

AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE PIMENTA LONGA DA EMBRAPA ACRE

Lúcia H. O. Wadt¹
Paulo Y. Kageyama²
Elza M. Ferraz³

INTRODUÇÃO

Em 1992, a Embrapa Acre e o Museu Emílio Goeldi, deram início a um estudo de prospeção de pimenta longa, visando o zoneamento e caracterização de *habitats* naturais no estado do Acre (Pimentel et al., 1998). Como resultado desse trabalho, foram encontradas duas espécies: *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*, muito semelhantes botanicamente, porém somente a primeira apresentou altos teores de safrol no óleo essencial. *P. hispidinervum* foi encontrada somente no Vale do Acre e *P. aduncum* foi mais abundante nos Vales do Juruá e Purus, ocorrendo também no Vale do Acre.

Posteriormente, em 1994, a Embrapa Acre iniciou um subprojeto de pesquisa para coleta de material genético, implantação de uma coleção de germoplasma e identificação de genótipos superiores quanto ao rendimento de safrol. Nesse trabalho, foi identificada uma terceira espécie (*Piper hispidum*), também conhecida como pimenta longa, porém sem interesse comercial para a extração de safrol. Além das espécies citadas, foram coletados exemplares que não puderam ser identificados botanicamente.

Os resultados de teores de safrol para as três espécies identificadas foram os seguintes: *P. hispidinervum*, com 87 a 97% de safrol; *P. aduncum*, com teores de safrol variando de 0,10 a 3,24%; e *P. hispidum* com menos de 0,5% (Silva & Oliveira, 2000).

Um estudo sobre a composição química do óleo essencial extraído dos indivíduos procedentes de Tarauacá, demonstrou uma baixa proporção de safrol (18,4%) sendo o componente mais abundante o sarisan, com 74,3%. Devido a esses resultados, os autores sugerem uma revisão na classificação dessas plantas e enquanto não se tem resultados definitivos, os mesmos propõem a denominação de *Piper affinis hispidinervum* (Bizzo et al., no prelo).

¹Eng. ftal., D.Sc., Embrapa Acre, Caixa Postal 321, 69908-970, Rio Branco, AC.

²Eng. ftal., D. Sc., ESALQ/USP.

³Bióloga, B.Sc., ESALQ/USP.

Este trabalho teve como objetivo caracterizar e avaliar a diversidade genética, via marcador RAPD, dos acessos presentes na Coleção de Trabalho de Pimenta Longa da Embrapa Acre (CTPL).

MATERIAL E MÉTODOS

A CTPL é formada por clones das três espécies de pimenta longa (Oliveira & Lunz, 1996), sendo variável o número de clones por genótipo. Quando foi feita a coleta do material para esse estudo, haviam 49 genótipos procedentes de 13 municípios do estado do Acre (Tabela 1).

A caracterização genética foi feita na ESALQ/USP, usando marcador de DNA amplificado ao acaso (RAPD), segundo metodologia proposta por Ferreira e Grattapaglia (1996) com iniciadores das séries A, B e C da Operon Technologies.

A leitura das bandas foi feita pela presença (1) e ausência (0), sendo que bandas de mesmo tamanho e intensidade muito distintas foram consideradas diferentes. A planilha com os fenótipos RAPD foi usada para cálculos de similaridade de Jaccard com posterior agrupamento pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Arithmetical Means*). Com base nos agrupamentos, definiu-se um grupo para cada espécie e genótipos cuja identificação botânica estava definida foram utilizados para detectar marcadores diagnósticos para *P. hispidinervum* e *P. aduncum*. O critério para definição de um marcador diagnóstico foi sua presença em pelo menos 90% dos genótipos da espécie e completa ausência nas demais espécies.

Tabela 1. Caracterização dos acessos da Coleção de Trabalho de Pimenta Longa da Embrapa Acre.

