastante utilizada na transferência de genes de interesse. Porém, para que essa metodologia tenha sucesso é necessário que as espécies utilizadas sejam geneticamente próximas, ou seja, apresentem adequada homologia cromossômica, minimizando os problemas de incongruidade e, desse modo, viabilizando o híbrido.

De acordo com Pickersgill (1997), os recursos genéticos de *Capsicum* spp. são pouco explorados, visto que existe uma ampla diversidade disponível de espécies domesticadas. Assim, o conhecimento e a organização do germoplasma existente são fundamentais para que haja maior uso dos genótipos disponíveis que possam propiciar contínuo desenvolvimento de cultivares mais produtivas, de maior qualidade e resistentes a doenças.

Dentre os programas nacionais de melhoramento de pimentas *Capsicum* spp. destacam-se o desenvolvimento de cultivares de pimenta doce para páprica e

pimenta picante dos tipos “Jalapeño” e “Cayenne” para molhos líquidos, coordenado pela Embrapa Hortaliças em parceria com empresas do setor privado (Fuchs Agro Brasil Ltda. e Sakura-Nakaya Alimentos Ltda.), (Ribeiro e Cruz, 2003).

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro também desenvolve importante trabalho no melhoramento de plantas, onde trabalhos de caracterização em *Capsicum* spp. avaliam a divergência genética, utilizando descritores morfoagronômicos (Sudré et al., 2006; Bento et al., 2007; Costa et al., 2008 e Moura et al., 2010;), além de estudos citogenéticos (Martins, 2014; Monteiro et al., 2011 e Souza et al., 2003).

A exploração de espécies silvestres e semidomesticadas pode resultar na incorporação de genes de importância agrônômica, resistência a pragas e doenças, entretanto, também, pode resultar na incorporação de características indesejáveis (baixa produtividade, baixa fertilidade, problemas na germinação, frutos decíduos, etc.), inibindo a exploração dessas espécies por parte dos melhoristas (Alves, 2015).

3.5. Hibridação Interespecífica no gênero *Capsicum*

Até a década de 60, os melhoristas se limitaram a programas de hibridação e seleção somente em *C. annuum*. Apesar de Smith e Heiser (1951), destacarem que os primeiros trabalhos envolvendo hibridação interespecífica no gênero *Capsicum* foram feitos relacionando a morfologia e o comportamento de híbridos interespecíficos entre as espécies de *C. annuum* e *C. frutescens*. Após este período, outras espécies, como *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. chacoense* começaram a ser avaliadas como fontes de resistência a bactérias, fungos e vírus, visando à incorporação de características agrônômicas entre os tipos cultivados (Onus e Pickersgill, 2004).

Existe grande variabilidade para diferentes caracteres nas espécies silvestres do gênero *Capsicum* e, embora ainda pouco avaliadas, elas podem ser utilizadas como fonte de genes de interesse para o melhoramento das espécies cultivadas, principalmente resistência a doenças. Um fluxo gênico pode ser mantido entre as espécies melhoradas do gênero *Capsicum* e seus parentes domesticados, semidomesticadas e silvestres, que são portadores de genes de interesse agrônômico como resistência a pragas e doenças, entre outros (Nass et al., 2001).

A introdução de genes que conferem resistência a doenças em *C. annuum*, a partir de outras espécies do gênero, sendo um dos mecanismos mais bem sucedidos para aplicações da hibridação interespecífica dentro do gênero para o melhoramento da cultura (Russo, 2012), como por exemplo, a introgressão de genes de resistência ao vírus TMV de *C. chinense* e *C. chacoense* em *C. annuum* (Pickersgill, 1997).

C. baccatum var. *pendulum*, conhecida popularmente como pimenta dedo-de-moça é uma fonte valiosa para o melhoramento de *C. annuum*. Yoon et al. (2006), por exemplo, fizeram a introgressão da resistência à antracnose de *C. baccatum* para *C. annuum*, superando com sucesso duas barreiras genéticas, o aborto de embrião e esterilidade de híbridos. Embora tenha sido necessário o emprego de técnicas de resgate de embrião, isso evidencia a importância dos recursos genéticos de *C. baccatum* como fonte de resistência.

Portanto, é importante que seja conhecida a viabilidade do cruzamento entre as espécies silvestres e cultivadas para que a hibridação interespecífica possa ser explorada nos programas de melhoramento genético.

O cruzamento entre espécies diferentes do gênero *Capsicum* tem sido realizado com graus de sucesso variados (Nwankiti, 1976; Kumar et al., 1987; Jarret e Dang, 2004; Panda et al., 2004; Baral e Bosland, 2004). Apesar de terem o mesmo número de cromossomos, isso não impede a existência de barreiras de incongruidade entre algumas dessas espécies. E essas barreiras se dão devido a fatores como incompatibilidade unilateral, aborto pós-fertilização e interações núcleo-citoplasmáticas, que levam a macho-esterilidade e outras anormalidades, além da ocorrência de problemas durante a germinação dos grãos de pólen e crescimento do tubo polínico (Pickersgill, 1997). Pickersgill (1993) ainda relata que as fertilizações interespecíficas, frequentemente, falham porque os tubos polínicos são incompatíveis com o pistilo e param de crescer antes de atingirem os óvulos.

Segundo Pickersgill (1991), híbridos interespecíficos obtidos entre *C. annuum* e *C. chinense*, em ambas as direções no cruzamento, são parcialmente férteis. De acordo com Sousa (1987), quando o cruzamento se dá entre as espécies de *C. chinense* e *C. annuum*, os híbridos apresentam maior fertilidade quando *C. annuum* foi utilizado como genitor feminino.

3.6 Citogenética

As espécies de *Capsicum* são diploides, sendo que as cultivadas apresentam $2n=24$ cromossomos e as silvestres $2n=26$ cromossomos (Pozzobon et al. 2006). Considerado o mais importante evento citogenético entre os processos de diferenciação dos organismos, a meiose é o principal responsável pelo sucesso evolutivo da reprodução sexuada em eucariotos. A meiose é um evento de elevada estabilidade durante o processo evolutivo, que resulta na redução do número de cromossomos (Pagliarini, 2000). Na meiose, são produzidas células haploides que permitem que, após a fecundação, o número de cromossomos permaneça igual ao dos pais. É durante a meiose que ocorre também a recombinação dos genes, o evento de grande importância na adaptação das populações e evolução dos seres vivos (Guerra, 1988).

Um processo meiótico anormal pode ocorrer gerando a formação de gametas não reduzidos, que são resultados de uma não redução do número cromossômico. Essa falha na redução pode ocorrer basicamente de duas formas. Na meiose I, pela restituição na primeira divisão, em que os cromossomos não se dirigem para os polos na anáfase, assim, em vez de duas células com número haploide de cromossomos na telófase I, formando uma célula com número diploide; a meiose II, neste caso, ocorre normalmente, porém no lugar da formação de uma tétrade ocorre a formação de uma díade. A outra forma de surgimento dos gametas $2n$ é pela restituição na segunda divisão que ocorre na meiose II, em que há falha da citocinese e restituição de núcleos diploides, onde ocorre a formação de díades ou tríades (Schifino-Wittmann e Dall'agnol, 2001).

Muitos dos genes relacionados à esterilidade têm ação pré-meiótica, pois podem induzir a formação de anteras sem pólen, enquanto outros têm ação pós-meiótica, ou seja, o pólen é formado, mas não se desenvolve. O fenômeno da esterilidade masculina é dado por um complexo sistema de regulação gênica.

Irregularidades meióticas são indesejáveis, pois alteram os genótipos, ocasionando a instabilidade meiótica, característica indesejada por dificultar trabalhos de hibridação em programas de melhoramento (Defani-Scoarize et al., 1996).

Estudos meióticos são de grande relevância, pois explicam fenômenos reprodutivos, mecanismos de hereditariedade e de variabilidade genética nas

espécies. A meiose é a principal fonte de variabilidade genética através do mecanismo de recombinação genética e que pode ser utilizada pelos organismos na adaptação e na perpetuação da espécie (Caetano et al., 2003). O estudo da estabilidade meiótica do grão de pólen permite indicar o potencial para cruzamentos da planta, fornecendo subsídios para usos futuros em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes viáveis (Vargas et al., 2004).

A análise da viabilidade polínica é importante e útil para a condução de experimentos nas áreas agrícola e biotecnológica, pois a mesma possibilita correlacionar anormalidades meióticas à infertilidade do pólen, auxiliando na seleção de materiais genéticos e fazer inferências sobre as direções dos cruzamentos (Techio, 2002).

A viabilidade polínica tem influência direta sobre o sucesso da fertilização, uma vez que o tamanho do fruto, o número de sementes e a percentagem de frutos aumentam, se uma quantidade de grãos de pólen viáveis acima do requerido for depositada sobre o estigma (Dafni, 1992). A viabilidade do pólen fornece informações básicas de aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de programas de melhoramento, além de contribuir em estudos taxonômicos, ecológicos, entre outros (Alexander, 1980; Arroyo, 1981; Guinet, 1989).

Martins (2010), estudando o comportamento meiótico e a viabilidade polínica de quatro acessos das espécies *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum*, observou a ocorrência de uma divisão celular normal, porém algumas anormalidades foram detectadas, tais como: migração precoce dos cromossomos em metáfases I e II, cromossomos retardatários em anáfase I e divisão assincrônica. Os acessos estudados apresentaram um índice meiótico variando de 75,6 a 93,6%, e a viabilidade polínica em todos os acessos foi superior a 90%, demonstrando que as irregularidades meióticas observadas não comprometeram a viabilidade destes.

Ao analisar a viabilidade polínica em híbridos F1 obtidos entre espécies domesticadas de *Capsicum*, Monteiro et al. (2011) observaram que a viabilidade polínica dos acessos foi alta (91,16%), com exceção da viabilidade polínica do acesso representante da espécie *C. pubescens*, com média de 27%. Os híbridos obtidos entre as espécies *C. chinense* Jacq e *C. frutescens* L mostraram uma viabilidade polínica alta, em torno de 94%; enquanto que combinações híbridas

envolvendo *C. baccatum* L var *pendulum* (UENF 1500) x *C. annuum* L var *glabriusculum* (UENF 1576), *C. frutescens* L x *C. baccatum* L var *pendulum* e *C. frutescens* L x *C. annuum* L var *glabriusculum* apresentaram viabilidade polínica baixa, inferior a 50%.

Para assegurar o sucesso do uso de indivíduos superiores selecionados e, principalmente, produzir novas cultivares por meio da recombinação de caracteres pela hibridação controlada, é fundamental que o pólen a ser utilizado tenha boa viabilidade. A instabilidade meiótica, associada às aberrações cromossômicas e a anormalidades genéticas, que resultam na formação de plantas atípicas, macho-estéreis ou incapazes de formação de grãos de pólen, podem prejudicar a produção de sementes, assim como, afetar a polinização (Bione *et al.*, (2000).

