

This file has been cleaned of potential threats.

If you confirm that the file is coming from a trusted source, you can send the following SHA-256 hash value to your admin for the original file.

588c703577fdbd27c908eb5d8d99f7ee38d9935d1da4ddfb84bb7eachb1573027

To view the reconstructed contents, please SCROLL DOWN to next page.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES - MCTIC

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO

**PROPAGAÇÃO DE *Piper marginatum* Jacq.: QUALIDADE DE LUZ
NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES E NÍVEIS DE
ILUMINAÇÃO NA ESTAQUIA**

LORENA DE PAULA CABRAL

Manaus, AM
Fevereiro, 2017

LORENA DE PAULA CABRAL

**PROPAGAÇÃO DE *Piper marginatum* Jacq.: QUALIDADE DE LUZ
NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES E NÍVEIS DE
ILUMINAÇÃO NA ESTAQUIA**

Orientador: Prof. Dr. Sidney Alberto do Nascimento Ferreira

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Eva Maria Alves Cavalcanti Atroch

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Célio Maia Chaves

Dissertação apresentada ao Instituto
Nacional de Pesquisas da Amazônia,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Agricultura no Trópico Úmido.

Manaus, AM
Fevereiro, 2017



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO

Folha de aprovação

A Banca Julgadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

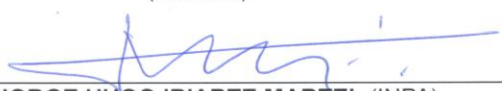
TÍTULO: "PROPAGAÇÃO DE *Piper marginatum* Jacq.:
QUALIDADE DE LUZ NA GERMINAÇÃO *in vitro* DE
SEMENTES E ESTAQUIA"

AUTOR(A):

LORENA DE PAULA CABRAL

BANCA JULGADORA:


Dr. EDUARDO OSSAMU NAGAO (UFAM)
(Membro)


Dr. JORGE HUGO IRIARTE MARTEL (INPA)
(Membro)


Dr. ARI DE FREITAS HIDALGO (UFAM)
(Membro)

Manaus, 02 de março de 2017

Ficha catalográfica

C117 Cabral , Lorena de Paula
Propagação de Piper Marginatum Jacq.: qualidade de luz na
germinação in vitro de sementes e níveis de iluminação na estaquia
/ Lorena de Paula Cabral . --- Manaus: [s.n.], 2017.
65 f. : il.

Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2017.
Orientadora : Sidney Alberto do Nascimento Ferreira
Coorientadores : Francisco Célio Maia Chaves
Eva Maria Alves Cavalcante Atroch
Área de concentração: Agricultura no Trópico úmido

1. Capeba . 2. Planta medicinal . 3. Amazônia

CDD 581.634

Sinopse: Estudou-se aspectos da propagação sexuada e assexuada de *Piper marginatum* Jacq.. Na sexuada, avaliou-se a influência da qualidade de luz na germinação *in vitro* e na vegetativa, ou assexuada, estudou-se o efeito do sombreamento da planta matriz combinado com diferente tipo de estacas no pegamento das mesmas.

Palavras-chave: Capeba 2. Planta pioneira 3. Propagação vegetativa 5. Planta medicinal da Amazônia

Aos meus queridos familiares, especialmente aos meus queridos avós, Sebastião e Joana (*in memoriam*), e ao meu marido Victor. A eles agradeço todo o amor, apoio e confiança que depositaram em mim. Com amor e gratidão, dedico-lhes este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido essa vitória, por me guiar e me dar discernimento para enfrentar os desafios dessa vida.

Aos meus avós e pais de coração, Joana (*in memoriam*) e Sebastião, minha mãe Cinthia e minha tia Silvia, pela confiança, incentivo e apoio caloroso a todos os meus estudos, trabalhos.

Aos meus tios que mesmo distantes sempre estiveram dispostos a ajudar no que fosse possível.

Ao Prof. Dr. Sidney Ferreira pelos conhecimentos repassados e pela confiança depositada na execução desse trabalho.

À Prof. Dr^a Eva Atroch pela co-orientação, sempre disposta a ajudar no que fosse preciso e pelos ensinamentos compartilhados.