Cod.	Acesso	Espécie	Procedência	Óleo (%)	Safrol (%)
1	B 014	não identificado	Plác. de Castro	3,59	91,87
2	B 015	<i>P. hispidinervum</i>	Plác. de Castro	2,88	95,09
3	B 016	<i>P. hispidinervum</i>	Plác. de Castro	3,05	96,30
4	B 017	<i>P. hispidinervum</i>	Plác. de Castro	3,15	95,04
5	B 018	<i>P. hispidinervum</i>	Plác. de Castro	3,02	95,16
6	B 019	<i>P. hispidinervum</i>	Plác. de Castro	2,92	95,79
7	B 034	<i>P. hispidinervum</i>	Acrelandia	2,04	91,46
8	B 040	<i>P. hispidinervum</i>	Sen. Guiomard	2,54	90,56
9	B 042	<i>P. hispidinervum</i>	Sen. Guiomard	2,07	93,87
10	B 043	<i>P. hispidinervum</i>	Sen. Guiomard	2,37	94,02
11	B 044	<i>P. hispidinervum</i>	Sen. Guiomard	2,46	96,47
12	B 045	<i>P. hispidinervum</i>	Sen. Guiomard	2,07	92,58
13	B 046	<i>P. hispidinervum</i>	Sen. Guiomard	2,07	90,39
14	B 047	não identificado	Porto Acre	-	-
15	B 050	<i>P. hispidinervum</i>	Porto Acre	2,61	94,31
16	B 051	<i>P. hispidinervum</i>	Porto Acre	2,00	93,59
17	B 052	<i>P. hispidinervum</i>	Bujari	3,54	92,87
18	B 053	não identificado	Bujari	3,57	-
19	B 067	<i>P. hispidinervum</i>	Brasiléia	2,81	91,18
20	B 075	não identificado	Brasiléia	5,27	94,63
21	B 080	não identificado	Assis Brasil	5,05	-
22	B 084	não identificado	Sen. Guiomard	4,58	94,01
23	B 086	não identificado	Sen. Guiomard	4,00	95,06
24	B 090	<i>P. hispidinervum</i>	Assis Brasil	3,37	96,02
25	B 100	<i>P. hispidinervum</i>	Bujari	3,41	96,50
26	B 103	<i>P. hispidinervum</i>	Bujari	3,48	96,97
27	B 109	<i>P. aduncum</i>	Cruzeiro do Sul	3,67	Traços
28	B 110	<i>P. aduncum</i>	Cruzeiro do Sul	3,59	0,17
29	B 111	<i>P. aduncum</i>	Cruzeiro do Sul	3,55	0,10
30	B 112	<i>P. aduncum</i>	Cruzeiro do Sul	2,82	3,24
31	B 113	<i>P. aduncum</i>	Cruzeiro do Sul	5,68	1,03
32	B 114	<i>P. aduncum</i>	Cruzeiro do Sul	3,95	Traços
33	B 115	<i>P. aduncum</i>	Mâncio Lima	4,39	Traços
34	B 116	<i>P. aduncum</i>	Mâncio Lima	4,85	Traços
35	B 117	<i>P. aduncum</i>	Rodrigo Alves	4,83	Traços
36	B 118	<i>P. aduncum</i>	Rodrigo Alves	3,57	Traços
37	B 119	<i>P. aduncum</i>	Rodrigo Alves	3,68	Traços
38	B 120	<i>P. aduncum</i>	Rodrigo Alves	3,58	0,15
39	B 121	<i>P. aduncum</i>	Rodrigo Alves	4,32	0,08
40	B 127	<i>P. hispidum</i>	Feijó	1,33	0,14
41	B 137	não identificado	Tarauacá	4,49	15,33
42	B 138	não identificado	Tarauacá	3,99	40,87
43	B 139	não identificado	Tarauacá	4,04	18,43
44	B 141	não identificado	Tarauacá	3,47	4,64
45	B 142	não identificado	Tarauacá	4,94	28,14
46	B 144	não identificado	Tarauacá	3,87	24,65
47	B 145	não identificado	Bujari	4,37	92,44
48	B 147	não identificado	Xapuri	5,37	87,26
49	B 148	não identificado	Xapuri	1,66	0,00

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 60 iniciadores testados, 16 foram selecionados e só 6 considerados bons para leitura, os quais geraram 66 marcadores, com 96,97% de polimorfismo. O alto grau de polimorfismo foi devido a análise geral de diferentes espécies, pois analisando-se as espécies separadamente observa-se que *P. aduncum* foi quase monomórfico (Figura 1). Este resultado indica um comportamento reprodutivo distinto entre as duas espécies, evidenciando que, provavelmente, *P. aduncum* seja uma espécie de autopolinização.

A análise das similaridades genéticas entre os acessos resultou em três grandes grupos (Figura 2), os quais podem ser considerados correspondentes às três espécies. Dos dezesseis acessos não identificados (tabela 1), nove se mostraram similares aos acessos de *P. hispidinervum*; seis formaram um subgrupo dentro do grupo de *P. hispidinervum*, sendo todos procedentes de Tarauacá; e um acesso se mostrou distinto dos demais (B 148). O acesso B 113 estava identificado como *P. aduncum* mas trata-se de *P. hispidinervum*.

Conclusões definitivas sobre a espécie de sete acessos não foram possíveis, porém nove acessos não identificados puderam ser classificados como *P. hispidinervum*.

Com base na análise das frequências dos marcadores em cada espécie, pôde-se identificar marcadores diagnósticos para *P. hispidinervum* e *P. aduncum* (Figura 3). Quatro marcadores diagnósticos foram identificados para *P. hispidinervum* e nove para *P. aduncum*. Todos os marcadores diagnósticos para *P. hispidinervum* foram encontrados nos genótipos de Tarauacá com frequência 1,00, porém três marcadores RAPD foram exclusivos desses genótipos.

