



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
EMBRAPA – AMAZÔNIA ORIENTAL



COLETA, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO E SELEÇÃO EM  
GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.)

JOSÉ MARIA DEMÉTRIO GAIA

BELÉM  
2008



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
EMBRAPA-AMAZÔNIA ORIENTAL



COLETA, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO E SELEÇÃO EM  
GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.)

JOSÉ MARIA DEMÉTRIO GAIA

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da  
Amazônia, como parte das exigências do Curso de  
Doutorado em Ciências Agrárias, área de concentração  
Agroecossistemas da Amazônia, para obtenção do  
título de *Doctor Scientiae*.

**Orientador**

Prof. Dr. MILTON GUILHERME DA COSTA MOTA

BELÉM-PA

2008

Gaia, José Maria Demétrio

Coleta, caracterização, avaliação e seleção em germoplasma de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) / José Maria Demétrio Gaia. – Belém, 2008.  
160f.: il.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Milton Guilherme da Costa Mota

1. Piperáceas. 2. Recursos genéticos. 3. Conservação de germoplasma.  
4. Domesticação de plantas. 5. Agroecossistemas. I. Título.

CDD – 583.925



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
EMBRAPA-AMAZÔNIA ORIENTAL



COLETA, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO E SELEÇÃO EM  
GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.)  
BELÉM-PARÁ

JOSÉ MARIA DEMÉTRIO GAIA

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias, área de concentração Agroecossistemas da Amazônia, para obtenção do título *Doctor scientiae*.

Aprovada em .....

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Milton Guilherme da Costa Mota  
Orientador

---

Dra. Maria do Socorro Padilha de Oliveira  
Embrapa Amazônia Oriental-EMBRAPA-CPATU

---

Dr. Cléber Novaes Bastos  
Comissão executiva do plano da lavoura Cacaueira-CEPLAC

---

Prof. Dr. Sérgio Antônio Lopes Gusmão  
Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA

---

Prof. Dr. Paulo Roberto de Andrade Lopes  
Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA

## AGRADECIMENTOS

Ao Ministério da Educação e a Universidade Federal Rural da Amazônia, pela oportunidade oferecida de participação no Curso.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudo, que viabilizou minha participação no Curso de doutorado da UFRA.

Ao orientador de curso, Milton Guilherme da Costa Mota, pelo apoio em momentos difíceis pelos caminhos da vida.

À equipe de pesquisa do museu paraense Emílio Goeldi, particularmente na pessoa do Dr. José Guilherme Soares Maia, pela participação e apoio, na fase inicial deste projeto.

À Maria Rosa Costa, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, como também a sua equipe de pesquisa, pela colaboração para que se concretizasse parte deste trabalho, referente à pesquisa de marcadores moleculares.

Aos amigos e colegas de curso, pelos dias de convívio e companhia e aos professores, pelos ensinamentos ministrados, contribuindo significativamente para a formação pessoal de cada aluno do curso.

Aos estagiários, estagiárias e funcionários públicos da Universidade Federal Rural da Amazônia, do Museu Paraense Emílio Goeldi e da Embrapa Amazônia Oriental que, de uma ou outra forma, participaram de atividades relacionadas a este projeto.

À toda pessoa, que, direta ou indiretamente, contribuiu para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	p.
<b>CAPÍTULO 1. COLETA, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO E SELEÇÃO EM GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (<i>Piper aduncum</i> L.)</b> .....	<b>8</b>
RESUMO .....	<b>8</b>
ABSTRACT .....	<b>9</b>
1.1. INTRODUÇÃO .....	<b>10</b>
1.1.1. OBJETIVO GERAL .....	12
1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
1.2. REVISÃO DE LITERATURA .....	<b>13</b>
1.2.1. ASPECTOS GERAIS SOBRE PIMENTA-DE-MACACO.....	13
1.2.1.1. <i>Botânica</i> .....	13
1.2.1.2. <i>Sinonímia</i> .....	15
1.2.1.3. <i>Distribuição geográfica e ecologia</i> .....	15
1.2.1.4. <i>Biologia floral e sistema reprodutivo</i> .....	16
1.2.1.5. <i>Diversidade genética e variação geográfica</i> .....	17
1.2.1.6. <i>Análise do óleo essencial</i> .....	18
1.2.1.7. <i>Propriedades biológicas do óleo essencial e dos dihidrocalcones</i> ...	19
1.2.1.8. <i>Usos medicinais populares</i> .....	21
1.2.1.9. <i>Propagação vegetativa</i> .....	21
1.2.2. RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS.....	22
1.2.2.1 <i>Coleta e conservação</i> .....	23
1.2.2.2. <i>Caracterização e avaliação</i> .....	28
1.2.2.3. <i>Seleção de plantas</i> .....	37
1.2.3. ASPECTOS GERAIS SOBRE AGROECOSSISTEMAS .....	<b>47</b>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	49
<b>CAPÍTULO 2. COLETA E AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (<i>Piper aduncum</i> L.) NA AMAZÔNIA BRASILEIRA.</b> .....	<b>65</b>
RESUMO .....	65
ABSTRACT .....	65
2.1. INTRODUÇÃO .....	66
2.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	69
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	72
2.4. CONCLUSÕES .....	90
AGRADECIMENTOS .....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	91

<b>CAPÍTULO 3. SELEÇÃO DE CLONES DE PIMENTA-DE-MACACO (<i>Piper aduncum</i> L.) PARA PLANTIO NAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS DE BELÉM-PA .....</b>	<b>99</b>
RESUMO .....	99
ABSTRACT .....	99
3.1. INTRODUÇÃO .....	100
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	103
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	105
3.4. CONCLUSÕES.....	116
AGRADECIMENTOS .....	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	117
<b>CAPÍTULO 4. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (<i>Piper aduncum</i> L.).....</b>	<b>124</b>
RESUMO .....	124
ABSTRACT .....	124
4.1. INTRODUÇÃO .....	125
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	129
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	134
4.4. CONCLUSÕES.....	143
AGRADECIMENTOS .....	144
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	144
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>153</b>
<b>6. GLOSSÁRIO .....</b>	<b>154</b>
<b>7. APÊNDICE .....</b>	<b>157</b>

## CAPÍTULO 1. COLETA, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO E SELEÇÃO EM GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.)

### RESUMO

Pimenta-de-macaco (*P. aduncum* L.) possui elevado rendimento de óleo essencial de comprovada atividade contra microrganismos prejudiciais à agricultura e saúde humana. O objetivo foi coletar, caracterizar, avaliar e selecionar genótipos visando ao cultivo em agroecossistemas amazônicos. Coletaram-se materiais (folhas, ramos finos e estacas) de 42 matrizes em 10 municípios de cinco mesorregiões da Amazônia Brasileira. Foram usados 14 caracteres morfoagronômicos: número de folhas por ramo; comprimento da folha; largura da folha; diâmetro do ramo mais velho; altura da planta; número de ramos ortotrópicos; número de ramos plagiotrópicos; comprimento do entrenó; número de espigas por ramo; rendimento de óleo essencial; teor de dilapiol; produção de dilapiol; peso da matéria fresca e peso da matéria seca; e RAPD, como marcadores moleculares. Aos caracteres morfoagronômicos, aplicou-se estatísticas descritivas, paramétricas e componentes principais. Aos marcadores RAPD, empregou-se análise de agrupamento para estimar a similaridade genética pela média de grupo. As matrizes mostraram adaptabilidade a uma diversidade de condições edafoclimáticas, a qual também se verificou em 13 clones cultivados experimentalmente, confirmando a expectativa de que sua adaptabilidade facilitará sua domesticação e cultivo; os caracteres de maior variabilidade foram o número de ramos ortotrópicos e o diâmetro do ramo mais velho (matrizes), os quais, em condições experimentais, apresentaram a tendência de evidenciar variabilidade com o crescimento das plantas; os caracteres agrônômicos que mais apresentaram variação foram o teor e a produção de dilapiol (matrizes). Entre os clones avaliados, a mudança ambiental favoreceu a maior produção de matéria seca, óleo essencial e teor de dilapiol. Os três primeiros componentes principais explicaram 46,8% da variação dos caracteres, estando a variância diluída nos componentes, sendo que 83,33% dos caracteres discriminaram a variabilidade dos genótipos. Sugeriu-se para descarte o rendimento de óleo essencial e o número de folhas por ramo. A dispersão gráfica tridimensional mostrou um agrupamento relativamente homogêneo e contínuo. A similaridade genética evidenciou variabilidade entre procedências, sendo provável que seus padrões acompanhem os da distribuição geográfica, já que houve a tendência de acessos de mesma procedência constituírem o mesmo grupo. Concluiu-se que a facilidade de adaptação a diversas condições edafoclimáticas e ecológicas das matrizes de Manaus-AM favoreceu a adaptação de clones primários em condições de cultivo, em Belém-PA; a variabilidade das matrizes de Manaus-AM tendeu a se expressar nos clones cultivados durante o crescimento das plantas, com os clones revelando-se promissores para cultivo em pequena escala comercial de produção e; o rendimento de óleo essencial e o teor de dilapiol estimados em condições experimentais, nas condições edafoclimáticas e ecológicas de Belém-PA (clones), foram superiores aos estimados em condições naturais de Manaus-AM (matrizes). Dez caracteres morfoagronômicos possuem variabilidade discriminatória de genótipos e a similaridade apresentou ampla faixa de variabilidade (29% a 85%). Constatou-se genótipos divergentes tanto por caracteres morfoagronômicos como por marcadores moleculares, sendo que esta pareceu ter maior poder discriminatório, com menor número de genótipos analisados.

**Palavras-chave:** Recursos genéticos, conservação, caracteres morfoagronômicos, similaridade genética, fitomelhoramento.

## ABSTRACT

Spiked pepper (*P. aduncum* L.) possess higher yielding of essential oil of proved activity against harmful microorganisms for the agriculture and human health. The aim was to collect, to characterize, to evaluate and to select genotypes toward cropping in amazonian agroecosystems. Were collected vegetative materials (leaves, thin branches and stake) of 42 parentals in 10 provenances of Brazilian Amazon of five physiographic regions. Were utilized 14 morphoagronomic traits: number of leaves per branch; length of the leaf; width of the leaf; diameter of the older branch; height of the plant; number of orthotropic branches, number of plagiotropic branches, length of the internode; number of spikes per branch; yielding of essential oil; content of dilapiol; production of dilapiol; weight of the fresh matter and weight of the dry matter; and, RAPD, as molecular markers. At the morphoagronomic traits, were applied descriptive, parametric and principal component analysis. At the molecular markers, were employed cluster analysis to estimate the genetic similarity by mean of group. The parentals showed adaptability one diversity of ecological and edaphoclimatical conditions, that too was verified in 13 experimentally cropped clones, confirming the expectancy that your adaptability will easy your domestication and cropping; the morphologic traits that more expressed variability were number of orthotropic branches and diameter of older branch (parentals), which, in experimental conditions, presented tendency to manifest variability with the growth of the plants; the agronomic traits that more expressed variability were the content and the production of dilapiole (parentals) and, among the evaluated clones, the environmental shifting favored large production of dry matter, essential oil and content of dilapiole. The three first principal components explicated 46.8% on the variation of the traits, being variance diluted in the components and 83.33% on the traits discriminated variability the genotypes. It was suggested for discarding the yielding of essential oil and the number of leaves per branch. The tridimensional graphic dispersion showed a relatively homogeneous and continuous clustering. The genetic similarity evidenced the variability among origins, being probably that your patterns follow that of geographic distribution, no more there was the tendency of accessions of even origin constituted same cluster. It was concluded that the easiness of adaptation edaphoclimatical and ecological diverse conditions of the parentals from Manaus-AM favored adaptation of primary clones in conditions of cropping, in Belem-PA, Brazil; the variability of parentals from Manaus-AM, Brazil tended to express itself in the cropped clones throughout the growth of plants, with clones revealing themselves promising for cropping toward small trade production and; the estimated yielding of essential oil and content of dilapiole in experimental conditions, in the ecological and edaphoclimatical conditions from Belem-PA, Brazil, were larger the estimated in natural conditions of Manaus-AM, Brazil (parentals). Ten morphoagronomic traits possess discriminatory variability of the genotypes and the similarity presented wide range of variability (29% at 85%). It was proved divergent genotypes as by morphoagronomic traits as molecular markers, being that the lasts seemed to have major discriminatory power, with one minor number of analysed genotypes.

**Keywords:** Genetic resources, conservation, morphoagronomic descriptors, genetic similarity, genetic breeding.

## 1.1. INTRODUÇÃO

Pimenta-de-macaco (*P. aduncum*) é uma espécie abundante na Amazônia Brasileira, cujo óleo essencial possui propriedades inseticida, fungicida, bactericida, moluscicida, acaricida e larvicida (LOBATO *et al.*, 2007). Há grande potencial para geração de emprego e renda com a implantação do cultivo racional dessa espécie, no entanto, ainda se encontra em estado silvestre, sendo necessário estudos que possam conduzir a espécie ao processo de domesticação e cultivo sustentável em sistemas de produção. De um lado, estudos de ordem biológica, necessários para o conhecimento de suas características botânicas e químicas, comportamento biológico, ciclo vegetativo e reprodutivo, assim como variedades e espécies relacionadas. De outro, estudos diretamente voltados para a domesticação e cultivo em agroecossistemas da Amazônia, que integrem comunidades locais e visem à conservação da biodiversidade local, de modo a perpetuar a sustentabilidade econômica para as gerações atuais e futuras.

Dentre os inúmeros estudos agronômicos passíveis de desenvolvimento, necessários para o cultivo sustentável de pimenta-de-macaco, estão os relacionados com a coleta de germoplasma para conservação *ex situ*, visando quantificar a variabilidade genética, matéria-prima básica para o melhoramento genético, importante para a sustentabilidade dos sistemas de produção. Além de que, uma coleção de germoplasma não somente serve para pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de cultivares e outros propósitos do melhoramento genético, como também para estudos interdisciplinares que subsidiem a exploração econômica da espécie (PERECIN, *et al.*, 2002).

Uma das razões para a coleta de germoplasma decorre da aceitação de que as espécies propostas representem novas alternativas de cultivo, como também, que sejam úteis para atender demandas de programas de melhoramento genético (QUEROL, 1993). Estudos de caracterização e avaliação, por sua vez, são necessários para disponibilizar germoplasma para pesquisas, cujos resultados finais visem à utilização pelos produtores rurais, sendo que algumas características, quer qualitativas, quer quantitativas, podem ser usadas para estimular essa utilização, as quais são evidenciadas por meio de estudo das diferenças entre os acessos (VILELA-MORALES; VALOIS, 2000).

Nos países da África Centro-Occidental, bancos de germoplasma são utilizados para sustentar programas de domesticação de espécies de reconhecido valor sócio-econômico, associados a um gerenciamento sustentável das populações silvestres, visando garantir a viabilidade de tais programas, de modo que essas espécies possam continuar como fonte de renda por muitas gerações (TEKWE *et al.*, 2003).

Estudos agronômicos sobre pimenta-de-macaco devem contribuir para a domesticação, cultivo e fitomelhoramento da espécie, dentre outros. Por exemplo, Albuquerque *et al.* (1997b) consideraram a possibilidade de haver resistência dessa planta para *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, agente causal da fusariose em pimenta-do-reino; Albuquerque *et al.* (1997a) verificaram que espécies nativas de *Piper*, dentre as quais, a espécie em foco, possuem potencial para tornarem-se fontes de resistência à fusariose; Leme *et al.* (1998) desenvolveram metodologia para produção de mudas por estaquia; Redig *et al.* (2003) constataram variabilidade suficiente em progênies dessa espécie originadas de sementes provenientes de matrizes de populações naturais; Ferreira *et al.* (2006) obtiveram calos (massa celular formada por um conjunto de células indiferenciadas) com a utilização dos fitohormônios BAP (Benzilaminopurina) e ANA (ácido nftaleno acético) e plantas normais na ausência de tais substâncias em meio MS (Murashige e Schoog).

Para pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.), uma espécie nativa da Amazônia, estudos mostraram variação no rendimento de óleo essencial por local de coleta e com a idade da planta (PIMENTEL *et al.*, 1998), enquanto estudos sobre caracterização botânica e química, distinguiram diferentes espécies de piperáceas constantes em coleção de germoplasma (SILVA; OLIVEIRA, 2000), além de estudos sobre frequência de colheita, número de colheitas anuais e época de corte (BERGO *et al.*, 2005) e diversidade genética baseada em marcadores RAPD (WADT; KAGEYAMA, 2004).

Há um grande potencial na Amazônia para se desenvolver programas de domesticação de plantas aromáticas e medicinais, visando o cultivo racional dessas espécies, as quais necessitam de um nível mínimo de seleção e domesticação para que seu cultivo possa ser econômico. Desse modo se promove a conservação destes recursos genéticos, enquanto se cria alternativas para alimentar sistemas de produção geradores de trabalho e renda no campo e na cidade.

#### 1.1.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver estudos sobre recursos genéticos de pimenta-de-macaco, visando a conservação de germoplasma, o melhoramento e o cultivo em agroecossistemas amazônicos, dentro dos princípios de sustentabilidade socioeconômica e ambiental.

#### 1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (a). coletar, avaliar e selecionar germoplasma de pimenta-de-macaco, visando promover sua domesticação e cultivo em agroecossistemas amazônicos, de modo sustentável, contemplando a conservação da biodiversidade local e a sustentabilidade econômica dos produtores rurais.
- (b). Caracterizar, por meio de marcadores moleculares, germoplasma de pimenta-de-macaco, visando discriminar a variabilidade genética dos acessos

e proporcionar melhor utilização e integração da espécie no processo de domesticação e cultivo sustentável nos agroecossistemas amazônicos. Assim como, fornecer subsídios para futuros programas de melhoramento genético da espécie.

## 1.2. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1. ASPECTOS GERAIS SOBRE PIMENTA-DE-MACACO

#### 1.2.1.1. *Botânica*

A família Piperácea compreende 12 gêneros e mais de 1400 espécies, com distribuição principalmente pantropical (BARROSO, 1978). O gênero *Piper* é o de maior número de espécies, com cerca de 800 a 2.000 espécies (BARRIGA, 1982), das quais mais de 170 crescem no Brasil (YUNKER, 1972). Essa família é representada por plantas herbáceas, trepadeiras, arbustos e, raramente, árvores. *Piper sagittifolium* C. DC. é considerada a espécie mais primitiva do gênero, apresentando características como peças florais grandes, inflorescência em espiga com 1cm de espessura, antera estreita e relativamente longa, com deiscência lateral e pólen grande (BURGER, 1972). Por outro lado, *Piper hispidum* é uma espécie evoluída, pois apresenta peças florais compactadas, antera com deiscência apical, presença de prófio e processo ligular (NASCIMENTO, 1997).

Espécies de *Piper* são grandes produtoras de óleos essenciais. Em função desta característica, em 1996, o grupo de plantas aromáticas do Museu paraense Emílio Goeldi-MPEG promoveu o levantamento de 90 espécimens de *Piper* em vários estados, municípios e localidades amazônicas. Destes, foram obtidos 70 óleos essenciais que tiveram a sua composição química analisada e identificados os seus constituintes voláteis principais (MAIA *et al.*, 1987), com destaque para o óleo essencial extraído das folhas e galhos finos de *P. aduncum*, rico em dilapiol (MAIA *et al.*, 1998).

O óleo essencial de pimenta-longa, uma espécie em processo de domesticação muito semelhante à pimenta-de-macaco, porém tendo como componente majoritário o safrol (éter fenílico utilizado na fabricação de inseticidas biodegradáveis), tem intenso consumo no mercado mundial, sendo a variação do seu preço avaliada em cinco a oito dólares (HOMMA, 2003). Partindo-se da similaridade entre estas duas espécies, pode-se estimar a potencialidade sócio-econômica de pimenta-de-macaco.

Morfologicamente, *P. aduncum* e *P. hispidinervium* são duas espécies, bastante semelhantes. A correta identificação botânica é muito importante para evitar erros na implantação de cultivos. Algumas diferenças botânicas entre *P. aduncum* e *P. hispidinervium* são: *P. hispidinervium* apresenta ramos pubescentes e folhas oblongo-lanceoladas ou oblongo-elípticas, levemente ásperas na face ventral; enquanto que *P. aduncum* possui folhas elípticas ou lanceoladas com base redonda ou cordulata, ásperas na face ventral e pubescentes nas faces ventral e dorsal (PIMENTEL *et al.*, 1998). Para Silva (1993), como se tratam de espécies morfológicamente muito assemelhadas, é possível propor para ambas, como sendo variedades da mesma espécie, cujo metabolismo secundário difere de planta para planta.

Do ponto de vista fitoquímico, Maia *et al.* (1998) verificaram que *P. aduncum* encerra como componente volátil principal o dilapiol, que é um fenil éter com um grupo metoxila a mais na molécula de safrol, principal componente do óleo essencial de pimenta-longa. *P. aduncum* e *P. hispidinervium*.

O mercado internacional de óleos essenciais, fitoterápicos e inseticidas biodegradáveis tem amplas possibilidades de crescimento. Os extratos naturais destinados a indústrias são estimados em 500 bilhões de dólares anuais pela OMS, sendo que o Brasil possui uma ínfima participação nesse mercado, não obstante o seu elevado potencial por possuir a maior biodiversidade do planeta, ainda muito pouco explorada, e embora seja

considerado um grande produtor de óleos essenciais, 95% destes óleos provêm da laranja (SUGIMOTO, 2003).

*P. aduncum* consiste de um arbusto medindo de dois a sete metros, caule bastante nodoso, apresentando folhas membranáceas ou cartáceas, elípticas, elíptico-ovaladas ou elíptico-lanceoladas; ápice curtamente acuminado, base assimétrica arredondada ou cordiforme, opacas em ambas as faces, sendo a inferior finamente pubescente, nervação com pêlos quase adpressos; inflorescências em espigas alongadas opostas às folhas; flores minúsculas esverdeadas; e frutos obpiramidais; fruto drupa amarelada com minúscula semente marron (ALBUQUERQUE, 1980; VAN DEN BERG, 1993).

#### 1.2.1.2. *Sinonímia*

No Brasil, dentre os nomes vulgares atribuídos à *P. aduncum*, pode-se mencionar pimenta-de-macaco, pimenta-longa, aperta-ruão, tapa-buraco e pimenta-de-fruto-ganchoso (MAIA *et al.*, 2001) e adunco (VIEIRA, 1991). Fora do Brasil, pode-se citar, bamboo piper, em Porto Rico (FRANCIS, 2003); spiked pepper, nas ilhas do Pacífico (STARR *et al.*, 2003); higuillo, na América Central (NASAYAO; FABELLA, 1998), cordoncillo e matico, no Peru (MEJÍA; REGINFO, 2000), dentre outros.

O Missouri Botanical Garden listou 79 sinônimos de nomes científicos para *P. aduncum*, sendo alguns em gêneros diferentes (*Artanthe*, *Steffensia*). Eis alguns nomes: *Artanthe adunca* (L.) Miq, *A. celtidifolia* (Kunt) Miq., *A. elongata* (Vahl) Miq., *A. galleoti* Miq., *Piper aduncifolium* Trel., *P. aduncum* var. *brachyarthrum* (Trel.) Yunck., *P. aduncum* var. *laevifolium* C. DC., *P. anguilaespicum* Trel., *P. angustifolium* Lam., *P. angustifolium* Ruiz & Pav., *P. elongatifolium* Trel., *P. elongatum* Trel., *Steffensia adunca* (L.) Kunth (STARR *et al.*, 2003; MAIA *et al.*, 2001).

#### 1.2.1.3. *Distribuição geográfica e ecologia*

*P. aduncum* é uma espécie pantropical distribuída no Novo Mundo desde o México até Sudeste da Argentina e tem-se estabelecido como invasora na Flórida, Sudeste da Ásia e ilhas do Pacífico. Em Porto Rico, cresce a 400 metros acima do nível do mar, podendo habitar em solos excessivamente siltosos a secos, mas não excessivamente drenados ou salinos e é moderadamente intolerante à sombra (FRANCIS, 2003).

Na Amazônia, os habitats naturais de *P. aduncum* se encontram em áreas antropizadas, tais como capoeiras abertas originadas de áreas anteriormente cultivadas, pastagens abandonadas e em áreas abertas tipo savana, sendo, por isso, muito exigente em relação à luz (PIMENTEL *et al.*, 1998; MAIA *et al.*, 2001). É uma espécie pioneira que emerge em margens de rodovias e em áreas recém-abertas de florestas de terra firme (MAIA *et al.*, 2001).

*P. aduncum* é provavelmente originária da América central, onde é conhecida como higuillo. Uma área dominada por esta espécie tem população altamente densa em alguns países tropicais, de cerca de 2.632 árvores por hectare e 7.225 plantas em crescimento por hectare (NASAYAO; FABELLA, 1998).

#### 1.2.1.4. *Biologia floral e sistema reprodutivo*

Pimenta-de-macaco é uma planta hermafrodita que mostra um substancial grau de autocompatibilidade, podendo apresentar agamospermia. As flores apresentam coloração creme, sem odor, com filete e estilete medindo 0,5mm. O pólen é seco e de cor amarela. Cada espiga apresenta cerca de 500 minúsculas flores (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000).

A floração ocorre continuamente ao longo do ano, com um pico durante os meses de maior velocidade do vento, a partir de setembro até fevereiro, quando o período é úmido e a estação é seca no sudeste do Brasil. As flores basais da inflorescência se abrem primeiro. A receptividade dos

estigmas e a deiscência das anteras ocorrem ao sexto dia. O número de dias necessários para a completa floração das espigas é superior a 10 dias. As flores apresentam protogenia incompleta (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000). Em floresta de brejo, a floração e frutificação ocorrem no mês de junho (SPINA *et al.*, 2001).

Segundo Spina *et al.* (2001), a unidade de dispersão é o fruto, cuja síndrome é zoocórica. Morcegos frugívoros como *Carollia perspicillata* se alimentam de seus frutos, cujas sementes são eliminadas em suas fezes em áreas degradadas (LEME *et al.*, 1998). Pássaros e outros animais também são atraídos pelos frutos suculentos. Nas ilhas Fiji, o agente primário de dispersão é o pássaro *Pycnonotus cafer* e, em Nova Guiné, sementes são dispersas por cães (STARR *et al.*, 2003).

Nunes *et al.* (2007), ao realizarem a análise de cariótipo de pimenta-de-macaco e pimenta-longa, observaram que possuem o mesmo conjunto diplóide de cromossomos ( $2n = 24$ ), pequenos e metacêntricos, sendo que os cromossomos de pimenta-de-macaco são um pouco menores ( $1,32\mu\text{m}$ ) que os de pimenta longa ( $1,38\mu\text{m}$ ). Em outras espécies de piperáceas, como a pimenta-do-reino, que é a mais estudada, o número de cromossomos varia de 48 a 128 e para *Piper colubrinum* Link é representado por 20 cromossomos (BARRIGA, 1982). Gaia (1999), ao revisar literatura sobre pimenta-do-reino, verificou a esta variação no número de cromossomos de pimenta do reino é atribuída ao fato da diploidização de autopoliplóide ou alopoliplóide, em cultivares e progênies de polinização aberta, sendo que o número básico mais provável é  $x = 13$ .

#### 1.2.1.5. Diversidade genética e variação geográfica

O rendimento de óleo essencial e o teor de dilapiol variam de acordo com a variedade de *P. aduncum* e local de coleta. A variedade *P. aduncum*, procedente de Benfica-PA, apresentou rendimento de óleo de 1,4% e teor de

dilapiol de 75%, enquanto que a variedade *cordulatum*, procedente de Manaus-AM, apresentou rendimento de óleo de 3,5 e 88% de teor de dilapiol.

O principal componente de *P. aduncum* de amostras de populações naturais coletadas na Amazônia é o dilapiol. No entanto, amostras de *P. aduncum* coletadas em São Paulo mostraram maior teor de linalol (31,7%), seguido de  $\beta$ -cariofileno (9,1%), sendo este último composto também encontrado em *P. arboreum* AUBLET e *P. tuberculatum* JACQ. havendo, nas três espécies examinadas, uma predominância de sesquiterpenos (MORANDIN *et al.*, 2002). A presença de linalol em *P. aduncum* também foi observada em amostras da Amazônia Brasileira, porém em percentuais muito pequenos (GOTTLIEB *et al.*, 1981; MAIA, 1998).

Essa variação que resulta da presença de linalol na composição do óleo essencial pode ser devido a interações com um ou mais fatores ambientais. Gobbo-Neto e Lopes (2007) mencionam que, apesar da existência de controle genético na expressão de metabólitos secundários, variações temporais e espaciais podem ocorrer devido a interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos, constituindo uma interface química no binômio planta-ambiente. Variação na composição do óleo essencial que incluíram a presença de linalol também foi pode ter ocorrido em *Faramea anisocalix* Poepp. & Endi (conhecida como 'vick' ou 'benguê') devido as plantas estarem submetidas a diferentes condições de sub-bosque, temperatura, umidade do solo e serrapilheira (RIBEIRO *et al.*, 2003).

#### 1.2.1.6. Análise do óleo essencial

Técnicas de análise do óleo essencial podem ser utilizadas em condições de campo e de laboratório. A técnica SPME (microextração em fase sólida) é utilizada para monitoramento de amostras em condições de campo e reduz consideravelmente o tempo de análise (45 minutos). Enquanto a hidrodestilação requer um tempo de três horas, além de cerca de sete dias

para secagem do material. A técnica SPME detecta componentes voláteis com alta pressão de vapor, já a hidrodestilação detecta componentes voláteis com baixa pressão de vapor, em função da perda destes no processo de secagem e aquecimento das amostras (SILVA *et al.*, 2003).

O dilapiol constitui o principal componente do óleo essencial de *P. aduncum*, podendo variar de 31% a 97%, dependendo da procedência da amostra, é encontrado principalmente nas folhas e galhos finos (MAIA *et al.*, 1998). Quimicamente, o dilapiol corresponde a um éter fenílico (LODER *et al.*, 1969).

Estudos realizados por Maia *et al.* (2001) em amostras de *P. aduncum* L, o número de componentes do óleo essencial variou de sete a 35. Além do dilapiol, os que surgiram em maior frequência foram  $\alpha$ -pineno, piperitona, miristicina,  $\beta$ -pineno e globulol, variando de 0,3% a 15,1% e; os que surgiram em menor frequência foram cis-piperitol,  $\beta$ -selineno, (E,E)- $\alpha$ -farneseno,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -ocimeno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -pineno (E)- $\beta$ -ocimeno,  $\alpha$ -humuleno e germacreno D, variando de 0,1% a 0,3%. Outros componentes importantes encontrados em menor quantidade foram safrol (0,3%), linalol (0,3%) e cânfora (0,2%).

#### 1.2.1.7. *Propriedades biológicas do óleo essencial e dos dihidrocalcones*

O óleo essencial de *P. aduncum* mostrou atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata*, vetor do agente causal da esquistossomose (ORJALA *et al.*, 1994). Mostrou atividade inseticida (BERNARD *et al.*, 1995), podendo atuar como agente sinérgico para alguns inseticidas naturais (MUKERJEE *et al.*, 1979). Testado em fungos fitopatogênicos e insetos fitófagos que infestam culturas tradicionais da Amazônia, tais como seringueira, pimenta-do-reino e banana, inibiu totalmente o crescimento de (BASTOS, 1997; MAIA *et al.*, 2001).

O óleo essencial, usado em concentrações de 50 a 200 ppm, causou inibição do crescimento micelial e germinação de fungos fitopatogênicos, notadamente *Crinipellis perniciosa*, fungo causador da 'vassoura de bruxa', doença que acomete plantios de cacau e cupuaçu e *Fusarium sollani* f. sp. *piperis*, causador da fusariose em pimenta-do-reino (BASTOS, 1997). O óleo essencial de *P. aduncum* também mostrou atividade antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum* e *C. cladosporioides*, com uma concentração mínima de 50µg/mL (MORANDIN *et al.*, 2002). O óleo essencial de *P. aduncum*, assim como seu extrato hidroalcoólico mostraram eficiência no controle de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, apresentando potencial satisfatório para o desenvolvimento de produtos naturais (FIGUEIRA *et al.*, 2003).

*P. aduncum* possui, juntamente com outras piperáceas (*P. mollicomum* e *P. mallacophyllum*), atividade antinociceptiva periférica, pois ensaios realizados com extrato aquoso destas espécies evidenciaram atividade analgésica (JOSÉ JÚNIOR *et al.*, 2002). Propriedades analgésicas e antiinflamatórias também foram comprovadas por testes de contorções abdominais e edemas induzidos em camundongos e ratos, sendo que o óleo essencial de *P. aduncum* causou redução no número de tais contorções e foi capaz de inibir o desenvolvimento do edema no rato, sugerindo a atividade analgésica e antiinflamatória em humanos (FONTES JÚNIOR. *et al.*, 2002).

Estudo realizado sobre efeitos tóxicos do óleo essencial de *P. aduncum* revelou que a toxicidade aguda (DL<sub>50</sub>) e subaguda (1/10 e 1/20 da DL<sub>50</sub> fracionada em 30 dias) em camundongos e ratos demonstrou que não ocorreram alterações em parâmetros bioquímicos em relação ao grupo controle, sugerindo uma baixa toxicidade do óleo essencial de *P. aduncum* (MONTEIRO *et al.*, 2001). Os Dihidrocalcones, especificamente, 2',6'-dihidroxi-4'-metoxicalcone (DMC), substâncias encontradas nas inflorescências de *P. aduncum*, mostraram atividade significativa contra *Leishmania amazonensis*. A dose de 80µg/mL de DMC causou aumento e

desorganização das mitocôndrias, mostrando, ainda, ser seletivamente tóxico, pois não causou danos em macrófagos (células de defesa do organismo) (TORRES-SANTOS *et al.*, 1999). Orjala *et al.* (1994) relataram também atividade citológica e bactericida.

#### 1.2.1.8. Usos medicinais populares

Vários são os usos de *P. aduncum* na medicina popular, dentre os quais pode-se citar que restabelece a diurese, combate a blenorragia crônica, inflamações, cistite, pielite, prolapso do útero, feridas crônicas, obstrução, diarreia, disenteria e promove o estreitamento vaginal (SOUZA, 1982). Fontes Júnior *et al.* (2002) citam que pode ainda ser usada como anti-hemorragica, no tratamento de úlceras crônicas e no combate a erisipela; e Sousa *et al.* (2001) a mencionam no tratamento antiinflamatório das vias urinárias e doenças do fígado. Segundo Vieira (1991) o chá de suas folhas é usado em doenças ginecológicas e desordens intestinais. No Peru, de acordo com Mejía e Reginfo (2000), suas folhas são usadas no tratamento de infecções urinárias, resfriado, diarreia, bronquite, úlceras e feridas, herpes oral e como antisséptico vaginal, além prostatite, cistite, corrimento vaginal e queimaduras, sem especificar a parte utilizada.

De acordo com José Júnior *et al.*, (2002), fitoterápicos preparados a partir de folhas de pimenta-de-macaco já estão disponíveis no mercado brasileiro para o tratamento de doenças. Oliveira *et al.* (2005) mencionam um antimicótico produzido pela companhia 'Siema Eco Essências da Amazônia Ltda' a partir de extratos de pimenta-de-macaco conhecido como 'dermopilapiol'.

#### 1.2.1.9. Propagação vegetativa

O material destinado à propagação vegetativa pode ser conservado em sacos de polietileno umedecidos com água, o que permite um aproveitamento de 90% das estacas, por aproximadamente 24 horas. Os

substratos mais adequados para enraizamento de estacas são o seixo lavado e a casca de arroz carbonizada, que apresentam enraizamento acima de 70%, sendo que estacas apresentando uma folha, tem uma porcentagem maior de enraizamento (SILVA, 1993). Leme *et al.* (1998), utilizando estacas de 30cm em areia lavada, obtiveram 90% de enraizamento.

Experimentos realizados no laboratório de Biotecnologia da UFRA, visando a micropropagação de segmentos nodais de *P. aduncum*, mostraram que a utilização dos reguladores de crescimento ácido naftaleno acético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) não tiveram eficiência na micropropagação de segmentos nodais. No entanto, houve formação de calos nas diferentes concentrações utilizadas para ambos reguladores, com maior eficiência alcançada na concentração de 0,75mg/L de ANA e 1,5 mg/L de BAP (MOTA *et al.*, 2002; FERREIRA *et al.*, 2006).

#### 1.2.2. RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

O termo recurso genético de plantas abrange todo material do reino vegetal, particularmente seus genes, que apresentam bom potencial para ser convertido em valores sociais e econômicos, além de constituir uma medida de sustentabilidade ante as limitações do ciclo agrícola tecnificado, o qual está baseado na uniformização e homogeneidade das plantas cultivadas (QUEROL, 1993).

Para Nass (2001), os recursos fitogenéticos envolvem a variabilidade de plantas de interesse socioeconômico atual ou potencial para utilização em programas de melhoramento genético e podem ser considerados como um reservatório gênico, no qual podem ser encontradas soluções para as diversas demandas requeridas pelas mudanças atuais do mundo contemporâneo, funcionando, também, como a matéria-prima, da qual depende o desenvolvimento da agricultura e, conseqüentemente, a segurança alimentar da humanidade por meio do uso sustentável de tais recursos. O autor cita ainda que, dentre as ações preconizadas pela

Conferência Internacional de Recursos Genéticos, em Leipzig (Alemanha), onde foi aprovado o Plano de Ação Global para Recursos Genéticos, Agricultura e Alimentação (PGA), estão 20 atividades prioritárias e, entre elas, a coleta e conservação, caracterização e avaliação de germoplasma.

#### 1.2.2.1 *Coleta e conservação*

A necessidade de coleta de germoplasma decorre da aceitação de que uma espécie seja útil para atender as demandas de um programa de melhoramento genético ou a urgência de se evitar que o material desapareça, ou ainda se tem sido excessivamente explorada e possui baixa densidade de população, como também aquelas que representem novas alternativas de cultivo. Se a espécie não estiver correndo risco de extinção, ela pode ser conservada *in situ*, na própria área de ocorrência natural. A coleta de recursos genéticos é acompanhada pela geração de informações básicas, as quais são chamadas de dados de passaporte. Tais dados incluem o nome científico e vulgar, informações sobre o local de coleta, a variação visível e outros dados gerais, além de um número único para identificação da entrada no banco de germoplasma. Os dados de passaporte constituem a informação mínima sobre cada entrada, sendo com frequência, necessário gerar informações complementares para caracterização das coletas (QUEROL, 1993).

Nass (2001) relata que alguns autores consideram que a atividade de coleta de recursos fitogenéticos iniciou-se com a própria agricultura e tenha evoluído ao longo tempo. O homem primitivo, portanto, deveria ser um perito na distinção de plantas que serviam para sua alimentação, tendo por base apenas conhecimentos empíricos. Um novo tipo de coletor, mais atento à natureza variável das espécies surge com o mendelismo associado com a teoria evolutiva de Charles Darwin e, neste contexto, Nikolai Vavilov e seus colaboradores teriam sido os primeiros a compreender a importância da diversidade em plantas cultivadas e seus parentes silvestres para o melhoramento genético. Um fator de relevância na coleta de germoplasma é

a representatividade da amostra, a qual deve atentar para os princípios relacionados ao tamanho efetivo da população e a frequência alélica a ser considerada (VENCOVSKY, 1986; VILELA-MORALES *et al.*, 1997).

Segundo Ford-Lloyd e Jackson (1986), os tipos básicos de locais de coleta são: (1) lavoura e roças, (2) hortos e pomares caseiros, (3) mercados e feiras e, (4) habitats silvestres. Tais locais são preferenciais para coleta em função de apresentarem características de variabilidade, diversidade e detecção de raças locais.