Ao Pesquisador Dr. Francisco Celio Maia Chaves, da Embrapa Amazônia Ocidental pela disponibilização do material vegetal para a montagem dos experimentos, assim como pelas orientações tanto práticas quanto teóricas.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pela oportunidade de cursar o curso de Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida durante o mestrado.

Ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas pela disponibilização da infraestrutura para a realização desse trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais pela ajuda na montagem e manutenção dos experimentos, além da amizade e os momentos de descontração.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, pela amizade e convivência.

Enfim, a todos aqueles que tornaram possível essa conquista, obrigada.

*“Todos os dias quando acordo
Não tenho mais
O tempo que passou
Mas tenho muito tempo
Temos todo o tempo do mundo”*

Legião Urbana

RESUMO

Piper marginatum Jacq. é uma Piperaceae amazônica, popularmente conhecida por capeba, malvarisco, pimenta-do-mato, capeba-cheirosa e nhandi. É utilizada na região principalmente como fitoterápico contra doenças hepáticas, vesiculares, espasmos musculares, picadas de cobras e de insetos e para alívio de gases intestinais; na culinária é utilizada para substituir a pimenta-do-reino; e há relatos científicos de que o extrato da folha e o óleo essencial possuem atividades biológicas como cercaricida, inseticida, acaricida e fungicida. Sua coleta é feita indiscriminadamente através do arranquio de suas partes vegetativas e reprodutivas, o que, a longo prazo, pode exercer efeitos negativos sobre as populações naturais. Na literatura, há relatos de que a propagação dessa espécie possui algumas limitações. Em geral, as sementes apresentam baixa taxa de germinação, tanto no campo quanto *in vitro* e baixas taxas de enraizamento na propagação vegetativa, via estaquia. Sendo assim, este trabalho objetivou investigar métodos mais eficientes de reprodução. Na propagação sexuada, avaliou-se a influência na qualidade de luz sobre a germinação *in vitro*, através de um experimento em DIC, sendo utilizados cinco filtros de luz: vermelho, vermelho-extremo, verde, azul e transparente, e avaliados a germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). A germinação não foi influenciada significativamente pelos filtros de luz, ao contrário do IVG e TMG que apresentaram os melhores desempenhos sob a luz vermelha. Na propagação vegetativa, o experimento foi instalado em DIC, com esquema fatorial de 2 x 3, sendo dois tipos de sombreamento da planta matriz (a pleno sol e sombreadas a 50%) e três tipos de estacas (apicais, medianas e basais). As variáveis analisadas foram: sobrevivência (%), enraizamento (%), número de brotações, número de folhas, comprimento da maior raiz, massa seca das raízes e massa seca das brotações. As estacas apicais de *Piper marginatum* apresentaram melhor desempenho na propagação por estaquia, seguidas das basais e, por fim, medianas, as quais, em geral, independem do sombreamento da planta matriz.

Palavras-chave: caapeba, planta pioneira, propagação vegetativa, planta medicinal da Amazônia.

ABSTRACT

Piper marginatum Jacq. is an Amazonian Piperaceae, popularly known as capeba, malvarisco, pimenta-do-mato, capeba-cheirosa and nhandi. It is used mainly in the region as a remedy against liver diseases, vesicular diseases, muscular spasms, snake and insect bites and for the relief of intestinal gases; in cooking is used to replace the black pepper; and there are scientific reports that leaf extract and essential oil have biological activities such as cercaricida, insecticide, acaricide and fungicide. Its collection is done indiscriminately through the ripening of its vegetative and reproductive parts, which in the long run can exert negative effects on the natural populations. In the literature, there are reports that the propagation of this species has some limitations. In general, seeds have low germination rates, both in the field and in vitro, and low rooting rates in vegetative propagation, via cuttings. Therefore, this work aimed to investigate more efficient methods of reproduction. The influence of the light quality on germination in vitro was evaluated through a DIC experiment, using five light filters: red, far-red, green, blue and transparent and evaluated the germination (%), germination speed index (GSI) and mean germination time (MGT). The germination was not significantly influenced by the light filters, unlike the GSI and MGT that presented the best performances under the red light. In the vegetative propagation, the experiment was installed in DIC, with a factorial scheme of 2 x 3, two types of shading of the mother plant (full sun and shaded to 50%) and three types of cuttings (apical, median and basal). The variables analyzed were: survival (%), rooting (%), number of shoots, number of leaves, length of the highest root, root dry mass and shoot dry mass. The apical cuttings of *Piper marginatum* presented better performance in the propagation by cutting, followed by the basal and, finally, medium, which, in general, are independent of the shading of the matrix plant.

