

**70** Congresso  
Brasileiro de  
Melhoramento  
de Plantas

**Variedade Melhorada:**  
A força da nossa agricultura

**05 a 08 de agosto de 2013**  
Center Convention - UBERLÂNDIA - MG



**ANAIS**

## Seleção de genótipos de *Piper aduncum* com base na biomassa verde

Jacson Rondinelli da Silva Negreiros<sup>1</sup>, Daniela Popim Miqueloni<sup>2</sup>, Rosilene de Matos Ferreira<sup>3</sup>

### Resumo

A *Piper aduncum* é uma das espécies amazônicas mais utilizadas como produtoras de óleos essenciais, principalmente pela extração do dilapiol, que possui diversos usos na indústria. No entanto, sua distribuição generalizada pelos biomas mostra uma grande variabilidade genética. Assim, genótipos com características de interesse devem ser estudados e selecionados de forma a privilegiar a melhor produtividade do óleo e a padronização da matéria prima para extração, o que não ocorre com a secagem da biomassa. Dessa forma, objetivou-se analisar e selecionar genótipos de *P. aduncum* do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Acre com base na biomassa verde, com vistas ao melhoramento genético da espécie. Os genótipos, instalados no BAG da Embrapa Acre, oriundos da região sudeste do estado, foram analisados fitoquimicamente quanto a umidade (baseada no princípio da imiscibilidade do solvente), rendimento do óleo essencial (calculado em base livre de umidade) e teor de dilapiol (por cromatografia gasosa), por meio da estatística descritiva e análise de variância. Cinco populações foram analisadas em biomassa verde e cinco em biomassa seca (com secagem do material vegetal por 4 a 6 dias). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com dez populações e dez repetições cada. Houve diferenças significativas para as populações quanto ao rendimento do óleo e ao teor de dilapiol. Houve maior variabilidade da umidade para as populações em biomassa seca, possivelmente devido a heterogeneidade da secagem. As médias de rendimento e teor de dilapiol, de forma geral, foram maiores para as populações em biomassa seca, no entanto, as populações 8 e 9, ambas em biomassa verde, apresentaram valores significativamente superiores para rendimento de óleo e teor de dilapiol, respectivamente, não diferindo das populações em biomassa seca. Estes resultados sugerem que estas populações possuem potencial para supressão da etapa de secagem da biomassa, sem prejuízos para a produtividade, podendo compor o programa de melhoramento genético da espécie visando à seleção de genótipos para extração do óleo em biomassa verde.

### Introdução

Dentre as espécies amazônicas mais utilizadas como produtoras de óleos essenciais está a *Piper aduncum*, da qual é extraído o dilapiol. Este composto possui atividade moluscicida, antimicrobiana, plasmocida, fungicida, larvicida, e inseticida, além do uso na medicina tradicional (Maia et al. 1998). A ampla aplicação deste composto atrai a atenção de produtores e da indústria, o que aumenta a demanda por sua exploração e obtenção de cultivares melhoradas para sua introdução em sistemas agrícolas, principalmente na região Amazônica (Gaia et al. 2004).

Além disso, devido à sua grande adaptabilidade, a espécie apresenta considerável variabilidade, com rendimento de óleo essencial e teores de dilapiol variando conforme a região (Andrade, Guimarães and Maia 2009). Estudos anteriores apontam para a influência de fatores genéticos agindo em possíveis quimiotipos de *P. aduncum*, e concluíram que a variabilidade entre as populações estudadas da espécie na região amazônica possui padrões de diversidade genética que acompanham os padrões de distribuição geográfica e fisiográficos (Gottlieb et al. 1981).

A escolha do genótipo deve privilegiar, além da genética e da localização, os aspectos morfológicos, uma vez que a produtividade está atrelada ao volume de biomassa para extração. A obtenção do óleo essencial se dá pela extração da biomassa aérea seca e, segundo o sistema de produção da *P. hispidinervum* (Bergo et al, 2002), adotado para *P. aduncum*, são recomendados cortes anuais de março a abril, e um período de secagem para destilação de 4 a 6 dias. Este período corresponde ao inverno amazônico, temporada de intensas chuvas, o que facilita o rebrote das plantas, mas prejudica a secagem da biomassa, condicionando o acúmulo de fungos e a degradação do material, o que exige intenso trabalho de revolvimento durante a