Para Lleras (1988), as prioridades que devem ser consideradas na coleta de recursos genéticos são: (1) resgate de cultivares que estão sendo substituídos por outros de maior potencial, (2) resgate de raças locais, (3) áreas sujeitas a graves alterações ambientais de natureza antrópica, como hidrelétricas, ferrovias, rodovias, mineração e áreas de expansão da fronteira agrícola e, (4) inserção de novas alternativas à pesquisa agropecuária para uso futuro da humanidade.

Oliveira e Lunz (1996), visando conservar germoplasma de pimenta-longa, realizaram coleta em 13 municípios do Estado do Acre. Coletaram folhas e galhos finos para a determinação do rendimento de óleo e estacas para propagação. O critério adotado para as coletas foi a presença de sementes nas matrizes, o que representou uma média de 10% da população natural.

A conservação de recursos genéticos é considerada como o manejo sustentável da biosfera, visando produzir o maior benefício às gerações atuais e futuras e compreende a preservação, manutenção, utilização, restauração e melhoria do ambiente natural. Basicamente, existem duas estratégias de conservação que são consideradas complementares, as quais dependem do seu objetivo e alcance da natureza do material: a conservação *in situ* (conservação é feita na ambiente de ocorrência natural) e a conservação *ex situ* (conservação realizada fora do ambiente natural). A

primeira é mais indicada para espécies silvestres de plantas cultivadas, forrageiras, fruteiras e espécies florestais, enquanto a segunda é preferida para espécies que normalmente se propagam por sementes que suportam armazenamento no longo prazo. A vantagem da conservação *in situ* em relação à conservação *ex situ* é o baixo custo, porém, em caso de espécies cultivadas anuais, é dificultada pela necessidade de controle do meio onde se conserva o material e pelo perigo da introdução de novas espécies ou variedades. (QUEROL, 1993; NASS, 2001).

De acordo com Querol (1993), a semente é a forma pela qual a espécie sobrevive o máximo de tempo com o mínimo de atividade biológica e, em certo sentido, é uma estratégia natural que a espécie tem de armazenar a si mesma, portanto, a forma mais fácil de armazenar recursos genéticos é pela conservação das sementes. Porém, quando armazenadas, dependendo das condições de temperatura, umidade e das características das germinações iniciais, com o tempo perdem a viabilidade e o vigor, sendo várias as causas e efeitos do envelhecimento das sementes, sendo que durante esse processo, sofrem mudanças bioquímicas, fisiológicas e genéticas. As alterações genéticas durante o armazenamento são, amiúde, aberrações cromossômicas e, em alguns casos, mutações. No entanto, há indícios em algumas espécies, como cevada, de que essas aberrações desaparecem com o tempo ou, quando significativas, não chegam a influir muito na composição genética do material, não havendo efeitos negativos sobre o armazenamento e manutenção de recursos genéticos. Já as mutações são relativamente pouco freqüentes durante o armazenamento e geralmente os genótipos oriundos de sementes que acumularam mutações produzem pólen abortivo durante a floração.

Quando as sementes armazenadas diminuem seu potencial de germinação, é necessário semeá-las para colher sementes novas e vigorosas. A esse processo denominamos de regeneração. A regeneração se diferencia de espécie autógama para alógama. Em ambos os casos, podem

ocorrer várias mudanças que afetam a composição da entrada inicial. Tanto para autógamias quanto para alógamas, o tamanho da amostra é fator importante para manter o número de variedades em amostras heterogêneas, enquanto para alógamas deve-se atentar para o fato de que as plantas sejam polinizadas por masculinas (no caso de dióicas) da mesma entrada, de modo que se evite contaminação genética (QUEROL, 1993).

Procedimentos de regeneração devem ser utilizados caso o poder germinativo das sementes sofra uma redução para 85% em relação à germinabilidade inicial, de modo que cada genótipo deixe a sua contribuição gamética para a próxima geração. Atenção deve ser dada aos efeitos de seleção natural e deriva genética, que podem ser minimizados no ambiente em que é conduzida a regeneração pelo tamanho efetivo da população, o qual pode evitar problemas de perda de alelos raros não-adaptativos causados pela deriva genética, embora essa perda seja menos prejudicial que os efeitos adversos da seleção natural, que podem afetar a frequência de alelos adaptativos. Esses inconvenientes podem ser evitados com um tamanho efetivo mínimo de 30, porém deve-se preferir um tamanho efetivo mínimo de 50 ou mais (FRANKEL *et al.*, 1995; VALOIS *et al.*, 2001).

Os jardins de coleta (jardins clonais) são outra forma de manejo de recursos genéticos e constituem coleções onde as plantas são mantidas em condições normais de crescimento. São utilizados para espécies de reprodução vegetativa e arbóreas, especialmente aquelas com sementes recalcitrantes. O uso desses jardins, quando se trata de espécies perenes, permite a conservação da informação genética de forma estável, embora seja necessário o uso de grandes áreas. No caso de espécies de ciclo de vida curto, recomenda-se que as coleções de espécies com reprodução assexuada, obrigatória ou facultativa, sejam mantidas perto do local de origem da coleta, ou de onde serão utilizadas para melhoramento e avaliação. Deve-se levar em conta o fotoperiodismo da planta, pois algumas

não produzem órgãos reprodutivos sem certa extensão de fotoperíodo (HAWKES, 1970; QUEROL, 1993).

Além dos bancos de sementes e dos jardins clonais, a conservação *ex situ* conta com os jardins botânicos, arboretos, herbários, recursos de propagação *in vitro*, criopreservação, DNA genômico e coleções de germoplasma com diferentes tamanhos e finalidades (coleções base, nuclear, ativa, etc.). No Brasil existem cerca de 180 bancos de germoplasma, totalizando mais de cerca de 200.000 acessos e 84 diferentes produtos, dentre os quais se pode destacar palmeiras, corantes, medicinais, biocidas, frutíferas, etc. 110 desses bancos se encontram integrados ao Programa de Conservação e Uso dos Recursos Genéticos, pertencente à Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) (GOEDERT; WETZEL, 1999; VALOIS *et al.*, 2001).

A decisão de conservação *ex situ* dos recursos genéticos de uma espécie é geralmente motivada pela ação antrópica. A destruição de *habitats* nos dias atuais, como as florestas tropicais e outros biomas em processo de degradação, levam a perdas de variabilidade das espécies de uso atual e potencial, além de parentes silvestres de espécies cultivadas, constituindo grande risco de extinção, razão para a tomada de decisão pela conservação de tais recursos, apesar dos elevados custos da conservação *ex situ* e da regeneração (QUEROL, 1993; VALOIS *et al.*, 2001).

Carvalho *et al.* (2001), ao buscarem soluções para redução de custos na conservação de germoplasma *ex situ*, sugeriram, como forma de reduzir custos, envolver os agricultores neste processo, estimulando-os a adquirir consciência da importância da conservação para as comunidades rurais. Os autores consideraram que a parceria com agricultores na conservação de germoplasma é segura, colabora para reduzir custos e as plantas têm-se mostrado bem conduzidas, sendo importante manter a visita de um técnico como forma de motivar a comunidade no processo de conservação das espécies mantidas na coleção.

Barroso *et al.* (2005), ao estudar populações de algodoeiro (*Gossypium barbadense*) do Estado de Mato Grosso, por meio de entrevista e análise do ambiente de ocorrência, verificaram que 97% das plantas ocorriam em fundos de quintais, onde eram cultivadas com fins medicinais. Esta forma de conservação, dita inconsciente, fez com que os autores a propusessem como alternativa para conservar recursos genéticos vegetais.

#### 1.2.2.2. Caracterização e avaliação

A caracterização das coletas pode ser feita por uma lista de descritores, que podem ser quantitativos, mas geralmente, são qualitativos, constituindo um aprofundamento das chaves taxonômicas para diferenciação de gêneros e espécies, permitindo conhecer a variabilidade. Embora o número de descritores possa ser teoricamente infinito, a elegibilidade de tais descritores depende da potencial utilidade que possam prestar ao melhoramento genético, para conhecer a estrutura da população, ou para descrever a planta (QUEROL, 1993).

A definição de uma lista mínima de descritores por espécie deve visar à execução de procedimentos adequados de caracterização e avaliação. O *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI) disponibiliza várias listas de descritores para diversas espécies de plantas e isso proporciona uma melhor uniformização em tais procedimentos, já que estas listas contém inumeráveis descritores que podem ser utilizados na íntegra ou selecionados para uso como descritores mínimos, de acordo com as necessidades do usuário (RAO; RILEY, 1994; VALOIS *et al.*, 2001).

Para Nass (2001), a caracterização permite a identificação de fenótipos pouco influenciados pelas condições ambientais, de modo que se espera, para tais fenótipos, que apresentem alta herdabilidade. A caracterização pode ser realizada sob vários aspectos da planta, tais como a caracterização no nível morfológico e no nível molecular, por meio de herança de isoenzimas e de DNA. Tais tipos de caracterização devem ser

realizadas na dependência do nível de informação desejada, levando em conta a demanda dos acessos e os recursos financeiros.

A caracterização morfológica apresenta certas desvantagens em relação aos marcadores bioquímicos (isoenzimas), pois os caracteres morfológicos são, freqüentemente, poligênicos e sofrem grande influência ambiental, além da seleção ficar dependente do desenvolvimento da planta, o que aumenta o tempo e o custo necessários para identificação ou caracterização de acessos e outros materiais (SOUZA; CONTEL, 2001). Além disso, sendo as isoenzimas produtos gênicos primários e, como tais, não estão expostos a influências ambientais, podendo fornecer informações úteis acerca da variabilidade do genoma (SHAMINA *et al.*, 1998). Outra utilidade das isoenzimas é que podem ser utilizadas para detectar genes sinalizadores de resistência (genes marcadores). Em macieira, Manganaris *et al.* (1994) detectaram o loco Pgm-1 em ligação com um gene que confere resistência à sarna da macieira, causada pelo fungo *Venturia inaequalis*. Os genes marcadores também podem ser úteis para o monitoramento da introgressão genética em cruzamentos de parentais selecionados visando a obtenção de genótipos superiores. A eletroforese de isoenzimas possui a vantagem de ser relativamente de baixo custo, quando comparada a outros marcadores moleculares, além de permitir a identificação de heterozigotos, em função de sua herança ser codominante (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Martins *et al.* (1996) detectaram diferentes formas moleculares de isoenzimas (polimorfismo) em germoplasma de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) nos sistemas malato desidrogenase (MDH), xiquimato desidrogenase (SKDH), 6-fosfogluconato desidrogenase (6PGDH), isocitrato desidrogenase (IDH), fosfoglucoase isomerase (PGI) e enzima málica (ME). E, posteriormente, Gaia (1999) nos sistemas fosfatase ácida (ACP), aconitase (ACO), glutamato oxalacetato transaminase (GOT), glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e fumarase (FUM), além de alguns já estudados (SKDH, 6PGDH, PGI) em maior número de acessos. Gaia *et al.* (2005), ao

realizarem estudos sobre a genética de pimenta-do-reino envolvendo parâmetros de diversidade e similaridade baseados em locos de isoenzimas, encontraram valores concordantes com a estreita base genética. Gaia *et al.* (2007), em estudos com marcadores de sistemas enzimáticos, observaram que 64% dos acessos analisados podem ser identificados por um a seis fenótipos bioquímicos individuais.

Sobre a importância de isoenzimas e outras técnicas moleculares utilizadas para caracterizar variabilidade genética de germoplasma Vilela-Morales e Valois (2000, p. 20-21) referem-se do seguinte modo:

“Técnicas moleculares como isoenzimas, *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) e microssatélites constituem instrumentos para caracterizar e avaliar o germoplasma mais rapidamente e com maior eficiência”.

Estas técnicas aumentam a eficiência na utilização dos organismos e proporcionam melhor exploração dos recursos disponíveis na biodiversidade, constituindo uma alternativa para o desenvolvimento sustentável, além de promoverem sensível aumento na eficiência e eficácia dos programas tradicionais de melhoramento genético quando considerados os procedimentos seguintes: (a) isolamento de genes e manutenção de bibliotecas genômicas, (b) recombinação gênica com fontes não tradicionais de variabilidade genética, (c) seleção de linhagens superiores em laboratório, (d) propagação em massa de genótipos superiores, (e) redução do tempo de obtenção de genótipos desejáveis, (f) promover a obtenção de princípios ativos mais eficientes mediante procedimentos de biologia molecular (VILELA-MORALES; VALOIS, 2000).

Os marcadores RAPD são obtidos via PCR, seguida da separação dos fragmentos por eletroforese em meio semi-sólido e visualizados pela

utilização de brometo de etídio e exposição em luz ultravioleta. A obtenção dos marcadores RAPD diferencia-se da obtenção via PCR pela utilização de *primers* de composição arbitrária, fazendo com que as seqüências-alvo sejam desconhecidas, podendo apresentar homologia parcial ou total (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; MILACH, 1998).

Os marcadores RAPD empregam reagentes universais de bancada e tem sido utilizados na análise de segregação, ligação genética, construção de mapas e *fingerprinting* de indivíduos, na caracterização e discriminação fenotípica, assim como na identificação de marcadores ligados a características de interesse agrônômico e na identificação e classificação de variedades em relação ao nível de similaridade genética, na seleção assistida por marcadores, no gerenciamento e caracterização da variabilidade genética em populações de melhoramento, na discriminação e verificação de clones elites, na estimativa de similaridade genética para o delineamento de cruzamentos e plantios operacionais e na determinação de sistemas de cruzamento e paternidade em populações de melhoramento (SILVA, 1999; GRATTAPAGLIA, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2003).

Embora levantem-se dúvidas quanto à confiabilidade dos ensaios RAPD, tem-se mostrado que podem ser obtidos mapas e genotipagens de alta qualidade, quando se tomam os devidos cuidados (GRATTAPAGLIA, 2001). Para tanto, a reprodutibilidade dos resultados requer otimização e controle rigoroso das condições de reação que, em conjunto com a concentração de DNA, são considerados pontos-chave. A concentração de magnésio, a concentração do iniciador, a DNA polimerase, a temperatura de anelamento e a qualidade da agarose também são fatores que podem afetar o número de amplificações, bem como sua intensidade e sua separação (WILLIAMS *et al.*, 1993; GOTMISKY *et al.*, 1999). Para contornar a baixa repetibilidade experimental dos marcadores RAPD, deve-se padronizar os procedimentos, utilizar muitos *primers* e adotar critérios rígidos na

interpretação dos resultados (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; GRATTAPAGLIA, 2001; TELLES *et al.*, 2001).

Em relação ao *primer*, os pareamentos GC (guanósina-citósina) constituem cerca de 50% a 70% de sua composição e são mais estáveis que o pareamento AT (adenina-timina) e isso afeta diretamente o tempo de residência do iniciador no sítio de amplificação, pois, se o tempo for curto, a estabilização do pareamento iniciador-sítio de amplificação será prejudicada. Em outro sentido, essa proporção de bases no iniciador favorece o uso da técnica em genomas ricos em guanina e citosina, como é o caso do arroz, cujo genoma é composto de cerca de 50% de guanina e citosina (ARAÚJO *et al.*, 2003).

De acordo com Milach (1999), os marcadores identificados por amplificação, como o RAPD e suas variantes são mais fáceis de manipular, além de possuírem custo menor, sendo que a conversão de RAPD em SCAR tem sido apontada como uma excelente opção para a seleção assistida por marcadores moleculares. Com exceção do tipo de *primer* (que podem ser obtidos a partir de seqüências RAPD caracterizadas ou mapeadas), SCAR é muito semelhante à técnica de RAPD, com a vantagem de ser mais consistente, embora com a desvantagem de envolverem o desenvolvimento de *primers*, o que eleva o custo. Uma vez que os *primers* estejam disponíveis, essa técnica apresenta custo comparável ao do RAPD. No entanto, Dario e Grattapaglia (1998) ressaltam que essa conversão causa perda de polimorfismo que, embora possa ser recuperado, perde-se em praticidade e velocidade.

Os marcadores moleculares de DNA, ao identificar polimorfismo e associá-lo a genes de efeito maior, conduzem para o conhecimento do genótipo e da variabilidade das plantas (MILACH, 1998). Entretanto, a quantidade de DNA que está diretamente envolvida na codificação de proteínas é muito pequena em relação ao DNA total que compõe o genoma dos organismos superiores, sendo que a maior parte do DNA não é

codificada, a qual é formada por seqüências repetitivas de várias naturezas (LITT, LUTY, 1989). Além do mais, grande parte das mutações ocorridas no DNA não-codificado é seletivamente neutra, o que torna o padrão de evolutivo diferente e mais rápido que o padrão da evolução fenotípica (MÜHLEN, 1999).

Os marcadores RAPD apresentam como vantagem, em relação a outros marcadores, que um mesmo conjunto de *primers* pode ser usado em qualquer espécie, permitem analisar um maior número de amostras por unidade de tempo, os procedimentos são simples e não incluem radioisótopos e o baixo custo por amostra e no investimento em instalações de laboratório; como desvantagens, a baixa reprodutibilidade e o baixo conteúdo informativo por loco, uma vez que estes marcadores exibem herança dominante, detectando apenas um alelo por loco, sendo os demais alelos agrupados em uma única classe, caracterizada pela ausência de amplificação de bandas, não fazendo, portanto, distinção das regiões do genoma amplificadas simultaneamente: bandas de um mesmo loco com diferentes alelos, assim como daquelas provenientes de diferentes locos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; GRATTAPAGLIA, 2001; HOFFMANN; BARROSO, 2006).

A limitação do uso de RAPD devido à dominância pode ser contornada pela utilização de dois marcadores em fases de ligação diferentes, um *in cis* (no mesmo cromossomo do gene de interesse), e outro *in trans* (no cromossomo homólogo), que não possui o gene de interesse. Os homozigotos que apresentam o gene de interesse (A) vão estar *in cis* (Am/Am, aM/aM) e os heterozigotos devem possuir as duas bandas, um apresentará o marcador *in cis* e o outro *in trans* (AM/am). A identificação dos heterozigotos será tanto maior quanto menor for a distância entre o par de marcadores. A informação obtida de marcadores dominantes, no entanto, depende da forma de ligação do marcador ao gene de interesse e do tipo de

população (retrocruzamento,  $F_2$ , etc.), a ser examinada (WILLIANS *et al.*, 1990, HOFFMANN; BARROSO, 2006).

A caracterização molecular tem sido muito útil, pois a diversidade molecular é bem maior que a morfológica (MÜHLEN, 1999). No entanto, discrepâncias observadas sugerem que os padrões evolutivos e moleculares são distintos, sendo mais apropriado para estudos de diversidade em bancos e coleções de germoplasma, a caracterização de marcadores moleculares combinada a por descritores morfoagronômicos (DIAS, 1994).

George *et al.* (2005), utilizando marcadores RAPD, observaram semelhanças entre parentais masculinos e híbridos  $F_1$  de oito cruzamentos de pimenta-do-reino. Em pimenta-longa (*P.hispidinervium*), estudos sobre estrutura genética e sistema de acasalamento, também utilizando marcadores RAPD, evidenciaram que a espécie é alógama e a diversidade genética é estruturada no espaço segundo padrões de isolamento por distância.

Silva *et al.* (2006), ao realizarem a caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia (*Citrullus lunatus*) em Irecê e Vitória da Conquista-BA, verificaram que todos descritores morfológicos examinados apresentaram diferenças significativas, exceto o número de frutos por planta, sendo que oito dos 17 descritores explicaram 79% da variação dos acessos. A análise da similaridade genética pelo método de Tocher e coeficiente de Jaccard, baseada em marcadores RAPD, formou nove grupos na ausência do cultivar testemunha e, dois grupos, na presença do testemunha, o qual constituiu um único grupo, sendo que nenhum dos grupos com mais de um acesso foi constituído por acessos de mesma procedência.

Valls (1988) considerou cinco etapas no processo de caracterização e avaliação, subseqüentes e correlatas: (1) identificação botânica, (2) cadastro de acessos por espécie, (3) caracterização, (4) avaliação preliminar e, (5) avaliação complementar, sendo que tais etapas contribuem para um melhor

conhecimento dos acessos e para detectar eventuais duplicações indesejáveis.

A caracterização e avaliação são importantes para estabelecer diferenças ou semelhanças entre acessos numa coleção de germoplasma. Estas atividades envolvem ações complementares no laboratório e no campo e podem ser direcionadas no sentido de encontrar características que estimulem a utilização do germoplasma, a qual é fortemente influenciada pelo conhecimento de suas características e estrutura genética, que por sua vez, pode ser útil para se definir os centros de diversidade, os centros de domesticação e *gene pools*. Isto é de suma importância, pois os centros de diversidade ou centros de origem são os locais onde se espera encontrar a mais expressiva fonte de variabilidade genética (VILELA-MORALES; VALOIS, 2000).

A avaliação se faz em função do uso, do cultivo e das características pesquisadas para melhor adaptação e desempenho produtivo no campo, assim como a simplificação de tarefas de cultivo e resistência biológica. As características agronômicas ideais são determinadas por pequenos agricultores e consumidores, por agentes ligados a fitopatologia e ao melhoramento genético que, em função de suas necessidades, determinam as condições para avaliação de uma espécie. De modo geral, a avaliação permite verificar a variabilidade existente nas coletas por meio da análise de materiais de propagação sexuada e assexuada, como também características relevantes do ponto de vista econômico e social; além da necessidade de avaliação do potencial real da espécie, que é determinado pela sua aceitação para o consumo. O grau de comercialização pode ser determinado por meio de testes de beneficiamento ou de consumo direto, no caso de espécies alimentícias, havendo poucas diferenças no caso de espécies industriais. Alguns parâmetros a serem levados em conta na avaliação de uma espécie são: (1) a germinação, dormência e vigor das sementes, (2) definição das características agronômicas desejáveis, (3) condições ideais para fertilização

e irrigação, (4) cultivo em condições de ocorrência natural ou de baixo consumo de insumos, (5) ciclo de produção, (6) características relacionadas a colheita, replantio ou rebrota e, (7) manejo pós-colheita (QUEROL, 1993).

Nass (2001) relata que a etapa de avaliação dos acessos é direcionada, particularmente, para os caracteres quantitativos, os quais são altamente influenciados pelas condições ambientais, sendo geneticamente controlados por muitos genes. A fase de avaliação pode ser dividida em avaliação preliminar e complementar. A avaliação preliminar é direcionada para o exame de caracteres agrônômicos básicos: ciclo, altura da planta, porcentagem de germinação e resistência a doenças, enquanto a avaliação complementar assume direção no sentido da qualidade, tolerância e produtividade, que devem ser obtidas com o objetivo de estimular o uso dos recursos genéticos vegetais mediados por estudos experimentais interdisciplinares.

De acordo com Mehra (1981) a avaliação deve ser realizada em dois níveis, sendo que no primeiro nível deve-se determinar a variabilidade ou as características das coletas e, posteriormente, deve-se analisar as características e a variação entre elas.

Cardoso *et al.* (2005), ao avaliarem clones de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.), comentaram que a espécie apresenta grande diversidade fenotípica e genotípica, sendo que a maioria dos produtores utiliza variedades locais pouco produtivas, existindo cultivares em muitos municípios brasileiros, estando um vasto germoplasma da espécie mantido por pequenos agricultores, comunidades indígenas e, com menor frequência, hortas domésticas, os quais podem ser avaliados, selecionando-se os mais adequados. Os autores avaliaram 16 clones de municípios de cinco unidades federativas (MG, BA, SP, TO, PR) e observaram que cinco destacaram-se em produtividade de raízes tuberosas; oito, em peso de ramos e três, no comprimento das raízes tuberosas.

### 1.2.2.3. *Seleção de plantas*

A domesticação de plantas é um processo muito importante para a plena utilização dos recursos fitogenéticos, sendo bastante recomendável o desenvolvimento de espécies com potencial sócio econômico e cultural. Um planejamento sustentável de programas de domesticação deve sugerir procedimentos que levem em conta, dentre outros, os seguintes fatores: (a) nível de ocorrência de recursos genéticos nas condições naturais, (b) identificação da máxima variabilidade genética, (c) manejo adequado de germoplasma, (d) levantamento do conhecimento etnobiológico existente, (e) estabelecimento de processos de melhoramento genético e biotecnológicos e, (f) identificação do índice de aproveitamento agrícola e industrial (VILELA-MORALES; VALOIS, 2000).

A domesticação de plantas pode ser considerada como um processo coevolutivo resultante da interação humana com espécies vegetais, em que o homem exerce a separação de tais seres vivos de seu ambiente natural visando torná-los úteis a si mesmo, sendo que culmina com a alteração das frequências gênicas e se concretiza com a completa dependência da espécie humana para sobrevivência. Embora haja uma relação entre domesticação de plantas e agricultura, elas constituem atividades diferentes, inclusive surgindo em épocas diferentes na História da humanidade: a domesticação de plantas começou a cerca de quatro milhões de anos atrás, em plena pré-história, no período neolítico, quando, cerca de 5.000 espécies domesticadas eram utilizadas pelo homem, muito antes do surgimento da agricultura, que se deu há cerca de 10.000 anos no oriente médio (COELHO; VALVA, 2001; ARAGÃO, 2003).

Para Rindos (1984), o processo de domesticação pode ser dividido em três etapas: acidental, especializada e agrícola. Na primeira etapa, o homem protege e utiliza a planta para sua alimentação, sem o cuidado de utilizar suas sementes. Na etapa especializada, o homem passa a ter o cuidado de cultivar a planta na área de sua habitação, onde a planta se

encontra livre de competidores. Na fase agrícola, as plantas são levadas a um ambiente artificial (agroecossistema) e passam por modificações genéticas que visam ao aumento da sua capacidade produtiva.

HARLAN (1975) distingue duas etapas no processo de domesticação das plantas: inconsciente e consciente. Na primeira etapa o homem pratica seleção sobre plantas cultivadas de forma inconsciente, sendo que tal seleção, embora inconsciente, promove as maiores alterações no genótipo das plantas. Na etapa consciente o homem elege características para a seleção, tais como formato, gosto agradável, cor, etc. Ainda segundo este autor, o processo de modificação genética nas plantas inicia-se quando o homem passa a guardar parte das sementes de plantas adaptadas a um dado sistema de cultivo, com o objetivo de conservar esta característica para as gerações futuras, exercendo, deste modo uma seleção dos genes relacionados com esta adaptabilidade. Embora a domesticação seja um processo de separação da natureza de plantas úteis ao homem, o simples fato de trazê-las para o ambiente antrópico não as torna domesticadas, pois só poderão ser consideradas domesticadas quando, devido ao manejo humano, perderem suas características selvagens durante o cultivo, o qual pode ser não-tecnificado (em quintais) como tecnificado (agricultura) (RINDOS, 1984).

Para Clement (2001), a domesticação é um estágio na evolução da planta em que humanos interferem na seleção natural, ora em consonância, ora, em dissonância. A evolução natural melhora a adaptação de uma população ao seu meio, mas não às necessidades humanas, o que é obtido somente pela domesticação. O autor distingue dois tipos de domesticação: a de paisagens, um processo em que a intervenção humana na paisagem resulta em mudanças ecológicas e demográficas na população de plantas ou animais, resultando num ambiente mais produtivo e seguro para humanos e; a domesticação de populações de plantas, propriamente, que o autor considera como um processo coevolucionário em que a seleção humana nas

populações resulta em mudanças, que as tornam mais úteis ao homem e melhor adaptadas às intervenções humanas no ambiente, resultando em variações fenotípicas e genotípicas. Uma população domesticada somente poderá produzir e reproduzir numa paisagem, se tal paisagem estiver muito manejada ou cultivada. Esta informação é importante quando se deseja melhorar uma população ou paisagem para um sistema agroflorestal complexo. Uma população domesticada não pode ser diretamente levada para um sistema de manejo florestal porque não vai possuir a adaptação necessária em tal ambiente, o que sugere que pode haver ideotipos diferentes para diferentes sistemas de produção. Quanto maior o grau de domesticação de uma população, maior será sua capacidade de se adaptar a sistemas de cultivo intensivo. A teoria sobre recursos genéticos também pode beneficiar-se da teoria da domesticação de paisagens e populações de plantas, na medida em que vão surgindo diferenciações entre populações silvestres e populações domesticadas, favorecendo a identificação e seleção de germoplasma.

De acordo com Homma (2000), desde o surgimento da agricultura foram domesticadas cerca de 3000 espécies de plantas. Na Amazônia, pode-se citar, dentre outras, a seringueira, o cacau, o guaraná, o cupuaçu, a pupunha, o jambu e o jaborandi. Para esse autor, a domesticação torna-se inevitável se for tecnologicamente viável e se o setor extrativo não estiver conseguindo atender às demandas do mercado e, assim, entra em declínio com a entrada do produto domesticado no mercado. O produto domesticado não é a principal causa do declínio do extrativismo, mas sim a valorização do produto agrícola em relação ao produto extrativo que leva os produtores abandonarem o extrativismo para a implantação de sistemas de cultivo.

Nascimento *et al.* (2007), ao estudarem a produção de biomassa de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) PEDERSEN e plantagem (*Plantago major* L.), como forma de favorecer a conservação da espécie pela domesticação e cultivo racional, particularmente no caso de fáfia (conhecida como 'ginseng

brasileiro'), que se encontra em risco de extinção, devido ao intenso extrativismo. Os autores avaliaram a capacidade produtiva em cultivo solteiro e consorciado e observaram que não houve influência significativa no tipo de cultivo e no espaçamento entre fileiras, para produção de matéria fresca e matéria seca da parte aérea e das raízes de fáfia. Para a plantagem, o cultivo solteiro propiciou maiores rendimentos de número, matéria fresca e seca de pendões e folhas.

Para Jorge (2004), a domesticação de espécies vegetais é um processo de seleção direcionado para adaptar espécies ao ambiente criado pelo homem, fazendo distinção entre domesticação e cultivo, o qual não envolve seleção intencional de características desejáveis para adaptação às condições de ambiente antropizado. A domesticação pode ser interpretada como a adaptação de espécies vindas de um ambiente nativo para outro modificado pelo ser humano, tendo em vista características com algum potencial de utilização humana. O longo tempo requerido para o processo de domesticação pode levar centenas de anos para chegar ao estágio de planta domesticada e cultivada, tornando difícil reconhecer e identificar seus parentais selvagens nas fases iniciais de domesticação.

O tamanho da semente foi uma característica preponderante para que o homem começasse a selecionar algumas plantas, onde o interesse maior seria a produção de grãos, tendo em mente a sua alimentação, pois uma semente maior favorece o crescimento rápido em função da maior quantidade de reservas para o embrião, conferindo vantagem competitiva (JORGE, 2004). Um exemplo clássico foi a domesticação do milho do ancestral teosinte, em que hoje profundas diferenças são visíveis entre estas duas espécies (DOEBLEY *et al.*, 1990; HARLAN, 1992). No atual estágio evolutivo, espigas de milho são dezenas de vezes maiores que espigas dos ancestrais selvagens. Do ponto de vista evolucionário, a seleção ainda é uma ferramenta muito importante para a fixação da característica desejada e pode ser exercida em duas direções: (1) no sentido dos ancestrais e; (2) no sentido

da evolução, pois o estudo de ambas contribui para o melhoramento genético de culturas. Em relação ao segundo caso, cumpre enfatizar que à medida que as plantas domesticadas vão se distanciando de seus ancestrais, surgem diferenças que geram variabilidade genética, portanto, novos controles genéticos nos fenótipos, além de diferenças ecológicas e fisiológicas.

Conforme Paiva e Valois (2001), a origem das plantas domesticadas confunde-se com o melhoramento genético vegetal, pois o simples fato de colher e plantar já é uma prática seletiva que se consolida no momento em que o homem passa a cultivar as plantas para seu uso próprio, sendo que o processo de domesticação inicia-se quando, após a colheita dos frutos de uma espécie, suas sementes são conservadas para serem novamente plantadas em um novo ambiente, diferente de seu ambiente natural, numa forma de seleção inconsciente, podendo haver, posteriormente, alteração de frequências gênicas. A domesticação é um processo que está em plena ascensão, com a necessidade de que numerosos trabalhos paralelos sejam desenvolvidos, sendo um processo contínuo que apresenta vários estágios, tendo como principal objetivo a composição da cadeia produtiva do agronegócio com base tecnológica.

Essa ascensão é particularmente percebida em plantas medicinais e aromáticas, devido a demanda mundial por produtos naturais, que estimula o agronegócio de tais plantas no Brasil (SUGIMOTO, 2003). Costa *et al.* (2007), ao estudar a produção de biomassa de elixir-paregórico (*Ocimum selloi* Benth.), comentam sobre o interesse na domesticação de plantas do gênero *Ocimum*, que é ainda bastante recente e muito importante para a preservação dessas espécies. Tendo em vista a domesticação e cultivo racional, esses autores estudaram dois sistemas de manejo (com corte e sem corte das inflorescências) e oito épocas de colheita. Os resultados indicaram que o rendimento médio de óleo essencial das folhas foi significativamente maior no sistemas de corte das inflorescências, como também apresentou respostas quadráticas em relação às épocas de corte.

Segundo Aragão (2003), a domesticação de populações de plantas, ocorreu de forma inconsciente, nos locais em que elas mostravam grande variabilidade, esse fato permitiu a humanidade primitiva selecionar os tipos mais adequados para a satisfação de suas necessidades, e que o tempo para que uma população de plantas se torne domesticada é indeterminado, havendo variação de espécie para espécie. Tais locais de grande variabilidade coincidem com o centro de diversidade primária, onde ocorrem diversas espécies silvestres relacionadas e são provavelmente os locais onde as primeiras espécies cultivadas foram domesticadas, por isso são também conhecidos como centros de origem de cultivo de uma dada espécie (VILELA-MORALES *et al.*, 1997).

Jorge (2004) descreve que o processo de domesticação se deu de forma bastante espalhada dentro dos continentes, enquanto que entre os continentes o comércio entre os povos se encarregou de dispersar pelo mundo algumas espécies domesticadas para regiões onde elas não existiam. Isso fez com que algumas espécies domesticadas se identificassem, culturalmente, com determinadas regiões, como é o caso do tomate, domesticado na América do Norte, que assume relevante importância para a cozinha italiana. Essa diversidade deve ser incondicionalmente considerada num programa de domesticação, cultivo e melhoramento genético, sendo que em coleções de germoplasma ou em ambientes de ocorrência, pode ser comprovada por meio de métodos biomoleculares baseados na identificação de fenótipos marcadores, dentre os quais pode-se citar RAPD, RFLP e microssatélites.

Wadt e Kageyama (2004) descrevem que a deriva e características genéticas, assim como certas características das plantas, como modo de reprodução e sistema reprodutivo devem ser levados em conta para a conservação e manejo de recursos genéticos, especialmente para espécies alógamas, nas quais as populações pequenas podem favorecer a depressão endogâmica. A influência de tais fatores sobre a estrutura genética das

populações naturais é fundamental para definir o manejo adequado para sua domesticação. Marcadores moleculares são muito utilizados nesses estudos. Bekessy *et al.* (2003), no entanto, alertam para o fato de que tais marcadores não podem ser usados quando os objetivos são informações sobre o potencial adaptativo das populações, pois verificaram que marcadores neutros não são apropriados para esse tipo de estudo.

Costa *et al.* (2007) mencionam que os estudos mais freqüentes em plantas em processo de domesticação são direcionados principalmente para germinação de sementes, produção de mudas, adubação química e orgânica de plantas, competição de cultivares e definição de horário de colheita, temperatura e tempo de secagem. Bergo *et al.* (2005), estudando a época e freqüência de corte em pimenta-longa e seu efeito sobre o rendimento de óleo essencial, verificaram que os cortes realizados mais próximos do período chuvoso (março/abril) foram os que apresentaram maiores produtividades.

Para Tombolato *et al.* (2004), o primeiro passo para a domesticação é estudar e desenvolver métodos de propagação, de acordo com as características reprodutivas da espécie. Neste sentido, a biotecnologia pode auxiliar com suas técnicas, em particular a cultura de tecidos, possibilitando a domesticação principalmente de espécies nativas. As espécies com alguma manipulação humana, mas sem trabalho de melhoramento genético e cultural podem ser consideradas semi-domesticadas, cuja semi-domesticação se inicia quando o germoplasma é coletado e cultivado *ex situ*, pois neste caso a adaptação da espécie a um novo ambiente e a conseqüente mudança na freqüência gênica vai ser inevitável, se a coleção de germoplasma for propagada pela via sexual, de modo que somente os indivíduos adaptados às novas situações serão capazes de desenvolver-se e reproduzir.

Se a espécie tiver estreita base genética, sua domesticação vai tornar-se mais vulnerável, levando a conseqüências ecológicas importantes para a nova espécie cultivada (Tombolato *et al.*, 2004). Esses efeitos podem

ser esperados, particularmente, para espécies sob risco de extinção e espécies endêmicas, que vem sofrendo erosão genética devido a crescente pressão sobre os biomas do país e a conseqüente devastação da flora nacional. Este é o caso da arnica (*Lychnophora pinaster*), espécie endêmica nos campos rupestres do Cerrado Brasileiro. Oliveira Júnior *et al.* (2006), ao considerarem o estreitamento da base genética e risco de extinção desta espécie, tendo em vista sua conservação mediante cultivo racional, estudaram a influência da adubação e calagem no crescimento desta espécie e obtiveram, como resultado, que, de modo geral, a arnica apresentou melhores respostas a adubos minerais e menores a orgânicos, neste caso sendo essencial estar associado à calagem e dispensável no anterior, sendo tolerante ao alumínio e exigente a macro e micronutrientes (zinco e manganês).

Ngo-Mpeck *et al.* (2003) descreveram que, nos países da África Centro-Occidental, iniciativas agroflorestais estão desenvolvendo técnicas e estratégias para domesticação e comercialização de espécies florestais arbóreas, cujos produtos são tradicionalmente coletados da floresta nativa e isso está sendo feito para produtos não-madeireiros e madeireiros com potencial de mercado e que aumentam a renda e o sustento de famílias rurais, como também recuperam ambientes degradados. Nestes países, agricultores têm identificado espécies arbóreas frutíferas de maior prioridade para a domesticação. O temor das indústrias farmacêuticas sobre o futuro dos recursos, assim como a percepção de pesquisadores sobre a necessidade de conservação das espécies e seus habitats, contribuiu para a identificação de espécies arbóreas com propriedades medicinais. As pesquisas sobre domesticação estão sendo realizadas por meio de uma abordagem participativa, que foi adotada pelo ICRAF (World Agroforestry Centre) e seus padrões nacionalizados para domesticação dessas espécies. Um componente crítico para essa estratégia de domesticação é o desenvolvimento, disseminação e cultivo de propágulos melhorados, os quais são indispensáveis para captura e multiplicação de variação fenotípica

expressa por indivíduos selecionados portadores de características desejáveis.

No Brasil, espécies de ciclo perene como o guaco (*Mikania glomerata* Spreng) vem sofrendo ações extrativistas que põem em risco a sobrevivência dessa espécie. O interesse em sua conservação é devido suas propriedades medicinais e aromáticas, por isso compõe uma lista de plantas de valor comercial do Sindicato das Indústrias de Produtos Farmacêuticos do Estado de São Paulo (VIDAL *et al.*, 2006). Estes autores, ao perceberem a necessidade de conservação de guaco, devido ao risco de extinção a que está exposta essa planta, em função das ações antrópicas sobre a flora nacional, assim como a importância da propagação como estratégia de domesticação das espécies de interesse agrônomo e economico-social, desenvolveram estudos sobre mudas produzidas por estaquia, em casca de arroz carbonizada com vermicomposto e observaram que todas as estacas avaliadas formaram sistemas radiculares na casca de arroz carbonizada, não sendo necessária a adição de vermicomposto para o crescimento e qualidade das mudas.