Key words: capeba, pioneer plant, vegetative propagation, medicinal plant of the Amazon.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. A Família Piperaceae	13
2.2. O Gênero Piper L.....	14
2.3. A espécie Piper marginatum Jacq.	15
2.3.1. Descrição botânica	15
2.3.2. Origem e distribuição geográfica	16
2.3.3. Principais usos	16
2.3.4. Relatos científicos sobre a dificuldade de propagação de P. marginatum.....	18
2.4. Qualidade de luz na germinação in vitro de sementes	18
2.5. Propagação vegetativa via estaquia	23
3. OBJETIVOS	26
3.1. Objetivo geral	26
3.2. Objetivos específicos.....	26
4. Capítulo I	27
RESUMO	27
SUMMARY	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÕES	39
AGRADECIMENTOS	39
REFERÊNCIAS.....	39
5. Capítulo II	45
Resumo.....	46
Abstract:.....	47
Introdução	48
Material e Métodos.....	50
Resultados e Discussão.....	52
Conclusões	58
Agradecimentos	58
Referências.....	58
6. SÍNTESE	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

1. INTRODUÇÃO

A flora amazônica é conhecida pela sua rica biodiversidade, fonte de espécies com as mais diferentes aplicações como fitoterápica, cosmética, madeireira, alimentícia, fitossanitária, entre outras. Apesar de toda essa diversidade de espécies e de muitas delas serem bastante conhecidas pelos povos nativos, são poucos os registros científicos sobre as mesmas.

Neste contexto, está inserida a espécie *Piper marginatum* Jacq., pertencente à família Piperaceae, chamada popularmente por capeba, malvarisco, pimenta-do-mato, capeba-cheirosa e nhandi. É utilizada na região principalmente como fitoterápico contra doenças hepáticas, vesiculares, picadas de cobras e insetos. Possui também ação carminativa e antiespasmódica (Maia *et al.* 2001; Chaves *et al.* 2006). Na culinária pode funcionar como substituto da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) (Guimarães e Giordano 2004). O extrato da folha e o óleo essencial também tem sido estudados intensivamente para atividades biológicas como cercaricida (Frischkorn 1978), inseticida (Coitinho *et al.* 2010; Coitinho *et al.* 2011; Mesa *et al.* 2012), acaricida (Assis *et al.* 2010) e fungicida (Silva e Bastos 2007; Araújo *et al.* 2014).

Vários estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de identificar os componentes químicos presentes nas estruturas do óleo essencial e aplicação dos extratos vegetais no controle de pragas e doenças agrícolas (D'Angelo *et al.* 1997; Andrade *et al.* 2008; Hurtado *et al.* 2012; Moraes *et al.* 2014; Araújo *et al.* 2014). Porém, são poucas as informações disponíveis na literatura sobre técnicas eficientes de propagação dessa espécie.

Quando se tem o objetivo de intensificar o uso de uma espécie nativa, independente do objetivo, a etapa inicial de trabalho consiste na domesticação da

mesma, dando ênfase no domínio das técnicas de propagação (Tombolato *et al.* 2004). É de grande importância que, qualquer que seja a técnica empregada, se leve em conta a conservação da espécie em questão, protegendo assim populações de ocorrência natural de coletas excessivas de suas partes vegetativas e reprodutivas como ramos, frutos e sementes.