Para o melhoramento genético é muito importante analisar a viabilidade do pólen que será utilizado na polinização artificial e em experimentos de melhoramento genético (Stone *et al.*, 1995), assim como compreender os problemas de esterilidade (Rodriguez-riano e Dafni, 2000), sendo para qualquer espécie de planta, essencial para melhoristas e produtores de sementes comerciais (Rigamoto e Tyagi, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material genético e condições de cultivo

Neste estudo foram utilizados quatro híbridos interespecíficos (Tabela.1) obtidos entre *C. baccatum var pendulum* e *C. chinense* (UENF1496 x UENF 1785); *C. baccatum var. pendulum* e *C. frutescens* (UENF1624 x UENF1636); *C. baccatum var. baccatum* e *C.chinense* (UENF1495 x UENF1785) e *C. baccatum var. baccatum* e *C. frutescens* (UENF1495 e UENF1636), obtidos por Ribeiro et al (2016).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na área de convênio entre a UENF e a Estação Experimental do CEPAAAR (Centro Estadual de Pesquisa em Agroenergia e Aproveitamento de Resíduos), na região Norte Fluminense, em Campos dos Goytacazes-RJ. O delineamento experimental foi realizado em blocos ao acaso com três repetições; cada bloco contendo nove tratamentos (híbridos e genitores), cada parcela constituída por cinco plantas.

A semeadura das sementes híbridas foi feita em bandejas de isopor com substrato vegetal Vivatto®, sendo utilizada uma semente de cada genótipo por célula. Sementes dos acessos genitores também foram semeadas nas mesmas condições. Um mês após a semeadura as plântulas foram transferidas para copos plásticos de 300 ml contendo o mesmo tipo de substrato vegetal, permanecendo neste recipiente por um mês quando foram transferidas para vasos de cinco litros

e tendo as plantas sido tutoradas com uma estaca de bambu. Os tratos culturais foram realizados conforme recomendações para a cultura (Figueira, 2000).

Tabela 1. Genótipos utilizados para obtenção dos híbridos interespecíficos em *Capsicum*.

		 x 
UENF 1496 (<i>C.baccatum</i> var. <i>pendulum</i>)	UENF 1785 (<i>C. chinense</i>)	UENF 1496 x UENF 1785
UENF 1495 (<i>C.baccatum</i> var. <i>baccatum</i>)	UENF 1785 (<i>C. chinense</i>)	UENF 1495 x UENF 1785
UENF 1495 (<i>C.baccatum</i> var. <i>baccatum</i>)	UENF 1636 (<i>C frutescens</i>)	UENF 1495 x UENF 1636
UENF 1624 (<i>C.baccatum</i> var. <i>pendulum</i>)	UENF 1636 (<i>C frutescens</i>)	UENF 1624 x UENF 1636

4.2 Caracterização Morfoagronômica

Para a caracterização dos híbridos e dos genitores, foram utilizados descritores recomendados para a espécie conforme o *Internacional Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI, 1995), hoje *Bioversity International* (www.bioversityinternational.org).

Características observadas para planta:

- a) **Hábito de crescimento** (observado no início da maturação dos frutos em 50% das plantas).:
1. Prostrado;
 2. Intermediário;

3. Ereto

- b) **Altura da Planta (AP):** A mensuração do comprimento em centímetros foi feita utilizando-se uma fita métrica, sendo a medição realizada a partir da base do caule até o ponto mais alto da copa, quando 50% das plantas obtiveram o amadurecimento dos primeiros frutos;
- c) **Maior Largura da copa (MLC):** Mensurado em centímetros, utilizando-se uma fita métrica, quando 50% das plantas obtiveram o amadurecimento dos primeiros frutos;
- d) **Comprimento do caule (CCA):** Para mensuração do comprimento do caule foi utilizada uma fita métrica, onde mediu-se da base do caule até a primeira bifurcação, quando 50% das plantas obtiveram o amadurecimento dos primeiros frutos;
- e) **Diâmetro do caule (DC):** A mensuração do diâmetro do caule foi feita na região mediana entre a base do caule e a primeira bifurcação com o auxílio de paquímetro. Quando 50% das plantas obtiveram o amadurecimento dos primeiros frutos.

Características observadas para Flor:

- a) **Comprimento da corola (CC):** Coleta de 10 flores por repetição e mensuração do comprimento em centímetros através do uso de paquímetro;
- b) **Números de Dias para florescimento (DF):** números de dias da emergência das plântulas até que 50% das plantas tenham pelo menos uma flor aberta.
- c) **Número de flores por axila:**
 - 1. Uma;
 - 2. Duas;
 - 3. Três ou mais;
 - 4. Muitas flores em cacho por axila.
- d) **Posição da flor:**
 - 1. Pendente;
 - 2. Intermediária;

3. Ereta.

e) **Cor da corola:**

1. Branca;
2. Amarelo claro;
3. Amarelo;
4. Amarelo esverdeado;
5. Roxo com base branca;
6. Branca com base roxa;
7. Branca com margem roxa;
8. Roxo;
9. Outra.

f) **Cor da mancha da corola:**

1. Branca;
2. Amarela;
3. Amarelada esverdeada;
4. Verde;
5. Roxa;
6. Outra.

g) **Cor das anteras:**

1. Branca;
2. Amarela;
3. Azul pálido;
4. Azul;
5. Roxa;
6. Outra.

Características observadas para Fruto (Foram avaliadas em dez frutos, por repetição, coletados na segunda maturação):

a) **Constrição anular na junção do cálice com o pedicelo:**

1. Ausente;
2. Presente.

b) **Margem do cálice:**

1. Inteira;
2. Intermediária;
3. Dentado;
4. Outros.

c) **Cor do fruto no estágio intermediário:**

- a. Branco;
- b. Amarelo;
- c. Verde;
- d. Alaranjado;
- e. Roxa;
- f. Roxo forte;
- g. Outra.

d) **Cor do fruto no estágio maduro:**

1. Branco;
2. Amarelo;
3. Alaranjado;
4. Vermelho;
5. Roxo;
6. Marrom;
7. Preto;
8. Outra.

e) **Comprimento do fruto (CF):** Foram avaliados 10 frutos na segunda maturação, mensurado em centímetros com auxílio de paquímetro.

f) **diâmetro do fruto (DF):** Foram avaliados 10 frutos na segunda maturação, mensurado em centímetros com auxílio de paquímetro.

g) **Peso do fruto (PF):** C Foram avaliados 10 frutos na segunda maturação e pesagem individual, utilizando-se balança de precisão (massa média dos frutos em gramas).

h) **Ondulação na seção transversal do fruto:** Coleta de 10 frutos na segunda maturação, os frutos foram partidos a partir de 1/3 do pedúnculo, observando-se qual nível de ondulação.

1. Levemente ondulado;

2. Intermediário;

3. Ondulado.

i) **Número de sementes por fruto (NS):** quantidade de sementes que foram coletadas nos 10 frutos da segunda maturação;

j) **Número de lóculos (NL):** Observação dos 10 frutos da segunda maturação (Foi realizado um corte transversal em cada fruto) e observado o número de lóculos;

k) **Formato do Fruto:**

1. Alongado;

2. Quase redondo;

3. Triangular;

4. Campanulado;

5. Quadrado.

l) **Superfície do fruto:**

1. Lisa

2. intermediária;

3. Enrugada.

4.3 Análise estatística

A partir dos dados obtidos dos genitores e suas combinações híbridas foram feitas as análises de variância para todas as características quantitativas avaliadas (AP, MLC, CCA, DC, CF, PF, NS, NL, CC. utilizando-se o programa SAS, versão 9.0

4.3.1. Análise de Variância – Anova

As características avaliadas foram submetidas à análise de variância, seguindo a descrição feita por Cruz et al., (2013), considerando um delineamento de blocos ao acaso, envolvendo g genótipos e b blocos, em que as observações feitas nas parcelas são dadas pelo modelo estatístico:

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

Onde:

Y_{ij}: observação obtida na parcela com i -ésimo genótipo no j -ésimo bloco;

μ : média geral;

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

B_j: efeito do j -ésimo bloco ($j = 1, 2, \dots, b$)

ϵ_{ij} : erro aleatório

4.3.2 Teste de médias

As características avaliadas foram submetidas ao teste de Tukey, que se baseia na amplitude total estudentizada e pode ser utilizado para comparar todo e qualquer contraste entre duas médias de tratamentos.

Onde:

\bar{X} : Média;

Σ : Somatório de todas as médias dos tratamentos;

N: número total de tratamentos.

$$\bar{X} = \frac{\sum}{N}$$

4.4 Análise meiótica dos híbridos

4.4.1 Meiose

Os botões florais de diferentes estádios de desenvolvimento foram coletados e fixados em solução etanol-ácido acético, na proporção de 3:1, por 24 horas. Após esse período, os botões florais foram transferidos para solução de etanol 70% e conservados em geladeira. As lâminas foram preparadas pela técnica *squash*, onde três anteras/botão foram colocadas sobre uma gota de carmim acético a 2%. As anteras tiveram suas extremidades cortadas com o auxílio de um bisturi e em seguida, maceradas com um escalpelo, visando a liberação dos meiócitos. Após a retirada dos debrís e a cobertura do material com uma lamínula, as lâminas foram analisadas com auxílio do microscópio ótico *Olympus BX60* nas objetivas de 60x e 100x de aumento e as fases da meiose analisadas foram capturadas utilizando o *cellSens Standard 1.8* (Olympus).

Para o cálculo do índice de recombinação foram analisadas células em diacinese e metáfase I, onde foi verificada a ocorrência de pareamento cromossômico e número de quiasmas. Foi estimado o Índice de Recombinação conforme a expressão proposta por Darlington (1958):

$$IR = \frac{\text{Número total de quiasmas}}{\text{Número total de células analisadas}} + n(\text{numero háploide de cromossomos}) \times 100$$

4.4.2 Frequência de gametas não reduzidos

Para a frequência de gametas não reduzidos tipo 2n, botões florais foram coletados em solução de etanol ácido acético na proporção de 3:1 por 24h e depois transferidos para solução de etanol 70% e conservados na geladeira. As lâminas, cinco por acesso, foram preparadas a partir da técnica de esmagamento (*squash*), onde anteras foram maceradas e coradas em carmim acético 1%. Tétrade com quatro células de mesmo tamanho foi considerada normal e qualquer desvio (mônade, díade, tríade e políade) foi considerado anormal. Sob microscópio óptico

na obtiva de 40x, foram contabilizados 2000 produtos pós-meióticos, 400 por lâmina para cada acesso.