Iniciativas agrofloretais também foram descritas por Tekwe *et al.* (2003), igualmente, em países da África Centro-Occidental. Nestes países, o estabelecimento de bancos de germoplasma tem sido sugerido para sustentar programas de domesticação de espécies de reconhecido valor econômico que estão sob ameaça de extinção, devido ao intenso extrativismo para comercialização e, ao mesmo tempo, estão sendo desenvolvidos sistemas e práticas de cultivo, além do treinamento de produtores rurais, com o objetivo de viabilizar o cultivo local. Tais espécies têm sido conduzidas em sistemas agrofloretais já existentes. No entanto, ressalva-se que, para favorecer a sustentabilidade dessas espécies, o programa de domesticação precisa de um gerenciamento sustentável da população silvestre, e de um efetivo sistema de leis para regulamentar a colheita e comercialização dessas espécies, e isso certamente pode ser mediado pelas experiências adquiridas

durante o processo de domesticação dessas espécies. Deste modo, elas poderão continuar como fonte de renda para muitas pessoas que dependem delas.

Schreckenberg *et al.* (2006), ao realizarem estudos sobre árvores frutíferas nativas em Camarões e Nigéria, apresentaram evidências de que a domesticação de tais espécies pode contribuir para a elevação de renda para pessoas mais pobres nas planícies do Oeste da África, particularmente, mulheres, sendo que o aumento de renda pode ser suficiente para deixá-las acima da linha da pobreza de um dólar ao dia; e isso inclui o potencial de melhor nutrição pessoal e familiar, além de contribuir para conservar a biodiversidade e o uso de sistemas de produção ambientalmente sustentáveis, ao mesmo tempo que são necessárias pesquisas direcionadas para melhorar práticas de manejo e identificar novas oportunidades para agregar valor visando a comercialização.

De acordo com relatos de Leakey e Tomich (1999), a domesticação de árvores é vista como um componente essencial para o desenvolvimento de sistemas agroflorestais, os quais podem contribuir para balancear a segurança alimentar com a utilização dos recursos naturais, por meio de uma estrutura ecológica semelhante à dinâmica dos sistemas naturais. A domesticação de espécies arbóreas em sistemas agroflorestais conduz a um amplo cultivo, freqüentemente, orientado ao mercado, sendo um procedimento que envolve identificação, produção, gerenciamento e adoção de coleções de germoplasma, podendo ocorrer em qualquer ponto ao longo de um processo contínuo que inicia na vida silvestre e termina em um estado geneticamente transformado, tendo na propagação vegetativa de genótipos raros com características superiores, a mais efetiva estratégia para a domesticação dessas espécies.

Programas do ICRAF desenvolvem estratégias de domesticação de árvores que produzem materiais de alto valor. Tais estratégias iniciaram priorizando preferências de agricultores, de mercado, pesquisas em

andamento, e futuro potencial de identificação das espécies e, também, variam na dependência de valor, de tipo de produto, da produtividade, do tipo reprodutivo, de dispersão do germoplasma e dos riscos de estreitamento da base genética no desenvolvimento de cultivares clonais, além do uso de procedimentos moleculares (RAPD, PCR, etc.) para caracterização genética do germoplasma (LEAKEY; TOMICH, 1999). Nesses esforços, o ICRAF alcançou mais de 100% de ganho genético, em quatro anos, contribuindo para isso, o fato de árvores tropicais, de modo geral, serem de exocruzamento e fortemente heterogêneas, o que faz com que a ampla variação genética dos genótipos torne fácil a seleção de indivíduos superiores, além de que a maioria de tais árvores são facilmente propagadas vegetativamente, enquanto em seu estágio juvenil.

Leakey e Tomich (1999) comentam, ainda, que ao longo do processo de domesticação, é importante realizar duas coisas: (1) elevar constantemente o nível de seleção genética; (2) a base genética dos indivíduos selecionados deve ser ampliada, continuamente, em cada geração sucessiva de seleção, de modo que sejam transferidas características superiores para os cultivares. Outros dois fatores importantes na domesticação de espécies arbóreas são a redução do tamanho das árvores e a redução do ciclo de cultivo. A identificação de uma espécie candidata à domesticação deve começar por uma pesquisa de mercado bem antes de iniciar pesquisas científicas, com especial atenção à relação entre bens substitutos e preferência dos consumidores, assim como facilidades de acesso ao mercado externo.

### 1.2.3. ASPECTOS GERAIS SOBRE AGROECOSSISTEMAS

Os agroecossistemas ou ecossistemas agrícolas têm como objetivo a manipulação dos recursos biológicos, visando fornecer a energia necessária à sobrevivência do ser humano, envolvendo-se na dinâmica de sua produção, o gerenciamento do ser humano e fatores externos, como apoio técnico,

creditício, indústrias de insumos e de transformação e cadeias produtivas (KOZIOSKI; CIOCCA, 2000).

Ao longo dos anos do século passado, a humanidade passou por um notável desenvolvimento científico e tecnológico, que se refletiu, no setor agrícola por meio da Revolução Verde. Tal desenvolvimento se deu sem a preocupações de sustentabilidade, gerando o risco de esgotamento dos recursos naturais, fundamentais para a sobrevivência humana. Para que a sustentabilidade possa ser alcançada, conforme (GLIESSMAN, 2001), são necessárias práticas agrícolas orientadas por um profundo conhecimento dos processos ecológicos que ocorrem nas áreas produtivas e nos contextos mais amplos dos quais elas fazem parte.

Nesse sentido, modelos agroecológicos, ditos 'alternativos', podem constituir base geradora de conhecimentos necessária para a sustentabilidade produtiva dos agroecossistemas ditos 'convencionais', pois preocupam-se com questões fundamentais para a qualidade de vida do ser humano e caracterizam-se por práticas agrícolas que visam ao respeito ao equilíbrio ambiental, à conservação da biodiversidade, da fertilidade do solo, da saúde das plantas e animais, diversificação de cultivos; rotação de culturas e integração da produção animal e vegetal; valorização dos processos biológicos, economia de insumos e produção de alimentos com elevada qualidade nutritiva (EHLERS, 1999).

Uma das formas de se evitar, controlar e gerenciar a sustentabilidade dos agroecossistemas, principalmente os convencionais, é por meio dos indicadores de sustentabilidade, os quais devem ser definidos para cada tipo de agroecossistema em função de condições agroecológicas e socioeconômicas de cada região, do perfil dos usuários finais da informação, da disponibilidade de informações existentes e dos custos necessários para a geração de dados (FERRAZ, 2003).

De acordo com Hora (2006), quando bem selecionados, os indicadores auxiliam na interpretação de fenômenos naturais, permitindo estabelecer relações de causa/efeito e fazer previsões sobre o comportamento quanto à sustentabilidade no médio e longo prazos. Os dados obtidos permitem detectar pontos críticos de funcionamento do sistema, relacionar eventos diferentes e levantar hipóteses para averiguar a validade dos indicadores selecionados.

Ferraz *et al.* (2004) recomendam, como critério geral para seleção de indicadores, que eles sejam capazes de advertir sobre eventuais perturbações passíveis de ocorrer e não somente sinalizar a existência de degradações evidentes no sistema. Devem refletir alterações nos atributos de produtividade, resiliência, estabilidade e eqüidade; devem ser avaliados quanto a sua eficiência e apresentar simplicidade de mensuração e repetibilidade ao longo do tempo; sensibilidade para detectar mudanças no sistema e permitir o cruzamento com outros indicadores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F.C.; DUARTE, M.L.R.; STEIN, R.L.B.; ENDO, T. Reação de espécies de *Piper* a dois isolados de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Fitopatologia Brasileira*, suplemento, n.21, p.240, ago. 1997a.

ALBUQUERQUE, F.C.; HAMADA, M.; DUARTE, M.L.R. *P. aduncum* L. espécie nativa da Amazônia Brasileira, hospedeira de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Fitopatologia Brasileira*, v.2, n.22, p.201-203, jun. 1997b.

ALBUQUERQUE, J.M. Identificação de plantas invasoras de culturas da região de Manaus. *Acta Amazônica*, Manaus, v.10, n.1, p.47-95, 1980.

ARAGÃO, F.V.L. *Organismos transgênicos: explicando e discutindo a tecnologia*. Barueri, SP: Manole, 2003.

ARAÚJO, E.S.; SANTOS, A.M.; AREIAS, R.G.B.M.; SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Uso de RAPD para análise de divergência genética de arroz. *Agronomia*, v.37, n.1, p.33-37, 2003.

BARRIGA, R.H.M.P. *Pimenta-do-reino; Origem, Distribuição Geográfica, Caracteres Botânicos e Melhoramento Genético*. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 25p.

BARROSO, G.M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Rio de Janeiro: LTC, 1978. v.1.

BARROSO, P.A.V.; COSTA, J.N.; CIAMPI, A.Y.; RANGEL, L.E.P.; HOFFMANN, L.V. *Caracterização in situ de populações de G. barbadense do Estado do Mato Grosso*. Campina Grande-PB: Embrapa Algodão, 2005. 8p. (Comunicado técnico, 244).

BASTOS, C.N. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciososa* e outros fungos fitopatogênicos; *Fitopatologia Brasileira*, v. 22, n.3, p. 441-443, 1997.

BEKESSY, S.A.; ENNOS, R.A.; BURGMAN, M.A.; NEWTON, A.C.; ADES, P.K. Neutral DNA markers fail to detect genetic divergence in ecologically important trait. *Biological Conservation*, v.110, p.267-275, 2003.

BERGO, C.L.; MENDONÇA, H.A.; SILVA, M.R. Efeito da época e frequência de corte de pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) no rendimento de óleo essencial. *Acta Amazônica*, v.35, p.111-117, 2005.

BERNARD, C. B.; KRISHNAMURTY, H.G.; CHAURET, D.; PHILOGÈNE, B.J.R.; SANCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMAN, L.; ANDERSON, J.T. Iseticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. *Journal of Chemical Ecology*, v. 21, p. 801-814, 1995.

BURGER, W.C. Evolutionary trends in the Central American species of *Piper* (*Piperaceae*), *Brittonia*, v.24, p.356-362, 1972.

CARDOSO, A.D.; VIANA, A.E.S.; RAMOS, P.A.S.; MATSUMOTO, S.N.; AMARAL, C.L.F.; SEDIYAMA, T.; MORAIS, O.M. Avaliação de clones de batata-doce em Vitória da Conquista. *Horticultura Brasileira*, v.23, n.4, p.911-914, 2005.

CARVALHO, P.C.L.; SOARES FILHO, W.S.; RITZINGER, R.; CARVALHO, J.A.B.S. Conservação de germoplasma de fruteiras tropicais com a participação do agricultor. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.23, n.3, p.730-734, 2001.

CLEMENT, C.R. Melhoramento de espécies nativas. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento – plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 15, p. 423-441.

COELHO, A.S.G.; VALVA, F.D. O processo evolutivo e o melhoramento de plantas. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticas e melhoramento - plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 3, p.57 – 78.

COSTA, L.C.B.; PITO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; CARDOSO, M.G. Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita. *Horticultura Brasileira*, v.25, n.2, p.175-179, 2007.

DIAS, L.A.S. *Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (Theobroma cacao L.)*. Piracicaba-SP, 1994. 94f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

DOEBLEY, J.; STEC, A.; WENDEL, J.; EDWARDS, M. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F<sub>2</sub> population: implications for the origin of maize. *Proceedings of national Academic Science*, v.87, p.9888-9892, 1990.

EHLERS, E. *Agricultura sustentável - origem e perspectiva de um novo paradigma*. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 1999. 157p.

FERRAZ, J.M. As dimensões da sustentabilidade e seus indicadores. In: MARQUES, J.F.; SKORUPA, A.L.; FERRAZ, G.M.J. *Indicadores de sustentabilidade em agroecossistemas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p.15-58.

FERRAZ, J.M.G.; YOUNG, M.C.P.; MARQUES, J.F.; SKORUPA, L.A. *Construção participativa de indicadores de sustentabilidade*. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 4p.

FERREIRA, G.M.; MOTA, M.G.C.; VIEIRA, I.M.S.; BATISTA, M.S.F.; SILVA, S.P.G.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Propagação *in vitro* de *Piper aduncum* L. *Revista de Ciências Agrárias*, n.45, p.235-242, 2006.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em genética*. 2.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.

FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T.; SILVA, C.A.L.; DELARMELINA, C. Atividade antimicrobiana do extrato e do óleo essencial de *Piper* spp cultivadas na coleção de germoplasma do CPQBA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. *Resumos...* Recife: SOB. Horticultura Brasileira, v.21, n.2, 2003. Suplemento 1. <sup>1</sup>CD-ROM.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, v.85, p.455-460, 2000.

FONTES JÚNIOR, E.A.; SOUSA, P.J.C.; SOUSA, R.C.; MAIA, J.G.S.; SANTOS, A.M.S. Atividade antiinflamatória e analgésica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 17. Salvador-BA: FESBE; Mix Tecnologia Digital, 2002. p.66.

FORD-LLOYD, B.; JACKSON, M. *Plant genetic resources: an introduction to their conservation and use*. Moulton: Castlefield Press, 1986. 146p.

FRANCIS, J.K. *Piper aduncum* L. San Juan: INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL FORESTRY-UNIVERSITY OF PUERTO RICO, 2003. 3p.

FRANKEL, O.H.; BROWN, A.D.H.; BURDON, J.J. *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 299p.

GAIA, J.M.D. *Análise da similaridade genética de pimenta-do-reino através de eletroforese de isoenzimas*. Belém, 1999. 97f. Dissertação (Mestrado em Recursos genéticos e Biotecnologia) – Curso de Biologia Vegetal Tropical, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (UFRA).

GAIA, J.M.D.; MOTA, M.G.C.; DERBYSHIRE, M.T.V.C.; OLIVEIRA, V.R.; COSTA, M.R.; MARTINS, C.S.; POLTRONIERI, M.C. Diversidade e similaridade genética em clones de pimenta-do-reino. *Horticultura Brasileira*, v.23, n.2, p.223-229, 2005.

GAIA, J.M.D.; MOTA, M.G.C.; DERBYSHIRE, M.T.V.C.; OLIVEIRA, V.R.; COSTA, M.R.; MARTINS, C.S.; POLTRONIERI, M.C. Caracterização de acessos de pimenta-do-reino com base em sistemas enzimáticos. *Horticultura Brasileira*, v.25, n.3, p.333-343, 2007.

GEORGE, K.J.; GANGA, G.; VARMA, R.S.; SASIKUMAR, B.; SAJI, K.V. Identification of hybrids in black pepper (*Piper nigrum* L.) using male parent-specific RAPD markers. *Current Science*, v.88, n.2, p.216-218, 2005.

GLIESSMAN, S.R. Necessidade de sistemas sustentáveis de produção de alimentos. In: *Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável*. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.33-53.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

GOEDERT, C.O.; WETZEL, M.M.V.S. Sistema de curadorias de germoplasma e o progresso de conservação e uso de recursos genéticos do sistema Embrapa. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE – SIRGEALC, 2. 1999. *Anais...* Brasília: Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia, 1999. 9p. <sup>1</sup>CD-ROM.

GOTMISKY, S.A.; KOKAEVA, Z.G.; BORBROVA, V.K. use of molecular marker for the analysis of plant genome. *Research Journal in Genetics*, v.11, n.35, p.1538-1549, 1999.

GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; ROCHA, A. I.; SILVA, M.L.; VILBERG, V.C. Óleos essenciais da Amazônia VII. *Acta Amazônica*, v.11, n.1, p. 143-148, 1981.

GRATTAPAGLIA, D. Marcadores moleculares em espécies florestais: *Eucalyptus* como modelo. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento – plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 30, p. 967-1010.

HARLAN, V.R. *Crops & man*. 2.ed. Madson: American Society of Agronomy, 1975. 294p.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2.ed. Madson: American Society of Agronomy, SB71.H3, 1992.

HAWKES, J.G. The conservation of short lived asexually propagated plants. In: FRANKEL, O.H.; BENNET, E. (Ed.). *Genetics resources in plants: Their exploration and conservation*. Oxford: Blackwell Sc. Pub., 1970. p. 495-499.

HOFFMANN, L.V.; BARROSO, P.A.V. Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 35p. (Documentos, 147).

HOMMA, A.K.O. Amazônia: os limites da opção extrativa. *Ciência Hoje*, v.27, n.159, p.70-73, 2000.

HOMMA, A.K.O. *O desenvolvimento da agroindústria no Estado do Pará*. 2003. 35p. Disponível em [http://pee.mdic.gov.br/arquivo/sti/publicacoes/futAmaDilOportunidades/rev20011213\\_08.pdf](http://pee.mdic.gov.br/arquivo/sti/publicacoes/futAmaDilOportunidades/rev20011213_08.pdf). Acesso em: 11/09/2006.

HORA, F.M.D. *Caracterização de agroecossistemas da microbacia do riacho Cajueiro dos Veados, Malhador-SE*. São Cristóvão, 2006. 93f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Estudos em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe.

JORGE, M.H.A. *A domesticação de plantas nativas do pantanal*. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2004, 20p. (Documentos, 70).

JOSÉ JÚNIOR, D.; SIMÕES, M.; PEREIRA, N.A.; MENEZES, F.S.; GUIMARÃES, E.F.; KAPLAN, M.A.C.; MOREIRA, D.L. Atividade analgésica de *Piper mollicomum* Kunt e *Piper malacophyllum* C.DC. (*Piperaceae*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2002. *Resumos...* Uberlândia-MG: SOB. <sup>1</sup>CD-ROM.

KOZIOSKI, G.V.; CIOCCA, M.L.S. Energia e sustentabilidade em agroecossistemas. *Ciência Rural*, v.30, n.4, p.737-745, 2000.

LEAKEY, R.R.B.; TOMICH, T.P. Domestication of tropical trees: from biology to economics and policy. In: BUCK, L.E.; LASSOIE, J.P.; FERNANDES,

E.C.M. *Agroforestry and sustainable agricultural systems*. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1999. 416p. Cap. 14, p.319-337.

LEME, R.; COUTO, L.B.; LEAL FILHO, N.; GRIBEL, R. *Propagação por estaquia de duas espécies de piperáceas, Piper aduncum L. e Piper arboreum AUBLET, estratégias para recuperação de áreas degradadas na Amazônia Central*. Manaus: INPA, 1998. 4p.

LITT, M.; LUTY, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal Human Genetic*, v.44, n.3, p.397-401, Mar. 1989.

LLERAS, E. Coleta de recursos genéticos vegetais. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1. 1988. *Anais...* Jaboticabal-SP: FCAV/UNESP. p.23-42.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C.; CASTRO, D.S.; TORRES, G.I.O.P.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; SILVA, M.H.L. Avaliação dos efeitos da temperatura e da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de *Piper aduncum L.* *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, p.297-299, 2007. suplemento 2.

LODER, J.W.; MOORHOUSE, A., RUSSEL, G.B. Tumour inhibitory plants. Amides of *Piper novae-hollandiae* (*Piperaceae*). *Australian Journal of Chemistry*, v.22, n.7, p.1531-1538, 1969.

MAIA, J.G.; SILVA, M.L.; LUZ, A.I.R.; ZOGHBI, M.G.B.; RAMOS, L.S. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em safrol. *Química Nova*, São Paulo, v.10, n.3, p.200-204, 1987.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.B.G.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* growing wild in the Amazon Region. *Flavour and Fragrance Journal*, v.13, p.269-272, 1998.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. *Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2001. p.123-127. (Coleção Adolpho Ducke).

MANGANARIS, A.G.; ALSTON, F.N.; WEEDEN, N.F.; ALDWINCKLE, H.S.; GUSTAFSON, H.L.; BROWN, S.K. Isozyme locus Pgm-1 is tightly linked to a gene (V-f) for scab resistance in apple. *Journal of American Society Horticultural*, Alexandria, v.19, n.6, p.1286-1288, 1994.

MARTINS, C.S.; POLTRONIERI, M.C.; KANASHIRO, M.; ALVES, R.M.; GAIA, J.M.; IKETANI, H.; KAJITA, T. Caracterização bioquímica de germoplasma de fruteiras. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônica Oriental. *Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvimento do trópico úmido*. Belém: EMBRAPA-CPATU/JICA, 1996. p.161-172. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 85).

MEHRA, K.L. Analysis of variation in plant populations. In: MEHRA, K.L.; ARORA, R.K.; WADHIM, S.R. (Ed.). *Plant exploration and collection*. Nova Delhi: NBPGR, 1981.

MEJÍA, K.C., REGINFO, E.S. *Planta medicinales de uso popular em la Amazonia Peruana*. 2.ed. Lima: Tarea Asociación Gráfica Educativa, 2000. 286p.

MILACH, S.C.K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

MILACH, S.C.K. Marcadores de DNA – aplicações no melhoramento de plantas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, p.14-17, 1999. Disponível em <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio05/marcadoresdna.pdf>.> Acesso em: 24 fev. 2008.

MONTEIRO, G.M.; LIRA, D.S.; MAIA, J.G.S.; BARROS, C.A.L.; SOUSA, P.J.C. Acute and sub-acute toxicity of the essential oil of *Piper aduncum* L. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, 3. 2001. *Anais...* Águas de Lindóia-SP; Amsterdam: Elsevier Science Ltd., 2001. v.13. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.13, p. S153.

MORANDIM, A.A.; NAVICKIENE, H.M.D.; REGASINI, L.O.; TELASCREA, M.; AGRIPINO, D.; FIRRI, A.F.; CAVALHEIRO, A.J.; KATO, M.J.; MARQUES, M.O.M.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M.C.M.; FURLAN, M. Comparação da composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Piper aduncum* L., *P. arboreum* AUBLET. e *P. tuberculatum* JACQ. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 17. 2002. *Resumos...* Cuiabá-MT: SOB. <sup>1</sup>CD-ROM.

MOTA, M.G.C.; FERREIRA, G.M.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Efeito da concentração de ANA e BAP na micropropagação de *Piper aduncum* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2002 *Resumos...* Uberlândia-MG: SOB. *Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, julho, 2002. Suplemento 2. <sup>1</sup>CD-ROM.

MUKERJEE, S.K.; SAXENA, V.S.; TOMAR, S.S. New methylenedioxyphenil synergists for pyrethrins. *Journal of the Science and Food Agriculture*, v.27, p.1209-1211, 1979.

MÜHLEN, G.S. *Avaliação da diversidade genética de etnovarietades de mandioca (Manihot esculenta Crantz) com marcadores de DNA: RAPD, AFLP e microssatélites*. Piracicaba, 1999. 176f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

NASAYAO, E.E.; FABELLA, M.R. Morphology, distribution and indigenous uses of spiked pepper (*Piper aduncum* L.). *Philippine Journal of Crop Science*, v.23, p.15, 1998.

NASCIMENTO, E.X.; MOTA, J.H.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A.H. Produção de biomassa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) PEDERSEN e *Plantago major* L. em cultivo solteiro e consorciado, *Ciência Agrotécnica*, v.1, n.3, p.724-730, 2007.

NASCIMENTO, M.E. *Aspectos anatômicos dos órgãos vegetativos de Piper hispidinervium* C.DC. (*Piperaceae*) e suas estruturas secretoras. Belém, 1997. 78f. Dissertação (Mestrado em Biologia Ambiental) – Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará.

NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento - plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 2. p. 29-55.

NGO-MPECK, M.L.N., ASAAH, E., TCHOUNDJEU, Z. *Contribution of tree domestication to the conservation of indigenous medicinal plants of African forests*. 2003. 7p. Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/article/wfc/xii/0870-b1.htm>> Acesso em: 21 mar. 2007.

NUNES, J.D.; TORRES, G.A.; DAVIDE, L.C.; SALGADO, C.C. Citogenética de *piper hispidinervum* e *Piper aduncum* *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.42, n.7, p. 1049-1052, 2007.

OLIVEIRA JÚNIOR, A.C.; FAQUIN, V.; PINTO, J.E.B.P. Efeitos de calagem e adubação no crescimento e nutrição de arnica. *Horticultura Brasileira*, v.24, n.3, p.347-351, 2006.

OLIVEIRA, L.C.P.; MAUSE, R.; NUNOMURA, S.M. Quantitative HPLC analysis of some marker compounds of hydroalcoholic extracts of *Piper aduncum* L. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, v. 16, p.439-1442, 2005.

OLIVEIRA, M.N.; LUNZ, A.M.P. Coleta, caracterização e avaliação de genótipos de pimenta-longa (*Piper hispidinervium*) no Estado do Acre. Rio Branco-AC: EMBRAPA-CPAA, 1996. 3p. (Pesquisa em Andamento, 86).

ORJALA, J.; WRIGHT, A.D.; DEHRENDIS, H.; FOLKERS, G.; STICHER, O.; RUEGGER, H.; RALI, T.J. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum* L. *Journal of Natural Products*, v. 57, n. 1, p18-26, 1994.

PAIVA, J.R.; VALOIS, A.C.C. Espécies selvagens e sua utilização no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento – plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 4, p.79-99.

PERECIN, M.B.; BOVI, O.A.; MAIA, N.B. Pesquisas com plantas medicinais, aromáticas e corantes: o papel do Instituto Agrônomo. *O Agrônomo*, v.54, p.21-24, 2002.

PIMENTEL, F.A.; PEREIRA, J.B.M.; OLIVEIRA, M.N. *Zoneamento e caracterização de habitats naturais de pimenta-longa (Piper hispidinervium) no Acre*. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 1998. 17p. (EMBRAPA-CPAF. Boletim de Pesquisa, 20).

QUEROL, D. *Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido: abordagem técnica e socioeconômica*. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 216p.

RAO, V.R.; RILEY, K.W. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant genetic Newsletter*, n.97, p.3-20, 1994.

REDIG, M.S.F.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; RODRIGUES, V.L.F.; GAIA, J.M.D. Germinação de sementes e estimativas de parâmetros genéticos de pimenta-de-macaco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2003. *Anais...* Recife: UFRPE. <sup>1</sup>CD-ROM.

RIBEIRO, A.F.; ALMEIDA, S.S.; ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.G.B. A influência de fatores ambientais nos óleos essenciais de *Faramea anisocalix* Poepp. & Endl. Belém-PA: MPEG, 2003.

RINDOS, D. *The origins of agriculture*. Orlando: Academic Press, 1984. 325p.

SCHRECKENBERG, K.; AWONO, A.; DEGRANDE, A.; MBOSSO, C.; NDOYE, O. Domesticating indigenous fruit trees as a contribution to poverty reduction. *Forests, Trees and Livelihoods*, v.16, p.35-51, 2006.

SHAMINA, A.; ZACHARIAH, T.J.; SASIKUMAR, B.; GEORGE, J.K. Biochemical variation in tumeric (*Curcuma longa* Linn.) Accessions based on isozymes polymorphism. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, Ashford, v.73, n.4, p.479-483, 1998.

SILVA, A.C.M.; ALMEIDA, R.R.P.; GAIA, J.M.D.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; MAIA, J.G.S. O uso do SPME na análise do óleo essencial de *P. aduncum* L. instalado em banco de germoplasma. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. *Resumos...* Recife: SOB. *Horticultura Brasileira*, v.21, n.2, 2003. Suplemento 1. <sup>1</sup>CD-ROM.

SILVA, A.C.P.R.; OLIVEIRA, M.N. *Caracterização botânica e química de três espécies do gênero Piper no Acre*. Rio Branco: Embrapa Acre, 2000. 13p.

SILVA, A.T. *Estudo da divergência genética em acessos de arroz através de marcadores morfológicos e moleculares (RAPD)*. Lavras-MG: UFLA, 1999. 185p.

SILVA, M.H.L. *Tecnologia de cultivo e produção racional de pimenta longa: Piper hispidinervium* C. DC. Itaguaí, 1993. 87f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SILVA, M.L.; QUEIROZ, M.A.; FERREIRA, M.A.J.F.; BUSO, G.S.C. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. *Horticultura Brasileira*, v.24, n.4, p. 405-409, 2006.

SOUSA, P.J.C.; SILVA, O.P.P.; LIRA, D.S. Estudo da toxicidade aguda e subaguda de *Piper aduncum* L. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 16. 2001. *Anais...* Caxambu-MG: FESBE. p.449.

SOUZA, R. Plantas que curam, *Revista Planeta*, São Paulo: Editora Três, ed. 119-A, ano 10, n. 8, ago. 1982.

SOUZA, R.F.; CONTEL, E.P.B. Análise da variabilidade de alozimas em acessos e cultivares de girassol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.35, p.771-779, 2001.

SPINA, A.P.; FERREIRA, W.M.; LEITÃO FILHO, H.F. Floração, frutificação e síndromes de dispersão de uma comunidade de floresta de brejo na região de Campinas-SP. *Acta Botânica Brasílica*, v.15, n.3, p.349-368, 2001.

STARR, F.; STARR, K.; LOOPE, L. *Piper aduncum* L. Maui: United States Geological Survey, 2003. 8p.

SUGIMOTO, L. Pesquisa busca inclusão do país no mercado de extratos naturais. *Jornal da Unicamp*, 25 - 31 ago, 2003.

TEKWE, C.; NDAM, N.; NKEFOR, J.P. *Gnetum domestication for livelihood improvement and conservation*. 2003. 5p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/article/wfc/xii/0671-b5.htm>> Acesso em: 21 mar. 2007.

TELLES, M.P.C.; MONTEIRO, M.S.R; RODRIGUES, F.M.; SOARES, T.N.; RESENDE, L.V.; AMARAL, A.G.; MARRA, P.R. Marcadores RAPD na análise da divergência genética entre raças de bovinos e número de locos necessários para a estabilidade da divergência estimada. *Ciência Animal Brasileira*, v.2, n.2, p.87-95, 2001.

TOMBOLATO, A.F.C.; VEIGA, R.F.A.; BARBOSA, W.; COSTA, A.A.; BERNATTI JÚNIOR, R.; PIRES, E.G. Domesticação e pré-melhoramento de plantas: I. Ornamentais. *O Agrônomo*, v.56, n.1, p.12-14, 2004.

TORRES-SANTOS, E.C.; MOREIRA, D.L.; KAPLAN, M.A.C.; MEIRELLES, M.N.; ROSSI-BERGMAN, B. Seletive effect of 2', 6' – dihydroxy – 4' – methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* L. on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, v.43, n.5, p.1234-1241, 1999.

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

VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L.; GOES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento - plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 6. p. 123-148.

VAN DEN BERG, M.E. *Plantas Medicinais na Amazônia: Contribuição ao seu conhecimento sistemático*. 2.ed. Belém: MPEG, 1993. p. 62-66.

VENCOVSKY, R. *Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas*. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1986. 15p. (Boletim de Pesquisa, 1).

VIDAL, L.H.I.; SOUZA, J.R.P.; FONSECA, E.P.; BORDIN, I. Qualidade de mudas de guaco produzidas por estaquia em casca de arroz carbonizada com vermicomposto, *Horticultura Brasileira*, v.24, n.1, p.26-30, 2006.

VIEIRA, L.S. *Manual de Medicina Popular: A Fitoterapia da Amazônia*. Belém: FCAP, 1991. p11.

VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A.C.C. Recursos genéticos vegetais autóctones e seus usos no desenvolvimento sustentável. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, v.17, n.2, p.11-42, 2000.

VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L. *Recursos genéticos vegetales*. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1997. 78p.

WADT, L.H.O.; KAGEYAMA, P.Y. Estrutura genética e sistema de acasalamento de *Piper hispidinervium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.2, p.151-157, 2004.

WILLIAMS, J.G.K.; HANAFEY, M.K.; RAFALSKY, J.A.; TINGEY, S.V. Genetic analysis using random amplified polymorphisms DNA markers. *Methods in Enzymology*, v.218, p.704-740, 1993.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

YUNCKER, T.G. The Piperaceae of Brazil. *Hoenea*, v.2, p.19-366, 1972.

## CAPÍTULO 2. COLETA E AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.) NA AMAZÔNIA BRASILEIRA<sup>5</sup>.

### RESUMO

Pimenta-de-macaco é uma espécie da Amazônia Brasileira com elevado teor de óleo essencial em que se constata propriedades biológicas utilizáveis na agricultura e saúde humana. Com o objetivo de coletar e avaliar germoplasma visando o melhoramento genético e cultivo em sistemas de produção, foram realizadas cinco expedições de coleta em 10 municípios da Amazônia Brasileira. Tomaram-se dados sobre o ambiente, as populações e as matrizes, por meio de 13 caracteres morfoagronômicos: número de folhas por ramo, comprimento da folha, largura da folha, diâmetro do ramo mais velho, altura da planta, número de ramos ortotrópicos, número de ramos plagiotrópicos, comprimento do entrenó, número de espigas por ramo, rendimento de óleo, teor e produção de dilapiol. Coletaram-se materiais propagativos, folhas e ramos finos. O material propagativo foi identificado e encaminhado para a Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém-PA, para estudos. As folhas e ramos finos foram, igualmente, identificados e encaminhados para o Laboratório de Fitoquímica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), para extração do óleo essencial (hidrodestilação). Utilizou-se estimadores de média, desvio padrão, coeficiente de variação e amplitude total, para estudo da variabilidade fenotípica das matrizes. Os cálculos foram executados pelo programa computacional GENES. Os caracteres morfológicos de maior variabilidade foram o número de ramos ortotrópicos, o número de espigas por ramo e o diâmetro do ramo mais velho e, dentre os caracteres agronômicos, os de maior variabilidade foram o teor e produção de dilapiol. Concluiu-se que a espécie apresenta adaptação aos mais diversos ambientes de vegetação, solo, clima, relevo e drenagem, facilitando o cultivo e domesticação. Há variabilidade morfoagronômica favorecendo a seleção e fitomelhoramento.

**Palavras-chave:** Pimenta-de-macaco, recursos genéticos, conservação de germoplasma, caracteres morfoagronômicos, melhoramento genético.

### ABSTRACT

Spiked pepper is a species from the Brazilian Amazon with raised yielding of essential oil, which one constate available biological properties for agriculture and human health. With the aim to collect and to evaluate germplasm toward genetic breeding and cropping in production systems, were carried out collecting expeditions in 10 provenances from the Brazilian Amazon. Were recorded date about the enviroment, about the populations, and about the parents by mean of 13 morphaagronomic traits: number of leaves by branch, length of leaf, width of the leaf, diameter of the older branch, hight of the plant, number of orthotropic branches, number of plageotropic branches, length of the internodes, number of spikes por branches, yielding of oil, content and production of dilapiole. Were collected propagative material, leaves and thin branches. The propagative material was identified and sent for the Federal Rural University of Amazon (UFRA), Belem city, Para State, toward studies. The leaf and thin branches equally were identified and sent for the Laboratory of Phytochemistry of Emílio Goeldi Museum of the Para State (MPEG), in the Brazil, for extraction of essential oil (hydrodistillation). Were utilized estimators of amplitude de variation, mean, standard deviation, coefficient of variation for study of parental phenotypical variability. The calculations were performed by the GENES software. The morphologic traits of largest variability were number of orthotropic branches, number of spikes per branche and diameter of the older branch and, within the agronomic traits, had largest variability the content and production of dilapiole. It was concluded that the species show adaptation the at the more diverse environments of vegetation, soil,

climate, relief and drainage make easy the domestication and cropping in production systems. There is morphoagronomic variability pleasing the selection and genetic breeding.

**Keywords:** Spiked pepper, genetic resources, conservation of germplasm, morphoagronomic traits, genetic breeding.

## 2.1. INTRODUÇÃO

Pimenta-de-macaco é uma espécie aromática encontrada na Amazônia Brasileira, descrita em literatura como um arbusto da família Piperácea que mede de dois a sete metros (VAN DEN BERG, 1993). Conhecida, também, como adunco e aperta-ruão, possui grande potencial para exploração econômica, em função da comprovada utilidade do seu óleo essencial, que apresenta diversas formas de atividades biológicas aplicáveis na agricultura e na saúde humana. Tais propriedades são atribuídas ao seu constituinte majoritário, o dilapiol, um éter fenílico que representa 97% do óleo essencial; e concentra-se, principalmente, nas folhas e galhos finos, cujo rendimento no processo de extração pode variar de 1,2 a 3,4% (MAIA *et al.*, 1998; MAIA *et al.*, 2000). Este porcentual é elevado quando comparado ao de outras espécies aromáticas, constituindo uma vantagem para a sua exploração. Os principais efeitos biológicos do óleo essencial de pimenta-de-macaco, já constatados, são atividade bactericida, moluscicida, acaricida, larvicida, inseticida e agente sinérgico de inseticidas naturais, além de atuar como fungicida em tecidos humanos e de plantas (NAVICKIENE *et al.*, 2006; LOBATO *et al.*, 2007).

Na agricultura, mostrou atividade contra *Crinipellis pernicioso*, fungo causador da 'vassoura de bruxa', doença que acomete plantios de cacau e cupuaçu; contra *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, causador da fusariose em pimenta-do-reino (BASTOS, 1997), assim como em *Colletotrichum musae* no controle pós-colheita de banana (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004); e ainda no controle dos insetos *Cerotoma tingomarianus* Bechyné, praga que ocorre na cultura do feijoeiro no Estado do Acre (FAZOLIN *et al.*, 2005); no controle de *Sitophilus zeamais*, praga que ocorre no milho armazenado (ESTRELA *et al.*, 2006); no controle de *Tenebrio molitor*, praga cujas larvas destroem

farinhas, farelos, rações, macarrão e grãos danificados (FAZOLIN *et al.*, 2007) e no controle do parasitismo de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro, pela incorporação de resíduos foliares ao solo (SILVA *et al.*, 2007).

Na saúde humana, o óleo essencial de pimenta-de-macaco é ativo, farmacologicamente e pode ser usado como antiinflamatório e como analgésico no sistema periférico (FONTES JÚNIOR *et al.*, 2002). Estudos realizados em ratos e camundongos através de parâmetros bioquímicos e hematológicos demonstraram a não-toxicidade do óleo essencial (MONTEIRO *et al.*, 2001). Torres-Santos *et al.* (1999) constataram que isolados desta substância possuem atividade contra o protozoário causador da leishmaniose. Além de que, o uso de pimenta-de-macaco, nos diversos setores em que possui aplicação, não apresenta as mesmas restrições colocadas ao uso de pimenta-longa, que apresenta caracteres hepatotóxico, carcinogênico e alucinógeno (SCHVARTSMAN, 1982; VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2005; COSTA, 2004).

O sistema reprodutivo é por autogamia, com as flores apresentando protogamia incompleta e pólen seco (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000); a unidade de dispersão é o fruto com síndrome zoocórica (SPINA *et al.*, 2001), e número de cromossomos básico igual a 12 (NUNES *et al.*, 2007), que são componentes biológicos que determinam a estrutura genética de populações naturais, cujo conhecimento é importante para estudos de recursos genéticos e melhoramento de plantas.

Estudos sobre a propagação por meio de sementes de matrizes de pimenta-de-macaco, visando sua domesticação, foram realizados por Redig *et al.* (2003). Neste estudo foram obtidos a porcentagem de germinação, com média de 20,10% e a velocidade de emergência, com média de 3,14, como também, foram detectadas variabilidade genética entre as progênes utilizadas, gerando uma expectativa de uso posterior em programas de melhoramento da espécie. A propagação vegetativa pode ser feita em casca de arroz carbonizada, seixo lavado ou areia lavada, com sobrevivência de

70% a 90% (SILVA, 1993; LEME *et al.*, 1998). A micropropagação de segmentos nodais de *P. aduncum* utilizando doses específicas de ácido naftaleno acético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) como reguladores de crescimento gerou calos, que são estruturas importantes para o emprego de técnicas biotecnológicas, como a cultura de células e geração de variação cromossômica (MANTELL *et al.*, 1994; MOTA *et al.*, 2002b; FERREIRA *et al.*, 2006).