Na literatura, há relatos de que a propagação de *P. marginatum* possui algumas limitações. Em geral, as sementes apresentam baixa taxa de germinação, tanto no campo quanto *in vitro* (Delgado-Paredes *et al.* 2012; Chaves *et al.* 2014a). Na propagação vegetativa via estaquia, foi relatado baixa taxa de enraizamento das estacas (Chaves *et al.* 2014b).

Dessa forma, essa pesquisa objetivou estudar a propagação sexuada (qualidade de luz na germinação *in vitro*) e assexuada (estaquia) de *P. marginatum*, visando estabelecer protocolos eficientes para produção de mudas de forma sustentável, contribuindo no desenvolvimento da cultura da espécie e para pesquisas futuras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Família Piperaceae

A família Piperaceae está inclusa entre as angiospermas basais e possui distribuição pantropical (Fig. 1) (Jaramillo *et al.* 2004; Quijano-Abril *et al.* 2006). No Brasil, está representada por cinco gêneros com aproximadamente 460 espécies (Barroso *et al.* 1978). Nos trópicos são encontradas como plantas pioneiras e têm sido intensivamente analisadas em investigações fitoquímicas (Felippe *et al.* 2008).

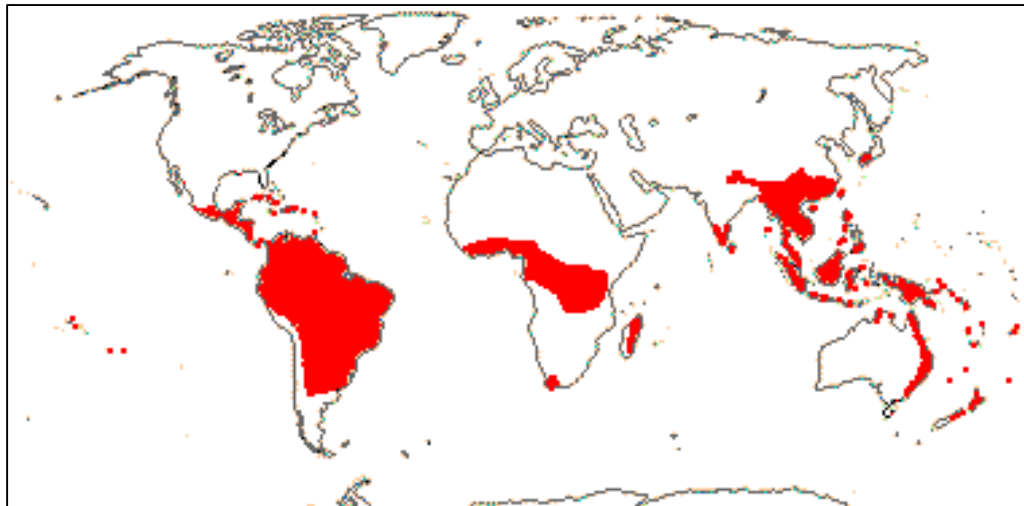


Figura 1: Mapa de distribuição pantropical das espécies pertencentes à família Piperaceae

Fonte: Missouri Botanic Garden, 2013

O hábito de crescimento é variável, possui espécies arbustivas, eretas ou escandentes, arvoretas, ou plantas herbáceas epifíticas e terrestres (Yuncker 1972). O caule é articulado e nodoso, as folhas são inteiras, dorsiventrais, alternas, raramente opostas ou verticiladas, pecioladas com estípulas (Hutchinson 1973). A inflorescência geralmente é espiciforme (Joly 1993). A grande maioria de suas espécies produz frutos do tipo espigas com grande quantidade de sementes que

possuem síndrome de dispersão zoocórica, sendo muito frequente a dispersão por morcegos (Vásquez-Yánes e Segovia 1984).

Muitas espécies dessa família possuem sementes que apresentam dormência, como é o caso da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), cujas sementes demoram até seis meses para germinar e duas possíveis justificativas foram dadas: impermeabilidade da casca do fruto e a presença de um inibidor na mucilagem que envolve a semente (Garcia *et al.* 2000).