A frequência foi obtida pela seguinte equação (Yan et al. 1997):

$$2n = \frac{(2 \text{ Díade} + \text{Tríade})}{(2 \text{ Díade} + 3 \text{ Tríade} + 4 \text{ Tétrade})} \times 100$$

Em que: O numerador (2 Díade + Tríade) representa o número total de gametas 2n observados. O denominador (2 Díade + 3Tríad+ 4Tétrade) representa o número total de gametas observados.

4.4.3 Índice Meiótico

Para a estimativa do índice meiótico (IM), conforme Love (1951), os botões florais na pré-antese foram coletados em solução de etanol ácido acético na proporção de 3:1 por 24h e depois transferidos para solução de etanol 70% e conservados na geladeira. No momento de preparo das lâminas, três anteras foram maceradas em solução de carmim acético 2% e observadas sob microscópio, sendo preparadas cinco lâminas. Para a estimativa do índice meiótico foram contados 400 produtos pós-meióticos nas cinco lâminas analisadas, num total de 2000 produtos pós-meióticos. O índice meiótico é estimado pela relação entre o total de tétrades normais e o total de produtos pós-meióticos. Tétrade com quatro núcleos do mesmo tamanho foi considerada normal e qualquer desvio (mônade, díade, tríade e políade) foi considerado anormal.

$$IM = \frac{\text{Número total de tétrades normais}}{\text{Número total de produtos pós - meióticos}} \times 100$$

4.4.4 Estimativa da Viabilidade Polínica

A viabilidade polínica dos híbridos e dos genitores foi estimada via solução tripla de Alexander (Alexander, 1969). Para tal, botões florais na antese foram coletados em solução de etanol 70% e conservados em freezer a 4°C. Na preparação das lâminas, as anteras foram maceradas em uma gota do corante. Para cada genótipo, foram feitas cinco lâminas e em cada lâmina foram contados

400 grãos de pólen, totalizando 2.000 grãos de pólen. Foram considerados viáveis os grãos com formato e tamanho regular e que apresentaram coloração púrpura e considerados inviáveis os grãos de pólen que não apresentavam coloração.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização morfoagronômica

5.1.1. Características quantitativas

Diferenças significativas a 1% de probabilidade ($p < 0,01$) foram observadas para as características quantitativas de planta, fruto e flor, pelo teste F, evidenciando a variabilidade entre os parentais e os híbridos interespecíficos avaliados (Tabela 2).

Para as características avaliadas nesse trabalho, os coeficientes de variação oscilaram entre baixo (4,74%) para comprimento da corola (CC), médio (10,58%) para comprimento do fruto (CF), e alto (24,89%) para peso do fruto (PF), como pode ser observado na Tabela 2. De acordo com Fonseca e Martins (1996), em ensaios agrícolas de campo, valores inferiores a 10% são considerados baixos, entre 10 e 20% médios, e acima de 20% altos, mediante o exposto para as características de planta, o CV% foi considerado baixo, inferindo uma alta precisão experimental, visto que essa classificação varia conforme a característica estudada.

Souza e Maluf (2003) registraram em híbridos *Capsicum chinense* um coeficiente de variação para comprimento de fruto e diâmetro de fruto de 8,05% e 12,06%, considerados baixos e medianos, respectivamente. Sudré (2003), fazendo a caracterização agrônômica de uma população de *Capsicum spp.*, encontrou valores de coeficiente de variação para diâmetro do fruto igual a 6,93%. Monteiro

et al. (2011) encontraram coeficiente de variação de 8,9% para diâmetro de fruto, para híbridos interespecífico de *Capsicum annuum* L var. *glabriusculum* e *C. baccatum* var *pendulum*. O valor em porcentagem para diâmetro do fruto encontrado neste trabalho foi diferente aos demais trabalhos (5,25%), porém próximo ao valor obtido por Sudré (2003).

As médias para as características de planta, fruto e flor foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 3). Para Altura de Planta (AP) e Maior Largura da Copa (MLC), a combinação híbrida que apresentou a maior média foi UENF1496 x UENF 1785 (*Capsicum baccatum* var. *pendulum* x *C. chinense*), com valores médios de 118, 43 cm e 188, 86 cm, respectivamente, não diferindo da média do genitor feminino (UENF 1496) para ambas características.

De acordo com Lopes et al. (2016), o conhecimento da característica AP auxilia pesquisadores e produtores no planejamento do cultivo das pimentas, pois plantas mais baixas, geralmente, não precisam de tutoramento, gerando menor custo para o produtor. O caráter MLC deve ser levado em conta no planejamento do plantio, pois ele influencia diretamente na determinação do espaçamento a ser utilizado.

Para a característica Comprimento do Caule (CCA), as maiores médias foram obtidas pelas combinações híbridas UENF 1624 X UENF 1636 e UENF 1495 X UENF 1636, com valores médios 42,58 cm e 42,45 cm, respectivamente, nos quais as médias não se diferiram do genitor masculino (UENF 1636) em comum. Já para a característica Diâmetro de Caule (DC) não houve diferença significativa entre todas as combinações híbridas avaliadas.

O híbrido obtido entre UENF 1495 X UENF 1785 apresentou a maior média entre as combinações híbridas avaliadas para as características Comprimento do Fruto (CF) com 2,70 cm e Diâmetro do Fruto (DF) de 2,07 cm. Essa combinação híbrida também apresentou as maiores médias para as características Peso do Fruto (PF) e Número de Semente (NS), com valor médio de 3,86 g e 3,46, respectivamente. Observou-se que o número de sementes para todos os híbridos estudados foi inferior ao número de sementes dos seus genitores, indicando, assim, algum problema na fertilidade dessas combinações.

Tabela 2. Resumo da Análise de Variância para as características quantitativas dos caracteres da planta, fruto e flor, obtidas através do estudo dos genitores e híbridos. UENF, Campos dos Goytacazes, 2018.

QUADRADO MÉDIO PLANTA						QUADRADO MÉDIO FLOR e FRUTO					
FV	GL	AP	MLC	CCA	DC	CF	DF	PF	NS	NL	CC
Repetição	2	295,52	250,43	21,57	0,033	0,107	0,012	1,067	2,96	0,019	0,003
Tratamentos	8	2004,88**	6195,25**	227,45**	0,104**	12,025**	2,67**	75,62**	1948,56**	1,499**	0,159**
Erro	16	40,55	55,35	10,31	0,008	0,119	0,008	1,58	32,231	0,024	0,005
CV%		6,86	6,57	9,55	5,84	10,58	5,25	24,87	21,041	6,39	4,74
□		92,70	113,15	33,62	1,58	3,25	1,75	5,06	26,98	2,43	1,51

FV = Fonte de variação; G.L= Grau de liberdade; AP= altura de planta (cm); MLC = maior largura da copa (cm); CCA = comprimento do caule (cm); DC= diâmetro do caule (cm); CF= comprimento do fruto; DF= diâmetro do fruto; PF= peso médio do fruto; NS= número de sementes; NL= número de lóculos; CC= comprimento da corola; C.V %= coeficiente de variação e □ = média; **significativos a 1% de probabilidade, pelo teste F.

O híbrido UENF 1496 X UENF 1785 teve médias semelhantes ao genitor feminino para as características AP, MLC, CF e PF. As médias foram iguais no híbrido e genitores nas características DC, NL e CC. Porém foram diferentes para DF e, principalmente, número de sementes. Para a característica CCA, o valor observado no híbrido foi intermediário a média dos dois genitores (Tabela 3).

O híbrido UENF 1495 X UENF 1785 teve médias iguais estatisticamente ao genitor feminino para as características NL e CC. Para toda de planta, as médias do híbrido foram similares às médias do genitor masculino. As médias dos genitores e do híbrido diferiram para todas as características do fruto, com exceção do número de lóculos (Tabela 3).

Os híbridos UENF 1495 X UENF 1636 teve médias semelhantes ao genitor feminino para CCA e DC. Entretanto, para todas as características do fruto, exceto NS, as médias foram similares ao genitor masculino. Para as características AP, MCL, NL, CC e, principalmente, número de sementes, o híbrido difere dos seus genitores.

UENF 1624 X UENF 1636 teve médias iguais às médias obtidas pelo genitor feminino para DC e CC. Porém, para todas as características de fruto, exceto para NS, as médias foram semelhantes às médias do genitor masculino. O híbrido difere das médias dos seus genitores nas características AP, MLC, CCA, NL e NS (Tabela 3).

Tabela 3. Teste de Tukey a 5% de probabilidade para as médias das características morfoagronômicas observadas nos genitores e nas combinações híbridas.

Genótipos	AP (cm)	MLC (cm)	CCA (cm)	DC (cm)	CF (cm)	DF (cm)	PF (g)	NS	NL	CC (cm)
UENF1496	118,31b	165,8b	40,18ab	1,54a	2,20de	2,12c	4,27bc	51,5ab	3,2a	1,29ef
UENF1785	60,73c	80,53d	18,46d	1,67a	5,78b	2,89b	13,6a	38bc	3,2a	1,37de
UENF496 x UENF1785	118,43b	188,86ab	27,45cd	1,8a	2,17de	1,70d	2,69dc	3,36d	2,8ab	1,54cd
UENF1624	79,96c	76,60de	39,13ab	1,49a	7,28a	1,77d	7,90b	47,96b	2,53b	1,61bc
UENF1636	68,8c	61,36e	29,96bc	1,16b	2,05de	0,60e	0,46d	27,16c	1e	1,11f
UENF1624 x UENF1636	106,86b	108,76c	42,58a	1,71a	2,08de	0,69e	0,41d	2,13d	2cd	1,53cd
UENF1495	151,4 ^a	197,2a	49a	1,71a	3,73c	3,19a	11,92a	67,7a	2,4bc	1,83 ^a
UENF1495 x UENF1785	63,8c	86,96cd	26,45cd	1,68a	2,70d	2,07c	3,86cd	3,46d	2,8ab	1,79ab
UENF1495 x UENF1636	111,39b	105,87c	42,45a	1,51a	1,30e	0,72e	0,34d	1,66d	1,93d	1,53cd

AP - Altura da Planta; MLC - Maior Largura da copa; CCA - Comprimento do caule; DC - Diâmetro do caule; CF - Comprimento do fruto; DF - Diâmetro do fruto; PF - Peso do fruto; NS - Número de sementes; NL - Número de lóculos; CC - Comprimento da corola. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As flores e frutos dos genitores, e dos híbridos obtidos podem ser observados das figuras 1 a 8.