Em pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.), espécie muito semelhante à pimenta-de-macaco que está em processo de domesticação, porém em fase mais adiantada, coletaram-se amostras de germoplasma em 13 municípios do Estado do Acre, onde sua ocorrência é expressiva (OLIVEIRA; LUNZ, 1996). Estudos sobre o germoplasma dessa espécie mostraram variação no rendimento de óleo por local de coleta e com a idade da planta (PIMENTEL *et al.*, 1998). Outros estudos sobre pimenta-longa têm sido desenvolvidos como o sobre caracterização botânica e fitoquímica de germoplasma (SILVA; OLIVEIRA, 2000) e o sobre época e frequência de colheita e seus efeitos sobre o rendimento de óleo essencial foram realizados (BERGO *et al.*, 2005), colaborando para o maior conhecimento da dessa espécie e, por meio disso, para a sua domesticação e cultivo em sistemas de produção.

A coleta de germoplasma é recomendada para espécies que constituam novas alternativas à pesquisa por possuírem potencial de uso pela humanidade, assim como as que correm risco de extinção, por serem excessivamente exploradas, ou devido a pressão antrópica sobre os biomas, como vem ocorrendo na Amazônia. A coleta deve ser acompanhada pela geração de informações básicas sobre o local de coleta, sobre a variação visível e outros dados mais gerais, sendo os locais preferenciais de coleta aqueles que concentram variabilidade e diversidade de espécies (FORD-LLOYD; JACKSON, 1986; LLERAS, 1988; QUEROL, 1993, VALOIS *et al.*, 2001).

Os caracteres usados na avaliação preliminar devem ser facilmente mensuráveis, sendo definidos pelo consenso de usuários tais como fitomelhoristas, botânicos, produtores, etc. As técnicas de análise da informação gerada pela avaliação podem partir de gráficos descritivos e medidas de tendência central a estatísticas multivariadas. Análises que utilizam apenas um caráter, como distribuição de frequência, facilitam sua interpretação, podendo-se desenhar curvas de distribuição para se diferenciarem as populações (QUEROL, 1993).

As plantas aromáticas e medicinais nativas do Brasil necessitam de um nível mínimo de seleção e domesticação para que seu cultivo possa ser econômico. Para isso, são necessários projetos interdisciplinares que envolvam práticas de coleta, introdução, caracterização, avaliação e outras relacionadas à conservação e utilização dos recursos genéticos. De acordo com Mehra (1981), a avaliação deve ser realizada em dois níveis, sendo que no primeiro nível deve-se localizar e discriminar a variabilidade das coletas e, posteriormente, deve-se analisar as características e a variação entre elas.

O objetivo deste trabalho foi coletar e avaliar germoplasma de matrizes de pimenta-de-macaco quanto à variabilidade fenotípica, visando à seleção de genótipos para cultivo em sistemas de produção e para subsidiar futuros programas de melhoramento genético na Amazônia.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas cinco expedições para coleta de germoplasma de pimenta-de-macaco em 10 municípios da Amazônia Brasileira, no período de janeiro a abril de 2001 (Figura 1). As expedições foram realizadas em municípios distribuídos em algumas mesorregiões da Amazônia Brasileira, sendo as coletas realizadas ao longo de rodovias. Foram tomadas informações sobre o local de coleta e sobre as populações, sendo o local de coleta registrado em GPS. Em cada local coletaram-se folhas, ramos finos, inflorescências maduras e estacas de matrizes de pimenta-de-macaco.

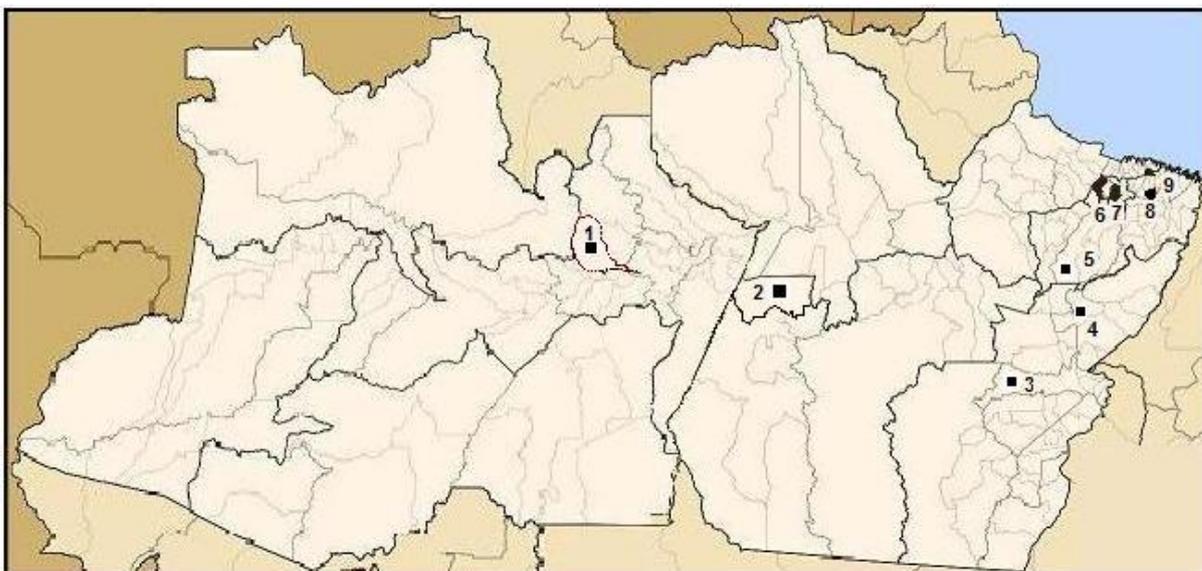


Figura 1: Municípios dos Estados do Pará e Amazonas em que foram realizadas coletas de germoplasma de pimenta-de-macaco: (1) Manaus, (2) Aveiro, (3) Marabá, (4) Goianésia do Pará, (5) Moju, (6) Belém, (7) Santa Izabel e Distrito de Americano, (8) Bonito, (9) Santarém Novo. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

As folhas e ramos finos foram encaminhados para extração de óleo essencial no Laboratório de Fitoquímica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação, utilizando-se extratores de vidro tipo *Clevenger*, por 3 horas. A análise da composição química do óleo essencial foi feita em cromatógrafo de gás *Hewlett Packard* modelo 5890, utilizando coluna capilar WCOT, de sílica fundida, com 25m de comprimento, diâmetro interno de 0,25mm e espessura do filme de 0,25 $\mu$ m e Programa de temperatura 60°C/240°C (3°C por minuto).

Os materiais propagativos (estacas) foram identificados por uma etiqueta contendo um registro alfa-numérico, com a forma seguinte: PA-000, onde as letras representavam as iniciais do nome científico da espécie e, os números, a seqüência de coleta dos materiais, os quais foram remetidos para o campus da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Belém-PA, para estudos.

Na ocasião da coleta tomaram-se dados de nove caracteres morfológicos, sendo anotadas cinco medidas de um mesmo caráter, que foram os seguintes: (1) número de folhas por ramo (NFR), tomado de cinco

ramos da parte mediana da planta; (2) comprimento da folha (cm, CF), medido da quinta folha do quinto ramo da parte mediana da planta; (3) largura da folha (cm, LF), tomada da quinta folha do quinto ramo da parte mediana da planta; (4) diâmetro do ramo mais velho, (cm, DRV), tomado a 20cm do solo; (5) altura da planta (m, AP), tomada do solo ao ponto mais alto da planta; (6) número de ramos ortotrópicos (NRO); (7) número de ramos plagiotrópicos (NRP); (8) comprimento do entrenó (cm, CEN), obtido a 50cm do solo; (9) número de espigas por ramo (NER), correspondente à média de cinco ramos tomados ao acaso. Foram também avaliados três caracteres agronômicos: (1) rendimento de óleo essencial (% , RO), extraído de 100g de folhas secas em sombra, (2) teor de dilapiol (% , TD), tomado do óleo essencial extraído de 100g de massa seca em ambiente sombreado e (3) produção de dilapiol (g, PD), massa de dilapiol correspondente ao teor (de dilapiol) em 100g de óleo essencial, considerando a densidade do óleo igual a um.

A quantificação da variabilidade fenotípica das matrizes foi obtida com base na variação dos caracteres morfoagronômicos, por meio da estimação de parâmetros estatísticos (amplitude de variação, média, desvio padrão, coeficiente de variação) e distribuição de freqüências, a qual foi precedida pela padronização dos dados (transformação Z) e comparada com as freqüências esperadas, que foram estimadas pelo teste de normalidade dos dados de Lilliefors. Os caracteres agronômicos também foram analisados pela dispersão dos dados em torno da média, pela obtenção do número de desvios padrão abaixo e acima da média, subtraindo-se do maior valor (quando acima) ou do menor valor observado nos dados (quando abaixo), o valor da média e, a seguir, dividindo-se pelo respectivo desvio padrão. Estimou-se, também, a probabilidade de se obter uma amostra superior ao maior valor observado para o rendimento de óleo essencial, de acordo com as propriedades da curva normal citadas por Ramalho *et al.* (2000). Para realização dos cálculos, utilizou-se o programa computacional GENES (CRUZ, 2006).

### 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização do ponto de coleta de cada matriz amostrada consta na Tabela 1. Foram caracterizadas 42 matrizes em 10 municípios da Amazônia Brasileira, envolvendo os Estados do Pará e Amazonas, em mesorregiões com diferentes características fisiográficas. Desse total, treze matrizes foram do Estado do Amazonas, da mesorregião do Médio Amazonas Amazonense, em Manaus. As demais matrizes foram amostradas em nove municípios do Estado do Pará: treze na mesorregião do Sul do Pará, nos municípios de Marabá (9 acessos) e Goianésia do Pará (4); quatro na mesorregião do Baixo Tocantins, no município de Moju; onze na mesorregião do Nordeste Paraense, nos municípios de Santa Izabel (2), Americano (1), Bonito (2), Santarém Novo (1) e em Belém (5) e; uma no Médio Amazonas Paraense, no município de Aveiro. Nessas mesorregiões, foi observada uma ampla variação em tipos de vegetação, solo, drenagem, clima e relevo em todos os pontos de coleta.

Essa ampla capacidade de adaptação de pimenta-de-macaco também foi observada por Francis (2003), que a descreve como uma espécie pantropical distribuída desde o México até Sudeste da Argentina, podendo habitar em altitudes de até 400m acima do nível do mar, em solos excessivamente siltosos a solos secos, mas não excessivamente drenados ou solos salinos e é moderadamente intolerante à sombra, podendo em alguns locais comportar-se com invasora.

Estudos semelhantes foram realizados por Oliveira e Lunz (1996), no Estado do Acre, visando a conservação genética de pimenta-longa. Esses autores, ao coletarem germoplasma dessa espécie, verificaram que os locais de coleta foram caracterizados por altitudes de aproximadamente 150m e precipitação pluviométrica variando de 1.600mm a 2.500mm (clima Ami).

Mais da metade das matrizes ocorreram em solos argilosos, sendo que onze apresentaram a textura de argila arenosa. As demais matrizes ocorreram

Tabela 1: Caracterização do local de coleta de 42 matrizes de pimenta-de-macaco na Amazônia Brasileira quanto à vegetação, solo, drenagem, clima e relevo. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

MATRIZES	CARACTERIZAÇÃO LOCAL					
	MUNICÍPIO	VEGETAÇÃO(1)	SOLO(2)	DRENAGEM	CLIMA	RELEVO
PA-001	Manaus-AM	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	Planície
PA-002	Manaus-AM	Outros	Aluvial fértil	s.i.p. (3)	Ami	---
PA-003/01	Manaus-AM	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	---
PA-003/02	Manaus-AM	Outros	---	Bem drenado	Ami	---
PA-004	Manaus-AM	Capoeira	Argila	Mal drenado	Ami	---
PA-005	Manaus-AM	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	---
PA-006	Manaus-AM	Pastagem	Argila	Bem drenado	Ami	Planície
PA-007	Manaus-AM	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	---
PA-008	Manaus-AM	Outros	Argila	Mal drenado	Ami	---
PA-009/01	Manaus-AM	Capoeira	Argila	Mal drenado	Ami	---
PA-009/02	Manaus-AM	Capoeira	Areia	Bem drenado	Ami	Planície
PA-010	Manaus-AM	Pastagem	Areia	Bem drenado	Ami	Planície
PA-011	Manaus-AM	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	Planície
PA-012	Marabá-PA	Outros	Argila	Alagado	Awi	Planície
PA-013	Marabá-PA	Capoeira	Pedregoso	Bem drenado	Awi	Planície
PA-014	Marabá-PA	Outros	Pedregoso	Alagado	Awi	Ondulada
PA-015	Marabá-PA	Capoeira	Outros	s.i.p.	Awi	Ondulada
PA-016	Marabá-PA	Capoeira	Arg.	s.i.p.	Awi	Ondulada
PA-018	Marabá-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Awi	Ondulada
PA-019	Marabá-PA	Outros	Arenoso	Bem drenado	Awi	Ondulada
PA-020	Marabá-PA	Outros	Areia	Alagado	Awi	---
PA-021	Marabá-PA	a. i. (4)	Argila	Mal drenado	Awi	Ondulada
PA-022	Goianésia-PA	Outros	Arg.	Mal drenado	Ami	Ondulada
PA-023	Goianésia-PA	Capoeira	Argila	Mal drenado	Ami	Ondulada
PA-024	Goianésia-PA	Capoeira	Argila	Bem drenado	Ami	Ondulada
PA-025	Goianésia-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	Ondulada
PA-026	Moju-PA	Capoeira	Argila	Bem drenado	Ami	Planície
PA-027	Moju-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Ami	Planície
PA-028	Moju-PA	Capoeira	Outros	Mal drenado	Ami	Planície
PA-029	Moju-PA	a. p. (5)	Argila	Bem drenado	Ami	Planície
PA-030	Belém-PA	Outros	Outros	Bem drenado	Afi	Planície
PA-031	Belém-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Afi	Planície
PA-032	Belém-PA	Outros	Outros	Bem drenado	Afi	Planície
PA-033	Belém-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Afi	Planície
PA-034	Belém-PA	Capoeira	Argila	Bem drenado	Afi	Planície
PA-035	Sta Izabel-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Afi	Planície
PA-036	Sta Izabel-PA	Outros	Argila	Bem drenado	Afi	Planície
PA-037	Americano-PA	Outros	Argila	Mal drenado	Afi	Planície
PA-038	Bonito-PA	Capoeira	Outros	Bem drenado	Ami	Planície
PA-039	Bonito-PA	Outros	Argila	Mal drenado	Ami	Planície
PA-040	Santarém Novo-PA	Capoeira	Outros	Alagado	Ami	Planície
PA-041 (6)	Aveiros-PA	--- (7)	---	---	Ami	---

(1):Outros referem-se a igapós, quintais, pastos, currais, etc.; (2): Outros referem-se a solos orgânicos, alagados, meio-fio, etc.; (3): sujeito a inundações periódicas; (4): agricultura itinerante; (5): agricultura permanente; (6): Coletado só estacas; (7): Planta em rebrota. Não houve coleta de estacas.

em areia (2), em solo pedregoso (2), em solo arenoso (1), em solo aluvial (1) e oito não puderam ser classificados. Uma ampla faixa de variação na drenagem do solo também foi observada, desde solos alagados até solos bem drenados, sendo que 25 delas ocorreram em solos bem drenados, nove ocorreram em solos mal drenados, quatro ocorreram em solos alagados e três em solos sujeitos a inundações periódicas.

Não houve muita variação em relação ao relevo, em função da própria paisagem geral amazônica, onde predominam planícies, de modo que as matrizes, para as quais o relevo pode ser definido, ocorreram ou em terrenos planos ou em terrenos ondulados, sendo que 22 ocorreram em terreno plano, 10 em terreno ondulado e 10 não foram possíveis caracterizar devido a modificações antrópicas na paisagem. Em relação ao clima, 25 delas ocorreram em locais cujo clima foi do tipo Ami, nove ocorreram em locais de clima Awi e oito em locais de clima Afi.

De um modo geral, os habitats preferidos pelas matrizes amostradas foram ambientes com algum tipo de antropização, como capoeiras, pastagens, margem de estradas, etc, desenvolvendo-se nos mais diversos tipos de solo: areia, arenosos, argilosos, pedregosos, concrecionários, e aluviais. Quanto aos tipos climáticos definidos por Köppen para regiões tropicais (SECTAM, 2004), foi observado o clima Ami, (predominante na Amazônia, com precipitação média anual de 1500mm a mais de 3000mm) nos municípios de Manaus, Goianésia do Pará, Moju, Bonito, Santarém Novo e Aveiro, o clima Afi (menos comum, com precipitação média anual variando de 2000mm a mais de 3000mm anuais), observado nos municípios de Belém, Santa Izabel e distrito de Americano e; o clima Awi (precipitação média anual de 1000mm a 2500mm) no município de Marabá. Algumas matrizes foram observadas em ambientes mais específicos, como em áreas sujeitas a inundação (PA-002), em áreas de agricultura itinerante (PA-021) e em áreas de agricultura permanente (PA-029).

A caracterização das populações onde foram coletados materiais para estudo de 42 matrizes de pimenta-de-macaco, na Amazônia Brasileira, está presente na Tabela 2. As coletas realizaram-se em cinco mesorregiões (MR) amazônicas, sendo uma no Estado do Amazonas (Médio Amazonas Amazonense) e as demais no Estado do Pará (Sul do Pará, Baixo Tocantins, Nordeste Paraense e Médio Amazonas Paraense). No Médio Amazonas Amazonense, foram coletados materiais de 13 matrizes, em Manaus; no Sul do Pará, foram coletados materiais de 13 matrizes, nos municípios de Marabá e Goianésia do Pará; no Baixo Tocantins, foram coletados materiais de quatro matrizes, no município de Moju; no Nordeste Paraense, foram coletados materiais de 11 matrizes, nos municípios de Santarém Novo, Bonito, Santa Izabel, Distrito de Americano e Belém e; no Médio Amazonas Paraense, foi realizada uma coleta, no município de Aveiro.

A definição dos limites das populações (DLP), em que estavam as matrizes, foi realizada com base no estado de agregação dos indivíduos constituintes, sendo considerada definível, quando havia agregação dos indivíduos constituintes, em caso contrário, era considerada dispersa. Nos municípios de Manaus (PA-001 a PA-011), Santa Izabel, Bonito e Distrito de Americano (PA-035 a PA-039) as populações apresentaram limites definidos, enquanto as populações amostradas no município de Marabá (PA-012 a PA-021) apresentaram somente indivíduos dispersos. Nos municípios de Belém (PA-030 a PA-034), Goianésia do Pará (PA-022 a PA-25) e Moju (PA-026 a PA-029), as populações apresentaram tanto limites definidos como indivíduos dispersos.

Com relação à topografia local (TL), as populações amostradas foram observadas em baixadas, terras altas e encostas, sendo que 22 matrizes ocorreram em terras altas, 10 em encostas, sete em baixadas e apenas duas não foram possíveis classificar, havendo, portanto preferência por terras altas.

Tabela 2: Caracterização das populações das 42 matrizes de pimenta-de-macaco coletadas em cinco mesorregiões da Amazônia Brasileira. Belém-PA, ICA-UFRA, 2008.

MATRIZES	CARACTERIZACAO DAS POPULAÇÕES						
	MR	DLP	TL	CL	PSS	PPC	AEP (ha)
PA-001	MAA	definível	terra alta	som.parcial	fina	ausente	101 a 500
PA-002	MAA	definível	baixada	Sombreado	grossa	Escassas	51 a 100
PA-003/01	MAA	definível	encosta	som.parcial	média	abundantes	101 a 500
PA-003/02	MAA	definível	encosta	pleno sol	fina	abundantes	101 a 500
PA-004	MAA	definível	terra alta	som.parcial	fina	abundantes	101 a 500
PA-005	MAA	definível	terra alta	Sombreado	fina	abundantes	26 a 50
PA-006	MAA	definível	encosta	pleno sol	média	ausentes	51 a 100
PA-007	MAA	definível	encosta	Sombreado	fina	ausentes	51 a 100
PA-008	MAA	definível	terra alta	pleno sol	fina	ausentes	10
PA-009/01	MAA	definível	baixada	pleno sol	média	ausentes	101 a 500
PA-009/02	MAA	definível	terra alta	som.parcial	média	ausentes	26 a 50
PA-010	MAA	definível	terra alta	pleno sol	fina	ausentes	26 a 50
PA-011	MAA	definível	terra alta	Sombreado	média	ausentes	26 a 50
PA-012	SUP	dispersa	baixada	pleno sol	ausente	ausentes	26 a 50
PA-013	SUP	dispersa	outros	pleno sol	fina	ausentes	26 a 50
PA-014	SUP	dispersa	encosta	pleno sol	ausente	ausentes	10
PA-015	SUP	dispersa	encosta	pleno sol	fina	ausentes	10
PA-016	SUP	dispersa	baixada	pleno sol	fina	ausentes	51 a 100
PA-018	SUP	dispersa	terra alta	pleno sol	fina	ausentes	10
PA-019	SUP	dispersa	encosta	pleno sol	ausente	ausentes	10
PA-020	SUP	---	---	---	---	---	---
PA-021	SUP	dispersa	baixada	pleno sol	média	ausentes	10
PA-022	SUP	---	encosta	pleno sol	ausente	ausentes	---
PA-023	SUP	dispersa	encosta	pleno sol	fina	ausentes	---
PA-024	SUP	definível	encosta	pleno sol	---	---	---
PA-025	SUP	definível	terra alta	pleno sol	média	abundantes	101 a 500
PA-026	BAT	---	terra alta	pleno sol	média	ausentes	10
PA-027	BAT	dispersa	terra alta	pleno sol	---	ausentes	10
PA-028	BAT	definível	baixada	pleno sol	grossa	ausentes	501 a1000
PA-029	BAT	definível	terra alta	pleno sol	grossa	ausentes	10
PA-030	NEP	definível	terra alta	pleno sol	fina	escassas	501 a1000
PA-031	NEP	definível	terra alta	pleno sol	fina	abundantes	501 a1000
PA-032	NEP	definível	terra alta	pleno sol	média	abundantes	101 a 500
PA-033	NEP	dispersa	terra alta	pleno sol	grossa	ausentes	10
PA-034	NEP	definível	terra alta	pleno sol	fina	abundantes	101 a 500
PA-035	NEP	definível	terra alta	pleno sol	média	abundantes	101 a 500
PA-036	NEP	definível	terra alta	pleno sol	fina	ausentes	10
PA-037	NEP	definível	terra alta	pleno sol	fina	ausentes	10
PA-038	NEP	definível	terra alta	pleno sol	ausente	ausentes	10
PA-039	NEP	definível	baixada	pleno sol	média	abundantes	+ de 1000
PA-040	NEP	definível	terra alta	pleno sol	fina	escassas	101 a 500
PA-041	MAP	---	---	---	---	---	---

MR: Mesorregião; DLP: Definição dos limites da população; TL: topografia local; CL: condições de luz; PSS: presença de serrapilheira no solo; PPC: presença de plântulas no chão; AEP: área estimada da população; MAA: Médio Amazonas Amazonense; SUP: Sul do Pará; BAT: Baixo Tocantins; NEP: Nordeste paraense; MAP: Médio Amazonas Paraense.

As condições de luminosidade (CL) variaram de ambiente sombreado, parcialmente sombreado e em pleno sol, sendo que quatro matrizes foram encontradas em ambiente sombreado, quatro em ambiente parcialmente sombreado, duas não foram possíveis de classificar e 32, correspondente a 78% das matrizes, ocorreram em pleno sol. As matrizes de Manaus foram as que tiveram maior variação em condições de luminosidade, enquanto que as do Estado do Pará foram todas encontradas em pleno sol. Esses resultados estão em concordância com Francis (2003), que descreve a pimenta-de-macaco como uma espécie moderadamente intolerante à sombra. A serrapilheira no solo (PSS), onde esteve presente, classificou-se em fina, média e grossa, sendo que 18 matrizes ocorreram em solos com serrapilheira fina, 11 ocorreram em solo com serrapilheira média, quatro com serrapilheira grossa e em nove houve ausência ou não puderam ser notadas.

Com relação à presença de plântulas no chão (PPC), observou-se ausência de plântulas no solo em 26 populações e abundância em 10; escassez de plântulas em três e em outras três, não foi possível classificar. Tais resultados demonstram o predomínio de populações com ausência de plântulas no solo, sendo consequência do mecanismo de dispersão das sementes, que é realizada por meio de morcegos frugívoros, particularmente, da espécie *Carollia perspicillata* e, eventualmente, pássaros e outros animais (SPINA *et al.*, 2001). A presença de plântulas no chão pode ser explicada por espigas que, por estarem maduras, sofrem abscisão e queda, escapando, deste modo, dos agentes dispersores.

A área estimada das populações (AEP) variou de um até a mais de 1000ha, sendo que apenas duas populações apresentaram áreas estimadas em um hectare. Em 13 populações, a área foi de 10ha; seis populações tiveram área de 26ha a 50ha; em quatro populações, a área foi de 51ha a 100ha; 10 populações estiveram na faixa de 101ha a 500ha; três com área de 501ha a 1000ha; uma estimada em mais de 1000ha e, cinco, não puderam ser estimadas. Observa-se, portanto, que populações cuja área estimada foi

pequena (10ha) tenderam a ser tão numerosas quanto aquelas cuja área estimada foi grande (101ha a 500ha), enquanto que áreas consideradas muito pequenas ou muito grandes (acima de 500ha) tiveram pequena ocorrência.

No Estado do Amazonas, as populações coletadas em Manaus apresentaram configuração definível, predominando populações com tamanho no intervalo de 101 a 500ha, enquanto no Estado do Pará, o município de Marabá (Sul do Pará) apresentou 80% das populações com indivíduos dispersos e; nos municípios do Nordeste do Pará (Belém, Santa Izabel, Americano e Bonito) foram observadas somente populações com limites bem definidos. Nos municípios de Goianésia (Sul do Pará) e Moju (Baixo Tocantins) foram observadas tanto populações com configuração definível, como em estado disperso. O tamanho populacional mais freqüente no Estado do Pará foi de 501 a 1000ha. As matrizes PA-022 e PA-023 foram amostradas em condições isoladas no município de Goianésia (Sul do Pará), não sendo possível, portanto, determinar o tamanho de população.

Observou-se, também, que populações com área estimada superior a 100ha apresentaram-se todas definíveis, quer no Estado do Amazonas, quer no Estado do Pará, sendo que em Manaus (Médio Amazonas Amazonense), as populações foram consideradas definíveis, independentemente da área estimada das populações, enquanto que em Marabá e Goianésia (Sul do Pará), aproximadamente, 69% das populações apresentaram matrizes dispersas, todas com áreas estimadas inferiores a 100ha. Isto pode ser atribuído ao desmatamento e antropização presente nessa mesorregião, o que, provavelmente, contribui para a maior dispersão e fragmentação da espécie em pequenas populações.

Oliveira e Lunz (1996), ao discorrer sobre populações de pimenta-longa no Estado do Acre, descreveram-nas normalmente em matas de vegetação secundária, em terras deixadas para repouso (pousio), formando populações de grande densidade, tornando-se dominante sobre as demais espécies,

apresentando, desse modo, certa semelhança com a pimenta-de-macaco que ocorre nos Estados do Pará e Amazonas.

A avaliação da variabilidade fenotípica das 42 matrizes de pimenta-de-macaco encontra-se na Tabela 3. Para o caráter número de folhas por ramo (NFR), a amplitude total foi de 11, com maior valor registrado na matriz PA-009/02 (procedente de Manaus) e menor, na matriz PA-012 (Marabá), com média de 9,63, desvio padrão de 2,60 e coeficiente de variação de 27%, apresentando dados sem normalidade pelo teste de Lilliefors. O comprimento da folha (CF) teve amplitude de variação de 9,30, tendo a matriz PA-012 apresentado o maior valor e a matriz PA-011 (Manaus), o menor valor, com média de 18,43, desvio padrão de 2,39 e coeficiente de variação próximo de 13%, apresentando normalidade nos dados. A largura da folha (LF) apresentou amplitude de variação de 4,93, apresentando o maior valor na matriz PA-012 e menor na matriz PA-030 (Belém), com média de 6,82, desvio padrão de 1,09 e coeficiente de variação próximo de 16%, não apresentando normalidade nos dados.

Tabela 3: Parâmetros estatísticos e teste de normalidade para os nove caracteres morfológicos avaliados em matrizes de pimenta-de-macaco amostradas em populações da Amazônia Brasileira. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

<b>CARÁTER</b>	<b>N</b>	<b>AV</b>	<b>m</b>	<b>S</b>	<b>CV</b>	<b>D</b>
NFR	39	11,00	9,63	2,60	27,00	0,42s
CF	41	9,30	18,43	2,39	12,97	0,10ns
LF	41	4,93	6,82	1,09	15,98	0,21s
AP	41	4,87	3,92	1,12	28,57	0,15s
DRV	41	42,50	16,18	8,57	52,97	0,24s
NRO	30	33,00	6,10	6,05	99,18	0,42s
NRP	36	16,00	20,25	4,38	21,63	0,15s
CEN	40	21,00	15,93	5,26	33,02	0,11ns
NER	39	10,04	3,72	2,79	74,40	0,33s

N: tamanho da amostra; AV: amplitude de variação; m: média; S: desvio padrão; CV: coeficiente de variação; D: teste de normalidade de Lilliefors; NFR: número de folhas por ramo; CF: comprimento da folha; LF: largura da folha; AP: altura da planta; DRV: diâmetro do ramo mais velho; NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; CEN: comprimento do entrenó; NER: número de espigas por ramo.

Na altura da planta (AP), a amplitude de variação foi de 4,87, com maior valor observado na matriz PA-029 (Moju) e menor, na matriz PA-003/02 (Manaus), com média de 3,92, desvio padrão de 1,12 e coeficiente de variação abaixo de 30%, não apresentando normalidade nos dados. No diâmetro do ramo mais velho (DRV), a amplitude de variação foi de 42,50, com maior valor apresentado pela matriz PA-018 (Marabá) e menor, pela matriz PA-010 (Manaus), com média de 16,18, desvio padrão de 8,57 e coeficiente de variação próximo de 53%, não apresentando normalidade nos dados. No número de ramos ortotrópicos (NRO), a amplitude de variação foi de 33, com maior valor na matriz PA-033 (Belém) e menor valor em várias matrizes, dentre as quais a PA-002 (Manaus), com média de 6,10, desvio padrão de 6,05 e coeficiente de variação um pouco acima de 99%, não apresentando normalidade nos dados.

No número de ramos plagiotrópicos (NRP), a amplitude de variação foi de 16, com maior valor observado na matriz PA-037 (Americano) e menor observado, igualmente, em várias matrizes, dentre as quais a PA-002, com média de 20,25, desvio padrão de 4,38 e coeficiente de variação abaixo de 22%, não apresentando normalidade nos dados. No comprimento do entrenó (CEN), a amplitude de variação foi de 21, com maior valor na matriz PA-024 (Goianésia do Pará) e menor, na matriz PA-005 (Manaus), com média de 15,93, desvio padrão de 5,26 e coeficiente de variação muito próximo de 33%, apresentando normalidade de dados.

Finalmente, no número de espigas por ramo (NER), a amplitude de variação foi de 10,04, com maior valor observado na matriz PA-038 (Bonito) e menor, na matriz PA-019 (Marabá), com média de 3,72, desvio padrão de 2,79 e coeficiente de variação próximo de 74%, não apresentando normalidade nos dados.

Verificou-se a existência de variabilidade fenotípica em todos os caracteres considerados, sendo que o número de ramos ortotrópicos, o número médio de espigas por ramo e o diâmetro do ramo mais velho,

atingiram valores de coeficiente de variação acima de 50%. Os demais caracteres tiveram coeficiente de variação abaixo de 50%, sendo o comprimento e a largura da folha os que tiveram menor variação.

O número de ramos ortotrópicos destacou-se entre as características em que se observou maior variabilidade fenotípica, podendo ser utilizado na seleção de novos materiais. Em relação a isso, Mota *et al.* (2001) mencionam que para caracterizar acessos em bancos de germoplasma, recomendam-se utilizar, de preferência, os caracteres que apresentem maior variabilidade fenotípica. Paiva *et al.* (2003), ao realizarem estudos sobre germoplasma de cajueiro (*Anardium occidentale* L.) no Estado do Ceará, descreveram a variabilidade para produção de castanha de acessos de origem nacional e internacional, com os acessos originários de Roraima, Pará, Piauí e Mato Grosso atingindo coeficientes de variação superiores a 100%. Queiroz *et al.* (2001), em estudo sobre variabilidade de acessos de melancia (*Citrullus lanatus*), observaram uma grande amplitude de variação para caracteres que interessam ao melhoramento da produção, como o comprimento e o diâmetro do fruto, espessura da casca e brix, o qual ficou muito próximo de variedades comerciais, como também houve acessos que apresentaram uniformidade no comprimento e diâmetro dos frutos, com alguma variação de brix.

O teste de normalidade dos dados dos caracteres morfológicos foi significativo em sete dos nove caracteres morfológicos, indicando ausência de normalidade, o que denota haver heterogeneidade nos dados, provavelmente, como reflexo da heterogeneidade dos diversos ambientes e das mesorregiões em que foram coletados.

A Tabela 4 contém a avaliação da variabilidade fenotípica para os três caracteres agronômicos em 38 matrizes de pimenta-de-macaco procedentes da Amazônia Brasileira. Três matrizes (PA-023, PA-024 e PA-025), procedentes de Goianésia-PA foram excluídas por não serem identificadas como *P. aduncum* e uma outra (PA-041), procedente de Aveiro, por não haver material disponível para análise na ocasião da coleta. O teste de normalidade

Tabela 4: Avaliação fenotípica de três caracteres agronômicos em 38 matrizes de pimenta-de-macaco amostradas em populações da Amazônia Brasileira. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

MATRIZ	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RO (%)	TD (%)	PD (g)
PA-001	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,6	76,9	2,0
PA-002	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,8	85,3	2,4
PA-003/01	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,2	79,2	1,7
PA-003/02	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,4	78,7	1,9
PA-004	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,8	75,4	2,1
PA-005	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,4	76,3	1,8
PA-006	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,6	76,1	2,0
PA-007	Manaus-AM	M. A. Amazonense	3,3	83,1	2,7
PA-008	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,8	82,1	2,3
PA-009/01	Manaus-AM	M. A. Amazonense	3,4	82,9	2,8
PA-009/02	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,0	75,5	1,5
PA-010	Manaus-AM	M. A. Amazonense	3,6	81,5	2,9
PA-011	Manaus-AM	M. A. Amazonense	2,3	84,7	2,0
PA-012	Marabá-PA	Sul do Pará	2,8	75,5	2,1
PA-013	Marabá-PA	Sul do Pará	2,8	74,7	2,1
PA-014	Marabá-PA	Sul do Pará	2,1	86,6	1,8
PA-015	Marabá-PA	Sul do Pará	2,6	77,6	2,0
PA-016	Marabá-PA	Sul do Pará	1,8	82,7	1,5
PA-018	Marabá-PA	Sul do Pará	2,0	83,6	1,7
PA-019	Marabá-PA	Sul do Pará	2,6	82,7	2,2
PA-020	Marabá-PA	Sul do Pará	2,0	79,8	1,6
PA-021	Marabá-PA	Sul do Pará	2,0	81,6	1,6
PA-022	Goianésia-PA	Sul do Pará	2,4	80,7	1,9
PA-026	Moju-PA	Baixo Tocantins	3,0	79,1	2,4
PA-027	Moju-PA	Baixo Tocantins	1,8	78,2	1,4
PA-028	Moju-PA	Baixo Tocantins	2,4	75,8	1,8
PA-029	Moju-PA	Baixo Tocantins	1,8	72,4	1,3
PA-030	Belém-PA	Nordeste do Pará	1,7	61,3	1,0
PA-031	Belém-PA	Nordeste do Pará	1,8	76,3	1,4
PA-032	Belém-PA	Nordeste do Pará	1,8	70,5	1,3
PA-033	Belém-PA	Nordeste do Pará	0,7	51,1	0,4
PA-034	Belém-PA	Nordeste do Pará	1,7	70,4	1,2
PA-035	Sta Izabel-PA	Nordeste do Pará	2,0	80,0	1,6
PA-036	Sta Izabel-PA	Nordeste do Pará	2,5	83,1	2,1
PA-037	Americano-PA	Nordeste do Pará	1,8	78,0	1,4
PA-038	Bonito-PA	Nordeste do Pará	1,5	75,3	1,1
PA-039	Bonito-PA	Nordeste do Pará	1,8	53,6	1,0
PA-040	S. Novo-PA	Nordeste do Pará	1,6	65,8	1,1
AV	---	---	2,9	31,1	2,5
m	---	---	2,3	76,7	1,8
S	---	---	0,6	7,7	0,5
CV (%)	---	---	26,1	10,1	30,2
D	---	---	0,1274ns	0,2642s	0,0865ns

RO: rendimento de óleo; TD: teor de dilapiol; PD: produção de dilapiol; M.A: Médio Amazonas; AV: amplitude de variação; S: desvio padrão; CV: coeficiente de variação; D: teste de normalidade de Lilliefors.

dos dados foi não-significativo para o rendimento de óleo e produção de dilapiol, portanto, para estes dois caracteres, os dados possuem

normalidade, ao passo que foi significativo para o teor de dilapiol, portanto este caráter não possui normalidade nos dados, sendo, provavelmente, o caráter agronômico mais heterogêneo e, possivelmente, com maior variabilidade.

Com relação ao rendimento de óleo essencial (RO), o menor valor observou-se na matriz PA-033, coletada em Belém, que foi de 0,7% e; o maior valor observado, que pertenceu à matriz PA-010, foi de 3,6%, coletada em Manaus, com uma amplitude de variação de 2,9%, média de 2,3% e desvio padrão de 0,6%. Dezenove matrizes, representando cerca de 50% das matrizes examinadas, ficaram abaixo da média e 19 delas, posicionaram-se na média (uma matriz) ou acima da média (18 matrizes), portanto, o referido padrão de dispersão em torno da média segue o modelo de simetria característico da distribuição normal, concordando com o teste de normalidade. Neste caso, a classe representada pelos valores superiores à média constitui a parte selecionável para cultivo e melhoramento genético, já que a presença de normalidade implica em ausência de variabilidade.

O teor de dilapiol (TD) variou de 51,1%, cujo valor foi observado na matriz PA-033 (de Belém), a 86,6%, que pertenceu a matriz PA-014, coletada em Marabá, com amplitude de variação de 31,1%, média de 76,7% e desvio padrão de 7,7%. Dezesesseis matrizes, representando aproximadamente 42% das matrizes analisadas, ficaram abaixo da média e 22 matrizes, representando aproximadamente 58% das matrizes examinadas, ficaram acima da média, constituindo, portanto, um padrão de dispersão em torno da média assimétrico, denotando a existência de variabilidade e concordando com o teste de normalidade, o que favorece a seleção de materiais para cultivo e melhoramento.

A produção de dilapiol (PD) variou de 0,4g, valor observado na matriz PA-033, coletada em Belém a 2,9g, observado na matriz PA-010, coletada em Manaus, com amplitude de variação de 2,5g, média de 1,8g e desvio padrão de 0,5g. Mais da metade das matrizes (20) tiveram valor igual (3 matrizes) ou

acima da média (17 matrizes), representando cerca de 53% do total examinado e 18 ficaram abaixo da média, representando cerca de 47%, portanto, a dispersão em torno da média apresentou-se praticamente simétrica, concordando com o teste de normalidade. Neste caso, são selecionáveis as matrizes com valores superiores à média.

A análise dos desvios padrão indicou que a dispersão dos dados em torno da média apresentou intervalos semelhantes nos três caracteres avaliados, sendo que o teor de dilapiol apresentou um número maior de valores acima da média. No entanto, a média desse caráter, teve elevada magnitude, o que foi determinante para reduzir o número de desvios padrão e baixar o coeficiente de variação (10,1%), o qual foi bem inferior, quando comparado aos dos caracteres rendimento de óleo essencial (26,1%) e produção de dilapiol (30,2%). Em todos os caracteres examinados, não se observou nenhuma relação entre teste de normalidade e coeficiente de variação.