Esta família possui plantas com as mais diversas aplicações, dentre elas como fitoterápico, como a papiroba ou caapeba (*Piper umbelatum*) e o falso jaborandi (*Piper* sp.), além de plantas condimentares, como a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). Algumas espécies de *Peperomia* são utilizadas como ornamentais, em canteiros ou em vasos como planta pendente ou ereta, chamada popularmente com o mesmo nome do gênero (Souza e Lorenzi 2008).

2.2. O Gênero *Piper* L.

No Brasil, o gênero *Piper* é representado por aproximadamente 266 espécies (Ciccíó 1996; Guimarães e Giordano 2004). São arbustos, subarbustos ou arvoretas, que variam de um a dez metros de altura, pouco lignificados, ramosos, quase sempre nodosos. As folhas possuem disposição alterna, a forma e o tamanho são bastante variáveis. Inflorescência do tipo espiga, pedunculadas, com raque sulcada, papilosa, fimbriada ou lisa. Flores aperiantadas e bastante congestas. Drupas com forma variável e pericarpo pouco espesso. A polinização das plantas desse gênero é feita principalmente por certos insetos (abelhas, moscas e besouros) e pelo vento (Sample 1974; Figueiredo e Sazima 2000). Possuem a presença de óleos voláteis e

oleoresinas, que faz com que as partes vegetativas tenham frequentemente um odor picante-aromático quando amassadas (Burguer 1971; Hill 1974).

Grande parte das espécies desse gênero caracteriza-se pelo uso popular medicinal e pela importância econômica e comercial devido à produção de óleos essenciais utilizados pela indústria de condimentos, farmacêutica e também de inseticidas (Silva e Machado 1999). A variedade de metabólitos secundários que plantas desse gênero sintetizam, é a principal responsável pelo aumento do interesse medicinal do gênero (Jaramillo e Marquis 2004).

2.3. A espécie *Piper marginatum* Jacq.

2.3.1. Descrição botânica

Piper marginatum Jacq. é um arbusto ou arvoreta que pode atingir até cinco metros de altura. As folhas possuem lâmina ovalada com tamanho de dez a vinte centímetros de largura e sete a quinze centímetros de comprimento, com pecíolo de comprimento de dois a seis centímetros, base cordada, ápice acuminado, membranácea, glabra em ambas as faces, com exceção pela presença da densa ciliação na margem, palminérveas (Fig. 2a). Espigas curtas de comprimento máximo de quinze centímetros, pedúnculo com um centímetro de comprimento, com bractéolas triangular-peltadas, franjadas. De quatro a cinco estames, drupa obpiramidal, glabra, três estigmas sésseis (Fig. 2b) (Guimarães e Giordano 2004).