Para avaliação das características qualitativas (Tabela 4), UENF 1496 x UENF 1785 apresentou Antocianina Nodal, Hábito de Crescimento, Cor da Corola e Forma do Fruto semelhante aos de seus genitores. As características de Forma da Haste e Constrição Anular do Cálice foram semelhantes ao genitor masculino, os demais descritores foram semelhantes ao genitor feminino, variando apenas para as características de Cor da Mancha da Corola e Cor das Anteras que apresentaram coloração amarela e azul (Figura 1), respectivamente e, Ondulação na seção transversal do fruto que apresentou característica leve (Figura 2).

Tabela 4. Descrição das 15 características qualitativas estudadas nas plantas, flores e frutos dos acessos parentais e das plantas híbridas, provenientes de cruzamentos interespecíficos, entre as espécies *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (UENF 1496) x *Capsicum chinense* (UENF 1785).

Características			
	♀	♂	F1
Plantas	UENF 1496	UENF 1785	UENF 1496 x UENF 1785
Antocianina nodal	Roxo	Roxo	Roxo
Forma da haste	Angular	Cilíndrica	Cilíndrica
Hábito de crescimento	Intermediário	Intermediário	Intermediário
Flores			
Número de flores por axila	Duas	Três ou mais	Duas
Posição da flor	Ereta	Intermediária	Ereta
Cor da corola	Branca	Branca	Branca
Cor da mancha da corola	Amarelo	Ausente	Amarelo pouco visível
Cor das anteras	Amarela	Roxa	Azul
Frutos			
Cor do fruto no estágio intermediário	Alaranjado	Verde	Alaranjado
Cor do fruto no estágio maduro	Vermelho	Amarelo	Vermelho
Forma do fruto	Quadrado	Quadrado	Quadrado
Tipo de epiderme do fruto	Liso	Semi-rugoso	Liso
Constrição anular do cálice	Ausente	Presente	Presente
Margem do cálice	Dentada	Inteira	Dentada
Ondulação na seção transversal do fruto	Intermediária	Ondulada	Leve



Figura 1. Flores das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e híbridos F1 (à direita). **A)** UENF 1496 (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*); **B)** UENF 1785 (*Capsicum chinense*); **C)** Híbrido.

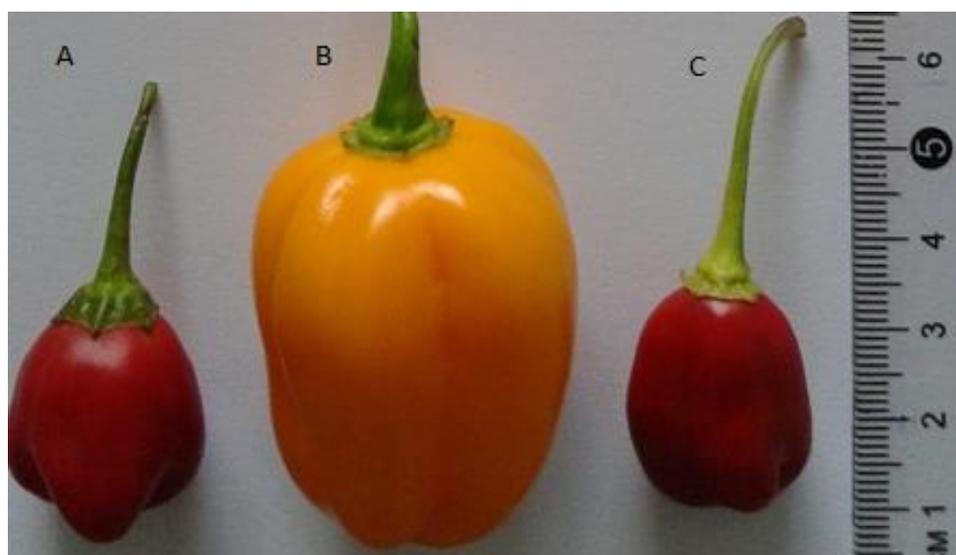


Figura 2. Frutos das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e frutos dos híbridos F1 (à direita). **a)** UENF 1496 (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*), **b)** UENF 1785 (*C. chinense*) e **c)** Fruto híbrido.

Uma das características que diferencia as espécies do gênero *Capsicum* spp. é a cor da corola e a presença de manchas amareladas na base da corola. *Capsicum baccatum* L. apresenta flores pentâmeras com corola branca e manchas amareladas na base da corola, e anteras amarelas, *C. frutescens* L. e apresenta flores com corola branca sem a mancha e anteras azuladas (Bosland, 1996).

O híbrido UENF 1624 x UENF 1636 apresentou a maioria dos descritores observados semelhantes aos de seus genitores (Figura 3 e 4). Para os descritores

de número de flores por axila e margem do cálice, as características foram semelhantes às características observadas no genitor feminino. O descritor de antocianina nodal, cor das manchas da corola e cor das anteras (Figura 3) apresentou coloração diferente da coloração observada nos seus genitores (Tabela 5).

Tabela 5. Descrição das 15 características qualitativas das plantas, flores e frutos dos acessos parentais e das plantas híbridas, provenientes de cruzamentos interespecíficos, entre as espécies *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (UENF 1624) x *Capsicum frutescens* (UENF 1636).

Características			
	♀	♂	F1
Plantas	UENF 1624	UENF 1636	UENF 1624 x UENF1636
Antocianina nodal	Roxo	Verde	Roxo claro
Forma da haste	Cilíndrica	Cilíndrica	Cilíndrica
Hábito de crescimento	Ereto	Ereto	Ereto
Flores			
Número de flores por axila	Duas	Três ou mais	Duas
Posição da flor	Ereta	Ereta	Ereta
Cor da corola	Branca	Branca	Branca
Cor da mancha da corola	Amarelo esverdeado	Ausente	Amarelo
Cor das anteras	Amarela	Azul	Azul pálido
Frutos			
Cor do fruto no estágio intermediário	Alaranjado	Alaranjado	Alaranjado
Cor do fruto no estágio maduro	Vermelho	Vermelho	Vermelho
Forma do fruto	Alongado	Alongado	Alongado
Tipo de epiderme do fruto	Liso	Liso	Liso
Constricção anular do cálice	Ausente	Ausente	Ausente
Margem do cálice	Dentada	Inteira	Dentada
Ondulação na seção transversal do fruto	Leve	Leve	Leve

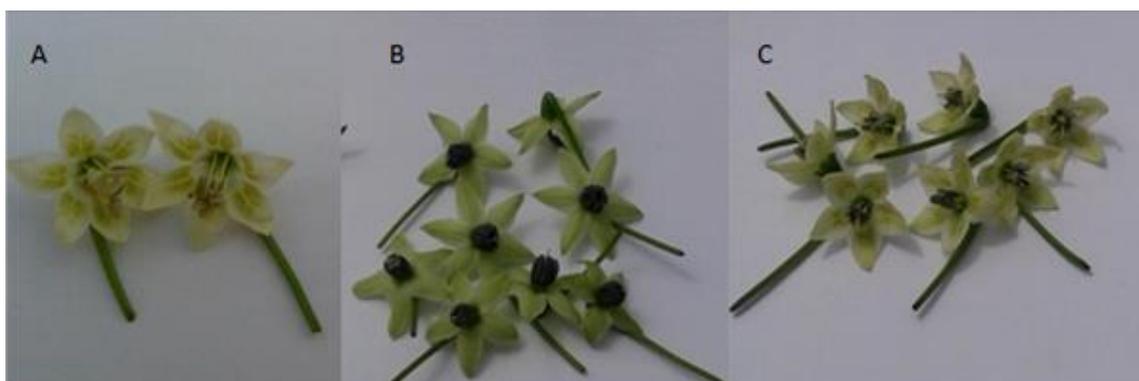


Figura 3. Flores das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e flores dos híbridos F1 (à direita). **A)** UENF 1624 (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*); **B)** UENF 1636 (*Capsicum frutescens*); **C)** Híbrido.

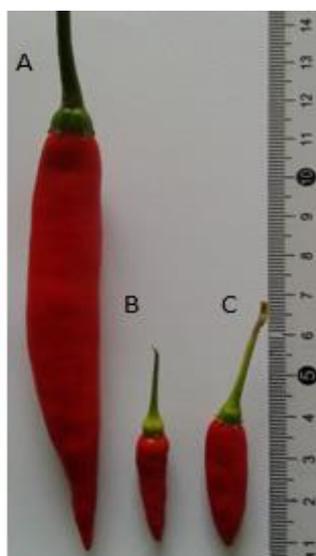


Figura 4. Frutos das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e frutos provenientes dos híbridos F1 (à direita). **a)** UENF 1624 (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*), **b)** UENF 1636 (*C. frutescense*) e **c)** Fruto híbrido.

UENF 1495 x UENF 1785 apresentou Antocianina nodal, Hábito de crescimento, Cor da corola e Forma do fruto semelhante aos de seus genitores. As características de Forma da haste e constrição anular do cálice foram semelhantes ao genitor masculino, as demais descritores foram semelhantes ao genitor feminino, variando apenas para as características de cor da mancha da corola e cor das anteras que apresentaram coloração amarela e azul respectivamente e,

Ondulação na seção transversal do fruto que apresentou característica leve (Tabela 6).

Tabela 6. Descrição das 16 características qualitativas das plantas, flores e frutos dos acessos parentais e das plantas híbridas, provenientes de cruzamentos interespecíficos, entre as espécies *Capsicum baccatum* var. *baccatum* (UENF 1495) x *Capsicum chinense* (UENF 1785).

Características			
	♀	♂	F1
Plantas	UENF 1495	UENF 1785	UENF 1495 x UENF 1785
Antocianina nodal	Roxo	Roxo	Roxo
Forma da haste	Cilíndrica	Cilíndrica	Cilíndrica
Hábito de crescimento	Intermediário	Intermediário	Intermediário
Flores			
Número de flores por axila	Duas	Três ou mais	Duas
Posição da flor	Ereta	Intermediária	Intermediária
Cor da corola	Branca	Branca	Branca
Cor da mancha da corola	Verde	Ausente	Amarelo claro
Cor das anteras	Amarela	Roxa	Azul
Frutos			
Cor do fruto no estágio intermediário	Alaranjado	Verde	Alaranjado
Cor do fruto no estágio maduro	Vermelho	Amarelo	Vermelho
Forma do fruto	Triangular	Quadrado	Triangular
Tipo de epiderme do fruto	Liso	Semi-rugoso	Liso
Constrição anular do cálice	Ausente	Presente	Presente
Margem do cálice	Intermediária	Inteira	Intermediária
Ondulação na seção transversal do fruto	Intermediária	Ondulada	Intermediária



Figura 5. Flores das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e flores observadas no híbrido F1 (à direita). **A)** UENF 1495 (*Capsicum baccatum* var. *baccatum*); **B)** UENF 1785 (*C. chinense*); **C)** Híbrido.