Constatou-se que o número de desvios padrão do rendimento de óleo, teor de dilapiol e produção de dilapiol foram, respectivamente, cerca de 2S (dois desvios padrão), 1S e 2S acima da média. De modo análogo, constatou-se que houve três desvios padrão abaixo da média nos três caracteres agrônômicos avaliados. Estas informações, portanto, indicam que há maior variabilidade fenotípica selecionável no teor de dilapiol e maior normalidade no rendimento de óleo essencial.

Por outro lado, a produção de dilapiol mostrou ter um certo grau de variabilidade, pois apresentou 53% de matrizes iguais ou superiores à média (contra 50% do rendimento de óleo) e apresentou maior coeficiente de variação (30,2% contra 26,1 do rendimento de óleo), igualando-se, porém, ao rendimento de óleo, em relação ao número de desvios padrão tanto acima (2S), quanto abaixo da média (3S).

De acordo com as propriedades da distribuição normal, citadas por Ramalho *et al.* (2000), a probabilidade de se coletar uma amostra com rendimento de óleo superior ao maior valor coletado é de 1,4%, significando que, para coletar uma a duas amostras com tais características, nas mesmas populações, será necessário realizar pelo menos 100 coletas, constituindo uma média de pelo menos 11 coletas por localidade. Essa informação é importante para orientar novas coletas direcionadas ao melhoramento genético, caso sejam necessárias e apresente viabilidade econômica.

Silva *et al.* (2006), ao avaliarem 69 acessos de banana (*Musa spp*) de dois tipos e quatro procedências dos Estados de SP, MG, BA e SC, por meio de 12 caracteres, ao contrário do que foi observado em matrizes de pimenta-de-macaco, não observaram significativa variabilidade entre os acessos. No entanto, foi possível selecionar duas amostras da coleção em estudo para cultivo. Beviláqua *et al.* (2001), avaliando materiais coletados de chapéu de couro (*Ecchinocorus spp.*) em 16 municípios do Rio Grande do Sul, identificaram três ecotipos desta espécie. Em chapéu de couro, são desconhecidas suas variedades, ao contrário do que ocorre com a pimenta-de-macaco, onde são descritas em literatura duas variedades, uma delas é, provavelmente, a mais comum (variedade *aduncum*) e a outra, é menos comum (variedade *cordulatum*).

As matrizes amostradas de pimenta-de-macaco, possivelmente, podem pertencer a ecotipos distintos, pois diferiram acentuadamente em relação ao rendimento de óleo e teor de dilapiol, além de apresentarem diferenças morfológicas, como na cor do ramo ortotrópico. Gottlieb *et al.* (1981) observaram que espécimens coletadas em Manaus, da variedade *cordulatum*, apresentaram rendimento de óleo superior a espécimens coletadas em Benfica-PA.

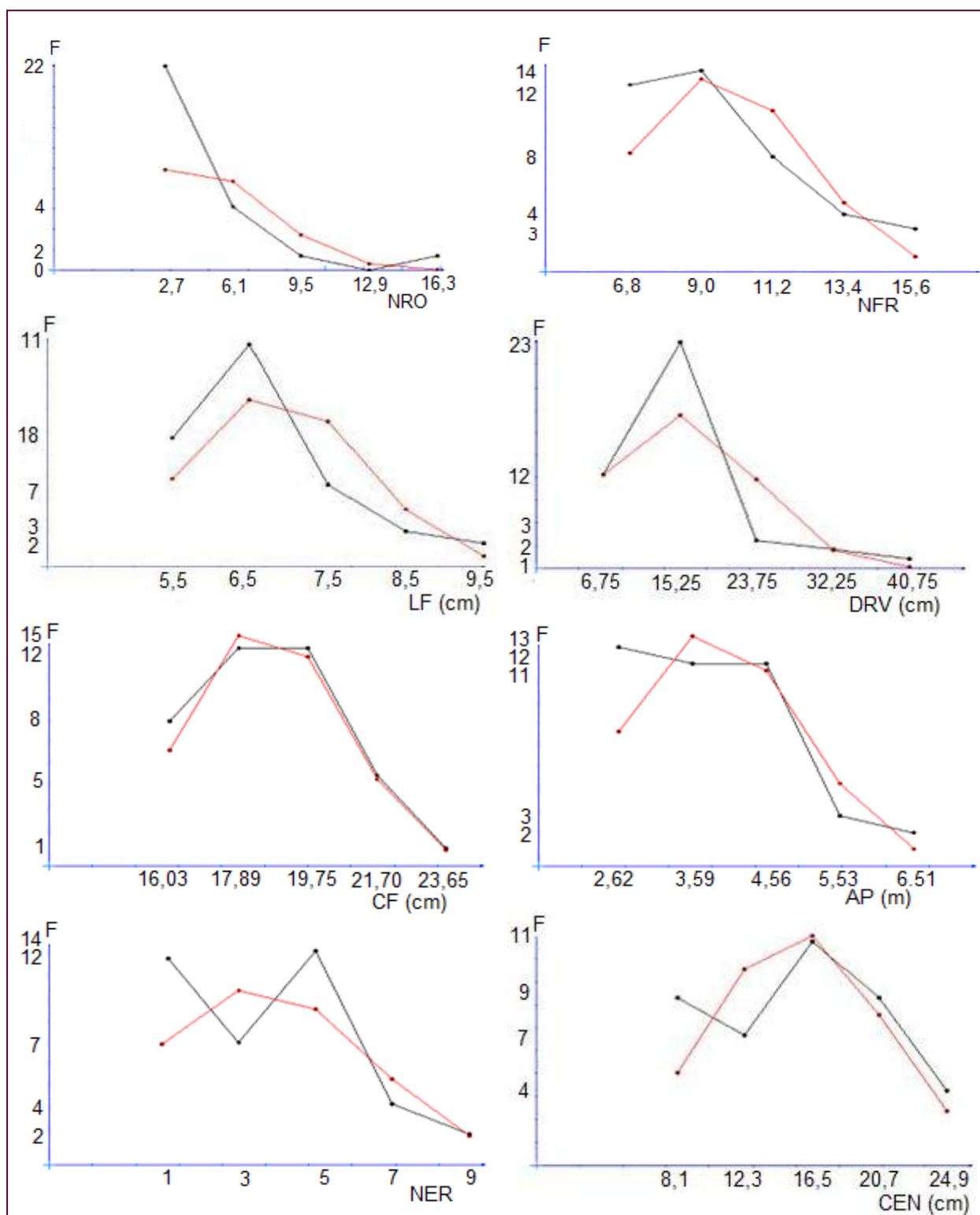
A Figura 2 mostra a distribuição de freqüências observadas e esperadas em cinco classes de variação dos nove caracteres morfológicos e três agrônômicos de matrizes de pimenta-de-macaco. As coordenadas

cartesianas representam, no eixo das ordenadas (y), as freqüências das matrizes e, no eixo das abscissas (x), os termos centrais de cinco classes de valores. O tamanho amostral utilizado para cada caráter consta nas Tabelas 3 e 4. Considerando as freqüências observadas (linha preta) dos caracteres morfológicos em apreço, observou-se que o número de ramos ortotrópicos (NRO) apresentou classes de freqüências gradativamente decrescentes, destacando-se a primeira classe, que apresentou, aproximadamente, 73% dos dados, o que equivale a algo próximo de três vezes a soma das classes restantes.

O número de folhas por ramo (NFR), a largura da folha (LF) e o diâmetro do ramo mais velho (DRV) apresentaram, igualmente, a partir da segunda classe, freqüências com valores gradativamente decrescentes, sendo que nas segundas classes concentraram-se os maiores valores. No NFR, a classe de segunda ordem apresentou cerca de 36% dos dados, na LF, aproximadamente, 27% dos dados e, no DRV, cerca de 56% dos dados, concentrando, portanto, mais da metade dos dados.

O comprimento da folha (CF) teve na segunda e na terceira classes os maiores valores, correspondendo, a aproximadamente, 66% dos dados, enquanto que a altura da planta (AP) apresentou nas três primeiras classes os maiores valores, que foram semelhantes entre si, correspondendo a cerca de 88% dos dados, sendo que as duas últimas classes apresentaram valores bem menores quando comparadas às três primeiras classes, determinando um comportamento descendente das primeiras para as últimas classes.

No número de espigas por ramo (NER) e no comprimento do entrenó (CEN), os maiores valores concentraram-se nas terceiras classes, que apresentaram, respectivamente, cerca de 36% e 28% dos dados, ao passo que no número de ramos plagiotrópicos (NRP), concentraram-se na segunda classe, correspondendo a aproximadamente 28% dos dados. As classes de valores maiores estiveram intercaladas com as de valores menores, havendo,



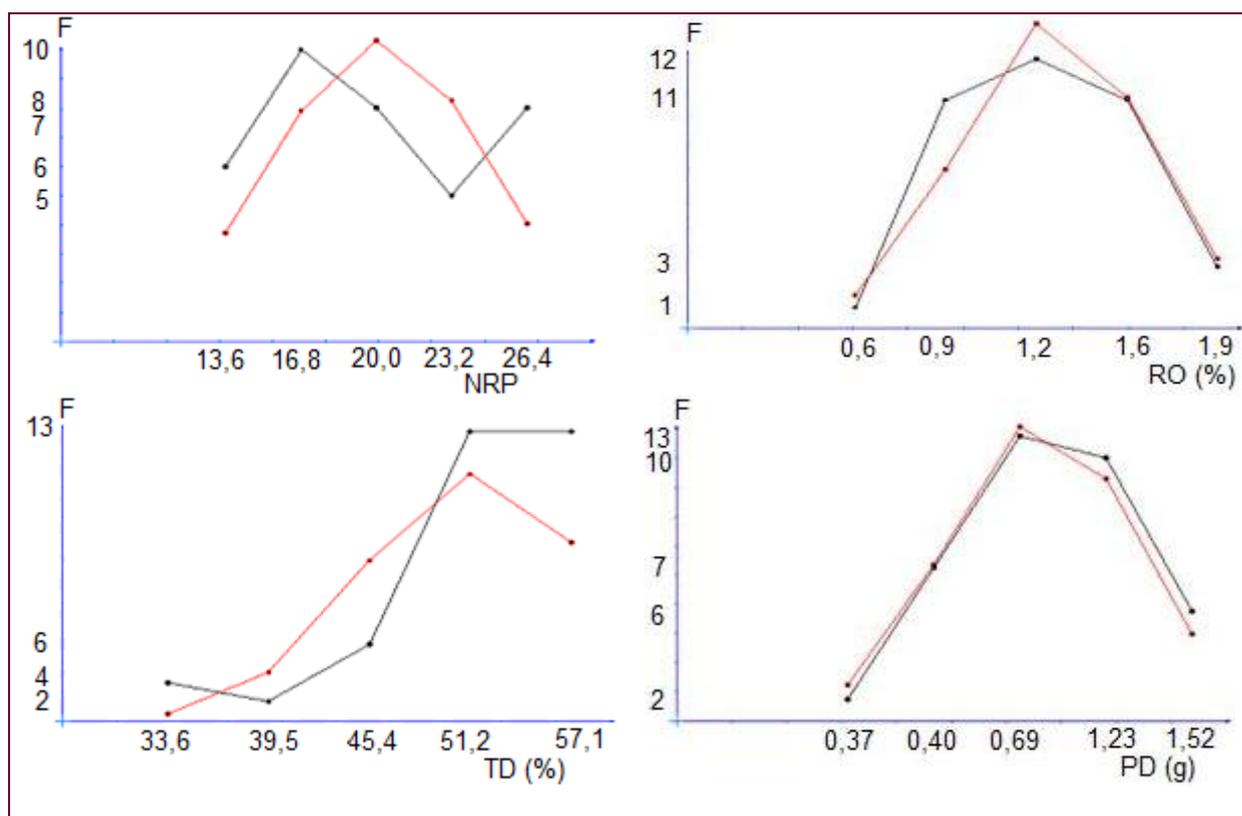


Figura 2: Distribuição de freqüências observadas (em preto) e esperadas (em vermelho) de caracteres morfoagronômicos de matrizes de pimenta-de-macaco amostradas em populações da Amazônia Brasileira. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

portanto, comportamento crescente seguido de comportamento decrescente ou vice-versa.

Os caracteres agrônômicos apresentaram classes com valores crescentes (no TD) e classes centrais com valores crescentes à esquerda e decrescentes à direita (RO e PD). O rendimento de óleo apresentou as classes dois, três e quatro com os maiores valores, com semelhança entre si, correspondendo a aproximadamente 89% dos dados, enquanto a produção de dilapiol apresentou duas classes centrais (três e quatro) com os maiores valores, também semelhantes entre si, correspondendo a cerca de 61% dos dados. No teor de dilapiol, as classes apresentaram comportamento crescente, com os maiores valores se concentrando nas duas últimas classes, correspondendo a cerca de 68% dos dados.

O rendimento de óleo essencial e o teor e produção de dilapiol, apesar de apresentarem coeficientes de variação inferior a 50% (Tabela 4), apresentaram classes de matrizes com variabilidade fenotípica selecionáveis para o cultivo e utilização no melhoramento genético. Pimentel *et al.* (1998), estudando acessos de pimenta-longa no Estado do Acre, também, observaram que o rendimento de óleo variou com o local de coleta, corroborando, assim, com o presente estudo.

Sete dos nove caracteres morfológicos e um dos três caracteres de produção apresentaram as freqüências observadas diferindo significativamente das freqüências esperadas, conforme teste de normalidade de Lilliefors, provavelmente devido à heterogeneidade dos ambientes nos vários pontos em que foram realizadas as coletas. Os caracteres em que as freqüências observadas não diferiram significativamente das freqüências esperadas foram o comprimento da folha (CF), comprimento do entrenó (CEN), rendimento de óleo (RO) e produção de dilapiol (PD). Considerando o total de caracteres examinados, verifica-se que 2/3 tiveram as freqüências observadas diferindo significativamente das esperadas, o que significa que os caracteres mais variáveis correspondem ao dobro dos menos variáveis (1/3).

A distribuição de freqüências permite verificar o nível de variabilidade dos estados do caráter, mesmo não sendo necessários, *à priori*, para programas de melhoramento, sobretudo quando o estudo é sobre dados de países ou regiões (QUEROL, 1993). Gusmão *et al.* (2006), estudando a caracterização da polpa e endocarpo de frutos de uma população de muruci (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss.) por meio do caráter massa de matéria fresca no mesocarpo, distinguiram dois conjuntos de classes de frutos: os maiores e os menores, sendo que a maior classe foi constituída de 36% dos frutos, com relação à matéria fresca e; com relação ao endocarpo, a classe de maior freqüência apresentou 45% dos endocarpos. Os autores consideraram que a grande variação nas medidas de matéria fresca pode estar relacionada com a alta variabilidade das plantas coletadas e a características edáficas e climáticas, dentre outras, no local de coleta. Tais

considerações também podem ser levadas em conta em relação às matrizes de pimenta-de-macaco amostradas, particularmente, no que se refere aos caracteres de produção.

A considerável capacidade de adaptação da pimenta-de-macaco aos mais diversos ambientes pode guardar alguma relação com a produção de óleo essencial, pois, provavelmente devido a interações com o meio ambiente, o rendimento de óleo varia com local de coleta (MOTA *et al.*, 2002a). Essa influência do meio-ambiente sobre caracteres agronômicos também é observada em outras espécies. Souza *et al.* (2001), analisando variabilidade fenotípica em germoplasma coletado de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) por meio de características físicas e químicas dos frutos, observaram que houve efeito significativo do local de coleta em 13 das 14 características agronômicas avaliadas.

Os caracteres aqui adotados para avaliação de pimenta-de-macaco podem ser padronizados e aperfeiçoados para, futuramente, comporem uma lista de descritores para caracterização e avaliação específicos desta cultura, de acordo com os princípios preconizados pela Biodiversidade Internacional (IPGRI). Para isso, estudos complementares serão necessários para definir quais caracteres são adequados para caracterização e avaliação (enquanto caracterização no tempo), de acordo com o critério da herdabilidade de progênes e gerações, quer naturais, quer experimentais (BIODIVERSITY INTERNATIONAL, 2007; CLEMENT, 2008), para que se possa dispor de informações úteis ao cultivo e melhoramento genético da espécie.

## 2.4. CONCLUSÕES

(1) A facilidade de adaptação da espécie a uma diversidade de condições edafoclimáticas e ecológicas pode facilitar uma rápida domesticação e cultivo em sistemas de produção;

(2) A análise dos caracteres morfoagronômicos considerados indicou que há variabilidade favorecendo a seleção para o cultivo e melhoramento da espécie;

(3) Os caracteres morfológicos que apresentaram maior variação foram o número de ramos ortotrópicos, o número de espigas por ramo e o diâmetro do ramo mais velho;

(4) O caráter agrônômico que mais apresentou maior variação foi o teor de dilapiol seguido da produção de dilapiol.

#### AGRADECIMENTOS

O autor agradece ao PROBEM e ao CNPq pelos recursos dispensados na fase inicial dos trabalhos de coleta e instalação da coleção de germoplasma, como também a equipe de pesquisadores e estagiários do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), pela contribuição nas análises de óleo essencial e identificação botânica dos materiais coletados; em particular à CAPES, pela bolsa concedida ao autor.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASTOS, C.N. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciosa* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.3, p.441-443, 1997.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.5, p.555-557, 2004.

BERGO, C.L.; MENDONÇA, H.A.; SILVA, M.R. Efeito da época e freqüência de corte de pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) no rendimento de óleo essencial. *Acta Amazônica*, v.35, n.2, p.111-117, 2005.

BEVILAQUA, G.A.P; NEDEL, J.L.; ZUANAZZI, J.A.; CORREA, C.T. Distribuição geográfica e composição química de 'chapéu de couro' (*Echinodorus* spp) no Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v.31, n.2, p.213-218, 2001.

BIODIVERSITY INTERNATIONAL. *Guidelines for the development of crop descriptor lists*. Roma: Technical Bulletin Series, 2007. 84p. (Technical Bulletin Series, n.13).

COSTA, J.L. *Determinação de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA – ecstasy), 3,4-metilenodioxietilamfetamina (MDEA–eve) e 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA) em fluidos biológicos por cromatografia líquida de alta eficiência: aspecto forense*. São Paulo, 2004. 121f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Pós-graduação em toxicologia e análises toxicológicas. Universidade de São Paulo-Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

CLEMENT, C.R. *Caracterização e avaliação – pré-condições para uso*. Disponível em < <http://www.inpa.gov.br/cpca/charles/pdf/palestra07.pdf> > Acesso em 21 abr. 2008.

CRUZ, C.D. *Programa Genes: Análise multivariada e simulação*. Editora UFV. Viçosa-MG, 2006. 175p.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervium* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciência Agrotécnica*, v.31, n.1, p.113-120, 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S.; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* L. Bechyné (Coleóptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, v.34, n.3, p.485-489, 2005.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, v.85, p.455-460, 2000.

FERREIRA, G.M.; MOTA, M.G.C.; VIEIRA, I.M.S.; BATISTA, M.S.F.; SILVA, S.P.G.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Propagação *in vitro* de *Piper aduncum* L. *Revista de Ciências Agrárias*, n.45, p.235-242, 2006.

FONTES JÚNIOR, E.A.; SOUSA, P.J.C.; SOUSA, R.C.; MAIA, J.G.S.; SANTOS, A.M.S. Atividade antiinflamatória e analgésica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 17. 2002. *Anais...* Salvador-BA: FESBE; MIX TECNOLOGIA DIGITAL. p.66.

FORD-LLOYD, B.; JACKSON, M. *Plant genetic resources: an introduction to their conservation and use*. Moulton: Castlefield Press, 1986. 146p.

FRANCIS, J.K. *Piper aduncum* L. San Juan: INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL FORESTRY-UNIVERSITY OF PUERTO RICO, 2003. 3p.

GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; ROCHA, A.I.; SILVA, M.L.; WILBERG, V.C. Óleos essenciais da Amazônia VII. *Acta Amazônica*, v.11, n.1, p.143-148, 1981.

GUSMÃO, E.; VIEIRA, F.A.; FONSECA JÚNIOR, E.M. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss.). *Cerne*, v.12, n.1, p.84-91, 2006.

LEME, R.; COUTO, L.B.; LEAL FILHO, N.; GRIBEL, R. *Propagação por estaquia de duas espécies de piperáceas, Piper aduncum L. e Piper arboreum AUBLET,*

*estratégias para recuperação de áreas degradadas na Amazônia Central*. Manaus: INPA, 1998. 4p.

LLERAS, E. Coleta de recursos genéticos vegetais. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1. 1988. *Anais...* Jaboticabal-SP: FCAV/UNESP. p.23-42.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C.; CASTRO, D.S.; TORRES, G.I.O.P.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; SILVA, M.H.L. Avaliação dos efeitos da temperatura e da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de *Piper aduncum L.* *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, supl.2, p.297-299, 2007.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. *Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2000. p.123-127.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* growing wild in the Amazon Region. *Flavour and Fragrance Journal*, v.13, p.269-272, 1998.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. *Princípios de biotecnologia em plantas – uma introdução à engenharia genética em plantas*. Ribeirão Preto-SP: SBG, 1994. 344p.

MEHRA, K.L. Analysis of variation in plant populations. In: MEHRA, K.L.; ARORA, R.K.; WADHIM, S.R. (Ed.). *Plant exploration and collection*. Nova Delhi: NBPGR, 1981.

MONTEIRO, G.M.; LIRA, D.S.; MAIA, J.G.S.; BARROS, C.A.L.; SOUSA, P.J.C. Acute and sub-acute toxicity of the essential oil of *Piper aduncum L.* In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, 3. 2001. *Anais...* Águas de Lindóia-BR: FCFRP-AFARP. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.13, suplement. p.S153.

MOTA, M.G.C.; COSTA, C.C.C.; MAIA, J.G.S.; GAIA, J.M.D. Variabilidade fenotípica em populações naturais de *Piper aduncum* L. na Amazônia Brasileira. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DA AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3. 2001. *Anais...* Londrina-BR: IAPAR.

MOTA, M.G.C.; COSTA, C.C.C.; GAIA JMD; MAIA JGS. Variabilidade fenotípica para o rendimento em óleo essencial e teor de dilapiol em populações naturais de pimenta-de-macaco na Amazônia Brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2002a. *Resumos...* Uberlândia-MG: SOB. *Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, julho, 2002. Supl. 2. <sup>1</sup>CD-ROM.

MOTA, M.G.C.; FERREIRA, G.M.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Efeito da concentração de ANA e BAP na micropropagação de *Piper aduncum* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42 2002b. *Resumos...* Uberlândia-MG: SOB. *Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, julho, 2002. Suplemento 2. <sup>1</sup>CD-ROM.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A.A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum* L., *P. arboretum*, and *P. tuberculatum*. *Química Nova*, v.29, n.3, p.467-470, 2006.

NUNES, J.D.; TORRES, G.A.; DAVIDE, L.C.; SALGADO, C.C. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum* L. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, n.7, p.1049-1052, 2007.

OLIVEIRA, M.N.; LUNZ, A.M.P. Coleta, caracterização e avaliação de genótipos de pimenta-longa (*Piper hispidinervium*) no Estado do Acre. Rio Branco-AC: EMBRAPA-CPAA, 1996. 3p. (Pesquisa em Andamento, 86).

PAIVA, J.R.; CRISÓSTOMO, J.R.; BARROS, L.M. *Recursos genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização*. Forataleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 43p. (Documentos, 65).

PIMENTEL, F.A.; PEREIRA, J.B.M.; OLIVEIRA, M.N. *Zoneamento e caracterização de habitats naturais de pimenta-longa (*Piper hispidinervium*) no Acre*. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 1998. 17p. (Boletim de Pesquisa, 20).

QUEIROZ, M.A.; ROMÃO, R.L.; ASSIS, J.G.A. Avaliação botânico-agronômica de acessos de melancia (*Citrullus lannatus*) coletados nas regiões de Irecê-BA e Pastos Bons-MA. *Sitientibus Série Ciências Biológicas*, v.1, n.1, p.79-83, 2001.

QUEROL, D. *Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido: abordagem técnica e socioeconômica*. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 216p.

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. *Experimentação em genética e melhoramento de plantas*. Lavras-MG: UFLA, 2000. 326p.

REDIG, M.S.F.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; RODRIGUES, V.L.F.; GAIA, J.M.D. Germinação de sementes e estimativas de parâmetros genéticos em pimenta-de-macaco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. 2003. *Resumos...* Recife: SOB. <sup>1</sup>CD-ROM.

SCHVARTSMAN, S. Aditivos alimentares. *Pediatria*, v.4, p.202-210, 1982.

SECRETARIA EXECUTIVA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E MEIO-AMBIENTE DO ESTADO DO PARÁ-SECTAM. Macrozoneamento ecológico-econômico do Estado do Pará – Proposta para discussão. Governo do Estado do Pará, 2004. 132p.

SILVA, A.C.P.R.; OLIVEIRA, M.N. *Caracterização botânica e química de três espécies do gênero *Piper* no Acre*. Rio Branco: Embrapa Acre, 2000. 13p. (Boletim de Pesquisa, 23).

SILVA, G.S.; PEREIRA, A.L.; BASTOS, C.N.; MENDONÇA, V.C.M. Efeito da incorporação de resíduos foliares de *Piper aduncum* ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. *Nematologia Brasileira*, v.30, n.2, p.219-222, 2007.

SILVA, M.H.L. *Tecnologia de cultivo e produção racional de pimenta longa: Piper hispidinervium* C. DC. Itaguaí, 1993. 87f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SILVA, S.O.; PIRES, E.T.; PESTANA, R.K.N.; ALVES, J.S.; SILVEIRA, D.C. Avaliação de clones de banana Cavendish. *Ciência Agrotécnica*, v.30, n.5, p.832-837, 2006.

SOUZA, J.A.B.; ARAÚJO, E.C.E.; VASCONCELOS, L.F.L.; LIMA, P.S.C. Variabilidade de características físicas e químicas de frutos de germoplasma de bacuri da região Meio-Norte do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.23, n.3, p.677-683, 2001.

SPINA, A.P.; FERREIRA, W.M.; LEITÃO FILHO, H.F. Floração, frutificação e síndromes de dispersão de uma comunidade de floresta de brejo na região de Campinas-SP. *Acta Botânica Brasílica*, v.15, n.3, p.349-368, 2001.

TORRES-SANTOS, E.C.; MOREIRA, D.L.; KAPLAN, M.C.; MEIRELLES, M.N.; ROSSI-BERGMAN, B. Seletive effect of 2', 6' – dihydroxy – 4' – methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* L. on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, v.43, n.5, p.1234-1241, 1999.

VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L.; GOES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento - plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 123-148.

VAN DEN BERG, M.E. *Plantas Medicinais na Amazônia: Contribuição ao seu conhecimento sistemático*. 2.ed. Belém: MPEG, 1993. p. 62-66.

VEIGA JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Plantas medicinais. Cura segura? *Química Nova*, v.28, n.3, p.519-528, 2005.

### **CAPÍTULO 3. SELEÇÃO DE CLONES DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.) PARA PLANTIO NAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS DE BELÉM-PA**

#### **RESUMO**

Pimenta-de-macaco é uma espécie com elevado teor de óleo essencial em que se constata propriedades biológicas utilizáveis na agricultura e saúde humana. Com o objetivo de avaliar a variabilidade morfoagronômica e selecionar genótipos, visando ao melhoramento genético e cultivo em sistemas de produção, foram propagados 13 clones de pimenta-de-macaco. As estacas foram enraizadas em casa de vegetação, transferidos para viveiro e local definitivo. A tomada de dados realizou-se em duas épocas. Os caracteres morfoagronômicos avaliados foram: número de folhas por ramo, comprimento da folha, largura da folha, diâmetro do ramo mais velho, altura da planta, número de ramos ortotrópicos, número de ramos plagiotrópicos, comprimento do entrenó, peso da matéria fresca, peso da matéria seca, rendimento de óleo e teor de dilapiol. Utilizou-se de ANAVA e teste de Tukey, com cálculos executados no programa computacional GENES. Os caracteres peso da matéria fresca (primeira época), diâmetro do ramo mais velho e número de ramos ortotrópicos (segunda época) foram os que mostraram variabilidade. O rendimento de óleo e o teor de dilapiol apresentaram médias superiores às médias das matrizes. O teste de Tukey detectou diferença no peso da matéria fresca, peso da matéria seca, teor de dilapiol (primeira época) e diâmetro do ramo mais velho (segunda época). Concluiu-se que os clones mostraram adaptabilidade às condições edafoclimáticas de Belém-PA; a época de colheita influenciou sobre a produção de óleo e teor de dilapiol; o clone PA-004 apresentou pequeno destaque em relação aos demais; a ANAVA e contrastes de médias evidenciaram produtividade e uniformidade nos clones examinados, podendo ser recomendados, nas condições edafoclimáticas de Belém-PA, para cultivo em sistemas de produção, em pequena escala.

**Palavras-chave:** Pimenta-de-macaco, recursos genéticos, conservação de germoplasma, caracteres morfoagronômicos, melhoramento genético.

#### **ABSTRACT**

Spiked pepper is a species with raised yielding of essential oil, in which one constate useful biological properties for agriculture and human health. With the aim to evaluate the morfoagronomic variability and to select genotypes toward genetic breeding and cropping in production systems, were propagated 13 spiked pepper clones. The stakes were rooted in greenhouse, transferred for nursery and definitive local. The collecting of data carried out in two epoches. The evaluated morfoagronomic traits were number of leaves per branch, length of the leaf, width of the leaf, diameter of the older branch, hight of the plant, number of orthotropic branches, number of plageotropic branches, length of the internode, weight of the fresh matter, weight of the dry matter, yielding of essential oil and content of dilapiole. Were utilized ANOVA and Tukey's test and the calculations were performed by the GENES software. The traits weight of the fresh matter (first season), diameter of the the older branch and number of orthotropic branches (second season) were that showed variability. The yielding of oil and the content of dilapiole were presented greater means at one of the parentals. The Tukey's test was detected difference in the weight of the fresh matter, weight of the dry matter, content of dilapiole (first season) and diameter of the older branch (second season). It was concluded that the clones showed adaptability at the edaphoclimatic conditions of Belem-BR, Para State; the harvest time biased on the oil yield and content of dilapiole; the clone PA-004 was presented a small distiction in relation at the other; the ANOVA and contrast of means were evidented

productivity and uniformity in the analysed clones and may be recommended, in the edaphoclimatic conditions of Belem-BR, Para State, for cropping in production systems, in small production.

**Keywords:** Spiked pepper, genetic resources, conservation of germplasm, morphoagronomic traits, genetic breeding.

### 3.1. INTRODUÇÃO

Pimenta-de-macaco é uma espécie aromática encontrada na Amazônia Brasileira que possui grande potencial para exploração econômica, em função da comprovada utilidade do seu óleo essencial, que apresenta diversas formas de propriedades biológicas aplicáveis na agricultura e saúde humana. Tais propriedades são atribuídas ao seu constituinte majoritário, o dilapiol, um éter fenílico que representa 97% do óleo essencial; e concentra-se, principalmente, nas folhas e galhos finos e seu rendimento no processo de extração pode variar de 1,2 a 3,4% (MAIA *et al.*, 1998; MAIA *et al.*, 2000). Os principais efeitos biológicos do óleo essencial de pimenta-de-macaco, já constatados, são atividade bactericida, moluscicida, acaricida, larvicida, inseticida, nematoidicida e agente sinérgico de inseticidas naturais, além de atuar como fungicida em tecidos humanos e de plantas (NAVICKIENE *et al.*, 2006; LOBATO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

Na agricultura, mostrou atividade contra fungos, insetos e nematóides causadores de danos econômicos na agricultura amazônica, tanto no campo como no processamento pós-colheita e produtos armazenados. Culturas como cacau, cupuaçu, pimenta-do-reino, banana, feijão, milho e tomate, já mostraram ser beneficiadas com a utilização do óleo essencial de pimenta-de-macaco no controle de pragas, e doenças (BASTOS, 1997; BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; FAZOLIN *et al.*, 2005; ESTRELA *et al.*, 2006; FAZOLIN *et al.*, 2007) e no controle do parasitismo de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro, pela incorporação de resíduos foliares ao solo (SILVA *et al.*, 2007).

Na saúde humana, o óleo essencial de pimenta-de-macaco é ativo, farmacologicamente e pode ser usado como antiinflamatório e como analgésico no sistema periférico (FONTES JÚNIOR *et al.*, 2002), além de apresentar não-toxicidade (MONTEIRO *et al.*, 2001). Torres-Santos *et al.* (1999) constataram que isolados desta substância possuem atividade contra o protozoário causador da leishmaniose. Além de que, o uso de pimenta-de-macaco, nos diversos setores onde possui aplicação, não apresenta as mesmas restrições colocadas para o uso de pimenta-longa, que apresenta caracteres hepatotóxico, carcinogênico e alucinógeno (SCHVARTSMAN, 1982; VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2005; COSTA, 2004).

Pimenta-de-macaco, por ter ciclo vegetativo relativamente curto, e tolerância a solos de baixa fertilidade e elevada acidez, facilidade de propagar-se vegetativamente e ampla capacidade de adaptação a diversos ambientes (ALBUQUERQUE, 1980; SILVA, 1993; LEME *et al.*, 1998; FRANCIS, 2003), pode tornar-se uma importante fonte de matéria-prima para produção de óleos essenciais, principalmente devido ao fato de possuir elevado porcentual de rendimento de óleo, quando comparado ao de outras espécies aromáticas, o que constitui outra vantagem para a sua exploração comercial.

Estudos sobre a propagação sexuada de matrizes de pimenta-de-macaco, visando sua domesticação, foram realizados por Redig *et al.* (2003). Neste estudo foram obtidos a porcentagem de germinação, com média de 20,10% e a velocidade de emergência, com média de 3,14, como também, foram detectadas variabilidade genética entre as progênies utilizadas. A micropropagação de segmentos nodais de *P. aduncum* utilizando doses específicas de ácido naftaleno acético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) como reguladores de crescimento gerou calos, que são estruturas importantes para cultura de células e geração de variação cromossômica (MANTELL *et al.*, 1994; MOTA *et al.*, 2002; FERREIRA *et al.*, 2006).

Em pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.), espécie muito semelhante à pimenta-de-macaco que está em processo de domesticação mais avançado, realizaram-se estudos sobre recursos genéticos que mostraram variação no rendimento de óleo por local de coleta e com a idade da planta, além de correlação positiva entre teor de safrol e rendimento de óleo essencial (PIMENTEL *et al.*, 1998); estrutura genética de populações naturais e sistema reprodutivo (WADT; KAGEYAMA, 2004) e estudos fitotécnicos sobre época e frequência de colheita e seus efeitos sobre o rendimento de óleo essencial (BERGO *et al.*, 2005). Em pimenta-de-macaco, Gaia *et al.* (2004) realizaram estudos sobre a diversidade genética em amostras populacionais naturais da Amazônia Brasileira.

Pimenta-de-macaco, como muitas plantas aromáticas e medicinais silvestres do Brasil, necessitam de um nível mínimo de seleção e domesticação para que seu cultivo possa ser econômico. Para isso, são necessários estudos interdisciplinares que envolvam práticas relacionadas à conservação e utilização dos recursos genéticos. A coleta, caracterização e avaliação de germoplasma visam sua utilização no cultivo e melhoramento genético, e auxiliam na seleção de materiais (plantas) para obter maior produtividade, resistência a pragas e doenças, precocidade, tolerância a estresses abióticos, estabilidade e adaptabilidade a diversos ambientes, e plantas de fácil propagação vegetativa para a uniformidade da produção, como também, para a seleção de características desejadas relacionadas a aceitação comercial.

Ramos *et al.* (2007) coletaram e avaliaram, em dois ciclos produtivos, clones de ameixeira (*Prunus* sp), identificaram e selecionaram genótipos com boas características de floração e frutificação, com produção precoce, adaptados ao sul do Estado de Minas Gerais; Silva *et al.* (2004) e Silva *et al.* (2006) avaliaram e selecionaram clones de bananeira (*Musa* spp), com variabilidade média e com alta similaridade, coletados em diferentes Estados do Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil. Beviláqua *et al.* (2001),

avaliaram e selecionaram a diversidade de genótipos do germoplasma de aveia (*Avena* spp) de Passo Fundo, havendo genótipos destacando-se pela precocidade, rendimento de grãos, tolerância à ferrugem e outros apresentando semelhança na produção de matéria seca e rendimento de grãos com cultivares desenvolvidos para plantio. O objetivo deste trabalho foi avaliar e selecionar clones de pimenta-de-macaco, quanto à produção de óleo essencial, constituinte majoritário e variabilidade morfológica, visando ao melhoramento genético e cultivo em sistemas de produção da Amazônia.

### 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Materiais propagativos de matrizes de pimenta-de-macaco coletados no Estado do Amazonas (Manaus) foram identificados e remetidos para o campus da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Belém-PA, clima Afi, temperatura média de 32°C, regime de chuvas médio de 2800mm anuais, umidade relativa do ar na média de 85% e solo silto-arenoso. Em casa de vegetação, obteve-se clones primários do material propagativo, preparando-se mudas com segmento de estaca padronizado em 15cm ou duas a três gemas por estaca, com uma folha, sendo tratadas com solução de fungicida (benomil) a 1% (p/v) por 10 minutos e colocadas para enraizar em substrato de casca de arroz carbonizada, baseado em recomendações de Silva (1993), para obtenção de mudas de pimenta-longa. As mudas foram transferidas para viveiro com 50% de sombreamento, para aclimação e, a seguir, transferidas para o local definitivo.

Os clones oriundos de Manaus-AM, em número de treze, por apresentarem um grande número de rametes, foram plantados em delineamento experimental em blocos completos ao acaso, sem controle local. O ensaio constituiu-se de três repetições com parcelas de cinco plantas em fileiras simples, espaçamento de 0,6mx0,6m e bordaduras laterais ao experimento. As covas foram dimensionadas em 20cmx20cmx20cm, com adubação orgânica de aproximadamente 5,0L de esterco de pato/cova (cama) e adubação NPK com aplicação de 8g de superfosfato triplo feita de uma

única vez, 5g de uréia e 6g de cloreto de potássio, aplicados em três doses intervaladas de 30 dias, conforme a seguir: a uréia em doses de 3, 3 e 2 g/cova e cloreto de potássio em doses de 3, 1 e 2 g/cova, sendo que estas quantidades foram baseadas em recomendações citadas em literatura para pimenta-longa (SILVA, 1993, BRASIL *et al.*, 1998; BRASIL; VIÉGAS, 1998).

A primeira época de tomada de dados foi realizada aos 11, 12 e 13 meses após o plantio (02 a 04/2002) e, a segunda, aos 17, 18 e 19 meses após o plantio (08 a 10/2002), sendo um bloco cortado a cada mês, com o corte dos clones executado a 50 cm do solo. Em cada corte de bloco foram tomados dados dos seguintes caracteres morfoagronômicos: (1) número de folhas por ramo (NFR), tomados ao acaso de cinco ramos, da parte mediana da planta; (2) comprimento da folha (cm, CF), medido na quinta folha do quinto ramo da parte mediana da planta; (3) largura da folha (cm, LF), tomada na quinta folha do quinto ramo da parte mediana da planta; (4) diâmetro do ramo mais velho, (cm, DRV), tomado a 20cm do solo; (5) altura da planta (m, AP), medida do solo ao ponto mais alto da planta; (6) número total de ramos ortotrópicos (NRO); (7) número total de ramos plagiotrópicos (NRP); (8) comprimento do entrenó (cm, CEN), obtido a 50cm do solo; (9) rendimento de óleo essencial (%), extraído de 100g de folhas secas em sombra; (%), (10) teor de dilapiol (TD), tomado de 100g de folhas secas em ambiente sombreado; (11) peso da matéria fresca total das folhas e ramos finos (kg, PMF) e; (12) peso da matéria seca total das folhas e ramos finos (kg, PMS).