1 Pesquisadora da Embrapa Acre - CPAFAC - EMBRAPA/Rio Branco-AC. e-mail: [jacson.negreiros@embrapa.br](mailto:jacson.negreiros@embrapa.br)

2 Mestre em Agronomia, Rio Branco-AC: [danimique@yahoo.com.br](mailto:danimique@yahoo.com.br)

3 Estagiária UNINORTE Embrapa Acre, Rio Branco-AC. e-mail: [rosy-nha@hotmail.com](mailto:rosy-nha@hotmail.com)



etapa da secagem. Dessa forma a seleção de indivíduos com potencial de produtividade elevado do óleo em biomassa verde torna-se uma alternativa para redução de custos com mão de obra e secagem e a padronização da matéria-prima de extração.

Assim, o objetivo deste estudo foi seleção de genótipos de *Piper aduncum* do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Acre com base na biomassa verde, visando ao processo de melhoramento genético da espécie.

### Material e Métodos

Foram selecionados 100 indivíduos, pertencentes a dez populações, de *Piper aduncum*, oriundas da região sudeste do Estado do Acre, localizadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) no campo experimental da Embrapa Acre. Os dados fitoquímicos (teor de umidade, rendimento do óleo essencial em base livre de umidade e teor de dilapiol, todos em %) destas populações ainda não estudadas foram obtidos entre 2010 e 2012, os quais foram analisados segundo estatística descritiva, referente a medidas de tendência central e variabilidade e pela análise de variância do rendimento em base livre de umidade e teor de safrol, com comparação de médias pelo Teste de Scott-Knott a 5%. Os coeficientes de variação foram classificados segundo Ferreira (1991). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com dez repetições (indivíduos escolhidos aleatoriamente dentro da parcela) por população.

A biomassa seca da parte aérea de cada indivíduo das populações de 1 a 5 foi coletada e seca em secador por 4 a 6 dias com revolvimento diário (Bergo et al. 2002), já a biomassa verde, das populações de 6 a 10, foi imediatamente levada ao laboratório para análise.

O teor de umidade da biomassa foi baseado no princípio da imiscibilidade do solvente (tolueno) e da água ainda contida na biomassa verde e na biomassa seca (Figueirêdo et al. 2004), com utilização de 6 g de biomassa verde e 5 g de biomassa seca picotadas. O processo de extração foi conduzido por 180 minutos em aparato de Clevenger para biomassa verde e 240 minutos para biomassa seca e realizada a leitura da quantidade de água extraída de cada biomassa.

O rendimento do óleo essencial, considerado 100% em nível de laboratório, foi calculado com base na matéria verde e na matéria seca, ambas em base livre de umidade (BLU) (Santos et al. 2004). O cálculo é expresso em porcentagem, correspondendo ao volume de óleo essencial obtido por massa de biomassa verde e seca, que determina o teor de óleo essencial, subtraindo-se o teor de água.

O óleo essencial foi extraído pelo método de coação ou recirculação de água condensada (Heath 1977), com amostras de 90 g de biomassa verde e 35 g de biomassa seca picotadas e água destilada à temperatura de 100 °C por 180 minutos para biomassa verde e 60 minutos para a seca, com a fração mais densa, constituída de óleo, coletada. Após a extração, as amostras foram analisadas para a quantificação do safrol em cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama e coluna capilar de 30 m de comprimento.

### Resultados e Discussão

A análise de variância mostrou que houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as populações analisadas e o tipo de biomassa aérea utilizado na extração do óleo essencial para rendimento e teor de dilapiol (Tabela 1). O rendimento médio foi de 4,5% e o teor de dilapiol médio de 78,4%, com coeficientes de variação (CV%) considerados médio e baixo, respectivamente (Ferreira 1991), mostrando variabilidade entre as populações principalmente quanto ao rendimento do óleo essencial.

Tabela 1 Resumo da análise de variância do rendimento do óleo essencial (%) e teor de dilapiol (%) de dez populações analisadas de *Piper aduncum*, oriundas do sudeste do estado do Acre, em relação ao tipo de biomassa para extração do óleo essencial

Fatores de va- ria- ção	Quadrado Médio		
	GL	Rendimento	Teor de dilapiol
População	9	4,243896*	20,072457*

Biomassa	1	21,415107*	73,582084*
Repetição	9	0,809427	20,419673
Erro	80	0,894773	3,919722
Total	99		
CV%		20,91	2,52
Média geral		4,5233297	78,4242000

Biomassa: verde e seca; CV%: coeficiente de variação em porcentagem; GL: graus de liberdade.