Antocianinas são compostos flavonoides responsáveis pela mudança na coloração em uma variedade de tecidos das plantas (frutos, flores, caule e folhas). A distribuição da antocianina nos tecidos varia entre genótipos, bem como no filete e anteras, havendo, tanto a variação qualitativa (presença/ausência) quanto a quantitativa (intensidade da coloração roxa) entre os genótipos (Chaim et al, 2003).

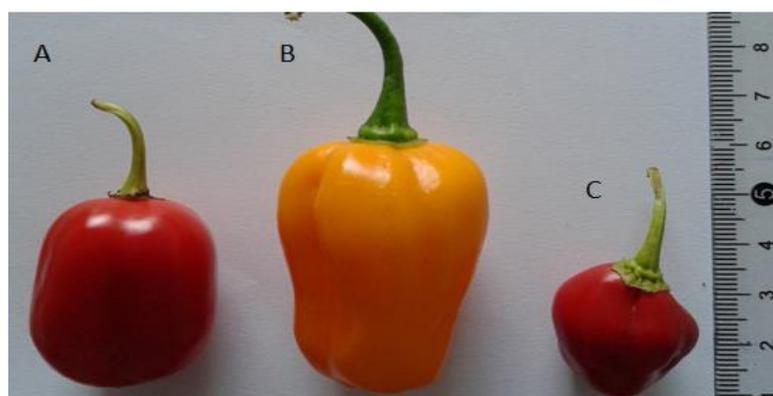


Figura 6. Frutos das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e frutos provenientes dos híbridos F1 (à direita) **a)** UENF 1495 (*Capsicum baccatum* var. *baccatum*), UENF 1785 (*C. chinense*), UENF 1495 x UENF 1785.

UENF 1495 x UENF1636 também apresentou para a maioria dos descritores características semelhantes às características observadas em seus genitores (Tabela 7). Para os descritores cor das manchas da corola, Forma do fruto e Margem do cálice, as características observadas foram semelhantes às características de seu genitor feminino, já para os descritores Hábito de crescimento e Ondulação na seção transversal do fruto, as características observadas foram semelhantes às do genitor masculino.

Tabela 7. Descrição das 16 características qualitativas das plantas, flores e frutos dos acessos parentais e das plantas híbridas, provenientes de cruzamentos interespecíficos, entre as espécies *Capsicum baccatum* var. *baccatum* (UENF 1495) e *C. frutescens* (UENF 1636).

Características	♀	♂	F1
Plantas	UENF 1495	UENF 1636	UENF 1495 x UENF 1636
Antocianina nodal	Roxo	Verde	Roxo claro
Forma da haste	Cilíndrica	Cilíndrica	Cilíndrica
Hábito de crescimento	Intermediário	Ereto	Ereto
Flores			
Número de flores por axila	Duas	Três ou mais	Duas
Posição da flor	Ereta	Ereta	Ereta
Cor da corola	Branca	Branca	Branca
Cor da mancha da corola	Verde	Ausente	Verde
Cor das anteras	Amarela	Azul	Azul pálido
Frutos			
Cor do fruto no estágio intermediário	Alaranjado	Alaranjado	Alaranjado
Cor do fruto no estágio maduro	Vermelho	Vermelho	Vermelho
Forma do fruto	Arredondado	Alongado	Triangular
Tipo de epiderme do fruto	Liso	Liso	Liso
Constricção anular do cálice	Ausente	Ausente	Ausente
Margem do cálice	Intermediária	Inteira	Intermediária
Ondulação na seção transversal do fruto	Intermediária	Leve	Leve



Figura 7. Flores das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e flores do híbrido F1 (à direita). **A)** UENF 1495 (*Capsicum baccatum* var. *baccatum*); **B)** UENF 1636 (*C. frutescens*); **C)** Híbrido.

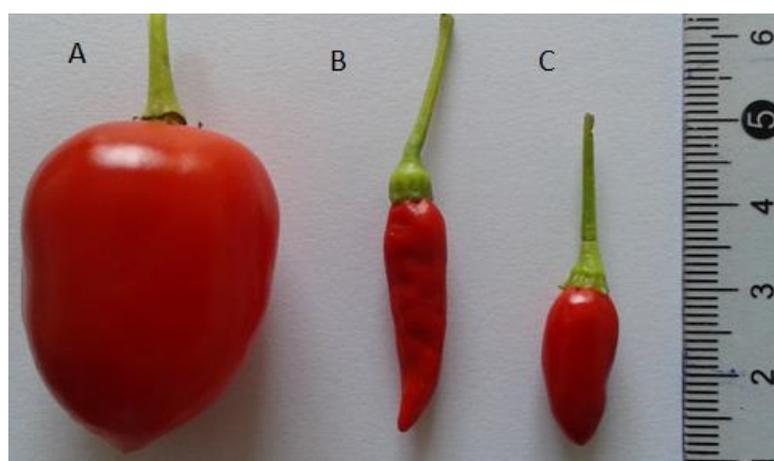


Figura 8. Frutos das espécies genitoras (à esquerda genitor feminino, no centro genitor masculino); e frutos provenientes dos híbridos F1 (à direita). **a)** UENF 1495 (*Capsicum baccatum* var. *baccatum*), **b)** UENF 1636 (*C. frutescens*); **c)** Fruto híbrido.

Egawa e Tanaka (1986), ao cruzarem *C. annuum* var *minimum* (corola branca e anteras azul-arroxeadas) versus *C. baccatum* var *baccatum* (corola branca com mancha amarelada e antera amarela), ambas consideradas silvestres, observaram que a geração F1 apresentou flores brancas com a presença da mancha amarela na base da corola, característica típica de *C. baccatum* e anteras azuladas/arroxeadas, característica típica de *C. annuum*.

Ônus e Pickersgill (2004), com o objetivo de estudar as razões da distorção de segregação para incompatibilidade unilateral e algumas características morfológicas das flores e dos frutos obtiveram combinações híbridas entre *C. baccatum* (corola branca com manchas amarelo/esverdeadas) com *C. cardenasii* e com *C. eximium* ambas de flor com corola roxa e sem manchas na base da corola. A geração F1 em ambas as combinações apresentaram flores com coloração roxa, porém em menor intensidade quando comparada com a intensidade das plantas genitoras (*C. cardenasii* e *C. eximium*) e com manchas na base da corola sugerindo que a presença da mancha na base da corola é determinada por um gene dominante. As plantas da primeira geração de retrocruzamento (*C. baccatum* x F1) segregaram para flores roxas e brancas, porém com uma distorção da proporção esperada 1:1 e com uma segregação de 3 brancas: 1 púrpura. De acordo com os autores, a distorção da segregação para esses marcadores pode ser devido à competição dos grãos de pólen no tubo polínico, e a seleção, favorecendo o genoma de *C. baccatum*, após a fertilização e durante o desenvolvimento do embrião.

Por fim, de acordo com as características morfoagronômicas, os híbridos em questão possuíam características intermediárias aos dos genitores, como cor das anteras e cor da mancha da corola e número de dias para florescimento, demonstrando a presença de genes com dominância incompleta.

6. Análise Meiótica

De 40 células analisadas (10 por combinação híbrida), nenhuma apresentou 12 pares de cromossomos, conforme era esperado caso houvesse homologia entre os genomas das espécies envolvidas na formação do HI. A meiose dos híbridos em estudo foi bastante irregular, sendo possível observar células com cromossomos fora da placa equatorial na metáfase I com cromossomos retardatários, anáfase I com segregação precoce dos cromossomos e, também, foi possível observar a presença de díades e tríades com micronúcleos (Figura 9).