O material cortado foi encaminhado para o Laboratório de Fitoquímica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), para determinação do rendimento de óleo e constituintes majoritários. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação, utilizando-se extratores de vidro tipo *Clevenger*, por 3 horas. A análise da composição química do óleo essencial foi feita em cromatógrafo de gás *Hewlett Packard* modelo 5890, utilizando coluna capilar WCOT, de sílica fundida, com 25m de comprimento, diâmetro interno de

0,25mm e espessura do filme de 0,25 $\mu$ m e Programa de temperatura 60°C/240°C (3°C por minuto).

Foi realizada ANAVA para duas épocas de colheita e contrastes de médias pelo teste de Tukey. Os dados coletados, antes de se proceder as análises da variância, foram avaliados quanto a normalidade pelo teste de Lilliefors, conforme recomendações de Ramalho *et al.* (2000). As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas conforme a natureza dos números (se positivos, inteiros de contagem ou percentuais), sendo, então, transformados os caracteres peso da matéria seca (logarítmo natural) e teor de dilapiol ( $\arcsen(x/100)^{1/2}$ ), na primeira época e, na segunda época, o diâmetro do ramo mais velho (logarítmo natural), o peso da matéria fresca (potência quadrada), o número de ramos ortotrópicos (raiz de índice oito), o número de ramos plagiotrópicos (raiz quadrada) e o rendimento de óleo essencial ( $\arcsen(x/100)^{1/2}$ ). As análises de variância, teste de Tukey, teste de normalidade e transformações foram calculadas utilizando o software GENES (CRUZ, 2006).

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 constam as análises de variância de duas épocas de colheita, a partir dos caracteres morfoagronômicos avaliados em duas épocas de colheita dos 13 clones. Na primeira época de colheita, a ANAVA detectou diferenças significativas entre clones somente para o caráter peso da matéria fresca, para os demais caracteres, não foram observadas diferenças significativas. Na segunda época de colheita, o número de ramos ortotrópicos e o diâmetro do ramo mais velho foram os únicos caracteres que apresentaram diferenças significativas entre clones, o que pode ser devido a algum efeito semelhante a efeito de poda, pois o primeiro corte deve ter estimulado uma maior formação de ramos ortotrópicos, já a significância observada no diâmetro do ramo mais velho, provavelmente deve-se ao fato de pimenta-de-macaco ser uma espécie de crescimento rápido (LEME *et al.*, 1998).

Tabela 1: Análise da variância dos caracteres morfoagronômicos em duas épocas de colheita para avaliação de 13 clones de pimenta-de-macaco procedentes de Manaus-AM, visando a domesticação e cultivo em agroecossistemas da Amazônia. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

FV	QM (1ª ÉPOCA)			QM (2ª ÉPOCA)		
	Matrizes	Blocos	Resíduo	Matrizes	Blocos	Resíduo
GL	12	2	24	12	2	24
PMF	2,09*	4,8*	0,91	1,82ns	1,32ns	1,04
PMS	0,31ns	1,67**	0,19	0,17ns	0,59ns	0,08
RO	0,14ns	1,25*	0,24	0,06ns	0,31*	0,08
TD	22,09ns	90,34**	10,56	2,70ns	5,42ns	2,12
CF	13,91ns	348,12**	19,44	12,75ns	97,08ns	35,60
LF	3,16ns	163,27**	6,31	4,49ns	20,22ns	6,52
NFR	131,44ns	926,33**	103,92	142,62ns	979,84*	230,21
NRO	0,15ns	0,19ns	0,09	11,34*	77,69**	4,90
NRP	52,61ns	152,49ns	56,26	21,09ns	18,16ns	34,00
CEN	75,81ns	79,20ns	111,75	29,70ns	125,51ns	97,83
DRV	289,07ns	969,83*	228,75	144,54**	331,45**	152,70
AP	0,83ns	15,81**	0,81	0,73ns	5,83*	1,04

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; S: significativo; NS: não significativo; \*: significativo no nível de 5% de probabilidade de erro; \*\*: significativo no nível de 1% de probabilidade de erro; PMF: peso da matéria fresca (kg); PMS: peso da matéria seca (kg); RO: rendimento de óleo essencial (%); TD: teor de dilapiol (%); CF: comprimento da folha (cm); LF: largura da folha (cm); NFR: número de folhas por ramo; NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; CEN: comprimento do entrenó (cm); DRV: diâmetro ramo mais velho (cm); AP: altura da planta (m).

De modo geral, a baixa variabilidade dos caracteres selecionados, tanto na primeira quanto na segunda época de colheita, é compatível com o que foi observado por Gaia *et al.* (2004) que, estudando a diversidade genética em clones primários de pimenta-de-macaco, verificaram que genótipos de mesma procedência, eram geneticamente similares. O número de ramos ortotrópicos, assim como o diâmetro do ramo mais velho, embora não tenham mostrado variabilidade na primeira época de colheita, apresentaram na segunda, como também no ambiente de ocorrência. Isto pode indicar que a variabilidade para esses dois caracteres pode ser dependente do crescimento e da idade da planta.

Em estudos sobre pimenta-longa realizada em Rondônia, Bergo *et al.* (2005) verificaram que o rendimento de óleo essencial foi maior e independente da época de colheita, quando a colheita foi realizada aos 12 meses, se comparado com a média de duas colheitas intervalados de seis meses, sendo a melhor época de colheita o final do período chuvoso que, na localidade, recai nos meses de março/abril. Os autores levantaram a hipótese de que a pimenta-longa pode ter um ponto ideal de colheita em função da idade, quando as células oleíferas atingem a capacidade plena de síntese de óleo essencial, o que, possivelmente, pode ser confirmado por novos estudos, e que, também, pode ser considerada para a pimenta-de-macaco.

Apesar de pimenta-de-macaco ser um espécie autógama (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000) e, em função disso, não ser esperada muita variabilidade dentro de populações, variabilidade dentro de um mesmo local de coleta já foi observada, por meio de marcadores RAPD, nomeadamente, os acessos coletados em Marabá-PA (GAIA *et al.*, 2004). Nesse mesmo estudo, acessos oriundos de Manaus constituíram um só grupo de similaridade, todavia, com o aumento do número de acessos, a variabilidade tenderá a se evidenciar também nesta procedência. Wadt e Kageyama (2004), ao estudarem o sistema de acasalamento e estrutura genética de pimenta-longa, constataram que esta espécie é alógama, porém, apresentaram alta diferenciação entre populações, que é o esperado para espécies autógamas, como a pimenta-de-macaco, cuja tendência para diferenciação interpopulacional foi verificada em clones primários dos Estados do Pará e Amazonas (GAIA *et al.*, 2004).

Os efeitos de blocos significativos, presentes na ANAVA, denotam a ausência do controle local, porém, o tamanho da área ocupada pelo experimento, pequeno, devido ao espaçamento utilizado, colabora para reduzir o erro experimental, enquanto que o fato da espécie ser autógama e se estar usando clones, ao invés de progênies, colaboram para reduzir a variabilidade. Oliveira *et al.* (2007), ao analisar acessos de açazeiro (*Euterpe oleracea*) constituídos de famílias de meios-irmãos instalados em área

destituída de controle local, comum em coleções de germoplasma, detectaram diferenças significativas entre os tratamentos para a maioria dos caracteres, tendo contribuído, para isso, com ampla margem de certeza, a natureza genética dos acessos (progênies); do mesmo modo que, em pimenta-de-macaco, a natureza clonal dos genótipos examinados contribuiu para não se detectar variabilidade.

Ainda na Tabela 1, os efeitos de blocos foram observados com maior intensidade na primeira época de colheita, cujos cortes foram realizados aos 11, 12 e 13 meses, indicando que o mês de realização do corte influenciou significativamente nove dos 12 caracteres estudados, entre os quais os caracteres de produção. O comprimento do entrenó, o número de ramos ortotrópicos e o número de ramos plagiotrópicos foram os únicos que não variaram em relação ao mês de realização do corte. Na segunda época de colheita, os efeitos de blocos ocorreram em um número menor de caracteres, pois somente cinco caracteres (altura da planta, número de folhas por ramo, número de ramos ortotrópicos, diâmetro do ramo mais velho e rendimento de óleo essencial) tiveram efeitos de blocos e isso pode ser devido ao fato da segunda colheita ter sido realizada em meses de menor ocorrência de chuvas (agosto a setembro), diferentemente do que ocorreu na primeira colheita, onde os meses de corte recaíram no período mais chuvoso (fevereiro a abril).

A influência dos efeitos de blocos sobre o peso da matéria seca (ton) e o rendimento de óleo essencial (%), em particular, pode ser melhor percebida pela Figura 1, cujos histogramas representam o desempenho de tais caracteres na primeira e segunda época de colheita. Comparando-se as duas épocas, observou-se que a produção na segunda época foi superior à primeira, pois houve um acréscimo de 68,52% na produção de óleo essencial, em relação à primeira época de colheita e 46,26% na produção de matéria seca, por hectare, em relação à primeira época de colheita.

A produção da primeira época foi estimada em 6,7ton/ha de matéria seca e 0,231ton/ha de óleo essencial e a produção da segunda época foi

estimada em 9,8ton/ha de matéria seca e 0,390ton/ha de óleo essencial, perfazendo aos 18 meses de cultivo 16,5ton/ha de matéria seca e 0,621ton/ha de óleo essencial. Com um número maior de colheitas, é provável que novos exames detectem efeitos genéticos significativos.

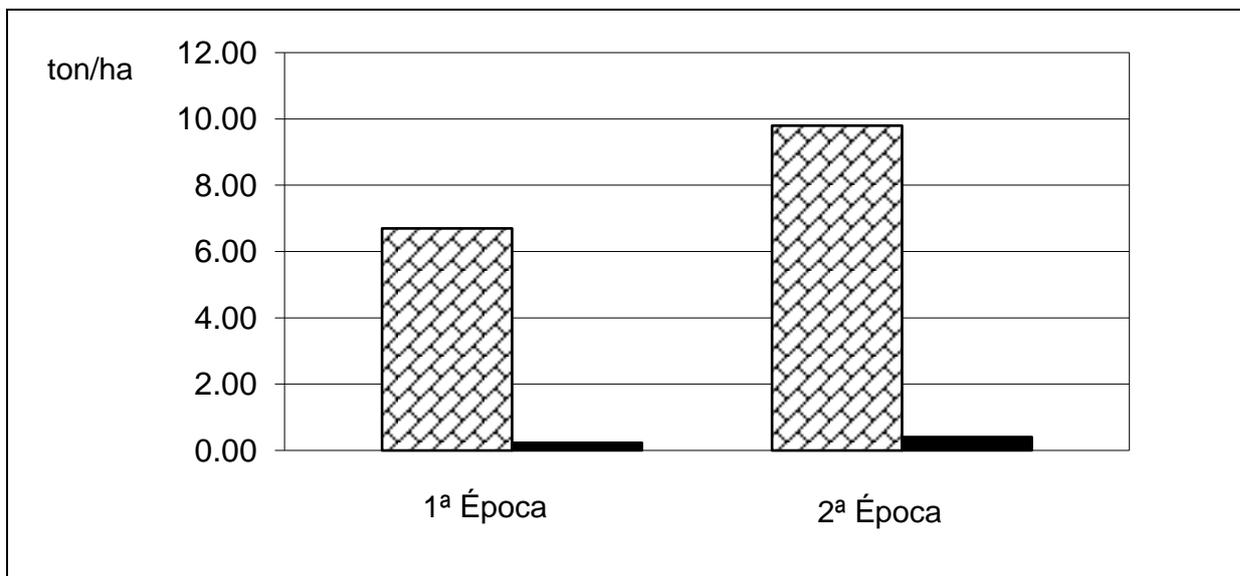


Figura 1 Comparação do rendimento de óleo essencial (coluna preta) com a produção de matéria seca (hachurada) de pimenta-de-macaco (ton/ha) em duas épocas. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

A maior produção de óleo essencial na estação de menor ocorrência de chuvas pode ser uma estratégia da planta para resistir às variações de umidade ao longo do ciclo biológico. Conceição (2000), ao revisar sobre a produção de óleos essenciais de plantas aromáticas, relata que, embora a biossíntese de óleos essenciais seja controlada geneticamente, sofre forte influência do meio-ambiente, apresentando uma tendência para sofrer um aumento de produção quando não irrigadas ou quando há um decréscimo de precipitação.

De acordo com Rocha Neto *et al.* (2001), a produção de pimenta-longa pode chegar a 200 kg/ha/ano de óleo essencial. Tomando-se esta estimativa como parâmetro de comparação para a produtividade que pode ser obtida com o processo de cultivo de pimenta-de-macaco, observa-se que a espécie em questão é produtiva nas condições climáticas e ecológicas de

Belém-PA, sendo possível realizar um maior número de colheitas na cultura de pimenta-de-macaco, com redução de custos e aumento de produção de óleo essencial.

Essas informações são necessárias para justificar o plantio de pimenta-de-macaco em sistemas de produção e importantes para tomar decisões sobre a implantação de sistemas produtivos e, apesar da ausência de efeitos genéticos, aumento de produtividade foi constatada da primeira para a segunda época, com uniformidade de múltiplos materiais genéticos. Ferrão *et al.* (2008), ao avaliar materiais genéticos de café conilon (*Coffea canephora*), em sua maioria clones, verificaram grande variabilidade e alta produtividade, com possibilidades de sucesso em programas de melhoramento para diferentes características avaliadas.

Nas Tabelas 2 e 3 constam os contrastes de médias estimados por meio do teste de Tukey para a primeira e segunda épocas de colheita. Os resultados foram semelhantes à ANAVA, não se observando muitos contrastes significativos. No caráter peso da matéria fresca, na Tabela 2, os clones PA-004 e PA-002 diferiram dos demais clones no sentido de favorecer maior produção de matéria fresca e, no sentido oposto, o clone PA-009/02 apresentou a menor média nesse caráter, diferindo dos demais. Os clones restantes assumiram posição intermediária. Para o caráter peso da matéria seca, observou-se que o clone PA-004 diferiu dos demais, no sentido de favorecer maior produção de matéria seca e, no sentido oposto, o clone PA-009/02, apresentou a menor média de matéria seca. Os demais clones assumiram posição intermediária.

Para o caráter teor de dilapiol, somente o clone PA-001 diferiu dos demais, no sentido de favorecer maior produção e, em sentido oposto, o clone PA-003/01, os demais clones assumiram posição intermediária sendo que, no geral, os clones examinados podem ser considerados uniformes, com

Tabela 2: Comparação de médias de 12 caracteres morfoagronômicos avaliados em duas épocas de colheita, em 13 clones de pimenta-de-macaco coletados em Manaus-AM. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008<sup>(1)</sup>.

MATRIZES	AP	NRO	NRP	NFR	CF	LF	CEN	DRV	PMF	PMS	RO	TD
PA001	7,68a	14,67a	78,33a	60,00a	83,93a	27,83a	36,00a	77,08a	3,80ab	1,3ab	3,50a	86,30a
PA002	8,46a	16,33a	82,33a	68,67a	85,73a	29,50a	37,86a	88,53a	4,80a	1,42ab	3,89a	82,73ab
PA003/01	7,70a	17,00a	68,33a	68,33a	84,80a	28,43a	37,03a	76,15a	3,50ab	1,17ab	3,56a	75,59a
PA003/02	7,64a	17,00a	77,33a	65,67a	79,86a	26,30a	22,96a	89,59a	3,83ab	1,37ab	3,56a	84,61ab
PA004	8,38a	17,00a	74,00a	61,67a	85,90a	30,33a	31,76a	83,28a	4,97a	1,76a	3,27a	82,10ab
PA005	7,87a	13,67a	83,33a	60,67a	86,60a	28,46a	31,03a	94,29a	3,83ab	1,39ab	3,26a	84,74ab
PA006	7,45a	13,67a	80,67a	66,67a	87,48a	29,76a	31,30a	90,17a	3,47ab	0,94ab	3,53a	85,30ab
PA007	7,97a	13,00a	75,67a	58,67a	88,30a	28,46a	39,63a	81,74a	3,87ab	1,38ab	3,09a	84,21ab
PA008	7,19a	13,67a	75,67a	57,00a	84,16a	28,13a	40,33a	73,07a	3,10ab	0,92ab	3,38a	83,02ab
PA009/01	7,26a	15,33a	75,67a	62,67a	82,83a	27,95a	31,56a	94,68a	3,63ab	1,28ab	3,51a	84,99ab
PA009/02	7,22a	13,33a	74,33a	67,67a	83,89a	27,58a	33,88a	59,65a	1,87b	0,49b	3,72a	82,46ab
PA010	8,34a	12,67a	78,67a	76,67a	85,46a	28,80a	29,43a	89,16a	4,50ab	1,36ab	3,58a	85,68ab
PA011	6,69a	13,00a	72,00a	71,00a	84,23a	28,25a	27,65a	84,37a	2,70ab	0,87ab	3,21a	84,29ab
DMS	2,68	6,71	22,43	30,49	13,19	7,52	31,58	83,22	2,85	1,20	1,46	7,09

<sup>(1)</sup>Números seguidos das mesmas letras não diferem significativamente entre si. AP: altura da planta (m); NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; NFR: número de folhas por ramo; CF: comprimento da folha (cm); LF: largura da folha (cm); CEN: comprimento do entrenó (cm); DRV: diâmetro ramo mais velho (cm); PMF: peso da matéria fresca (kg); PMS: peso da matéria seca (kg); RO: rendimento de óleo essencial (%); TD: teor de dilapiol (%); DMS: Diferença mínima significativa.

Tabela 3: Comparação de médias de 12 caracteres morfoagronômicos avaliados em duas épocas de colheita, em 13 clones de pimenta-de-macaco coletados em Manaus-AM. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008<sup>(1)</sup>.

MATRIZES	AP	NRO	NRP	NFR	CF	LF	CEN	DRV	PMF	PMS	RO	TD
PA001	9,57a	14,67a	60,69a	77,33a	86,23a	28,50a	45,81a	87.20abcd	5,40a	1,83a	3,83a	81,05a
PA002	10,33a	18,00a	59,00a	77,33a	85,37a	28,40a	42,67a	93.64abc	6,07a	2,16a	3,80a	80,53a
PA003/01	9,73a	17,33a	56,00a	80,67a	83,77a	25,93a	47,03a	87.00abcd	4,90a	1,97a	3,53a	81,45a
PA003/02	9,64a	19,00a	51,00a	68,33a	79,87a	26,13a	47,90a	81.37bcd	5,20a	1,80a	3,73a	81,95a
PA004	10,14a	17,00a	62,33a	90,67a	86,97a	29,00a	44,50a	95.68ab	6,07a	1,93a	3,52a	81,00a
PA005	10,18a	14,67a	63,00a	82,33a	87,47a	28,27a	50,63a	91.44abcd	5,50a	1,79a	3,43a	78,70a
PA006	8,83a	15,33a	59,00a	75,00a	84,17a	27,30a	41,07a	99.44a	5,20a	1,76a	3,42a	80,60a
PA007	10,01a	13,00a	56,33a	84,67a	86,85a	26,08a	45,23a	98.37ab	5,17a	1,64a	3,00a	80,44a
PA008	9,55a	14,66a	55,67a	72,67a	87,50a	29,37a	49,03a	79.93cd	4,47a	1,60a	3,70a	80,46a
PA009/01	9,58a	18,00a	61,67a	87,17a	84,00a	26,37a	42,57a	91.37abcd	4,83a	1,64a	3,67a	80,13a
PA009/02	9,74a	13,33a	61,33a	84,36a	84,66a	26,38a	41,34a	89.33abcd	3,43a	3,30a	3,63a	80,29a
PA010	10,06a	14,33a	60,67a	83,50a	84,67a	27,84a	42,07a	93.36abcd	5,73a	1,90a	3,57a	80,91a
PA011	8,87a	15,00a	56,00a	69,00a	84,77a	26,53a	41,97a	77.08d	3,90a	1,35a	3,77a	81,69a
DMS	3,05	0,07	1,12	45,38	17,84	7,64	29,58	0,15	2,84	2,91	0,47	4,35

<sup>(1)</sup>Números seguidos das mesmas letras não diferem significativamente entre si. AP: altura da planta (m); NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; NFR: número de folhas por ramo; CF: comprimento da folha (cm); LF: largura da folha (cm); CEN: comprimento do entrenó (cm); DRV: diâmetro ramo mais velho (cm); PMF: peso da matéria fresca (kg); PMS: peso da matéria seca (kg); RO: rendimento de óleo essencial (%); TD: teor de dilapiol (%); DMS: Diferença mínima significativa.

boa capacidade produtiva. Para os caracteres morfológicos, os clones examinados não diferiram entre si. A existência de contrastes de médias entre clones no caráter teor de dilapiol pode ser indício de que existe mais variabilidade para esta característica, podendo conseqüentemente, haver variabilidade para rendimento de óleo, se as duas características estiverem positivamente correlacionadas. Em pimenta-longa, o teor de safrol mostrou correlação positiva com o rendimento de óleo essencial (PIMENTEL *et al.*, 1998), constituindo um indício de que esta correlação também pode existir em pimenta-de-macaco.

Os contrastes de médias resultantes da segunda época de colheita foram semelhantes aos da primeira época, pois não houve diferenças significativas entre as médias em 11 dos 12 caracteres examinados, sendo o diâmetro do ramo mais velho o único caráter a apresentar diferença entre clones. Nesse caráter, o clone PA-006 diferiu dos demais, precedido pelos clones PA-004 e PA-007, no sentido de favorecer o maior desenvolvimento do diâmetro. No sentido oposto, os clones que apresentaram as menores médias foram PA-011 e PA-008. Os demais clones assumiram valores intermediários, excetuando o clone PA-002, que assumiu valor entre os de médias maiores e os de valores intermediários e; o clone PA-003/02, que assumiu valor entre os de menores médias e os de valores intermediários. Portanto, o clone PA-004 destacou-se nos caracteres peso da matéria fresca e peso da matéria seca, na primeira época e, no diâmetro do ramo mais velho, na segunda época de colheita. Silva *et al.* (2004), ao avaliarem clones de bananeira (*Musa acuminata*, AAA) oriundos de Estados do Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil, verificaram variabilidade média em todos os caracteres avaliados e, Silva *et al.* (2006), ao pesquisar clones mais produtivos de banana, oriundos de matrizes de elevada similaridade, selecionaram dois clones recomendáveis para cultivo.

Na Tabela 4 constam as médias do rendimento de óleo e do teor de dilapiol das matrizes de Manaus-AM e seus clones primários avaliados em

duas épocas de colheita. Analisando as médias e os coeficientes de variação desses dados, percebe-se, em relação ao rendimento de óleo, que a média das matrizes (2,7%) foi inferior à do rendimento de óleo da primeira época de avaliação (3,47%) (mais chuvosa) e, esta, por sua vez, foi inferior à do rendimento de óleo observado na segunda época (3,58%) (menos chuvosa), sendo que o oposto aconteceu ao coeficiente de variação, que foi paulatinamente diminuindo de valor, das matrizes (18,5%) para a primeira época (14,09%) e, desta, para a segunda época (7,56%), sendo que os valores, em condições experimentais (clones primários), foram inferiores ao coeficiente de variação estimado em condições naturais (matrizes).

Tabela 4: Médias de matrizes e clones primários de pimenta-de-macaco para avaliação do rendimento de óleo em duas épocas de colheita, visando ao cultivo na Amazônia Brasileira. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

GENÓTIPOS	MATRIZES		CLONES (1ª ÉPOCA)		CLONES (2ª ÉPOCA)	
	RO (%)	TD (%)	RO (%)	TD (%)	RO (%)	TD (%)
PA001	2,6	76,9	3,50	86,30	3,83	81,05
PA002	2,8	85,3	3,89	82,73	3,80	80,53
PA003/01	2,2	79,2	3,56	75,59	3,53	81,45
PA003/02	2,4	78,7	3,56	84,61	3,73	81,95
PA004	2,8	75,4	3,27	82,10	3,52	81,00
PA005	2,4	76,3	3,26	84,74	3,43	78,70
PA006	2,6	76,1	3,53	85,30	3,42	80,60
PA007	3,3	83,1	3,09	84,21	3,00	80,44
PA008	2,8	82,1	3,38	83,02	3,70	80,46
PA009/01	3,4	82,9	3,51	84,99	3,67	80,13
PA009/02	2,0	75,5	3,72	82,46	3,63	80,29
PA010	3,6	81,5	3,58	85,68	3,57	80,91
PA011	2,3	84,7	3,21	84,29	3,77	81,69
MÉDIAS	2,7	79,82	3,47	83,54	3,58	80,71
CV (%)	18,5	4,5	14,09	3,89	7,56	1,80

RO: rendimento de óleo; TD: teor de dilapiol; CV: coeficiente de variação.

O mesmo comportamento não foi observado no caráter teor de dilapiol em relação à média dos dados, a qual cresceu das matrizes (79,82%) para a primeira época - mais chuvosa (83,54%) porém, decresceu na segunda época - menos chuvosa (80,71%). Essa desuniformidade não ocorreu em relação ao coeficiente de variação, que, como no rendimento de óleo, foi

gradativamente decrescendo das matrizes (4,5%) para a época mais chuvosa (3,89%) e, desta, para a época menos chuvosa (1,80%). Esses resultados mostram que tais clones apresentaram boa adaptação às condições edafoclimáticas de Belém-PA, de clima Afi, que é diferente do de Manaus-AM (Ami), na escala de Köppen, o qual é predominante na Amazônia e apresenta maior número de subclimas, e maior amplitude de precipitação (SECTAM, 2004). Tais clones, coletados em margens de estradas, em solos antropizados (Mota *et al.*, 2001a), igualmente, se adaptaram bem em solo silto-arenoso de Belém-PA.

Portanto, constata-se que os coeficientes de variação experimentais, tanto no rendimento de óleo quanto no teor de dilapiol, foram inferiores aos respectivos coeficientes de variação em condições naturais, sendo menor, quanto ao rendimento de óleo essencial, na época menos chuvosa, na qual houve maior média de produção, ao passo que no teor de dilapiol, houve maior produção na época mais chuvosa. Isso pode ser explicado admitindo-se que a planta concentra maior esforço na produção de óleo, na época menos chuvosa, para conservar e/ou evitar perda de água de suas partes vegetativas (ramos finos e folhas), vitais à respiração e fotossíntese, para o ambiente, o que pode ser corroborado com informações de Conceição (2000) que, ao revisar sobre plantas produtoras de metabólitos secundários, como os óleos voláteis, relata que, tais plantas, quando deslocadas de seus *habitats*, reduzem seus princípios ativos e que, a formação e acumulação de óleos essenciais são propensos a aumentar em condições de seca.

Também observou-se que os coeficientes de variação do rendimento de óleo e do teor de dilapiol decresceram, uniformemente, das matrizes até a segunda época de avaliação e, ao examinar-se a razão entre eles, em cada caso, constatou-se que duas dentre essas razões foram iguais a 0,24 (matrizes e segunda época) e a outra assumiu valor próximo às duas anteriores (0,28 na primeira época), constituindo um forte indício de que estes dois caracteres sejam positivamente correlacionados. Correlação entre

rendimento de óleo essencial e teor de constituinte majoritário (safrol) também foi constatada por Pimentel *et al.* (1998), em pimenta-longa.

De modo geral, os caracteres avaliados apresentaram diferentes respostas em condições naturais e experimentais. O número de ramos ortotrópicos apresentou elevada variabilidade no ambiente de ocorrência (Mota *et al.*, 2001b), porém, em condições experimentais, não apresentou variabilidade na primeira época de colheita, entretanto, na segunda época, voltou a dar sinais de variabilidade. Considerando a generalidade dos caracteres em apreço, depreende-se, dos resultados obtidos, que os clones avaliados são materiais genéticos com muita semelhança fenotípica, o que colabora para a uniformidade do material que, juntamente com a produtividade, é uma característica desejável para o cultivo e produção. Em aveia (*Avena sativa*), a uniformidade dos grãos primários, secundários e terciários garante à indústria um maior rendimento no processo de beneficiamento dos grãos (BOTHONA *et al.*, 1999).

Outras duas características que credenciam tais clones para cultivo em sistemas de produção são a facilidade para a propagação vegetativa (LEME *et al.*, 1998) e o elevado rendimento de óleo essencial, quando comparado a outras espécies aromáticas (MAIA *et al.*, 1998; MAIA *et al.*, 2000), além da sua rusticidade e adaptabilidade (MOTA *et al.*, 2001). Portanto, os clones avaliados são promissores por apresentar boas características que favorecem ao cultivo e à produção comercial, podendo ser recomendados para cultivo em sistemas de produção de pequena escala, pois outros aspectos precisam ser contemplados no processo de avaliação, tais como tolerância a pragas e doenças, e adaptabilidade a condições edafoclimáticas diversas, para que possam ser, então, recomendados para produção comercial em grande escala.

Gonçalves *et al.* (2006), ao avaliar 17 clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*), constatou que todos os clones apresentaram bom desempenho produtivo, permitindo a recomendação, em pequena escala e, em grande

escala comercial, após futura avaliação em diversos ambientes no Estado de São Paulo. Também Silva *et al.* (2006) selecionou clones de bananeira, apesar da elevada similaridade dos acessos, enquanto que Meletti *et al.* (2005), avaliando seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora edulis* Sins), também durante duas colheitas consecutivas, por meio de caracteres agrônômicos da espécie, entre os quais, massa e tamanho dos frutos, teor de sólidos solúveis e número de sementes por planta, verificaram que todas as seleções apresentaram características comerciais desejáveis, cada uma adequando-se para um determinado tipo de mercado.

### 3.4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados, pode-se concluir que:

- (1) Os clones apresentaram boa adaptabilidade às condições edafoclimáticas de Belém-PA, com desempenho produtivo superior às condições naturais de Manaus-AM, em relação aos caracteres rendimento de óleo essencial e teor de dilapiol;
- (2) A época de colheita influenciou sobre a produção de óleo essencial e teor de dilapiol, sendo a época menos chuvosa mais adequada para a produção de óleo essencial com menor teor de dilapiol e, a mais chuvosa, mais adequada para a produção de óleo essencial com maior teor de dilapiol; sendo que a produção de óleo essencial, de modo geral, foi superior na segunda época;
- (3) A produção de óleo essencial obtida nas primeira e segunda épocas iniciais de colheita mostrou que, pela produtividade alcançada, os clones podem ser recomendados para plantio em sistemas de produção em pequena escala comercial;
- (4) A ANAVA e contraste de médias, de modo geral, evidenciaram a uniformidade dos clones, com somente alguns caracteres mostrando variabilidade morfológica com o crescimento das plantas;

(5) O clone PA-004 foi o que apresentou um pequeno destaque em relação aos demais;

(6) A produtividade e uniformidade constatada nos clones torna-os recomendáveis, nas condições edafoclimáticas de Belém-PA, para cultivo em sistemas comerciais de produção em pequena escala.

#### AGRADECIMENTOS

O autor agradece ao PROBEM e ao CNPq pelos recursos dispensados na fase inicial dos trabalhos de coleta e instalação da coleção de germoplasma, como também a equipe de pesquisadores e estagiários do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), pela contribuição nas análises de óleo essencial e identificação botânica dos materiais coletados; em particular à CAPES, pela bolsa concedida ao autor.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J.M. Identificação de plantas invasoras de culturas da região de Manaus. *Acta Amazônica*, Manaus, v.10, n.1, p.47-95, 1980.

BASTOS, C.N. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.3, p.441-443, 1997.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.5, p.555-557, 2004.

BERGO, C.L.; MENDONÇA, H.A.; SILVA, M.R. Efeito da época e frequência de corte de pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) no rendimento de óleo essencial. *Acta Amazônica*, v.35, n.2, p.111-117, 2005.

BEVILAQUA, G.A.P.; LINHARES, A.G.; TOMM, G.O. A valiação e seleção de genótipos de aveia de cobertura de solo para o sul do Brasil. *Agrociência*, v.7, n.3, p.163-169, 2001.

BOTHONA, C.R.A.; MILACH, S.C.K.; THOMÉ, G.H.; CABRAL, C.B.; TISIAN, L.M.; MELLOS, G.O. Critérios para avaliação da morfologia do grão de aveia para o melhoramento da qualidade física. *Ciência Rural*, v.29, n.4, p.613-618, 1999.

BRASIL, E.C.; POLTRONIERI, L.; VIÉGAS, I.J.M. Influência da adubação potássica na incidência de *Corynespora cassiicola* em plantas de pimenta longa (*Piper hispidinervium*). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23. 1998. REUNIÃO BRASILEIRA DE MICORRIZAS, 7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5. *Anais...Caxambu-MG: SBCS/SBM/DCS-UFLA*.

BRASIL E.C.; VIÉGAS, I.J.M. *Efeito da adubação mineral na produção de matéria seca de pimenta longa (Piper hispidinervium)*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1998.4p. (Pesquisa em Andamento, 180).

CONCEIÇÃO, C.C.C. Ocorrência e caracterização botânica e fitoquímica de sacaca (*Croton cajucara* Benth.) no nordeste paraense. Belém-PA, 2000. 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Pós-graduação em Biologia Vegetal Tropical, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará-FCAP (UFRA).

COSTA, J.L. *Determinação de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA – ecstasy), 3,4-metilenodioxietilamfetamina (MDEA–eve) e 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA) em fluidos biológicos por cromatografia líquida de alta eficiência: aspecto forense*. São Paulo-BR, 2004. 121f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Pós-graduação em toxicologia e análises toxicológicas. Universidade de São Paulo-Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

CRUZ, C.D. *Programa Genes: Análise multivariada e simulação*. Viçosa-MG: Editora UFV, 2006. 175p.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervium* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO M.R.; LIMA, M.S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciência Agrotécnica*, v.31, n.1, p.113-120, 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S.; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Ceratomyza tingomarianus* L. Bechyné (Coleóptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, v.34, n.3, p.485-489, 2005.

FERRÃO, R.G.; CRUZ, C.D.; FERREIRA, A.; CECON, P.R.; FERRÃO, M.A.G.; FONSECA, A.F.A.; CARNEIRO, P.C.S.; SILVA, M.F. Parâmetros genéticos em café conilon. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, n.1, p.61-69, 2008.

FERREIRA, G.M.; MOTA, M.G.C.; VIEIRA, I.M.S.; BATISTA, M.S.F.; SILVA, S.P.G.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Propagação *in vitro* de *Piper aduncum* L. *Revista de Ciências Agrárias*, n.45, p.235-242, 2006.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, v.85, p.455-460, 2000.

FONTES JÚNIOR, E.A.; SOUSA, P.J.C.; SOUSA, R.C.; MAIA, J.G.S.; SANTOS, A.M.S. Atividade antiinflamatória e analgésica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES

DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 17. 2002. *Anais...* Salvador-BA: FESBE; MIX TECNOLOGIA DIGITAL. p.66.

FRANCIS, J.K. *Piper aduncum L.* San Juan: INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL FORESTRY-UNIVERSITY OF PUERTO RICO, 2003. 3p.

GAIA, J.M.D.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; COSTA, M.R.; MAIA, J.G.S. Similaridade genética em populações naturais de pimenta-de-macaco por análise RAPD. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.4, p.686-689, 2004.

GONÇALVES, P.S.; AGUIAR, A.T.E.; GOUVÊA, L.R.L. Expressão fenotípica de clones de seringueira na região noroeste do Estado de São Paulo. *Bragantia*, v.65, n.3, p.389-398, 2006.

LEME, R.; COUTO, L.B.; LEAL FILHO, N.; GRIBEL, R. *Propagação por estaquia de duas espécies de piperáceas, Piper aduncum L. e Piper arboreum AUBLET, estratégias para recuperação de áreas degradadas na Amazônia Central.* Manaus: INPA, 1998. 4p.

LOBATO, A.K.S; SANTOS, D.G.C.; CASTRO, D.S.; TORRES, G.I.O.P.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; SILVA, M.H.L. Avaliação dos efeitos da temperatura e da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de *Piper aduncum L.* *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, supl.2, p.297-299, 2007.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. *Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais.* Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2000. p.123-127.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* growing wild in the Amazon Region. *Flavour and Fragrance Journal*, v.13, p.269-272, 1998.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; McKEE, R.A. *Princípios de biotecnologia em plantas – uma introdução à engenharia genética em plantas*. Ribeirão Preto-SP: SBG, 1994. 344p.

MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; BERNACCI, L.C. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*passiflora edulis* Sims). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.27, n.2, p.268-272, 2005.

MONTEIRO, G.M.; LIRA, D.S.; MAIA, J.G.S.; BARROS, C.A.L.; SOUSA, P.J.C. Acute and sub-acute toxicity of the essential oil of *Piper aduncum* L. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, 3. 2001. *Anais... Águas de Lindóia-BR: FCFRP-AFARP. European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.13, suplement. p.S153.

MOTA, M.G.C.; COSTA, C.C.C.; MAIA, J.G.S., GAIA, J.M.D. Coleta de germoplasma e distribuição geográfica de *Piper aduncum* L. na Amazônia Brasileira. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DA AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3. 2001. *Anais... Londrina-BR: IAPAR*.

MOTA, M.G.C.; FERREIRA, G.M.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Efeito da concentração de ANA e BAP na micropropagação de *Piper aduncum* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2002. *Resumos... Uberlândia-MG: SOB. Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, julho, 2002. Suplemento 2. <sup>1</sup>CD-ROM.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A.A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum* L., *P. arboretum*, and *P. tuberculatum*. *Química Nova*, v.29, n.3, p.467-470, 2006.

OLIVEIRA, M.S.P.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. Divergência genética entre acessos de açaizeiro fundamentada em descritores morfoagronômicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, n.4, p.501-506, 2007.

PIMENTEL, F.A.; PEREIRA, J.B.M.; OLIVEIRA, M.N. *Zoneamento e caracterização de habitats naturais de pimenta-longa (Piper hispidinervium)* no Acre. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 1998. 17p. (Boletim de Pesquisa, 20).

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. *Experimentação em genética e melhoramento de plantas*. Lavras-MG: UFLA, 2000. 326p.

RAMOS, J.D.; HAFLE, O.M.; CHALFUN, N.N.J.; SOUZA, H.A.; CAVALLARI, L.L. seleção de clones de ameixeira para o sul do Estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.29, n.3, p.559-562, 2007.

REDIG, M.S.F.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; RODRIGUES, V.L.F.; GAIA, J.M.D. Germinação de sementes e estimativas de parâmetros genéticos em pimenta-de-macaco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. 2003. *Resumos...* Recife: SOB. <sup>1</sup>CD-ROM.

ROCHA NETO, O.G.; FIGUEREDO, F.J.C.; BAKER, D.; SANTOS, A.S. *Beneficiamento da pimenta-longa (Piper hispidinervium C.DC.)*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2001. 19p.(Documentos, 98).

SCHVARTSMAN, S. Aditivos alimentares. *Pediatria*, v.4, p.202-210, 1982.

SECRETARIA EXECUTIVA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E MEIO-AMBIENTE DO ESTADO DO PARÁ-SECTAM. *Macrozoneamento ecológico-econômico do Estado do Pará – Proposta para discussão*. Governo do Estado do Pará, 2004.132p.

SILVA, G.S.; PEREIRA, A.L.; BASTOS, C.N.; MENDONÇA, V.C.M. Efeito da incorporação de resíduos foliares de *Piper aduncum L.* ao solo sobre o

parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. *Nematologia Brasileira*, v.30, n.2, p.219-222, 2007.