Embora a variabilidade genética representada na Coleção de Trabalho de Pimenta Longa da Embrapa Acre tenha sido alta, existe a necessidade de se estruturar melhor essa coleção, pois para a espécie *P. aduncum*, pode-se dizer que não existe variabilidade genética, sendo necessário novas coletas de germoplasma dessa espécie, buscando genótipos em diferentes regiões.

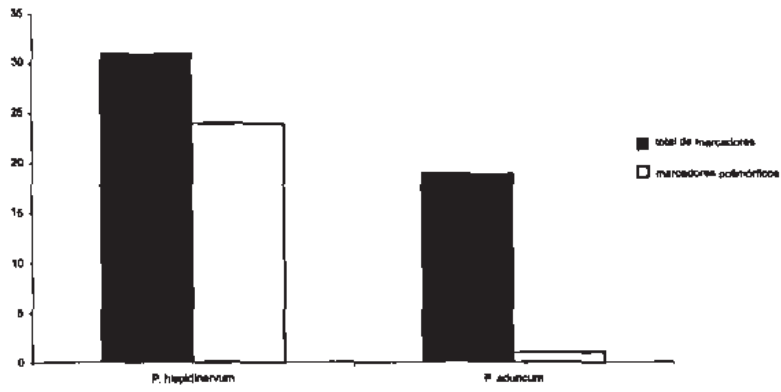


Fig. 1. Marcadores amplificados e polimórficos para as espécies *P. hispidinervum* e *P. aduncum*.

Fig. 2. Dendrograma da similaridade de Jaccard entre os genótipos, pelo método UPGMA.

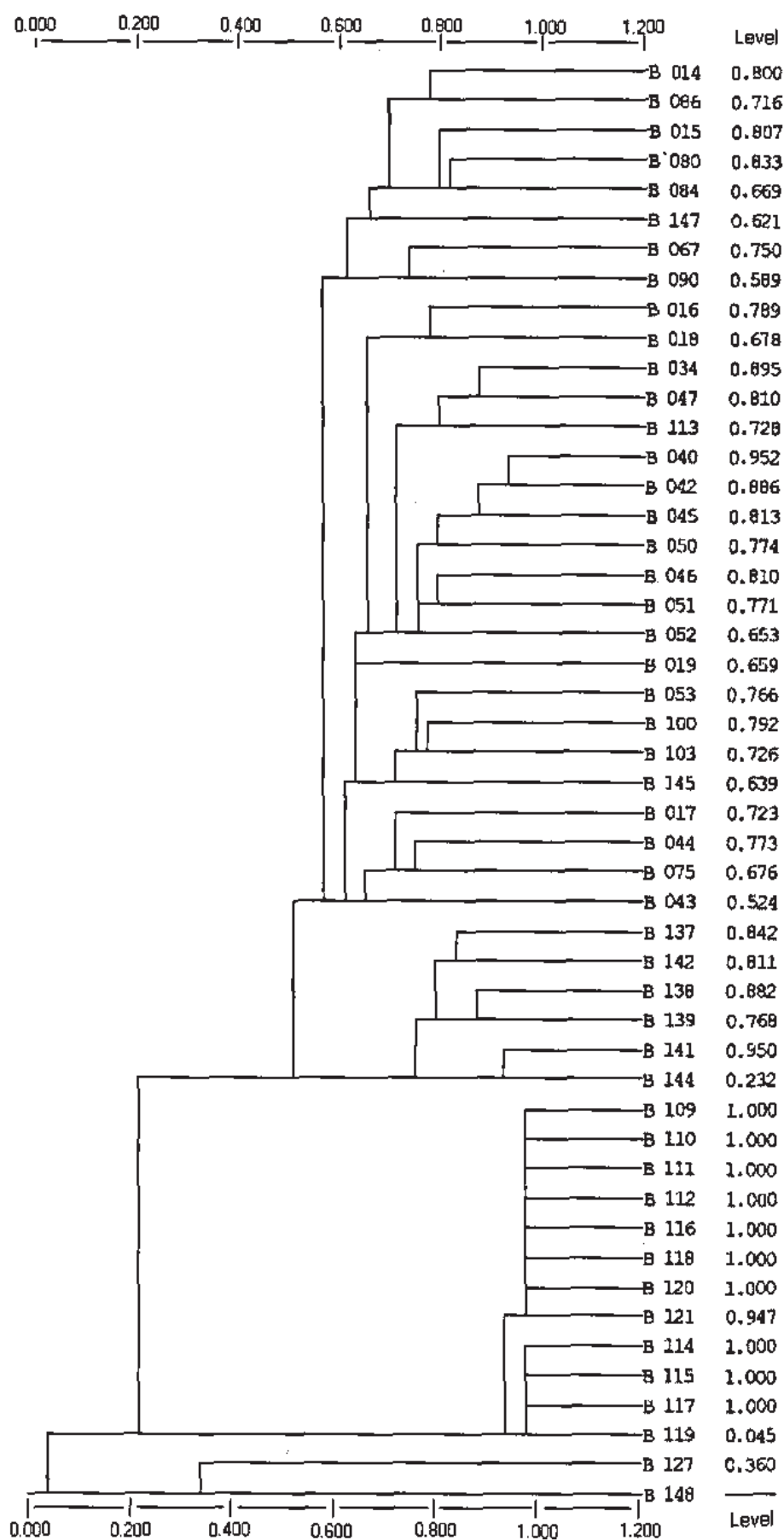
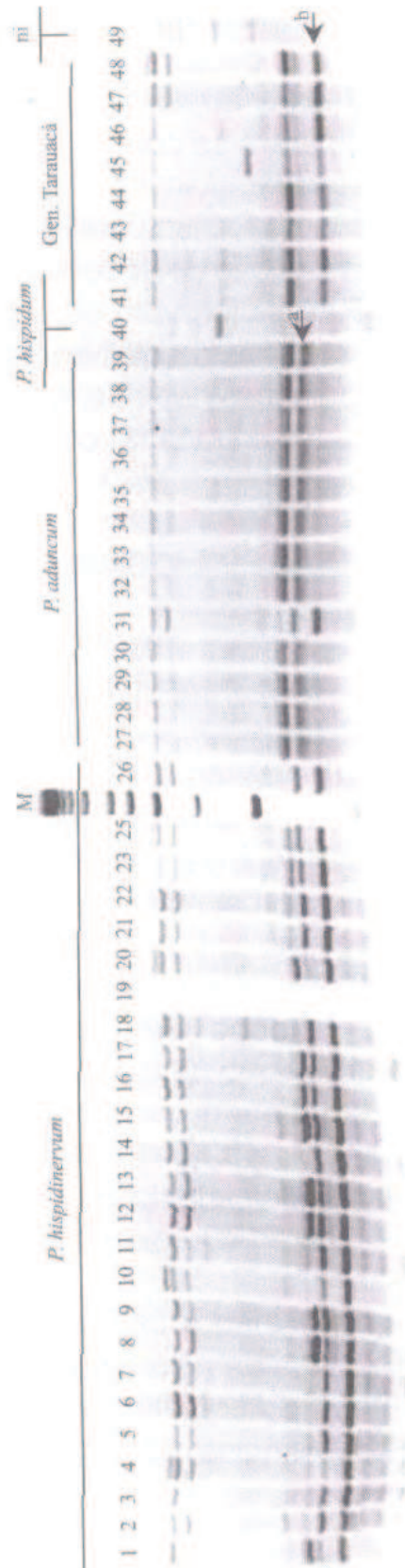