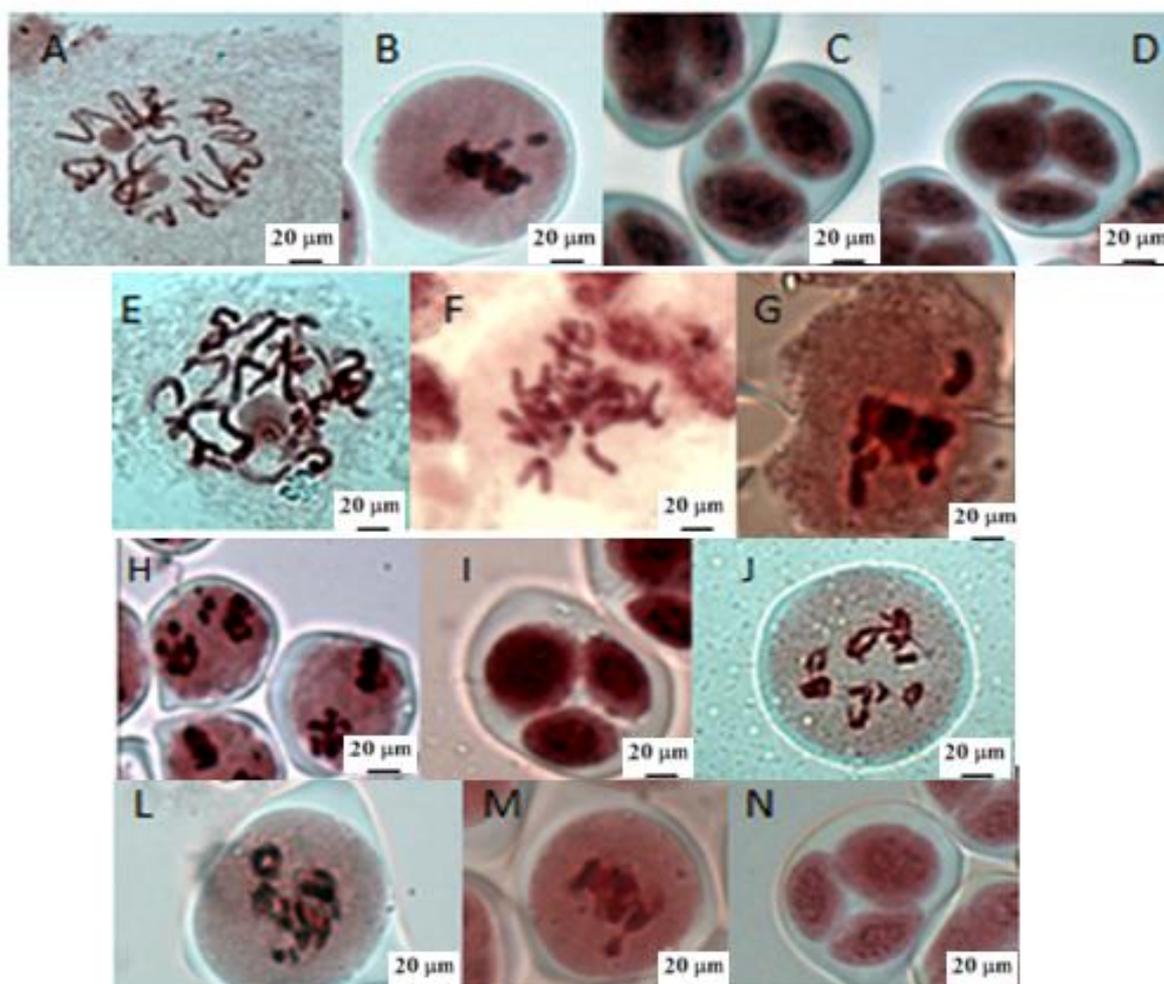


Figura 9. Principais irregularidades observadas na meiose dos híbridos em estudo; **UENF 1496 x UENF 1785:** **a)** célula na subfase da prófase, paquíteno, com ocorrência de cromossomos não pareados, univalentes, não havendo permuta gênica; **b)** metáfase I com ocorrência de cromossomos adiantados; **c)** díade com micronúcleo **d)** tríade com micronúcleo; **UENF 1624 x UENF 1636:** **e)** célula na subfase paquíteno da prófase, com ocorrência de cromossomos não pareados, não havendo permuta gênica, **f)** célula no final da diacinese com a presença de cromossomos atrasados; **g)** metáfase I com cromossomos adiantados; **UENF 1495 x UENF 1785:** **h)** Célula em diacinese não sendo observado o pareamento de 12 bivalentes; **i)** metáfase II com cromossomos atrasados; **j)** tríade; **UENF 1495 x UENF 1636:** **l)** Célula em diacinese sendo observado alguns cromossomos pareados e univalentes o pareamento de 12 bivalentes; **m)** metáfase II com cromossomos atrasados; **n)** tríade.

Aderências em metáfase I e outras fases podem ser causadas por fatores genéticos ou ambientais e têm sido descritas como uma das causas do decréscimo da viabilidade polínica (Pagliarini et al., 2000; Taschetto et al., 2003). A presença de cromossomos retardatários pode gerar gametas desbalanceados ou aneupoides, visto poderem ficar retidos no citoplasma, não acompanhando o

conjunto de cromossomos que segue a divisão celular normalmente, e no final, serem eliminados na forma de micronúcleos (Kodoru e Rao, 1981).

UENF 1496 x UENF 1785 e UENF 1495 x UENF 1785 foram os híbridos que apresentaram maior associação de bivalentes, sendo observada associação máxima de nove pares de cromossomos para o híbrido UENF 1496 x UENF 1785. Essas combinações híbridas também apresentaram maior observação de univalentes. Para as combinações híbridas UENF 1495 x UENF 1636 e UENF 1624 x UENF 1636, foi possível observar a presença de menor quantidade de univalentes nas células analisadas e, para associação de bivalentes, foi possível observar sete bivalentes em associação.

Egawa e Tanaka (1986), fazendo um estudo citogenético de um híbrido interespecífico entre *C. annuum* e *C. baccatum*, observaram a frequência de univalentes, bivalentes, trivalentes, quadrivalentes, quinquivalentes e heivalentes. Eles observaram que a ocorrência de univalentes foi rara. Concluindo que *C. annuum* e *C. baccatum* compartilham um genoma homólogo, mas, estruturalmente diferente. Rao et al., (1992), ao fazerem estudos criptogenéticos em híbridos de *C. baccatum* L. x *C. frutescens* L., observaram que tanto a F1 quanto a F2, dos híbridos, apresentaram meiose irregular, com uma associação máxima de oito cromossomos e um quadrivalente. Resultado este semelhante aos observados neste trabalho. Eles concluíram que *C. baccatum* difere de *C. frutescens* pelo menos duas ou três permutas.

A estimativa para o índice de recombinação (IR%) dos híbridos em estudo variou de 16,05 a 17,46%. Os híbridos, contendo *C. chinense* como genitor masculino UENF 1496 x UENF 1785 e UENF 1495 x UENF 1787, obtiveram IR de 17,46, 16,5 e 16,33%, respectivamente. Para os híbridos em que *C. frutescens* foi utilizado como genitor masculino o IR obtido, foi de 16,06 para UENF 1495 x UENF 1636 e de 16,16 para o híbrido 1624 x UENF 1636 (Tabela 8).

Tabela 8. Porcentagem de gametas não reduzidos, Índice meiótico, Índice de recombinação e porcentagem de viabilidade polínica.

Combinação híbrida	F2n(%)	IM(%)	IR(%)	VP%
UENF 1496				
x	15,84	79,95	17,46	34,85
UENF 1785				
UENF 1495				
x	10,79	85,75	16,5	27,05
UENF 1785				
UENF 1495				
x	10,35	86,6	16,06	20,95
UENF 1636				
UENF 1624	14,96	81,0	16,16	17,9
x				
UENF 1636				

F2n = gametas não reduzidos; IM = Índice meiótico; IR = Índice de recombinação e VP = Viabilidade polínica.

Diegues et al, (2015), avaliando o comportamento meiótico e a viabilidade polínica na espécie *Jatropha curcas* L. estimaram o índice de recombinação 14,25, o qual o considerou baixo quando comparado com os relatos de Koella (1993), que avaliando 15 famílias botânicas, observou que o índice de recombinação para estas famílias obteve uma média de 26,9. Os resultados obtidos para estimativa de índice de recombinação dos híbridos em estudo se assemelham aos valores obtidos por Diegues et al, (2015).

Considerando-se o índice meiótico, um dado complementar na análise meiótica e um indicador de regularidade (Love, 1949), o presente trabalho obteve os índices meióticos para as quatro combinações híbridas analisadas. Os híbridos que tiveram *C. chinense* como genitor masculino, UENF 1496 x UENF 1785 e

UENF 1495 X UENF 1785 apresentaram porcentagem de tétrades normais de 79,95 e 85,75% respectivamente.

Love (1951) destaca que, genótipos que apresentam os índices meióticos abaixo de 90% descrevem uma espécie com baixa estabilidade meiótica. Ainda, segundo Love (1951), genótipos que apresentam índice meiótico abaixo de 90% podem resultar em problemas reprodutivos quando envolvidos em cruzamentos, pois são considerados instáveis citologicamente. Sendo assim, pode-se afirmar que os híbridos analisados neste estudo apresentam baixa estabilidade meiótica.

Os híbridos envolvendo o cruzamento de *C. frutescens* como genitor masculino, UENF 1495 x UENF 1636 e UENF 1624 x UENF 1636, apresentaram índice meiótico de 86,6 e 81%, respectivamente (Tabela 8).

Pozzobon et al. (2011) realizaram estudos com 12 linhagens de Capsicum e observaram índice meiótico com grande amplitude de valores, variando de 79,53% a 100%. Estes valores foram derivados de anormalidades, irregularidades, como a presença de micrócitos que resultam da eliminação de cromossomos que ocorreram sob a forma de micronúcleos em fases posteriores à da meiose (Pozzobon; Schifino-Wittmann, 2006).

A presença de tríades e díades pode explicar a ocorrência de gametas não reduzidos ($2n$). Gametas não reduzidos é resultado de um processo meiótico anormal, em que a redução do número cromossômico não ocorre. Essa falha na redução pode ocorrer basicamente de duas formas. Na meiose I, pela restituição na primeira divisão (RPD), em que os cromossomos não se dirigem para os polos na anáfase e, em vez de duas células com número haploide de cromossomos na telófase I, há formação de uma célula com número diploide; a meiose II, neste caso, ocorre normalmente, mas resulta em uma díade ao contrário da tétrade esperada. A outra forma de surgimento dos gametas $2n$ é na meiose II, pela restituição na segunda divisão (RSD) em que há falha da citocinese e restituição de núcleos diploides, com formação de díades ou tríades (Schifino-Wittmann e Dall'agnol, 2001).

Os híbridos UENF 1496 x UENF 1785 e UENF 1495 x UENF 1785, que tiveram como genitor masculino *C. chinense*, apresentaram porcentagem de gametas não reduzidos de 15,84 e 10,79%, respectivamente. Já para os híbridos em que *C. frutescens* foi utilizado como genitor masculino, as porcentagens de

gametas não reduzidos foram de 10,36% para o híbrido UENF 1785 x UENF 1636 e de 14,96% para o híbrido UENF 1624 x UENF1636 (Tabela 8).

Analisando dados da literatura, Ramsey e Schemske (1998) estimaram a frequência de gametas masculinos não reduzidos em híbridos como sendo 50 vezes maior (27,52%) do que em não híbridos (0,56%) e sugerem que, a frequência natural de não redução é similar na mega e microsporogênese.

Para a Viabilidade polínica dos híbridos (Figura 10), as porcentagens de viabilidade foram baixas quando comparadas às porcentagens obtidas por seus genitores: de 94,4% para UENF 1496 (*C.baccatum* var. *pendulum*), 93,1% para UENF 1495 (*C.baccatum* var. *baccatum*), 92,85 para UENF 1785 (*C. chinense*), 91,3 para UENF 1624 (*C.baccatum* var. *pendulum*) e de 69% para UENF 1636 (*C. frutescens*).

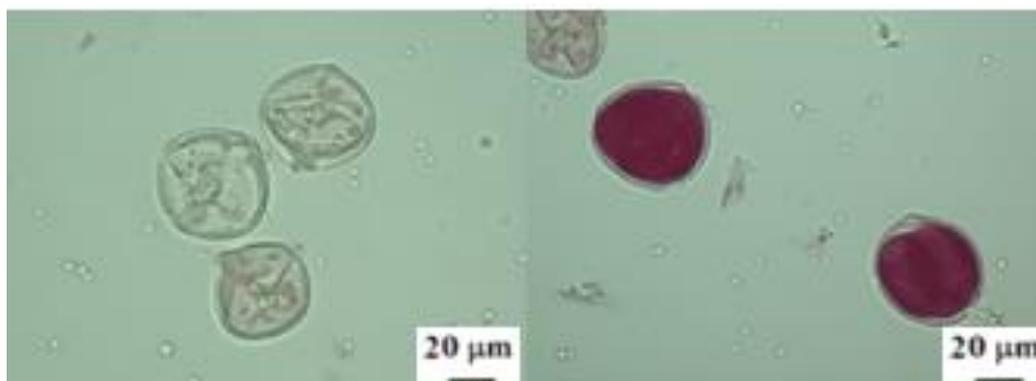


Figura 10. Representação dos grãos de pólen viáveis (UENF 1494) à direita e grãos de pólen inviáveis à esquerda.