SILVA, M.H.L. *Tecnologia de cultivo e produção racional de pimenta longa: Piper hispidinervium* C. DC. Itaguaí, 1993. 87f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SILVA, S.O.; ALVES, E.J.; ANDRADE NETO, T.M.; LICHTENBERG, L. A.; FERREIRA, F.R. Avaliação de clones de bananeira do subgrupo cavendish (*Musa acuminata*, AAA) em Cruz das Almas-BA. *Ciência Agrotécnica*, v.28, n.6, p.1247-1288, 2004.

SILVA, S.O.; PIRES, E.T.; PESTANA, R.K.N.; ALVES, J.S.; SILVEIRA, D.C. Avaliação de clones de banana Cavendish. *Ciência Agrotécnica*, v.30, n.5, p.832-837, 2006.

TORRES-SANTOS, E.C.; MOREIRA, D.L.; KAPLAN, M.C.; MEIRELLES, M.N.; ROSSI-BERGMAN, B. Seletive effect of 2', 6' – dihydroxy – 4' – methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* L. on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, v.43, n.5, p.1234-1241, 1999.

VEIGA JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Plantas medicinais. Cura segura? *Química Nova*, v.28, n.3, p.519-528, 2005.

WADT, L.H.O.; KAGEYAMA, P.Y. Estrutura genética e sistema de acasalamento de *Piper hispidinervium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.2, p.151-157, 2004.

## CAPÍTULO 4. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GERMOPLASMA DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.)

### RESUMO

Pimenta-de-macaco é uma espécie com potencial socioeconômico por apresentar propriedades benéficas a humanidade. Com o objetivo de quantificar a variabilidade fenotípica e genética e, igualmente, a diversidade dos genótipos, assim como estabelecer possíveis comparações entre os dois modelos de caracterização de germoplasma, foram estudados 18 a 41 genótipos por meio de marcadores moleculares e caracteres morfoagronômicos. Utilizou-se análise de agrupamento e componentes principais, com os cálculos executados pelos programas NTSYS-pc e GENES. Foram necessários sete componentes para explicar 80% da variação. O rendimento de óleo essencial e o número de folhas por ramo, com as menores variações, foram sugeridos para descarte. A dispersão gráfica formou um grupo relativamente homogêneo e contínuo. O dendrograma dividiu-se em quatro grupos de similaridade. Os três primeiros componentes explicaram 46,8% de variabilidade, enquanto que a similaridade variou de 29% a 85%. Cerca de 83,3% dos caracteres morfoagronômicos possuem variabilidade capaz de discriminar os genótipos enquanto que, 120 marcadores RAPD geraram 90,83% de polimorfismo. A dispersão gráfica identificou um par divergente: PA-020 (Marabá-PA) e PA-035 (Santa Izabel-PA). O dendrograma evidenciou os clones P14 e P17 (Marabá-PA) como os de menor, e os clones P2, P3, P4 e P5 (Manaus-AM) como os de maior similaridade. A caracterização morfológica apresentou certo grau de concordância com a caracterização molecular em relação às procedências Marabá-PA e Goianésia-PA. Ressalvadas diferenças nos métodos estatísticos, a caracterização molecular pareceu possuir maior poder discriminatório com um menor número de genótipos utilizados.

**Palavras-Chave:** Pimenta-de-macaco, caracteres morfoagronômicos, RAPD, genótipos, matrizes, clones.

### ABSTRACT

Spiked pepper is a species with socioeconomic potential to present beneficial properties to humanity. With aim to quantify the genetic and phenotypic variability and equally the diversity of genotypes, just as to establish possibles comparations between the two germplasm characterization models, were estudados 18 at 41 genotypes by means of RAPD markers and morphotoagronomic traits. Were utilized cluster and principal component analysis, with calculations performed by the NTSYS-pc and GENES softwares. Were necessaries seven components to explicate 80% on variation. The yielding of essential oil and number of leaves per branches, with the minores variations, were suggested for discarding. The graphic dispersion formed a relatively homogeneous and continuous clustering. The dendrogram was divided in four similarity clusters. The three first components explicated 46.8% on variation, while the similarity assorted from 29% at 85%. About 83.3% on the morphotoagronomic traits possess able variability to discriminate genotypes whereas 120 RAPD markers generated 90.83% on polymorphism. The graphic dispersion identified a divergent pair: PA-020 (Maraba-PA) and PA-035 (Santa Izabel-PA). The dendrogram evidenced the clones P14 and P17 (Maraba-PA) as that smallest, and the clones P2, P3, P4 and P5 (Manaus-PA) as that largest similarity. The morphologic characterization presented one sure grade of concordance with the molecular characterization in relation the Maraba-PA and Goianesia-PA origins. One safeguarded differences in the statistic methods, the molecular characterization seemed to possess major discriminatory power with um minor utilized genotypes number.

**Palavras-Chave:** Spiked pepper, morphoagronomic traits, RAPD, genotypes, parentals, clones.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

Pimenta-de-macaco é uma espécie aromática encontrada na Amazônia Brasileira que possui grande potencial para exploração econômica, em função da comprovada utilidade do seu óleo essencial, cujo rendimento no processo de extração pode variar de 1,2 a 3,4% (MAIA *et al.*, 1998; MAIA *et al.*, 2000). Esse óleo essencial apresenta propriedades biológicas aplicáveis na agricultura e saúde humana, as quais são atribuídas ao dilapiol, constituinte majoritário que representa 97% do óleo essencial, presente principalmente nas folhas e ramos finos. Os principais efeitos biológicos do óleo essencial de pimenta-de-macaco, já constatados, são atividade bactericida, moluscicida, acaricida, larvicida, inseticida, nematoidicida e agente sinérgico de inseticidas naturais, além de atuar como fungicida em tecidos humanos e de plantas (NAVICKIENE *et al.*, 2006; LOBATO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007). Há uma série de estudos que ratificam essas propriedades, as quais podem reduzir, sensivelmente, os danos econômicos causados por fungos, insetos e nematóides na agricultura, tanto no campo como no processamento pós-colheita e em produtos armazenados. Culturas como cacau, cupuaçu, pimenta-do-reino, banana, feijão, milho e tomate, já mostraram ser beneficiadas com a utilização do óleo essencial de pimenta-de-macaco no controle de pragas, e doenças (BASTOS, 1997; BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; FAZOLIN *et al.*, 2005; ESTRELA *et al.*, 2006; FAZOLIN *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

Pimenta-de-macaco é uma espécie autógama (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000) que possui conjunto diplóide de cromossomos igual a 24 ( $2n = 24$ ) (NUNES *et al.*, 2007). Estudos sobre a propagação sexuada de pimenta-de-macaco foram realizados por Redig *et al.* (2003b). Neste estudo foram obtidos a porcentagem de germinação, com média de 20,10% e a velocidade de emergência, com média de 3,14, como também, foram detectadas

variabilidade genética entre as progênies utilizadas. A micropropagação de segmentos nodais de *P. aduncum* utilizando doses específicas de ácido naftaleno acético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) como reguladores de crescimento gerou calos, que são estruturas importantes para cultura de células e geração de variação cromossômica (MANTELL *et al.*, 1994; MOTA *et al.*, 2002b; FERREIRA *et al.*, 2006). Estudos sobre a variabilidade fenotípica em populações naturais de pimenta-de-macaco, realizados por Mota *et al.* (2001; 2002a), mostraram variação que pode ser aproveitada em programas de melhoramento. Gaia *et al.* (2004) realizaram estudos sobre a diversidade genética em amostras populacionais naturais da Amazônia Brasileira. Em pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.), espécie que guarda muita semelhança à pimenta-de-macaco, realizaram-se estudos sobre estrutura genética de populações naturais e sistema reprodutivo (WADT; KAGEYAMA, 2004).

A caracterização de germoplasma constitui importante etapa no estudo de recursos genéticos, pois permite discriminar genótipos que possam ser usados em programas de melhoramento, possibilita a redução de custos no manejo e manutenção de coleções de germoplasma, pela identificação e eliminação de acessos duplicados, além de identificar acessos com características desejáveis e estimar o grau de variabilidade presente em coleções. Os caracteres preconizados para a caracterização de germoplasma são aqueles com pouca influência ambiental, de modo que se espera que apresentem alta herdabilidade. No entanto, os caracteres morfológicos são, freqüentemente, poligênicos e sofrem grande influência ambiental, além da seleção ficar dependente do desenvolvimento da planta, o que aumenta o tempo e o custo necessários para identificação ou caracterização de acessos e outros materiais (NASS, 2001; SOUZA; CONTEL, 2001; CLEMENT, 2008).

Para Vilela-Morales e Valois (2000), técnicas moleculares como *Random Amplified Polimorphic DNA* (RAPD) constituem importantes

instrumentos para caracterizar germoplasma com maior eficiência e rapidez, além de promoverem sensível aumento na eficiência e eficácia dos programas tradicionais de melhoramento genético, quando se considera, principalmente, a redução do tempo de obtenção de genótipos desejáveis. Os marcadores RAPD tem sido utilizados, dentre outros usos, na caracterização e discriminação fenotípica, na classificação de variedades em relação ao nível de similaridade genética, no gerenciamento e caracterização da variabilidade genética em populações de melhoramento, na discriminação e verificação de clones elites (SILVA, 1999; GRATTAPAGLIA, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2003). Embora se levantem dúvidas quanto à confiabilidade dos ensaios RAPD, tem-se mostrado que se pode obter resultados de alta qualidade, quando se tomam os devidos cuidados (GRATTAPAGLIA, 2001). Para tanto, a reprodutibilidade dos ensaios RAPD requer otimização e controle rigoroso das condições de reação que, em conjunto com a concentração de DNA e dos reagentes, são considerados pontos-chave (WILLIAMS *et al.*, 1993; GOTMISKY *et al.*, 1999). Para contornar a baixa repetibilidade experimental dos marcadores RAPD, deve-se padronizar os procedimentos, utilizar muitos *primers* e adotar critérios rígidos na interpretação dos resultados (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; GRATTAPAGLIA, 2001; TELLES *et al.*, 2001).

De acordo com Milach (1998), os marcadores RAPD são fáceis de manipular, além de possuírem custo menor, porém possuem baixo conteúdo informativo por loco, uma vez que exibem herança dominante, detectando apenas um alelo por loco, sendo os demais agrupados em uma única classe, caracterizada pela ausência de amplificação de bandas, não fazendo, portanto, distinção das regiões do genoma amplificadas simultaneamente: bandas de um mesmo loco com diferentes alelos, assim como daquelas provenientes de diferentes locos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; GRATTAPAGLIA, 2001; HOFFMANN; BARROSO, 2006). A caracterização molecular tem sido muito útil, pois a diversidade molecular é bem maior que a morfológica (MÜHLEN, 1999). No entanto, devido a discrepâncias observadas

entre padrões evolutivos e moleculares, sugere-se estudar a diversidade em bancos e coleções de germoplasma, por meio da caracterização de marcadores moleculares combinada a por descritores morfoagronômicos (DIAS, 1994).

Estudos sobre caracterização morfológica e molecular em 58 acessos de pimenta (*Capsicum chinense* JACQ.), verificaram que 39% dos acessos não se agruparam, observando-se, entre tais acessos, dissimilaridade média de 50%, enquanto que, pela caracterização molecular, a dissimilaridade média foi inferior à metade da observada pela caracterização morfológica (22,3%), permitindo concluir que a variabilidade entre os acessos foi pequena (LUZ, 2007). Em 22 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), verificaram elevada variabilidade genética, identificando acessos divergentes por meio de 60 locos polimórficos RAPD e genótipos com características superiores por meio de descritores morfológicos (GUIMARÃES *et al.*, 2007). Em 42 acessos de melancia (*Citrullus lanatus*), verificaram que os marcadores RAPD utilizados foram capazes de revelar expressivo polimorfismo, enquanto que oito descritores morfológicos, dos 17 utilizados, explicaram 79% da variação entre os acessos (SILVA *et al.*, 2006). Em germoplasma de gergelim (*Sesamum indicum* L.), estudo por componentes principais verificou a necessidade de quatro componentes principais para explicar 80% da variação, sendo que a dispersão dos acessos baseada nos três primeiros componentes mostrou alta variação, sendo possível identificar acessos divergentes (ARRIEL *et al.*, 2000).

Este trabalho tem por objetivo quantificar e discriminar a variabilidade fenotípica e genética de matrizes e clones primários de pimenta-de-macaco por meio do estudo de caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares, descrever a diversidade fenotípica e molecular dos genótipos para utilização em futuros programas de melhoramento, assim como estabelecer possíveis comparações entre os dois modelos de caracterização de germoplasma.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados e identificados materiais vegetativos (estacas, folhas e ramos finos) de 41 matrizes de pimenta-de-macaco em sete municípios de quatro mesorregiões da Amazônia Brasileira, nos Estados do Pará e Amazonas (Tabela 1 e Figura 1) e enviados para o Campus da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém-PA. As estacas, após tratamento fitossanitário, enraizamento e aclimação em viveiro, foram transferidas para o local definitivo, constituindo uma coleção de clones.

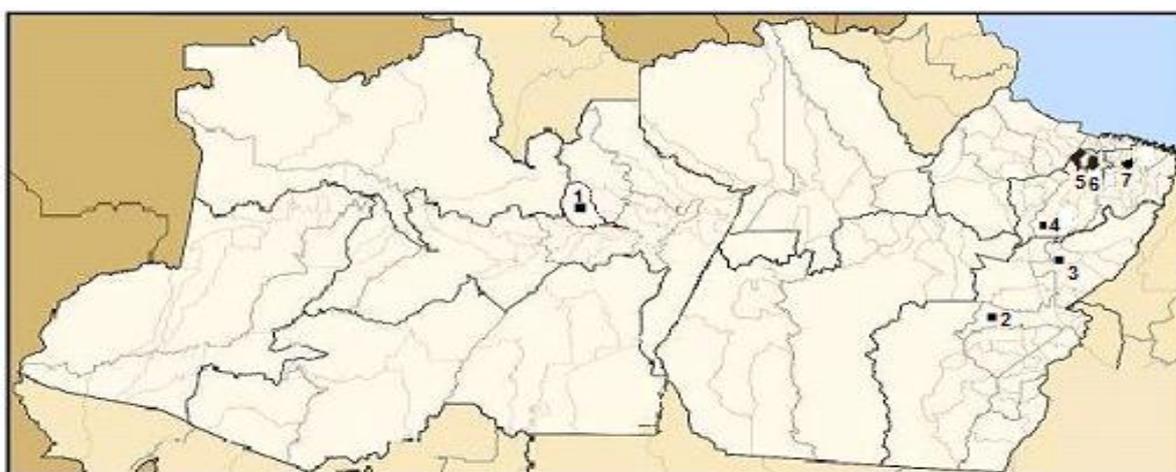


Figura 1: Municípios dos Estados do Pará e Amazonas em que foram realizadas coletas de germoplasma de pimenta-de-macaco: (1) Manaus, (2) Marabá, (3) Goianésia do Pará, (4) Moju, (5) Belém, (6) Santa Izabel e Distrito de Americano, (7) Bonito. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

Durante as coletas, foram tomadas medidas de nove caracteres morfológicos, sendo tomadas cinco medidas por caráter, que foram os seguintes: (1) número de folhas por ramo (NFR); (2) comprimento da folha (cm, CF); (3) largura da folha (cm, LF); (4) diâmetro do ramo mais velho (cm, DRV); (5) altura da planta (m, AP); (6) número de ramos ortotrópicos (NRO); (7) número de ramos plagiotrópicos (NRP); (8) comprimento do entrenó (cm, CEN); (9) número de espigas por ramo (NER) e de três caracteres agrônômicos: (1) rendimento de óleo essencial (%; RO); (2) teor de dilapiol (%; TD) e; (3) produção de dilapiol (g, PD), sendo que as medidas dos caracteres agrônômicos foram tomadas após análise das folhas e ramos finos, no Laboratório de Fitoquímica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

Tabela 1: Germoplasma de pimenta-de-macaco coletado em sete municípios de quatro mesorregiões da Amazônia Brasileira. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

ORDEM	MATRIZES	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO
1	PA-001	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
2	PA-002	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
3	PA-003/01	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
4	PA-003/02	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
5	PA-004	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
6	PA-005	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
7	PA-006	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
8	PA-007	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
9	PA-008	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
10	PA-009/01	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
11	PA-009/02	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
12	PA-010	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
13	PA-011	Manaus-AM	Médio Amazonas Amazonense
14	PA-012	Marabá-PA	Sul do Pará
15	PA-013	Marabá-PA	Sul do Pará
16	PA-014	Marabá-PA	Sul do Pará
17	PA-015	Marabá-PA	Sul do Pará
18	PA-016	Marabá-PA	Sul do Pará
19	PA-018	Marabá-PA	Sul do Pará
20	PA-019	Marabá-PA	Sul do Pará
21	PA-020	Marabá-PA	Sul do Pará
22	PA-021	Marabá-PA	Sul do Pará
23	PA-022	Goianésia-PA	Sul do Pará
24	PA-023	Goianésia-PA	Sul do Pará
25	PA-024	Goianésia-PA	Sul do Pará
26	PA-025	Goianésia-PA	Sul do Pará
27	PA-026	Moju-PA	Baixo Tocantins
28	PA-027	Moju-PA	Baixo Tocantins
29	PA-028	Moju-PA	Baixo Tocantins
30	PA-029	Moju-PA	Baixo Tocantins
31	PA-030	Belém-PA	Nordeste Paraense
32	PA-031	Belém-PA	Nordeste Paraense
33	PA-032	Belém-PA	Nordeste Paraense
34	PA-033	Belém-PA	Nordeste Paraense
35	PA-034	Belém-PA	Nordeste Paraense
36	PA-035	Santa Izabel-PA	Nordeste Paraense
37	PA-036	Santa Izabel-PA	Nordeste Paraense
38	PA-037	Americano-PA	Nordeste Paraense
39	PA-038	Bonito-PA	Nordeste Paraense
40	PA-039	Bonito-PA	Nordeste paraense
41	PA-040	Santarém Novo-PA	Nordeste paraense

As estacas, após tratamento fitossanitário, foram enraizadas em casa de vegetação, transferidas para viveiro para aclimatação e plantadas no local definitivo, em delineamento experimental, blocos ao acaso incompletos, com bordaduras laterais, no espaçamento de 0,6mx0,6m, profundidade de cova de 20cmx20cmx20cm, e adubação orgânica e mineral baseada no recomendado para pimenta-longa (SILVA, 1993, BRASIL *et al.*, 1998; BRASIL; VIÉGAS,

1998), no Campus da UFRA, em Belém-PA, clima Afi, temperatura média de 32°C, regime de chuvas médio de 2800mm anuais, umidade relativa do ar na média de 85% e solo silto-arenoso.

Foram obtidas as médias de cada caráter, as quais foram padronizadas e analisadas por componentes principais, seguida de dispersão gráfica tridimensional. Para eliminar o efeito de diferentes escalas métricas no cálculo dos componentes principais, as médias foram padronizadas pela seguinte fórmula:  $x_i = X_i/S_x$ , onde  $x_i$  representa as médias padronizadas,  $X_i$  representa as médias dos caracteres e  $S_x$ , os respectivos desvios padrão. A identificação de caracteres redundantes foi feita pela utilização do critério proposto por Jolliffe (1972, 1973), o qual preconiza iniciar pelos componentes que apresentam os menores autovalores até o limite de 0,70 associados aos maiores autovetores, nos respectivos componentes; subsidiado pela correlação de Pearson. Utilizou-se, também, a análise pela dispersão gráfica tridimensional, recomendada para complementar estudos baseados em componentes principais nos casos em que os dois primeiros componentes não concentram, pelo menos, 80% da variabilidade (CRUZ; REGAZZI, 2001). Os cálculos foram executados no programa computacional GENES (CRUZ, 2006).

Dezoito clones instalados no campus universitário, foram escolhidos para análise por meio de marcadores moleculares (RAPD), por apresentarem materiais (folhas) em boas condições fitossanitárias (Tabela 2).

O DNA genômico foi obtido de folhas recém-coletadas que, após desinfecção, foram maceradas com nitrogênio líquido e, cerca de 200mg do macerado transferiu-se para tubos de Eppendorf, adicionando-se, em seguida, 700ml de solução extratora. Os tubos foram agitados e colocados em banho-maria a 60°C, durante 60 minutos. Decorrido esse tempo, adicionou-se 700ml de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), o emulsionado formado centrifugou-se por 10 minutos a 4°C e 12.000rpm, separando-se, cuidadosamente, o sobrenadante contendo o DNA, o qual foi suspenso em

álcool 95%. O material foi colocado em freezer (-20°C) por 20 minutos, sendo, em seguida, centrifugado por mais 10 minutos a 4°C e 12.000rpm, lavado com 1000ml de etanol 70%, para remover sais e, posteriormente, seco em temperatura ambiente, por aproximadamente 12 horas.

Tabela 2: Acessos de pimenta-de-macaco analisados em RAPD, com suas respectivas procedências. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

IDENTIFICAÇÃO	CÓDIGO DE COLETA	ORIGEM
P1	PA-016	Marabá-PA
P2	PA-001	Manaus-AM
P3	PA-009/01	Manaus-AM
P4	PA-006	Manaus-AM
P5	PA-010	Manaus-AM
P6	PA-020	Marabá-PA
P7	PA-022	Goianésia do Pará-PA
P8	PA-023	Goianésia do Pará-PA
P9	PA-024	Goianésia do Pará-PA
P10	PA-026	Moju-PA
P11	PA-027	Moju-PA
P12	PA-034	Belém-PA
P13	PA-028	Moju-PA
P14	PA-018	Marabá-PA
P15	PA-025	Goianésia do Pará-PA
P16	PA-013	Marabá-PA
P17	PA-014	Marabá-PA
P18	PA-011	Manaus-AM

O DNA foi ressuspenso com 300ml de RNase/TE (10  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ ), sendo a concentração de DNA estimada em gel de agarose 1,0%, pela comparação do DNA total com três concentrações de DNA íntegro do bacteriófago Lambda. As amostras utilizadas no RAPD, após a quantificação total, partiram de diluições da amostra total em água estéril, de modo a conter 5ng/ml de DNA. As alíquotas foram armazenadas a -20°C.

Efetou-se a seleção dos *primers* com base em testes iniciais com 100 primers (kits da Operon Technologies) utilizando três clones e selecionados aqueles mais polimórficos: OPO12, OPO15, OPO20, OPT01, OPT02, OPT06, OPT20, OPAW04, OPAW08, OPAW09, OPAW11 e OPAW18.

As reações foram desenvolvidas de acordo com o protocolo de Willians *et al.* (1990), com pequenas modificações, num volume final de 13ml, contendo água destilada autoclavada, 20mM Tris-HCl (pH 8,0), 50mM KCl, 2,0mM MgCl<sub>2</sub>, 200mM de dNTP, BSA purificada (2,5mg/ml), 1,3mM *primer* arbitrário, 1 U.I. Taq DNA polimerase e 15ng de DNA genômico, cobertas com duas gotas de óleo mineral.

As amplificações efetuaram-se em termociclador de DNA Thermolyne Amplitron II modelo DB.80225, durante 40 ciclos de 1' a 94°C, 1' a 37°C e 2' a 72°C, seguidos de mais 7 minutos a 72°C, para a completa extensão dos produtos amplificados. O método utilizado para separação dos produtos amplificados foi eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio 1mg/ml. Utilizou-se 13ml de cada reação, acrescidos de 2ml de uma solução de azul de bromofenol (40%), mais sacarose. Foi utilizado TBE (Trizma-base 0,1M; ácido bórico 1M e EDTA 0,5M), como tampão do gel e de corrida. Aplicou-se um ladder de 1Kb no início e no final do gel para definir o tamanho aproximado dos fragmentos gerados nas PCRs. Após a eletroforese, os géis foram visualizados e fotografados em equipamento de fotodocumentação por transiluminação em ultravioleta.

Foi construída uma matriz para os fragmentos polimórficos amplificados, codificada em sistema binário, atribuindo-se (1) para presença e (0) para ausência de banda. Somente foram consideradas as bandas que não davam margens a dúvidas. Bandas muito fracas, de difícil resolução, não foram incluídas. Para análise dos dados, utilizou-se o programa computacional NTSYS-pc, versão 2.02 (ROHLF, 2000). A similaridade entre as amostras foi estimada pelo coeficiente de Jaccard, recomendado para estudos populacionais interespecíficos (DIAS, 1998), baseado no qual, gerou-se a matriz de similaridade. A partir dessa matriz, foi gerado o cluster, pelo método UPGMA, que foi expresso na forma de um dendrograma. Ao qual foi dividido em grupos estabelecidos de forma subjetiva, baseado nas mudanças

acentuadas de níveis, associadas ao conhecimento prévio do material examinado (CRUZ; REGAZZI, 2001).

#### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 constam as estimativas dos autovalores (variâncias) associados aos componentes principais e, na Tabela 4, constam os respectivos autovetores (coeficientes de ponderação) de 12 caracteres morfoagronômicos de matrizes de pimenta-de-macaco. Observou-se que a variância apresentou-se diluída no vetores componentes, sendo necessários sete vetores componentes para explicar 80% da variância total, quando o esperado para que haja divergência entre grupos de genótipos é que os dois primeiros vetores componentes expliquem, pelo menos, 80% da variância total (CRUZ; REGAZZI, 2001). No presente estudo, os dois primeiros componentes principais conseguiram explicar apenas 33,8 da variação total. Semelhante resultado também foi observado em açaizeiro (*Euterpe oleracea*), cujos primeiros componentes explicaram 35,8% da variação total, atingindo o nível de 81,6% somente no nono componente principal (OLIVEIRA, *et al.*, 2006).

Ao se aplicar o critério de descarte de variáveis proposto por Jolliffe (1972, 1973), detectou-se como recomendáveis para descarte o rendimento de óleo essencial (RO), no último vetor componente (CP12), que apresentou variância de 0,055331 e coeficiente de ponderação, em valor absoluto, de 0,5363. O segundo caráter a ser recomendado para descarte é o número de folhas por ramo (NFR), que apresentou variância de 0,305666, no componente CP11 e coeficiente de ponderação associado de 0,5967. Outros dois caracteres recomendados para descarte são o número de ramos plagiotrópicos (NRP), no componente CP10, com variância de 0,48812 e coeficiente de ponderação associado de 0,4567 e; a largura da folha (LF),

Tabela 3: Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais de 12 caracteres morfoagronômicos em 41 matrizes de pimenta-de-macaco. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

CP	AUTOVALORES	VARIÂNCIA RELATIVA (%)	VARIÂNCIA ACUMULADA (%)
CP1	2,21009	18,41741	18,41741
CP2	1,846182	15,38485	33,80226
CP3	1,555434	12,96195	46,76422
CP4	1,251073	10,42561	57,18982
CP5	1,160196	9,668299	66,85812
CP6	0,984761	8,206344	75,06446
CP7	0,804046	6,700387	81,76485
CP8	0,738238	6,151979	87,91683
CP9	0,600863	5,007191	92,92402
CP10	0,48812	4,067668	96,99169
CP11	0,305666	2,547219	99,53891
CP12	0,055331	0,461093	100

CP: Componente principal

Tabela 4: Conjunto de autovetores associados aos componentes principais em 12 caracteres morfoagronômicos de 41 matrizes de pimenta-de-macaco. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

CP	NFR	CF	LF	DRV	AP	NRO	NRP	NER	CEN	RO	TD	PD
CP1	-0,3556	0,2967	-0,3701	0,1435	-0,1449	-0,0397	0,2268	-0,3505	0,4171	-0,4539	0,2051	-0,0953
CP2	0,2965	-0,1636	0,0096	-0,2683	0,0694	-0,2744	0,2727	-0,26	0,3486	-0,0669	-0,3913	0,5586
CP3	0,371	-0,0397	0,0442	0,2721	-0,4367	0,4874	-0,4006	-0,0238	0,1978	-0,1901	0,1083	0,3292
CP4	0,1197	0,5892	-0,1876	-0,374	-0,0454	-0,2714	-0,5027	0,1781	0,2508	0,1992	-0,0223	-0,015
CP5	-0,0215	-0,0565	0,4849	-0,4753	0,3444	0,1464	-0,0967	0,053	0,1684	-0,437	0,4043	-0,015
CP6	0,2725	0,1396	-0,3261	0,3708	0,5986	-0,0636	-0,0461	0,3321	-0,1331	-0,3727	-0,0213	0,1749
CP7	0,3307	-0,1956	-0,1843	-0,0118	-0,1353	-0,4576	0,019	-0,1832	-0,2126	0,0951	0,702	0,098
CP8	-0,1631	-0,3921	-0,3188	-0,214	-0,2787	-0,0285	0,146	0,711	0,2289	-0,091	0,0648	0,0463
CP9	0,2312	-0,2966	-0,4833	-0,2351	0,3277	0,4198	-0,0692	-0,2583	0,2183	0,2488	0,0264	-0,3231
CP10	0,0881	0,4271	-0,1729	-0,3496	-0,101	0,4294	0,4567	0,0603	-0,392	0,0542	0,1249	0,2805
CP11	-0,5967	-0,1708	-0,2054	-0,0694	0,184	0,0687	-0,388	-0,1586	-0,1827	0,1184	0,0799	0,5475
CP12	0,0758	-0,1491	-0,2075	-0,3192	-0,239	-0,1039	-0,2528	-0,1722	-0,4734	-0,5363	-0,3302	-0,2118

CP: Componente principal; NFR: número de folhas por ramo; CF: comprimento da folha; LF: largura da folha; DRV: diâmetro do ramo mais velho; AP: altura da planta; NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; NER: número de espigas por ramo; CEN: comprimento do entrenó; RO: rendimento de óleo; TD: teor de dilapiol, PD: produção de dilapiol.

que apresentou variância de 0,600863, no componente CP9 e coeficiente de ponderação associado de 0,4833. Os demais componentes apresentaram valores superiores a 0,70. Portanto, pelo critério de Jolliffe (1972, 1973), os caracteres rendimento de óleo essencial, número de folhas por ramo, número de ramos plagiotrópicos e largura da folha são os que menos contribuem para discriminar as matrizes e os demais, que correspondem a 83,33% dos

caracteres estudados são importantes para a caracterização de pimenta-de-macaco.

Melo Filho *et al.* (2000), ao realizar estudos sobre germoplasma de cará (*Dioscorea* sp), por meio de componentes principais, verificaram que os dois primeiros vetores componentes explicaram 89% da variação total, com a utilização de 14 descritores, sendo a largura da folha, ao contrário do que se observou em pimenta-de-macaco, um dos caracteres que mais contribuiu para a discriminação dos acessos. Por outro lado, Bento *et al.* (2007), ao estudar a variabilidade fenotípica em 29 acessos de pimenta (*Capsicum* spp) por meio de 37 descritores morfoagronômicos, verificaram que o comprimento da folha foi um dos que mais contribuiu para a divergência dos acessos.

Na Tabela 5 constam as estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson dos 12 caracteres morfoagronômicos examinados. Constatou-se correlação significativa em cinco pares de caracteres, dos quais quatro envolveram caracteres recomendados para descarte, pelo critério de Jolliffe (1972, 1973). O número de folhas por ramo (NFR) mostrou alta correlação (0,5026) com a produção de dilapiol, com probabilidade de erro de 1%, pelo teste t, sendo a única correlação acima de 0,50, considerando valores absolutos. A correlação entre rendimento de óleo e comprimento do entrenó também ficou próxima deste valor, estimada em 0,4959, com probabilidade de erro, igualmente, de 1%, pelo teste t. O rendimento de óleo também correlacionou-se com o teor de dilapiol (0,323), com probabilidade de erro de 5%, e este, por sua vez, correlacionou-se com a produção de dilapiol, no mesmo nível de probabilidade.

Reunindo os resultados gerados pela aplicação do critério de Jolliffe (1972, 1973) com as informações obtidas pela análise de correlação, pode-se propor, para descarte, com redução dos riscos de perda de informação, os caracteres rendimento de óleo essencial e o número de folhas por ramo, pois, de acordo com Cruz e Regazzi (2001), caracteres correlacionados implicam em variáveis redundantes, portanto, sendo dispensáveis no processo de

caracterização de germoplasma. O descarte do rendimento de óleo essencial, que é um caráter importante para avaliação e seleção de germoplasma em pimenta-de-macaco, não deve causar perdas de informações, pois as variáveis propostas para descarte, apresentaram elevados valores de correlações com outros caracteres (como o comprimento do entrenó), com baixo nível de probabilidade de erro. Enquanto que, os caracteres número de ramos ortotrópicos e largura da folha, apesar de recomendáveis para descarte, não apresentaram nem altos valores de correlação, nem correlação significativa com nenhum dos caracteres estudados, portanto, o descarte destes caracteres pode causar perdas de informações.

Tabela 5: Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica entre 12 caracteres morfoagronômicos de matrizes de pimenta-de-macaco. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

CARÁTER	NFR	CF	LF	DRV	AP	NRO	NRP	NER	CEN	RO	TD	PD
NFR	1											
CF	-0.2156	1										
LF	0.1453	-0.2794	1									
DRV	-0.061	0.0039	-0.2443	1								
AP	0.0493	-0.0479	0.0921	-0.1987	1							
NRO	0.0465	-0.0995	0.1409	0.2293	-0.1948	1						
NRP	-0.2782	-0.1948	-0.1582	-0.0398	0.1105	-0.2431	1					
NER	0.0944	-0.085	0.1035	-0.0617	0.1151	0.0697	-0.3055	1				
CEN	-0.0645	0.1715	-0.2785	-0.2013	-0.2143	-0.0662	0.044	-0.3556*	1			
RO	0.2004	-0.1649	0.1132	-0.2035	-0.0713	-0.1423	-0.2152	0.1869	-0.4959**	1		
TD	-0.1602	0.0909	-0.0664	0.0467	-0.1209	0.1166	-0.1524	-0.0327	-0.0799	-0.323*	1	
PD	0.5026**	-0.1773	0.0622	-0.1068	-0.0876	-0.0804	0.052	-0.1098	0.2123	-0.1414	-0.3149*	1

\*\*,: Significativo em 1% e 5% de probabilidade, pelo teste t.

Oliveira *et al.* (2006), ao selecionar descritores para caracterização de 87 acessos de açaizeiro pelo critério de Jolliffe, reanálise e correlação, verificaram que o descarte de seis dos 28 descritores analisados eram redundantes por estarem significativa e altamente correlacionados com os demais caracteres, mantidos para caracterização, enquanto que Arriel *et al.* (2000), utilizando um menor número de acessos (58) e de descritores (6) em

gergelim (*Sesamum indicum* L.), verificaram dois caracteres redundantes, pelo critério de Jolliffe e correlação.

A Figura 2 representa a dispersão gráfica das 41 matrizes de pimenta-de-macaco com base nos três primeiros componentes principais, de acordo com os escores relativos a cada matriz. De modo geral, não se observou tendência de formação de agrupamentos, no entanto, alguns pontos representantes das matrizes, destacaram-se por estarem relativamente separados do conjunto das matrizes, como é o caso dos pontos 30 (PA-029), matriz procedente de Moju, no Baixo Tocantins e 36 (PA-035), procedente de Santa Izabel-PA, no Nordeste Paraense, além do ponto 21 (PA-020), procedente de Marabá, no Sul do Pará, que se destacou pelo menor nível de similaridade. As matrizes PA-020 e PA-035 foram as mais divergentes. As demais matrizes tenderam a formar um único agrupamento continuamente distribuído no espaço, com alta similaridade morfológica, porém, apresentaram um setor (à direita do plano basal, C1xC3) com maior compactação de matrizes, podendo ser considerado como um subgrupo.

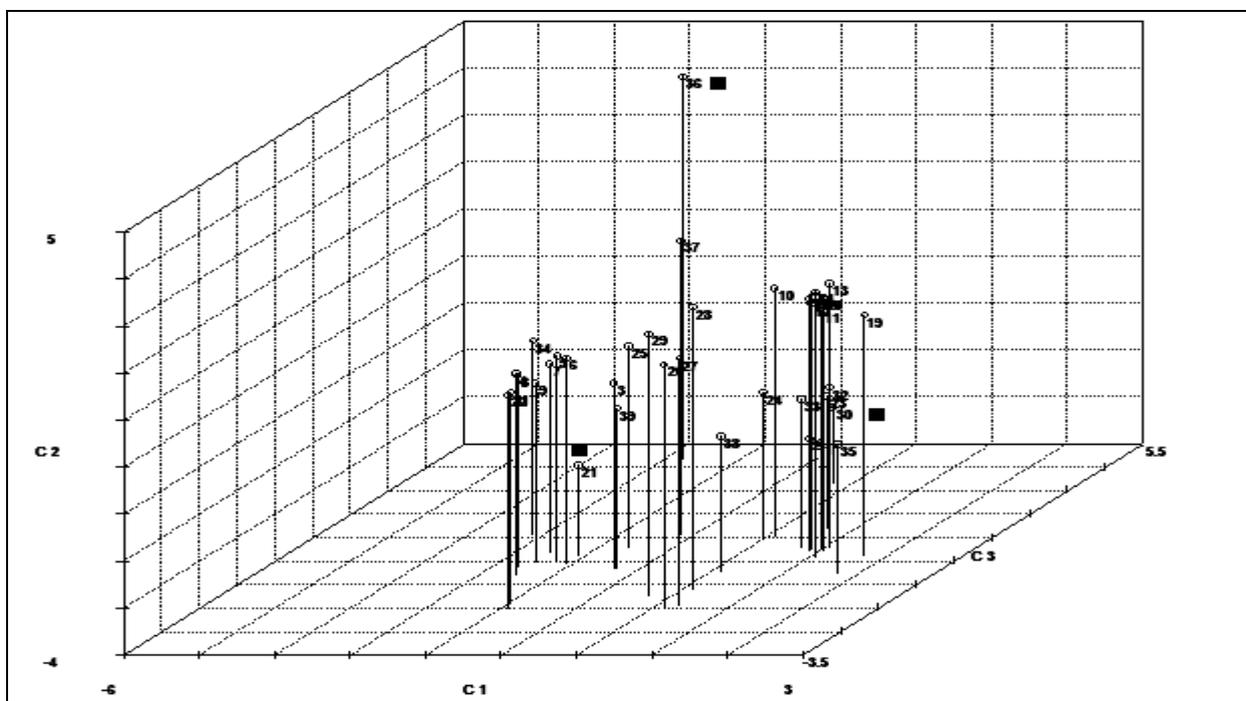


Figura 2: Dispersão tridimensional de 41 matrizes de pimenta-de-macaco gerada por componentes principais, com base em caracteres morfoagronômicos. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

Percebeu-se, também, que, em relação ao plano lateral, C2xC3 e ao plano de fundo, C1xC2, somente a matriz 36 (PA-035, de Santa Izabel-PA) ficou acima da média; a matriz 37 (PA-036, igualmente, de Santa Izabel-PA) ficou abaixo, porém bem próximo da média. No extremo oposto apareceram as matrizes 21 (PA-020, de Marabá-PA), 24 (PA-023, de Goianésia-PA), 33 (PA-032, de Belém-PA) e 35 (PA-034, de Belém-PA) e outras não claramente perceptíveis, presentes no subgrupo de compactação, à direita do plano C1xC3. Portanto, em relação à média, apresentaram divergência, devido algumas matrizes, a procedência Santa Izabel-PA (matriz mais acima da média) com as procedências do Sul do Pará (Marabá e Goianésia) e a procedência Belém-PA.

Bento *et al.* (2007), ao estudar a variabilidade fenotípica de acessos de pimentas por meio de descritores morfológicos, verificaram que os três primeiros componentes explicaram, precisamente, 80% da variação total, adequando-se, deste modo, a uma dispersão tridimensional, a qual evidenciou, nitidamente, a formação de dois grupos, além de acessos divergentes, enquanto que Arriel *et al.* (2000), recorreu a dispersão gráfica tridimensional para complementar a análise dos componentes principais, cuja variância apresentou-se diluída nos quatro primeiros componentes, não se observando tendência de formação grupos de genótipos, porém, identificaram-se acessos divergentes.