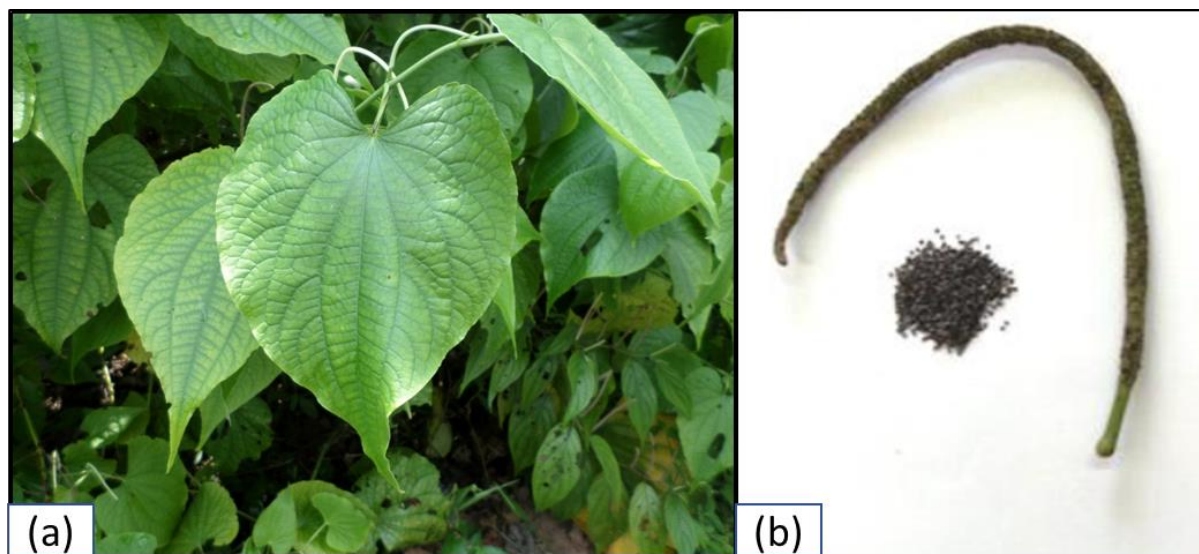


Figura 2: Aspecto da planta de *Piper marginatum*: (a) indivíduo de uma população natural na Embrapa Amazônia Ocidental (b) espiga madura e sementes beneficiadas

Foto: (a) Lorena Cabral e (b) André Cunha

2.3.2. Origem e distribuição geográfica

Piper marginatum é uma planta amazônica, que possui distribuição geográfica pela América Central, Antilhas e América do Sul. A maior ocorrência é no Brasil, Suriname e Guiana Francesa (Cavalcante 2013). No Brasil, sua ocorrência é confirmada em quase todos os estados, com exceção do Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Piauí, Sergipe, Rio grande do Norte, Distrito Federal (Guimarães e Giordano 2004; Guimarães *et al.* 2015).

2.3.3. Principais usos

É popularmente chamada de capeba, malvarisco, pimenta-do-mato, capeba-cheirosa e nhandi, utilizada na região amazônica, principalmente, como fitoterápico (D'angelo *et al.* 1997; Chaves *et al.* 2006). Na forma de chá, é indicada contra doenças hepáticas, vesiculares, como tônico com ação carminativa e antiespasmódica (Maia *et al.* 2001). A raiz é usada contra as mordeduras de cobras, aplicando-a no

ferimento e também para aliviar coceiras e picadas de insetos (Chaves *et al.* 2006). Estas propriedades estão relacionadas com a vasoconstricção provocada pela noradrenalina presente na planta (D'Angelo *et al.* 1997). Na culinária pode ser utilizada para substituir a pimenta-do-reino (Guimarães e Giordano 2004).

O óleo essencial de *P. marginatum* funciona também como um poderoso antimicrobiano. No controle de doenças de plantas foi comprovada sua atividade fungicida *in vitro* para vários fitopatógenos como *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora capsici*, *Moniliophthora perniciosa* (Silva e Bastos 2007; Araújo *et al.* 2014). Araújo *et al.* (2014) relataram que extratos metanólicos de folhas também reduzem o crescimento de *Colletotrichum scovillei* em pós colheita, de modo mais eficiente do que o fungicida Mancozeb.

Este óleo essencial é polimórfico, variando intraespecificamente, e é marcado pela presença de sesquiterpenos e fenilpropanóides (Andrade *et al.* 2009). O tipo químico mais comum na Amazônia é rico em fenilpropanóide 3,4-metilenodióxiopropiofenona (14,5% a 40,2%) (Andrade *et al.* 2008; Ramos *et al.* 1986). Andrade *et al.* (2008) avaliando a composição dos óleos essenciais de diferentes órgãos vegetativos de *P. marginatum*, relataram que das amostras coletadas o teor de óleo essencial variou de 0,3 a 2%. O constituinte com maior quantidade foi o safrol (63,9%). Os principais subprodutos obtidos a partir deste composto são a heliotropina, largamente usada como fragrância, e o butóxido de piperonila, um ingrediente essencial para inseticidas biodegradáveis à base de piretrum (Bergo 2010), também é utilizado como precursor de drogas antitrombóticas e auxinas indólicas (Rosa *et al.* 2000) e como agente sinergista em produtos veterinários (Mendonça 2007).