Fig. 3. Padrão de bandas obtido com o iniciador OP-B12. Os números de 1 a 49 indicam os genótipos e as setas *a* e *b* indicam marcadores diagnósticos para *P. aduncum* e *P. hispidinervum*, respectivamente.



CONCLUSÕES

A diversidade genética representada na Coleção de Germoplasma de Pimenta Longa da Embrapa Acre foi elevada;

Nove genótipos de pimenta longa, da coleção de germoplasma, sem identificação botânica quanto à espécie, mostraram-se semelhantes geneticamente à *Piper hispidinervum*.

Seis genótipos procedentes de Tarauacá, denominados botanicamente por *P. affinis hispidinervum*, agruparam-se com *P. hispidinervum*, sendo considerados como ecótipos dessa espécie;

P. aduncum, *P. hispidinervum* e *P. hispidum* foram bem diferentes geneticamente, sendo possível a identificação de nove marcadores diagnósticos para *P. aduncum* e quatro para *P. hispidinervum*.

Coletas de germoplasma para fins de melhoramento devem ser feitas no maior número possível de populações naturais, evitando-se populações próximas geograficamente, a fim de se amostrar o máximo da variabilidade genética existente na espécie;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIZZO, H.R.; LOPES, D.; ABDALA, R.V.; PIMENTEL, F.A.; SOUZA, J.A. de; PEREIRA, M.V.G.; BERGTER, L. & GUIMARÃES, E.F. Sarisan from leaves of *Piper affinis hispidinervum* C.DC. (long pepper). No prelo.

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2. ed. Brasília: CENARGEN/EMBRAPA, 1996. 220p.

OLIVEIRA, M.M. & LUNZ, A.M.P. Coleta, conservação, caracterização e avaliação de genótipos de pimenta longa (*Piper hispidinervium*) no estado do Acre. Rio Branco: EMBRAPA, 1996. 4p. (Pesquisa em Andamento, 86).

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

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