Para caracterização molecular amplificou-se 120 marcadores RAPD, com tamanhos variando de 300pb a 2200pb, dos quais 109 foram polimórficos, gerando 90,83% de polimorfismo. O número de bandas amplificadas variou de 3 (OPAW18) a 16 (OPT02, OPT20) de onde foram observados fragmentos polimórficos variando de 24 (OPAW18) a 160 (OPT02).

A Figura 3 representa o dendrograma gerado pela análise de agrupamento baseado em marcadores RAPD em 18 clones de pimenta-de-macaco. A similaridade variou de 29% a 85% e se observou a formação de quatro grupos, sendo que os grupos G1 e G2, constituídos por clones

oriundos de Marabá-PA, foram os de menor similaridade e, o grupo G4a, constituído por clones de Manaus-AM foram, com exceção do clone P18, os de maior similaridade, sendo, portanto, os grupos mais divergentes. O grupo G3 constituiu-se de três clones procedentes de Goianésia do Pará. O grupo G4b constituiu-se de uma mistura de clones procedentes de municípios do Estado do Pará, nomeadamente, Marabá (P1, P6 e P16), Goianésia do Pará (P7), Moju (P10, P11 e P13) e Belém (P12), havendo, portanto, uma tendência de clones de mesma procedência (município ou mesorregião) formarem grupos de similaridade. Isso se observou para os clones oriundos de Manaus-AM, além de Marabá e Goianésia (ambas as procedências do Sul do Pará). Os clones de Moju (Baixo Tocantins) e Belém (Nordeste Paraense), reunidos no mesmo subgrupo, não seguiram essa tendência.

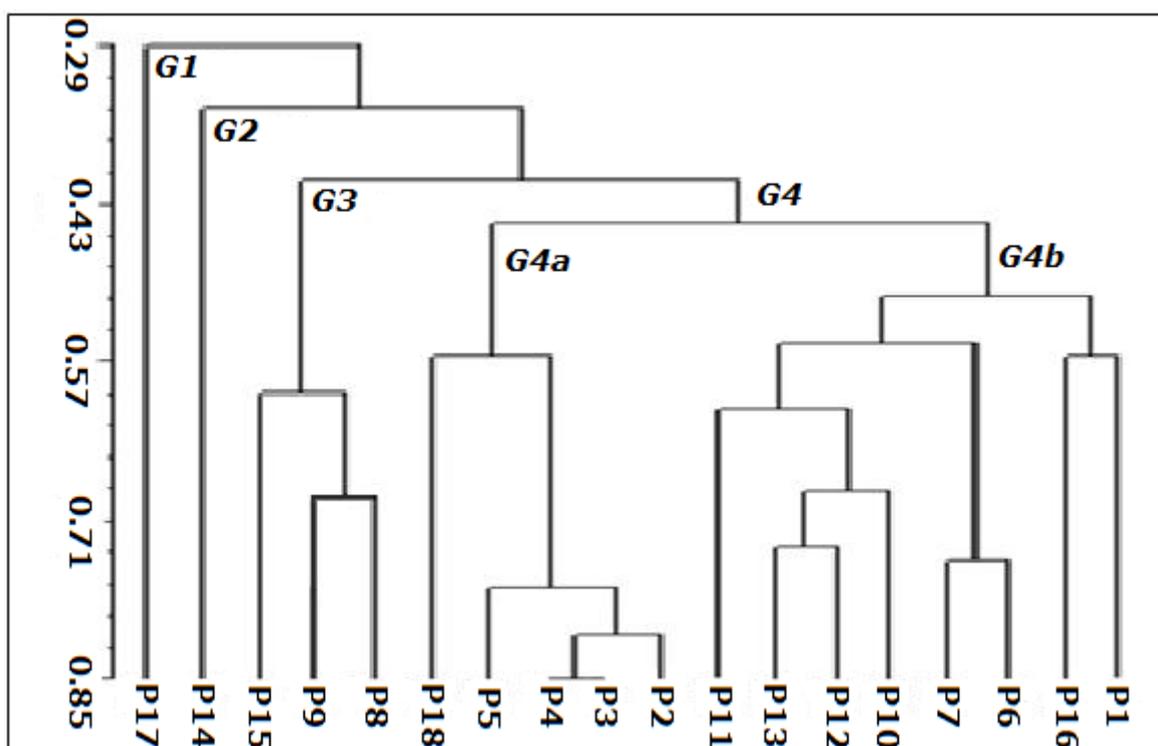


Figura 3: Dendrograma formado com os 18 clones de pimenta-de-macaco, com base em similaridade de marcadores RAPD estimada pelo coeficiente de Jaccard. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

Deste modo, os clones menos similares foram P17 e P14 e os mais similares foram P3 e P4, sendo que os clones do Estado do Pará

apresentaram divergência em relação aos clones oriundos de Manaus-AM, os quais podem ser explorados em programas de hibridação para produção de genótipos superiores.

Redig *et al.* (2002a, 2002b), ao investigar clones (de mesma procedência) de pimenta-de-macaco, não detectaram variabilidade genética, porém em progênies (de diferentes procedências), detectaram variabilidade entre elas. Esses resultados indicaram a presença de variabilidade genética entre diferentes localidades, variando provavelmente com sua distribuição geográfica, concordando, portanto, com o presente estudo baseado em marcadores moleculares, em função da tendência apresentada pelos clones de mesma procedência (município ou mesorregião) constituírem o mesmo grupo ou grupos adjacentes. Enquanto que, em pimenta-longa, a diversidade genética investigada em 13 populações obteve a formação de dois grupos, sendo que a maior parte da variabilidade genética foi encontrada dentro de populações, porém apresentando, no todo, alta diferenciação interpopulacional (Wadt e Kageyama, 2004).

A separação dos clones de Manaus-AM em relação aos clones dos procedentes do Estado do Pará concorda relativamente com certas diferenças botânicas, como a cor dos ramos ortotrópicos, podendo até mesmo constituir variedades diferentes. Gottlieb *et al.* (1981), ao investigar óleos essenciais em plantas amazônicas, distinguiram duas variedades de pimenta-de-macaco, a variedade *cordulatum*, encontrada no Estado do Amazonas e a variedade *aduncum*, encontrada no Estado do Pará.

Ao comparar-se o dendrograma (Figura 2) com a dispersão gráfica dos genótipos por meio de componentes principais (Figura 1), ressalvadas as diferenças entre os métodos de análise estatística, verificou-se que os marcadores RAPD pareceram possuir maior poder discriminatório dos clones do que os caracteres morfoagronômicos em relação às suas matrizes, pois, enquanto a análise de 41 genótipos oriundos de sete procedências, por meio da dispersão gráfica, gerou um agrupamento contínuo e relativamente

homogêneo; na análise do dendrograma, houve a formação de pelo menos quatro grupos, com a utilização de somente 18 clones e cinco procedências, junte-se a isso o fato de que os marcadores moleculares de DNA não sofrem influência ambiental, contabilizando apenas efeitos genéticos.

Em melancia (*Citrulus lanatus*), a caracterização morfológica e molecular de 43 acessos coletados de progênies de polinização livre oriundos da Chapada Diamantina, Bahia-BA, por meio de oito descritores morfoagronômicos e 64 marcadores, RAPD verificou que os oito caracteres utilizados explicaram 79% da variabilidade entre acessos, com nove grupos de similaridade e, o agrupamento com base nos marcadores moleculares resultou em 28 grupos (SILVA *et al.*, 2006). Em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), a caracterização morfológica e molecular de 22 acessos oriundos do Estado do Ceará, Paraíba e Pernambuco, com a utilização de 23 caracteres morfológicos e 60 locos polimórficos de marcadores RAPD, constatou a formação de dois grupos e quatro subgrupos com elevada variabilidade e identificação de acessos divergentes por meio dos marcadores moleculares ou por apresentarem valores superiores e inferiores em alguns caracteres (GUIMARÃES, 2007). Em pimenta (*Capsicum chinense* JACQ.), a caracterização morfológica e molecular (fAFLP) observou que 39% dos acessos mostraram uma dissimilaridade de até 70%, enquanto que a caracterização molecular revelou dissimilaridade média de 22,3%, constatando-se pequena variabilidade genética entre os acessos, a qual não foi suficiente para comprovar diferenças morfológicas (LUZ, 2007).

Por outro lado, a dissimilaridade de alguns genótipos, como os de Marabá e Goianésia, no Sul do Pará, observada no dendrograma, também foi observada na dispersão gráfica, apesar da homogeneidade do agrupamento formado. Portanto, pode-se dizer que os dois modelos de caracterização evidenciaram certo grau de concordância entre os padrões morfológicos e moleculares.

Oliveira (2005), ao revisar sobre concordância entre diversidade genética e fenotípica, relata que os marcadores moleculares mais utilizados na caracterização de germoplasma, como RAPD, normalmente encontram-se distribuídos de forma randômica no genoma, por isso apenas uma minoria pode estar associada a genes, sendo esperado que não guardem concordância com caracteres fenotípicos. No entanto, Sousa (2003), ao quantificar variabilidade e estimar parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro (*Paulinia cupana* H.B.K.), observou associações entre os caracteres morfológicos examinados e os marcadores RAPD. De acordo com a revisão de Oliveira (2005), outros fatores que podem influir nos resultados são a metodologia empregada, o tamanho da amostra e o tipo de espécie. Tais fatores também podem ter influenciado, em maior ou menor grau, a concordância entre caracteres morfológicos e moleculares em germoplasma de pimenta-de-macaco.

#### 4.4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados, pode-se concluir que:

- (1) Os três primeiros componentes principais explicaram 46,8% da variabilidade das matrizes, enquanto que a similaridade genética por meio de marcadores RAPD variou de 29% a 85%;
- (2) Excetuando-se o rendimento de óleo essencial e o número de folhas por ramo, os demais caracteres morfoagronômicos (83,33%) possuem variabilidade capaz de discriminar os genótipos estudados e, 120 marcadores RAPD geraram 90,83% de polimorfismo utilizável na discriminação da diversidade genética de pimenta-de-macaco;
- (3) A dispersão gráfica dos três primeiros componentes principais identificou um par de matrizes divergentes: PA-020, procedente de Marabá-PA e PA-035, procedente de Santa Izabel-PA, utilizáveis em programas de hibridação para obtenção de genótipos superiores;

(4) A análise do dendrograma identificou os clones P17 e P14 (de Marabá-PA) como os de menor similaridade e os clones P2, P3, P4 e P5 (de Manaus-AM) foram os de maior similaridade constituindo genótipos divergentes, recomendáveis para utilização em programas de melhoramento para obtenção de genótipos superiores.

(5) A caracterização morfológica apresentou certo grau de concordância com a caracterização molecular, particularmente, em relação às procedências do Sul do Pará (Marabá e Goianésia), ambas dissimilares pelos dois modelos de caracterização.

(6) Ressalvadas as diferenças nos métodos estatísticos utilizados, a caracterização molecular pareceu possuir maior poder discriminatório, com um menor número de genótipos e procedências, identificando grupos dissimilares e genótipos divergentes;

#### AGRADECIMENTOS

O autor agradece ao PROBEM e CNPq pelos recursos dispensados para a coleta e instalação do Banco de germoplasma de pimenta-de-macaco; à Embrapa Amazônia Oriental, pela cessão do Laboratório de Marcadores Moleculares e parte dos reagentes; aos pesquisadores, funcionários e estagiários que contribuíram para este trabalho e, de modo especial, à CAPES, pela bolsa concedida, necessária para a realização destes estudos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, E.S.; SANTOS, A.M.; AREIAS, R.G.B.M.; SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Uso de RAPD para análise de divergência genética de arroz. *Agronomia*, v.37, n.1, p.33-37, 2003.

ARRIEL, N.H.C.; SANTOS, J.W.; MOREIRA, J.A.N.; NÓBREGA, M.B.M.; ANDRADE, F.P. Avaliação de descritores quantitativos na caracterização

preliminar de germoplasma de gergelim (*Sesamum indicum* L.). *Rev. Ol. Fibras.*, v.4, n.1, p.45-54, 2000.

BASTOS, C.N. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.3, p.441-443, 1997.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.5, p.555-557, 2004.

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

BRASIL, E.C.; POLTRONIERI, L.; VIÉGAS, I.J.M. Influência da adubação potássica na incidência de *Corynespora cassiicola* em plantas de pimenta longa (*Piper hispidinervium*). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23. 1998. REUNIÃO BRASILEIRA DE MICORRIZAS, 7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5. *Anais...*Caxambu-MG: SBCS/SBM/DCS-UFLA.

BRASIL E.C.; VIÉGAS, I.J.M. *Efeito da adubação mineral na produção de matéria seca de pimenta longa (Piper hispidinervium)*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1998.4p. (Pesquisa em Andamento, 180).

CLEMENT, C.R. *Caracterização e avaliação – pré-condições para uso*. Disponível em < <http://www.inpa.gov.br/cpca/charles/pdf/palestra07.pdf>> Acesso em 21 abr. 2008.

CRUZ, C.D. *Programa Genes: Análise multivariada e simulação*. Viçosa-MG: Editora UFV, 2006. 175p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2ed. Viçosa-MG: UFV, 2001. 390p.

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins; fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos*. Viçosa-MG: UFV, 1998. 574p. p.381-473.

DIAS, L. A. S. *Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (Theobroma cacao L.)*. Piracicaba, 1994. 94f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum L.* e *Piper hispidinervium* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO M.R.; LIMA, M.S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C.DC.; *Piper aduncum L.* e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor L.*, 1758. *Ciência Agrotécnica*, v.31, n.1, p.113-120, 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S.; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum L.* a adultos de *Cerotoma tingomarianus L.* Bechyné (Coleóptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, v.34, n.3, p.485-489, 2005.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em genética*. 2.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.

FERREIRA, G.M.; MOTA, M.G.C.; VIEIRA, I.M.S.; BATISTA, M.S.F.; SILVA, S.P.G.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Propagação *in vitro* de *Piper aduncum L.* *Revista de Ciências Agrárias*, n.45, p.235-242, 2006.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, v.85, p.455-460, 2000.

GAIA, J.M.D.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; COSTA, M.R.; MAIA, J.G.S. Similaridade genética em populações naturais de pimenta-de-macaco por análise RAPD. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.4, p.686-689, 2004.

GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; ROCHA, A.I.; SILVA, M.L.; WILBERG, V.C. Óleos essenciais da Amazônia VII. *Acta Amazônica*, v.11, n.1, p.143-148, 1981.

GOTMISKY, S.A.; KOKAEVA, Z.G.; BORBROVA, V.K. use of molecular marker for the analysis of plant genome. *Research Journal in Genetics*, v.11, n.35, p.1538-1549, 1999.

GRATTAPAGLIA, D. Marcadores moleculares em espécies florestais: *Eucalyptus* como modelo. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento – plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 30, p. 967-1010.

GUIMARÃES, W.N.R.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, E.F.; FERRAZ, G.M.G.; OLIVEIRA, F.J. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Revista Brasileira de Engenharia agrícola e Ambiental*, v.11, n.1, p.37-45, 2007.

HOFFMANN, L.V.; BARROSO, P.A.V. Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 35p. (Documentos, 147).

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis; I. Artificial data. *Applied Statistics*, v.21, p.160-173, 1972.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis; II. Real data. *Applied Statistics*, v.22, p.21-31, 1973.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C.; CASTRO, D.S.; TORRES, G.I.O.P.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; SILVA, M.H.L. Avaliação dos efeitos da temperatura e da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de *Piper aduncum* L. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, supl.2, p.297-299, 2007.

LUZ, F.J.F. Caracterizações morfológica e molecular de acessos de pimenta (*Capsicum chinense* JACQ.). Jaboticabal-SP, 2007. 70f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Pós-graduação em Agronomia, UNESP-FCAV.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. *Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2000. p.123-127.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* growing wild in the Amazon Region. *Flavour and Fragrance Journal*, v.13, p.269-272, 1998.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; McKEE, R.A. *Princípios de biotecnologia em plantas – uma introdução à engenharia genética em plantas*. Ribeirão Preto-SP: SBG, 1994. 344p.

MELO FILHO, P.A.; SANTOS, R.C.; MAFRA, R.C.; SANTOS, J.W.; ANUNCIÇÃO FILHO, C.J. Classificação de germoplasma de *Dioscorea* sp através da análise das componentes principais. *Ciência Rural*, v.30, n.2, p.619-623, 2000.

MILACH, S.C.K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; MAIA, J.G.S.; GAIA, J.M.D. Variabilidade fenotípica em populações naturais de *Piper aduncum* L. na Amazônia Brasileira. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RECURSOS

GENÉTICOS DA AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3. 2001. *Anais...* Londrina-BR: IAPAR.

MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; GAIA, J.M.D.; MAIA, J.G.S. Variabilidade fenotípica para o rendimento em óleo essencial e teor de dilapiol em populações naturais de pimenta-de-macaco na Amazônia Brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2002a. *Resumos...* Uberlândia-MG: SOB. *Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, julho, 2002a. Suplemento 2. <sup>1</sup>CD-ROM.

MOTA, M.G.C.; FERREIRA, G.M.; CONCEIÇÃO, C.C.C. Efeito da concentração de ANA e BAP na micropropagação de *Piper aduncum* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42. 2002b. *Resumos...* Uberlândia-MG: SOB. *Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, julho, 2002b. Suplemento 2. <sup>1</sup>CD-ROM.

MÜHLEN, G.S. *Avaliação da diversidade genética de etnovarietades de mandioca (Manihot esculenta Crantz) com marcadores de DNA: RAPD, AFLP e microssatélites*. Piracicaba, 1999. 176f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). *Recursos genéticos e melhoramento - plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap.2. p.29-55.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A.A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum* L., *P. arboretum*, and *P. tuberculatum*. *Química Nova*, v.29, n.3, p.467-470, 2006.

NUNES, J.D.; TORRES, G.A.; DAVIDE, L.C.; SALGADO, C.C. Citogenética de *piper hispidinervum* e *Piper aduncum* L. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.42, n.7, p.1049-1052, 2007.

OLIVEIRA, M.S.P. *Caracterização molecular e morfoagronômica de germoplasma de açaizeiro*. Lavras, 2005. 171f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais.

OLIVEIRA, M.S.P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J.B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.7, p.1133-1140, 2006.

REDIG, M.S.F.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; RODRIGUES, V.L.F.; GAIA, J.M.D. Estimativas de parâmetros genéticos de clones de *Piper aduncum* L. (pimenta-de-macaco). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FCAP, 12. 2002a. *Anais...* Belém: FCAP.

REDIG, M.S.F.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; RODRIGUES, V.L.F.; GAIA, J.M.D. Estimativas de parâmetros genéticos para a germinação de sementes de *Piper aduncum* L. (pimenta-de-macaco). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FCAP, 12. 2002b. *Anais...* Belém: FCAP.

ROHLF, F.J. *Numerical taxonomy and multivariate analysis*. Version 2.1. New York: Exeter Software, 2000. 38p.

SILVA, A.T. *Estudo da divergência genética em acessos de arroz através de marcadores morfológicos e moleculares (RAPD)*. Lavras-MG: UFLA, 1999. 185p.

SILVA, G.S.; PEREIRA, A.L.; BASTOS, C.N.; MENDONÇA, V.C.M. Efeito da incorporação de resíduos foliares de *Piper aduncum* ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. *Nematologia Brasileira*, v.30, n.2, p.219-222, 2007.

SILVA, M.H.L. *Tecnologia de cultivo e produção racional de pimenta longa: Piper hispidinervium* C. DC. Itaguaí, 1993. 87f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SILVA, M.L.; QUEIROZ, M.A.; FERREIRA, M.A.J.F.; BUSO, G.S.C. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. *Horticultura Brasileira*, v.24, n.4, p. 405-409, 2006.

SOUSA, N. R. *Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro*. Lavras-MG, 2003. 99f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras.

SOUZA, R.F.; CONTEL, E.P.B. Análise da variabilidade de alozimas em acessos e cultivares de girassol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.35, p.771-779, 2001.

TELLES, M.P.C.; MONTEIRO, M.S.R; RODRIGUES, F.M.; SOARES, T.N.; RESENDE, L.V.; AMARAL, A.G.; MARRA, P.R. Marcadores RAPD na análise da divergência genética entre raças de bovinos e número de locos necessários para a estabilidade da divergência estimada. *Ciência Animal Brasileira*, v.2, n.2, p.87-95, 2001.

VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A.C.C. Recursos genéticos vegetais autóctones e seus usos no desenvolvimento sustentável. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, v.17, n.2, p.11-42, 2000.

WADT, L.H.O.; KAGEYAMA, P.Y. Estrutura genética e sistema de acasalamento de *Piper hispidinervium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.2, p.151-157, 2004.

WILLIAMS, J.G.K; HANAFEY, M.K.; RAFALSKY, J.A.; TINGEY, S.V. Genetic analysis using random amplified polymorphisms DNA markers. *Methods in Enzymology*, v.218, p.704-740, 1993.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary *primers* are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, v.18, p.6531-6535, 1990.

## 5. CONCLUSÃO

(1) A facilidade de adaptação a diversas condições edafoclimáticas e ecológicas das matrizes de Manaus-AM favoreceu a adaptação de clones primários em condições de cultivo, em Belém-PA;

(2) A variabilidade das matrizes de Manaus-AM tendeu a se expressar nos clones cultivados em condições experimentais durante o crescimento das plantas, com os clones revelando-se promissores para cultivo em pequena escala comercial de produção;

(3) O rendimento de óleo essencial e o teor de dilapiol estimados em condições experimentais, nas condições edafoclimáticas e ecológicas de Belém-PA (clones), foram superiores aos estimados em condições naturais de Manaus-AM (matrizes), permitindo selecionar genótipos para cultivo nas condições edafoclimáticas de Belém-PA.

(4) A caracterização dos genótipos, realizada por meio de informações morfoagronômicas e moleculares, evidenciou variabilidade fenotípica e genética, assim como genótipos divergentes utilizáveis em programas de melhoramento para obtenção de genótipos superiores.

## 6. GLOSSÁRIO

### ACESSO

Amostra de germoplasma que representa um indivíduo ou vários indivíduos de uma população.

### AValiação

Registro e aferição de características influenciáveis por fatores bióticos e abióticos em um dado ambiente, sendo geralmente controladas por muitos genes para sua expressão e, normalmente, possuem valor agrônômico.

### BIODIVERSIDADE

Conjunto de seres vivos que habitam o planeta, com sua variação genética e comunidades biológicas sistêmicas por eles habitadas.

### CARACTERIZAÇÃO

Descrição e registro de características morfológicas, citogenéticas, bioquímicas e moleculares de um indivíduo, cujas expressões são pouco influenciadas pelo ambiente.

### CENTRO DE DIVERSIDADE

Região geográfica onde se concentra um número elevado de espécies de um gênero (diversidade de espécies), ou gêneros de famílias (diversidade de gêneros), em contraste com menores frequências em outras regiões.

### CENTRO DE DOMESTICAÇÃO

Região geográfica onde se domesticou uma determinada cultura. Muitas plantas foram domesticadas em lugares e épocas diferentes, por diferentes grupos humanos, em decorrência de sua ampla distribuição geográfica e; outras culturas, foram domesticadas fora da área de ocorrência natural do ancestral silvestre.

### CENTRO DE ORIGEM

Região onde o ancestral silvestre de uma planta cultivada se distribui em determinados local, podendo ser, possivelmente, o de maior diversidade da espécie.

### CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA

Processo técnico fundamentado em bases científicas de manutenção permanente da diversidade e variabilidade genética de germoplasma, para fins de preservação dos recursos genéticos das espécies e do melhoramento genético.

#### DADOS DE PASSAPORTE

Conjunto de informações básicas sobre a coleta e origem dos acessos (nome da espécie, local, data, se silvestre, se domesticado, nome do coletor, além de dados edafoclimáticos, ecológicos e da planta em si), os quais podem ser registrados em formulários padronizados.

#### DESCRITOR

Característica mensurável ou subjetiva que possibilita a discriminação dos acessos de uma coleção de germoplasma.

#### DIVERSIDADE GENÉTICA

Presença de diferentes formas entre os seres vivos, em qualquer *taxon*, que conduzam à separação em grupos, sendo mais usualmente associado ao nível macro.

#### EROSÃO GENÉTICA

Perda da variabilidade genética de uma espécie que se dá com a supressão de genes e/ou séries alélicas, podendo atingir um genótipo particular ou populações.

#### EXTINÇÃO

Processo contínuo de redução no contingente populacional de uma espécie devido a mudanças ambientais locais, de tal modo que não há tempo para a espécie desenvolver indivíduos resistentes e, com isso, levando ao fim da espécie, se esta não for amplamente distribuída, pois isto permite a ocorrência da espécie em áreas livres de tais mudanças.

#### GENEPOOL

Complexo gênico envolvendo espécies correlacionadas, em que a geração ou obtenção de um novo genótipo depende do pareamento cromossômico entre as espécies envolvidas, se pareamento completo, há geração de indivíduos férteis (GP1), se pareamento parcial, há geração de indivíduos com níveis variáveis de fertilidade ou esterilidade (GP2) se pareamento pouco ou totalmente inexistente, resulta em indivíduos anômalos com níveis variáveis de letalidade ou com total esterilidade (GP3).

#### GERMOPLASMA

No sentido usual, é toda estrutura física animal, vegetal ou de microrganismos dotada de caracteres hereditários, capaz de gerar um novo indivíduo, transmitindo suas características de geração a geração. Em sentido amplo representa a variabilidade genética total de uma espécie.

#### INTROGRESSÃO GENÉTICA

Transferência de genes de uma espécie para outra através de hibridação e retrocruzamento continuado para uma ou ambas populações parentais.

#### ISOENZIMA

Conjunto de enzimas que possuem a mesma atividade catalítica; podem ser usadas como marcadores moleculares, os quais, por sua codominância, permitem a identificação de heterozigotos.

#### MARCADOR MOLECULAR

Fenótipo molecular (isoenzimas ou DNA) de um marcador genético, que pode ser usado para identificar ou detectar diferenças entre dois indivíduos.

#### MARCADOR RAPD

Marcador molecular detectado por procedimentos de PCR modificado, em que os *primers* são aleatórios, gerando polimorfismo de dominância.

#### POPULAÇÃO

Grupo de organismos coespecíficos que ocupam uma região geográfica com certa definição local, apresentando continuidade reprodutiva de geração em geração e interação ecológica.

#### PROTOGENIA

Amadurecimento do pistilo (gineceu) antes dos estames (androceu).

#### RECURSOS GENÉTICOS

A variabilidade armazenada nos cromossomos e genes de plantas, animais e microrganismos, com potencialidade de utilização socioeconômica no presente ou no futuro.

#### VARIABILIDADE GENÉTICA

Varição da base de informações genéticas contidas em uma espécie.

## 7. APÊNDICE

### APÊNDICE A

Tabela A: Análise da variância, com dados transformados, dos descritores morfoagronômicos de duas épocas de colheita para avaliação de acessos de pimenta-de-macaco visando a domesticação e cultivo em agroecossistemas da Amazônia. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

FV	QM (1ª ÉPOCA)			QM (2ª ÉPOCA)		
	Blocos	Matrizes	Resíduo	Blocos	Matrizes	Resíduo
GL	2	12	24	2	12	24
PMF	4.800,26*	2.085.897,44*	906.089,74	1.260,53ns	1.528.060.1ns	900.954,3
PMS	0,73**	0,35ns	0,16	1,20ns	0,65ns	0,94
RO	1,25*	0,14ns	0,24	0,71*	0,14ns	0,18
TD	52,34**	11,01ns	5,62	5,42ns	2,70ns	2,12
CF	348,12**	13,91ns	19,44	97,08ns	12,75ns	35,60
LF	163,27**	3,16ns	6,31	20,22ns	4,49ns	6,52
NFR	926,33**	131,44ns	103,92	979,84*	142,62ns	230,21
NRO	0,19ns	0,15ns	0,09	0,0096**	0,0014*	0,0006
NRP	152,49ns	52,61ns	56,26	0,078ns	0,088ns	0,141
CEN	79,20ns	75,81ns	111,75	125,51ns	29,70ns	97,83
DRV	969,83*	289,07ns	228,75	0,257**	0,013**	0,002
AP	15,81**	0,83ns	0,81	5,83*	0,73ns	1,04

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; S: significativo; NS: não significativo; \*: significativo no nível de 5% de probabilidade de erro; \*\*: significativo no nível de 1% de probabilidade de erro; PMF: peso da matéria fresca (kg); PMS: peso da matéria seca (kg); RO: rendimento de óleo essencial (%); TD: teor de dilapiol (%); CF: comprimento da folha (cm); LF: largura da folha (cm); NFR: número de folhas por ramo; NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; CEN: comprimento do entrenó (cm); DRV: diâmetro ramo mais velho (cm); AP: altura da planta (m).

## APÊNDICE B

Tabela B: Teste de Tukey, com dados transformados, dos descritores morfoagronômicos de pimenta-de-macaco, na primeira época de colheita. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008<sup>(1)</sup>.

MATRIZES	AP	NRO	NRP	NFR	CF	LF	CEN	DRV	PMF	PMS	RO	TD
PA001	7,68a	14,67a	78,33a	60,00a	83,93a	27,83a	36,00a	77,08a	3800,00ab	7,05ab	3,50a	68,30 <sup>a</sup>
PA002	8,46a	16,33a	82,33a	68,67a	85,73a	29,50a	37,86a	88,53a	4800,00a	7,09ab	3,89a	65,52ab
PA003/01	7,70a	17,00a	68,33a	68,33a	84,80a	28,43a	37,03a	76,15a	3500,00ab	7,06ab	3,56a	60,78b
PA003/02	7,64a	17,00a	77,33a	65,67a	79,86a	26,30a	22,96a	89,59a	3833,00ab	7,20ab	3,56a	66,90ab
PA004	8,38a	17,00a	74,00a	61,67a	85,90a	30,33a	31,76a	83,28a	4966,66a	7,40a	3,27a	65,12ab
PA005	7,87a	13,67a	83,33a	60,67a	86,60a	28,46a	31,03a	94,29a	3833,33ab	7,18ab	3,26a	67,09ab
PA006	7,45a	13,67a	80,67a	66,67a	87,48a	29,76a	31,30a	90,17a	3466,66ab	6,84ab	3,53a	67,55ab
PA007	7,97a	13,00a	75,67a	58,67a	88,30a	28,46a	39,63a	81,74a	3866,66ab	7,12ab	3,09a	66,64ab
PA008	7,19a	13,67a	75,67a	57,00a	84,16a	28,13a	40,33a	73,07a	3100,00ab	6,77ab	3,38a	65,67ab
PA009/01	7,26a	15,33a	75,67a	62,67a	82,83a	27,95a	31,56a	94,68a	3633,33ab	7,09ab	3,51a	67,32ab
PA009/02	7,22a	13,33a	74,33a	67,67a	83,89a	27,58a	33,88a	59,65a	1866,66b	6,06b	3,72a	65,27ab
PA010	8,34a	12,67a	78,67a	76,67a	85,46a	28,80a	29,43a	89,16a	4500,00ab	7,19ab	3,58a	67,86ab
PA011	6,69a	13,00a	72,00a	71,00a	84,23a	28,25a	27,65a	84,37a	2700,00ab	6,66ab	3,21a	66,66ab
DMS	2,68	6,71	22,43	30,49	13,19	7,52	31,58	83,22	2846,79	1,20	1,46	7,09

<sup>(1)</sup>Números seguidos das mesmas letras não diferem significativamente entre si. AP: altura da planta (m); NRO: número de ramos ortotrópicos; NRP: número de ramos plagiotrópicos; NFR: número de folhas por ramo; CF: comprimento da folha (cm); LF: largura da folha (cm); CEN: comprimento do entrenó (cm); DRV: diâmetro ramo mais velho (cm); PMF: peso da matéria fresca (kg); PMS: peso da matéria seca (kg) (dados transformados para logarítimos naturais); RO: rendimento de óleo essencial (%); TD: teor de dilapiol (%) (transformados para arco seno da raiz quadrada de x/100); DMS: Diferença mínima significativa.

## APÊNDICE C

Tabela C: Teste de Tukey, com dados transformados, dos descritores morfoagronômicos de pimenta-de-macaco, na segunda época de colheita. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008<sup>(1)</sup>.

MATRIZES AP	NRO	NRP	NFR	CF	LF	CEN	DRV	PMF	PMS	RO	TD	
PA001	9,57 <sup>a</sup>	1,40a	7,78a	77,33a	86,23a	28,50a	45,81a	4,46abcd	3098,00a	1,83a	11,28a	81,05a
PA002	10,33 <sup>a</sup>	1,43a	7,67a	77,33a	85,37a	28,40a	42,67a	4,52abc	3681,33a	2,16a	11,24a	80,53a
PA003/01	9,73 <sup>a</sup>	1,43a	7,48a	80,67a	83,77a	25,93a	47,03a	4,46abcd	2473,67a	1,97a	10,83a	81,45a
PA003/02	9,64 <sup>a</sup>	1,44a	7,80a	68,33a	79,87a	26,13a	47,90a	4,44bcd	2728,67a	1,80a	11,12a	81,95a
PA004	10,14 <sup>a</sup>	1,42a	7,68a	90,67a	86,97a	29,00a	44,50a	4,55ab	3713,33a	1,93a	10,81a	81,00a
PA005	10,18 <sup>a</sup>	1,40a	7,93a	82,33a	87,47a	28,27a	50,63a	4,50abcd	3057,67a	1,79a	10,68a	78,70a
PA006	8,83 <sup>a</sup>	1,41a	7,68a	75,00a	84,17a	27,30a	41,07a	4,60a	2746,00a	1,76a	10,62a	80,60a
PA007	10,01 <sup>a</sup>	1,38a	7,50a	84,67a	86,85a	26,08a	45,23a	4,56ab	2699,00a	1,64a	10,78a	80,44a
PA008	9,55 <sup>a</sup>	1,40a	7,47a	72,67a	87,50a	29,37a	49,03a	4,38cd	2039,33a	1,60a	11,09a	80,46a
PA009/01	9,58 <sup>a</sup>	1,44a	7,87a	87,17a	84,00a	26,37a	42,57a	4,49abcd	2405,67a	1,65a	11,04a	80,13a
PA009/02	9,74 <sup>a</sup>	1,38a	7,83a	84,36a	84,66a	26,38a	41,34a	4,48abcd	1349,67a	3,30a	10,99a	80,29a
PA010	10,06 <sup>a</sup>	1,39a	7,78a	83,50a	84,67a	27,84a	42,07a	4,51abcd	3338,00a	1,90a	10,89a	80,91a
PA011	8,87 <sup>a</sup>	1,40a	7,68a	69,00a	84,77a	26,53a	41,97a	4,36d	1685,67a	1,36a	11,19a	81,69a
DMS	3,05	0,07	1,12	45,38	17,84	7,64	29,58	0,15	2838,71	2,91	0,47	4,35

<sup>(1)</sup>Números seguidos das mesmas letras não diferem significativamente entre si. AP: altura da planta (m); NRO: número de ramos ortotrópicos (transformados para raiz de índice oito); NRP: número de ramos plagiotrópicos (transformados para raiz de índice dois); NFR: número de folhas por ramo; CF: comprimento da folha (cm); LF: largura da folha (cm); CEN: comprimento do entrenó (cm); DRV: diâmetro ramo mais velho (cm) (transformados para logaritmos naturais); PMF: peso da matéria fresca (kg) (transformados para potência de expoente dois); PMS: peso da matéria seca (kg); RO: rendimento de óleo essencial (%) (transformados para arco seno da raiz quadrada de x/100); TD: teor de dilapiol (%); DMS: Diferença mínima significativa.

## APÊNDICE D

Tabela D: Valores médios de matéria seca e rendimento de óleo de pimenta-de-macaco, na primeira época, calculados por parcela e por hectare. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

MATRIZES	PESO SECO (kg)		RENDIMENTO DE ÓLEO (kg/ha)	
	PARCELA	HECTARE	PARCELA	HECTARE
1	1,3	7.222,23	3,5	252,78
2	1,42	7.888,89	3,89	306,88
3	1,17	6.500,00	3,56	231,40
4	1,37	7.611,12	3,56	270,96
5	1,76	9.777,78	3,27	319,73
6	1,39	7.722,23	3,26	251,74
7	0,94	5.222,23	3,53	184,34
8	1,38	7.666,67	3,09	236,90
9	0,92	5.111,12	3,38	172,76
10	1,28	7.111,12	3,51	249,60
11	0,49	2.722,23	3,72	101,27
12	1,36	7.555,56	3,6	272,00
13	0,87	4.833,34	3,21	155,15
MÉDIA	1,2	6.688,04	3,47	231,19

## APÊNDICE E

Tabela E: Valores médios de matéria seca e rendimento de óleo de pimenta-de-macaco, na segunda época, calculados por parcela e por hectare. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

MATRIZES	PESO SECO (kg)		RENDIMENTO DE ÓLEO (kg/ha)	
	PARCELA	HECTARE	PARCELA	HECTARE
1	1,83	10.166,67	3,84	390,40
2	2,16	12.000,00	3,80	456,00
3	1,97	10.944,45	3,54	387,43
4	1,80	10.000,00	3,74	374,00
5	1,93	10.722,23	3,52	377,42
6	1,79	9.944,45	3,44	342,09
7	1,76	9.777,78	3,42	334,40
8	1,64	9.111,12	3,50	318,89
9	1,60	8.888,89	3,70	328,89
10	1,64	9.111,12	3,67	334,40
11	3,30	18.333,34	3,64	667,33
12	1,90	10.555,56	3,57	376,83
13	1,35	7.500,00	3,77	376,83
MÉDIA	1,90	9.789,69	3,63	389,61

## APÊNDICE F

Tabela F: Matriz de distâncias calculadas pelo coeficiente de Jaccard referentes a dados binários de marcadores RAPD de 18 clones de pimenta-de-macaco. Belém-PA. ICA-UFRA, 2008.

AC	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	
P1	1,00																		
P2	0,65	1,00																	
P3	0,66	0,89	1,00																
P4	0,64	0,90	0,91	1,00															
P5	0,60	0,87	0,87	0,86	1,00														
P6	0,68	0,69	0,69	0,66	0,65	1,00													
P7	0,69	0,68	0,70	0,70	0,64	0,85	1,00												
P8	0,62	0,60	0,58	0,58	0,58	0,65	0,62	1,00											
P9	0,49	0,62	0,59	0,57	0,57	0,68	0,56	0,81	1,00										
P10	0,65	0,63	0,69	0,67	0,57	0,51	0,76	0,53	0,58	1,00									
P11	0,56	0,55	0,60	0,58	0,49	0,59	0,67	0,47	0,47	0,76	1,00								
P12	0,62	0,64	0,68	0,66	0,63	0,72	0,73	0,61	0,60	0,80	0,70	1,00							
P13	0,68	0,60	0,68	0,66	0,58	0,70	0,77	0,58	0,55	0,82	0,79	0,84	1,00						
P14	0,45	0,51	0,50 <sup>b</sup>	0,53	0,45	0,51	0,54	0,39	0,40	0,64	0,61	0,62	0,57	1,00					
P15	0,55	0,60	0,60	0,58	0,58	0,66	0,65	0,77	0,72	0,59	0,48	0,59	0,59	0,45	1,00				
P16	0,72	0,60	0,59	0,58	0,59	0,66	0,69	0,61	0,53	0,71	0,65	0,72	0,74	0,47	0,62	1,00			
P17	0,51	0,39 <sup>b</sup>	0,42	0,36	0,42	0,51	0,50	0,36	0,32	0,47	0,53	0,39	0,53	0,36	0,44 <sup>b</sup>	0,59	1,00		
P18	0,42	0,71	0,71	0,71	0,74	0,55	0,55	0,45	0,50	0,60	0,41	0,56	0,50	0,46	0,55	0,55	0,42	1,00	

AC: acesso