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

Para a umidade, devido a secagem da biomassa, as populações de 1 a 5 tiveram teor médio de 14,3%, já as populações de 6 a 10, 73% (Tabela 2). Os CV% para cada grupo, biomassa seca e verde, foram médio e baixo, respectivamente. O processo de secagem é pouco homogêneo, podendo favorecer a contaminação do material por microorganismos, principalmente por não alcançar a umidade ideal para inibição da proliferação microbiana, com teores abaixo de 10% (Corrêa et al. 2004).

O rendimento foi maior para as populações com biomassa seca, exceção da população 8, o que sugere que esta população não sofre influência da secagem no rendimento do óleo essencial em relação às demais populações, e CV% considerado médio para ambos os tipos de biomassa. Este comportamento é atribuído à perda dos componentes minoritários mais voláteis com a secagem do material, aumentando a concentração do componente majoritário (Smith and Kassim 1979). Resultados semelhantes foram observados por Braga, Cremasco and Valle (2005) para *P. hispidinervum*, com rendimento em biomassa verde de 0,2 a 1,3% praticamente dobrando em biomassa seca. No entanto, os resultados aqui observados, foram maiores que os reportados por estes autores, mesmo para biomassa verde, com média de 4% (Tabela 2).

Tabela 2 Médias e coeficiente de variação (CV%) de umidade e agrupamento de médias de rendimento do óleo essencial e teor de dilapiol de dez populações analisadas de *Piper aduncum*, oriundas do sudeste do estado do Acre

População	Umidade (%)		Rendimento (%)		Teor de dilapiol (%)			
	média	CV%	média	CV%	média	CV%		
1	16,200	7,01	4,797	a	11,52	78,649	a	1,94
2	15,600	15,76	4,859	a	8,84	80,666	a	1,96
3	14,000	11,66	5,537	a	6,07	79,707	a	1,52
4	12,800	8,87	4,566	a	12,58	79,166	a	1,96
5	13,000	8,11	5,171	a	6,84	78,222	b	2,23
6	70,500	7,05	3,598	b	18,35	76,924	b	2,98
7	73,333	4,67	3,518	b	10,42	78,010	b	2,78
8	74,333	8,79	4,201	a	16,63	76,728	b	6,35
9	74,000	3,04	4,302	b	18,77	79,701	a	4,63
10	73,000	5,25	4,086	b	15,15	76,469	b	2,74
<b>Biomassa</b>	-----							
Seca	14,320	14,28	4,986	a	11,16	79,282	a	2,15
verde	73,033	6,13	4,060	b	19,76	77,566	b	4,26

Letras iguais não diferem significativamente pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

De forma geral, o teor de dilapiol foi maior para as populações de biomassa seca. O mesmo foi observado por Smith and Kassim (1979), com grande diferença quanto à biomassa para *P. aduncum*, com teor de dilapiol de 58% para biomassa verde e 90% para biomassa seca, e Rali et al. (2007), que obtiveram para biomassa verde teor de dilapiol de 43,3%, destacando a variabilidade da espécie com relação à compo-

sição do óleo essencial. No entanto, com exceção da população 5, que, com biomassa seca foi considerada com menor teor, a população 9 mostrou maior teor de dilapiol em biomassa verde (Tabela 2), indicando que este genótipo não sofre influência da secagem de biomassa para a extração na composição majoritária do óleo essencial em relação às populações estudadas. O coeficiente de variação para ambos os grupos foi considerado baixo, mostrando ser esta uma característica mais homogênea, possivelmente por se tratar de populações de uma mesma região, e a média para as populações com biomassa verde foi significativamente menor. No entanto, estes valores médios, mesmo para biomassa verde, são considerados satisfatórios, principalmente devido à variabilidade genética da espécie.

Diversos estudos apontam teores de dilapiol de 31,5 a 97,3% para região amazônica com rendimentos de 0,66 a 3,4% em biomassa seca (Gottlieb et al. 1981, Maia et al. 1998). Para outras regiões do país estes valores são consideravelmente menores, com presença de outros compostos majoritários, sugerindo uma influência de fatores fisiográficos e genéticos na produção do dilapiol (Gaia et al. 2004, Andrade, Guimarães and Maia 2009).