Os híbridos que tiveram *C. chinense* como genitor masculino obtiveram porcentagens para viabilidade polínica de 34,85% para o híbrido UENF 1496 x UENF 1785 e 27,05% para UENF 1495 x UENF 1785. A porcentagem para viabilidade polínica dos híbridos, envolvendo *C. frutescens* como genitor masculino, foi ainda menor. O híbrido UENF 1495 x UENF 1636 obteve porcentagem de viabilidade polínica de 20,95%, e UENF 1624 x UENF 1636 obteve 17,95% de viabilidade polínica. Resultado este que já era esperado, pois fertilidade de uma espécie, que regra geral é medida via viabilidade polínica, é consequência da formação de gametas normais e balanceados e os resultados obtidos através do estudo meiótico destes híbridos, demonstram a presença de várias irregularidades

que podem levar a uma baixa viabilidade polínica. Resultados semelhantes foram obtidos por Monteiro et al., (2011), ao avaliar a fertilidade de híbridos entre espécies de *Capsicum*.

Sendo assim, uma vez que o comportamento meiótico de uma planta está diretamente relacionado ao seu grau de fertilidade, as alterações observadas durante a divisão celular refletiram na viabilidade dos grãos de pólen dos híbridos que foi inferior a 50%, indicando uma esterilidade parcial. Essa fertilidade parcial dos híbridos pode ser considerada uma barreira pós-zigótica já que o híbrido foi obtido, porém sua fertilidade está comprometida parcialmente.

7. CONCLUSÃO

A análise de todas as variáveis utilizadas neste trabalho possibilitou validar a existência de variabilidade entre as combinações híbridas e os acessos que lhes deram origem.

Para a característica número médio de sementes, todos os híbridos analisados tiveram médias muito inferiores à média de sementes dos genitores, demonstrando uma baixa fertilidade dos híbridos (o que é comprovado pela baixa porcentagem de grãos de pólen viáveis), resultado esse esperado devido os mesmos pertencerem a diferentes complexos gênicos e haver a ocorrência de barreiras de fertilização.

Através da análise meiótica foi possível inferir que, apesar dos híbridos em estudo pertencerem a diferentes complexos gênicos, houve a presença de pareamento cromossômico durante a diacinese, porém não foi possível observar o pareamento dos 12 bivalentes.

Os híbridos estudados demonstraram comportamento anormal durante a microsporogênese, demonstrando que as irregularidades meióticas observadas foram suficientes para comprometer a fertilidade dos híbridos, o que é confirmado pela baixa quantidade de sementes encontradas nos frutos. Apesar das irregularidades observadas os híbridos obtidos possuem viabilidade baixa ou parcial, podendo ser utilizados como genitores femininos em programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albrecht, E; Zhang, D; Saftner, R. A; Stommel, J.R. (2012a) Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genet Resour Crop Evol*, 59:517-538.
- Albrecht, E; Zhang, D; Mays, A.D; Saftner, R.A; Stommel, J.R. (2012b) Genetic diversity in *Capsicum baccatum* is significantly influenced by its ecogeographical distribution. *BMC Genetics*, 13:1-15.
- Alexander, M. P. (1969) Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Biotechnic e Histochemistry*, London, v. 44, n. 3, p. 117-122.
- Alexander, M. P. A. (1980) Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. *Stain Technology*, v. 1, n. 5, p. 13-8.
- Alves, S. R. M. (2015) Pré-melhoramento em Capsicum: Identificação de espécies, hibridação interespecífica e variabilidade genética em caracteres de sementes, Manaus.
- Andrews, J. (1995) Peppers: the domesticated *Capsicum*. Austin: University of Texas Press. 170p.
- Arroyo, M. T. K. (1981) Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: Polhill, M; Raven, P. H. (Eds). Advances in legumes systematics, Kew: *Royal Botanic Gardens*.
- Brambatti, A. (2010) *Viabilidade polínica e Hibridização genômica in situ aplicada ao melhoramento de triticale*. Dissertação agronomia – área de concentração

em produção vegetal, Universidade de Passo Fundo Faculdade de agronomia e Medicina Veterinária. Passo Fundo, 5p.

- Baral, J.B; Bosland, P. W. (2004) 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*, 129: 826-832.
- Basu SK, De A.K., (2003) *Capsicum*: historical and botanical perspectives. In: De AK (Ed) *Capsicum: The genus Capsicum*. Taylor e Francis, London e New York, 1-15.
- Bione, N.C.P; pagliarini, M.S; Toledo, J.F.F. Meiotic behavior of several, (2000) Brazilian soybean varieties. *Genetic and Molecular Biology*, São Paulo, v. 23, n.3, p. 623-631.
- Blum, E; Liu, K; Mazourek, M; Yoo, EY; Jahn, M; Paran, I. (2002) Molecular mapping of the C locus for presence of pungency in *Capsicum*. *Genome* 705: 702– 705.
- Bosland, P.W. (1996) *Capsicum*: innovative uses of ancient crop. In: Janick, J. (eds.) *Progress in New Crop*. ASHS Press, Arlington, Virginia, p. 479-487.
- Bosland, P. W; Votava, E. J. (1999) *Peppers: vegetable and spice Capsicums*. Wallingford: *CAB International*, 204 p.
- Caetano, C. M; d'Eeckenbrugge, G. C; Olaya, C. A; Jimenez, D. R; Veja, J. (2003) Spindle absence in *Vasconcellea cundinamaricensis* (Caricaceae). *The Nucleus*, 46(3): 86 – 89.
- Carvalho, S.I.C; Bianchetti, L.B. (2004). *Sistema de produção de pimentas: Botânica*. Versão Eletrônica: Embrapa Hortaliças. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/botanica.htm>>. Acesso em: 17 out. 2017.
- Carvalho, S.I.C; Bianchetti, L.B; Ribeiro, C.S.C; Lopes, C.A; Carvalho, S.I.C; Henz, G.P; Reifschneider, (2008) In: *Botânica e Recursos Genéticos*. F.J.B. (ed.) *Pimentas Capsicum*. Brasília: *Embrapa Hortaliças*, p 39-54.
- Carvalho, S.I.C; Bianchetti, L.B; Ribeiro, C.S.C; Lopes, C.A. (2006) *Pimentas do gênero Capsicum no Brasil*. Brasília: *Embrapa Hortaliças*. Documento n. 94, 27p.

- Carvalho S.I.C; Bianchetti L.B; Bustamante P.G, Silva D.B. (2003) Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças. *Embrapa Hortaliças*. Documentos, 49p.
- Chaim, A. B., Borovsky, Y., Jong, W., Paran, I. (2003) Linkage of the A locus for the presence of anthocyanin and fs10.1, a major fruit-shape QTL in pepper. *Theor Appl Genet*, 106: 889-894.
- Choong, C. Y. (1998) DNA polymorphisms in the study of relationships and evolution in *Capsicum*. PhD Thesis, *University of Reading*.
- Costa, L.V. Lopes, M.T.G; Lopes, R; Alves, S.R.M. (2008) Polinização e fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq. *Acta Amazônica*, 38(2):361-364.
- Cruz, C.D. (2013) Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Disponível em: www.ufv.br/dbg/genes/genes.htm
- Darlington, C. D. (1958) Evolution of genetics systems. 2. ed. *Edinburgh*: Oliver and Boyd, 256 p.
- Dafni, A. (1992) Pollination ecology – a practical approach. New York: *Oxford University Press*.
- Defani-Scoarize, M. A; Pagliarini, M. S; Aguiar, C. G. (1996) Meiotic behavior of inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Nucleus*. 39: 10 – 18.
- Dewitt, D; Bosland, P.W. (1993) *The pepper garden-From the sweetest bell to the hottest habanero*. Califórnia: Ten Speed Press, Berkeley.
- Dias, M. A. (2008) Germinação de sementes e desenvolvimento de plantas de pimenta malagueta em função do substrato e da lâmina de água. *Rev. Bras. Sementes*, Pelotas, v. 30, n. 3.
- Diegues, I. P; Damasceno, P. C. J; Ribeiro, N. V. S; Reis, M. V. M; Abboud, A. C. S. (2015) Meiotic behavior and pollen viability in *Jatropha curcas* L. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 1, p. 141-150, jan./fev.
- Egawa, Y; Tanaka, M. (1986) Cytogenetical Study of the Interspecific Hybrid between *Capsicum annuum* and *C.baccatum*. *Ikushugakuzasshi*. 36. 16-21.
- Eshbaugh, W.H. (1970) A biosystematic and evolutionary study of *Capsicum baccatum*(Solanaceae). *Brittonia*, 22:31-43.

- Eshbaugh, W.H. (1993) Peppers: history and exploitation of a serendipitous new crop discovery. *In: Janick, J; J.E. Simon (eds.). New Crops*. New York: Wiley and Sons, Inc; p. 132-139.
- Faostat. (2013) *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Figueira, F.A.R. (2000) *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, p. 402.
- Guerra, M. (1988) *Introdução a citogenética geral*. Guanabara. Rio de Janeiro, 142p.
- Guinet, P. H. (1989) Advances in legume biology: structure evolution, and biology of pollen in Leguminosae. *St. Louis: Missouri Botanical Garden*, 842p.
- Heiser JR, C.B. (1976). Peppers, *Capsicum* (Solanaceae). *In: N.W. Simmonds. (ed.). The evolution of crop plants*. London: Longman Press, p. 256- 268.
- Hill, T. A; Ashrafi, H; Wo, R.C.S; Yao, J; Stoffel, K; Truco, J.M; Kozik, A; Michelmore, R.W; Deynze, A.V. (2013) Characterization of *Capsicum annuum* Genetic Diversity and Population Structure Based on Parallel Polymorphism Discovery with a 30K Unigene Pepper gene chip. *Plos One*, 8:1-16.
- IPGRI (1995) *Descriptors for Capsicum. International Plant Genetic Resources Institute, Rome*.
- Ishikawa, K; Janos, T; Sakamoto, S; Nunomura, O. (1998) The contents of capsaicinoids and their phenolic intermediates in the various tissues of the plants of *Capsicum annuum* L. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, v.17, p.22-25.
- Jarret, R.J. (2007) Morphologic variation for fruit characteristics in the USDA/ARS *Capsicum baccatum* L. Germplasm collection. *Hort science*, 42(5):1303-1305.
- Jarret, R.L; Dang, P. (2004) Revisiting the waxy locus and the *Capsicum annuum* L. complex. *Georgia Journal of Science*, 62: 117-133.
- Lang, Y; Yanagawa, S; Sasanuma, T; Sasakuma, T. (2006) A Gene encoding a putative acyl-transferase involved in pungency of *Capsicum*. *Breeding Science* 56: 55–62.
- Lannes, S. D; Finger, F.L; Schuelter, A.R; Casali, V.W.D. (2007) Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. *Science Horticulturae*, 112:266-270.

- Leite, P. S. S. (2014) *Genotipagem de acessos de Capsicum baccatum através de caracterização morfológica e molecular*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Lopes, M. A. P; Gonçalves, L.D; Morais, E.G; Resende, C.P; Branco -Vaz, G.H. (2016) Caracterização de acessos de pimenta cumari de distribuição natural para fins de melhoramento genético. *Revista Agrogeoambiental*, v. 8, n. 4, p. 105-115.
- Love, R. M. (1949) *Estudos citológicos preliminares de trigos rio-grandenses*. Porto Alegre: Secretaria do Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio. 23p.
- Love, R. M. (1951) Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian wheats. *Agronomy Journal*, Madison, v. 43, n. 2, p. 72-76.
- Koella, J. C. (1993) Ecological correlates of chiasma frequency and recombination index of plants. *Biological Journal of the Linnean Society*, London, v. 48, n. 3, p. 227-238.
- Kodoru, P. R. K; Rao, M. K. (1981) Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants. *Theor. Appl. Genet*, 59: 197-214.
- Kumar, O.A; Panda, R.C; Rao, K.G.R. (1987) Cytogenetic studies of the F1 hybrids of *Capsicum annum* with *C. chinense* and *C. baccatum*. *Theoretical and Applied Genetic*, 74: 242-246.
- Martins, K; Pereira, T.N.S; Souza, S.A.M; Costa, F.R. (2010) Meiose e viabilidade polínica em acessos de *Capsicum annum* e *Capsicum baccatum*. *Ciência Rural*, 40(8):1746-1751.
- Martins, K. C. (2014) *Cruzabilidade, tamanho do genoma e viabilidade polínica em capsicum spp*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darci Ribeiro, 135p.
- Mcleod, M. J; Guttman, S. I; Eshbaugh, W. H. (1982). Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany*, 36 (4): 361-368.
- Monteiro, E.R; Bastos, E.M; Lopes, A.C.A; Gomes, R.L.F; Nunes, J.A.R. (2011). Diversidade genética entre acessos de espécies cultivadas de pimentas. *Ciência Rural*, Santa Maria, 40(2):288-293.

- Monteiro, C.E.S; Pereira, T.N.P; Campos, K.P. (2011) Reproductive characterization of interspecific hybrids among *Capsicum* species. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11: 241-249.
- Moreira, G.R; Caliman, F.R.B; Silva, D.J.H; Ribeiro, C.S.C. (2006) Espécies e variedades de pimenta. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte: EPAMIG, 27(235):16-29.
- Moscone, E.A; Scaldaferrro, M.A; Grabiele, M; Cecchini, N.M; García, Y.S; Jarret, R; Daviña, J.R; Ducasse, D.A; Barboza, G.E; Ehrendorfer, F. (2007) The evolution of chili peppers (*Capsicum* – Solanaceae): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae*, 745:137-169.
- Moura, M.C.C.L., Gonçalves, L.S.A., Sudré, C.P., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T., Pereira, T.N.S. (2010) Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta. *Horticultura Brasileira*, 28(2):155-161.
- Nass, L.L; Valls, A.C.C; Melo, I.C. de; Valadares-Inglis, M.C. (2001) Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: (org) *Recursos genéticos e melhoramento de plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 29-55p.
- Nwankiti, O.C. (1976) Cytogenetics of some Nigerian peppers – genus *Capsicum*. II. Hybrid origin of *C. frutescens*. *Nigerian Journal of Science*, 10: 61-75.
- Onus, A.N; Pickersgill, B. (2004) Unilateral Incompatibility in *Capsicum* (Solanaceae): Occurrence and Taxonomic Distribution. *Annals of Botany*, 94: 289-295.
- Pagliarini, M.S. (2000) Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology*, v.23, p.997-10020.
- Panda, R.C; Kumar, O. A; Raja Rao, K.G. (2004) Cytogenetic studies of some F1 hybrids between wild and cultivated taxa of *Capsicum* L. *Cytologia*, 69: 203-208.
- Pickersgill, B. (1991) Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. In: Tsuchiya, T; Gupta, P.K. (eds.) *Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution, part B*, Amsterdam: Elsevier. p.139-160.
- Pickersgill, B. (1997). Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
- Pinto, C.M.F; Silva, D.J.H. (2006) Cultivo da Pimenta. EPAMIG: *Informe agropecuário*, 27 (235): 108.

- Pozzobon, M. T; Schifino-wittmann, M. T.A. (2006) Meiotic study of the wild and semi-domesticated Brazilian species of genus *Capsicum* L. (Solanaceae). *Cytologia*, v. 71, n. 3, p. 275-287.
- Pozzobon, M. T; Souza, K. R. R; Carvalho, S. I. C; Reifschneider, F. J. B. (2011) Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 29, n. 2, p. 212-216.
- Ramsey J; Schemske DW. (1998) Pathways, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants. *Annual Review Ecology and Systematics* 29: 467-501.
- Rao, N. B; T.srivallieN.Lakshmi, (1992) Cytogenetic studies on the interspecific hybrid *C. Baccatum* L.x *C. Frutescens* L. And its progeny. *Euphytica* 59: 135–140.
- Rêgo, E.R; Rêgo, M.M; Cruz, C.D; Finger, F.L; Casali, V.W.D. (2011) Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). *Genet. Res. Crop Evol.* 58:909-918p.
- Rêgo, E.R; Rêgo, M.M; Cruz, C.D; Finger, F.L; Casali, V.W.D. (2012a) Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(6):909-918.
- Rêgo, E.R; Nascimento, M.F; Nascimento, N.F.F; Santos, R.M.C; Fortunato, F.L.G; Rêgo, M.M. (2012b) Testing methods for producing self-pollinated fruits in ornamental peppers. *Horticultura brasileira*, 30:669-672.
- Reifschneider F.J.B. (2000) *Capsicum: pimentas e pimentões do Brasil*. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; *Embrapa Hortaliças*, 113p.
- Ribeiro, C.S. DA; Cruz, D.M.R. (2003) *Tendências de mercado*.
- Ribeiro, E. H; Pereira, T. N. S; Moreira, N. F. (2016) Interspecific crosses between *Capsicum* species. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA*, 1, Caxambu.
- Rigamoto, R. R; Tyagi, A. P. (2002) Pollen Fertility Status in Coastal Plant Species of Rotuma Island. *South Pacific Journal Natural Science*, v. 20, p.

- Rodriguez-riano, T; Dafni, A. A. (2000) New procedure to asses pollen viability. *Sex Plant Reprod*, v. 12, p. 241-244.
- Russo, V.M. (2012) *Peppers: botany, production and uses*. CABI. 280 p.
- Schifino-Wittmann, M. T; Dall'agnol, M. (2001) Gametas não reduzidos no melhoramento de plantas. *Ciência Rural*. Santa Maria, v.31, n.1, p.169-175.
- Singh, R. J. (1993) *Plant cytogenetics*. CRC Press, Boca Raton, USA, 391pp.
- Smith, P.G; Heiser, C.B. (1951) Taxonomic and genetic studies on the cultivated peppers, *Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L. *American Journal of Botany*.38: 362-368.
- Souza, V.A.B. (1987) *Viabilidade no cruzamento entre Capsicum annuum e Capsicum chinense Jacq. 100 f.* Tese de Mestrado. Viçosa, UFV, Imprensa Universitária.
- Souza, J.A. de; Maluf, W.R. (2003) Diallel analyses and estimation of genetic parameters of hot pepper. *Scientia Agricola*, 60: 105-113.
- Stellari, GM; Mazourek, M; Jahn, MM. (2010) Contrasting modes for loss of pungency between cultivated and wild species of *Capsicum*. *Heredity* 104: 460–471.
- Stone, J. L; Thomson; J. D; Dent-Acosta, S. J. (1995) Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. *American Journal Botany*, v. 82, p. 1186-1197.
- Sudré, C.P. (2003) *Divergência genética e avaliação da resistência à mancha bacteriana em Capsicums sp.* Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. Campos dos Goytacazes, RJ. 38 – 42p.
- Sudré, C.P; Cruz, C.D; Rodrigues, R.; Riva, E.M; Amaral Júnior, A.T; Silva, D.J.H; Pereira, T.N.S. (2006) Variáveis multicatóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. *Horticultura Brasileira*, 24: 88-93.
- Taschetto, O. M; Pintro, J. C; Pagliarini, M. S. (2003) Chromosome stickiness during microsporogenesis in *Pfaffia glomerata* and *P. tuberosa* (Amaranthaceae). *The Nucleus* 46: 128-137.

- Techio, V. H. *Meiose e análise genômica em Pennisetum spp.* 104f. (2002) Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Tong, N; Bosland, P.W. (1999) *Capsicum tovarii*, a new member of the *Capsicum baccatum* complex. *Euphytica*, 109 (2):71-77.
- USDA-ARS (2014) Grin species records of *Capsicum*. Beltsville, Maryland: National Germplasm Resources Laboratory. Disponível em: < <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/exsplist.pl>>. Acesso em: 15 de out. 2017.
- Vargas, S. M. et al. *Caracterização meiótica de C. argentea* (2004) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50, Florianópolis. Anais... Florianópolis: Costão do Santinho Resort.
- Viñals, F.N; Ortega, R.G; Garcia, J.C. (1996) El cultivo de pimientos, chiles y ajies. Madrid: *Mundi-Prensa*. 648-652p.
- Zewdie, Y; Bosland, P.W. (2000a) Capsaicinoid inheritance in an interspecific hybridization of *Capsicum annum*x *C. chinense*. *Journal of American Horticultural Science*, v.125, n.4, p.448-453.
- Zijlstra, S; Purimahua, C; Lindhout, P. (1991) Pollen tube growth in interespecific crosses between *capsicum* species. *Hort science*, 26: 585-586.
- Walsh, B.M; Hoot, S.B. (2001) Phylogenetic relationships of *Capsicum* (Solanaceae) using DNA sequences from two noncoding regions: The chloroplast *atpb-rbcL* spacer region and nuclear *waxy* introns. *Int. J. Plant Sci.* 162(6):1409-1418.
- Yamamoto, S; Nawata, E. (2005) *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia, and its dispersal routes into Japan. *Economic Botany*, 59(1):18-28.
- Yan, G., Ferguson, A.R., McNeilage, M.A. (1997) Numerically unreduced (2n) gametes and sexual polyploidization in *Actinidia*. *Euphytica*, Wageningen, v.96, p.267-272.
- Yoon, J.B; Yang, D.C; Wahng, J.D; Park, H.G. (2006) Overcoming two postfertilization genetic barriers in interspecific hybridization between *C. annum* L and *C. baccatum* L for introgression of Anthracnose resistance. *Breeding Science*, 56: 31-38.