Além disso, cada genótipo responde de maneira diferente às condições ambientais e ao processo de secagem da biomassa, o qual elimina a água, aumentando o percentual de princípios ativos em relação ao peso de planta (Smith and Kassim 1979). Em algumas plantas aromáticas, muitos compostos de interesse são perdidos durante a secagem devido à alta umidade, principalmente nas folhas onde as glândulas oleíferas são secas e o óleo essencial é carregado por difusão através da umidade, ocasionando a perda de compostos aromáticos (Braga, Cremasco and Valle 2005).

Os resultados aqui observados, no entanto, devem ser complementados por mais estudos, principalmente com maior número de populações desta região, considerando ainda, a coleta de material verde e seco de uma mesma planta, selecionada a partir de análises fitoquímicas comparativas.

Dessa forma, estes resultados sugerem que algumas populações possuem potencial para extração de óleo essencial sem a necessidade do processo de secagem da biomassa, uma vez que demonstram não haver diferenças significativas que discriminem o rendimento e o teor de dilapiol em função da biomassa verde ou seca para estas populações. A população 8 possui potencial quanto ao rendimento do óleo essencial e a população 9, quanto ao teor de dilapiol, relativamente comparadas às populações analisadas, oriundas do sudeste do Estado do Acre.

Estas populações podem ser selecionadas para estudos subsequentes, subsidiando o programa de melhoramento da espécie que visa à seleção de genótipos superiores para extração do óleo essencial em biomassa verde.

#### Agradecimentos

Ao Tesouro Nacional e CNPq pelo apoio financeiro.

#### Referências

- Andrade EHA, Guimarães EF, Maia JGS (2009). **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia**. FEQ/UFPA, Belém, 448p.
- Bergo CL, Sá CP, Pimentel FA, Mendonça HÁ, Souza JÁ, Wadt LHO, Thomazini MJ, Cavalcante MJB (2002). **Cultivo da pimenta longa (*Piper hispidinervum*) na Amazônia Ocidental**. Embrapa Acre, Rio Branco, 29p. (Embrapa Acre. Sistemas de Produção, 1).
- Braga NP, Cremasco MA, Valle RCCR (2005). The effects of fixed-bed drying on the yield and composition of essential oil from long pepper (*Piper hispidinervum* C. DC) leaves. **Brazilian Journal of Chemical Engineering** 22(2): 257-262.
- Corrêa RM, Bertolucci SKV, Pinto JEBP, Reis ES, Alves TL (2004). Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de assa-peixe submetidas a diferentes métodos de secagem. **Ciência e Agrotecnologia** 28(2): 339-344.
- Ferreira PV (1991). **Estatística experimental aplicada à agronomia**. EDUFAL, Maceió, 437p.
- Figueirêdo FJC, Alves SM, Santos AS, Rocha Neto OG (2004). **Rendimento e qualidade físico-química de óleo essencial extraído de diferentes composições da biomassa aérea de pimenta longa**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 33p. (Embrapa Amazônia Oriental: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento,

33).

Gaia JMD, Mota MGC, Conceição CCC, Costa MR, Maia JGS (2004). Similaridade genética de populações naturais de pimenta-de-macaco por análise RAPD. **Horticultura Brasileira** **22** (4): 686-689.

Gottlieb OR, Koketsu M, Magalhães MT, Maia JGS, Mendes PH, Rocha AI, Silva ML, Wilberg VC (1981). Óleos essenciais da Amazônia VII. **Acta Amazônica** **11**: 143-148.

Heath HB (1977). Flavorings, condiments and relishes. In: Desrosier NW (Ed.). **Elements of Food Technology**. The Avipublishing Company, Wesrport, p.666-701.

Maia JGS, Zohhbi MGB, Andrade, EHA, Santos AS, Silva, MHL, Luz, AIR, Bastos, CN (1998). Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L growing wild in the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal** **13**: 269-272.

Rali T, Wossa SW, Leach DN, Waterman PG (2007). Volatile chemical constituents of *Piper aduncum* L and *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae) from Papua New Guinea. **Molecules** **12** (3): 389-94.

Santos AS, Alves SM, Figueirêdo FJC, Rocha Neto OG (2004). **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 6p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, 99).

Smith RM., Kassim H (1979). The essential oil of *Piper aduncum* from Fiji. **New Zealand Journal of Science**, **22**: 127-128.