2.3.4. Relatos científicos sobre a dificuldade de propagação de *P. marginatum*

Diversos estudos têm demonstrado a dificuldade de propagação de *P. marginatum*. Chaves et al (2014a,b) avaliaram a germinação e a propagação vegetativa desta espécie. No primeiro experimento, os autores analisaram a germinação de sementes acondicionadas em B.O.D à 30°C com 12 horas de luz e obtiveram apenas 36%, em 60 dias de observação. No segundo, testaram combinações de três tipos de estacas (apical, mediana e basal) com cinco tipos diferentes de substratos (areia lavada, substrato comercial, solo com esterco de ave, solo com casca de guaraná e fibra de coco): o melhor tratamento foi a combinação estacas apicais plantadas em Latossolo amarelo com esterco de aves, que resultou em apenas 20% de enraizamento.

Delgado-Paredes *et al.* (2012) testaram germinação *in vitro* de *P. marginatum*, inoculando as sementes em tubos de ensaio, contendo meio MS completo (Murashige e Skoog 1962), e mantidas em sala de crescimento a 26°C e escuridão total; após quatro semanas de avaliação, obtiveram apenas 27,6% de germinação.

2.4. Qualidade de luz na germinação *in vitro* de sementes

A germinação de uma semente consiste na retomada das atividades metabólicas do eixo embrionário, paralisadas nas fases finais da maturação fisiológica, iniciada com a embebição e finalizada quando ocorre a protusão de uma

de suas partes (Rebouças e Santos 2007). Para que esse processo ocorra é necessário que as sementes estejam viáveis e condições ambientais favoráveis como: quantidade suficiente de água, temperatura e composição de gases adequados e luz para algumas espécies (Klein e Felipe 1991; Carvalho e Nakagawa 2000).

A técnica de promover a germinação *in vitro* possibilita a formação de mudas ou de material para servir de ponto de partida para a obtenção de explantes sadios para futuras repicagens. Com essa técnica é possível alcançar taxas altas de multiplicação, independente de condições climáticas, variações estacionais e de fatores bióticos, como agentes dispersores, polinizadores ou patogênicos (Andrade et al. 2000). O sucesso dessa técnica depende de um fator inicial imprescindível, que consiste na limpeza do material vegetal, para evitar contaminação por agentes microbianos (Grattapaglia e Machado 1998).

A desinfestação superficial é feita com o uso de substâncias germicidas. Geralmente, inicia-se com a imersão do explante em etanol 70%, visando eliminar bolhas de ar e grande parte dos lipídeos, para aumentar o contato entre o desinfestante e o material vegetal (Mateo-Sagasta 1990). Frequentemente, um detergente, ou um surfactante como Tween®, é acrescentado à solução de hipoclorito, a fim de aumentar o contato entre a solução e os tecidos, facilitando sua ação (Bonga e Durzan 1985). Em seguida, os produtos químicos mais utilizados para desinfestação superficial são aqueles à base de cloro, como hipoclorito de sódio ou hipoclorito de cálcio, mas outros também podem ser utilizados como cloreto de mercúrio, peróxido de hidrogênio, cloreto de benzalcônio, e ácido clorídrico (Grattapaglia e Machado 1998). A concentração dos produtos químicos e o tempo de imersão devem ser avaliados pelo grau de impacto que causam nos explantes. Elevadas concentrações e tempo prolongado de imersão podem tornar a desinfestação satisfatória, porém

podem causar danos aos explantes prejudicando sua viabilidade. Já o inverso, pode tornar a desinfestação insuficiente (Barrueto Cid e Zimmermann 2006).

Vários autores relataram sucesso na assepsia de sementes de espécies de Piperaceae utilizando apenas imersão em álcool 70% e depois imersão em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, como Yespes (2007) trabalhando com *Pothomorphe umbellata*, Valle (2003) com *Piper hispidinervum*, Moura *et al.* (2008) com *Piper nigrum* e Delgado-Parédes *et al.* (2012) com *P. marginatum*.

A luz branca proveniente do sol é composta por diferentes comprimentos de onda, sendo alguns visíveis aos olhos humanos, os quais são chamados de cores (Novo 2010). Ela possui três propriedades que podem afetar independentemente o metabolismo de uma planta: a qualidade da luz (faixa espectral), intensidade e duração da iluminação (Whatley e Whatley, 1982). Quando as sementes só germinam com a presença de luz, são denominadas fotoblásticas positivas, quando germinam apenas na ausência de luz, fotoblásticas negativas; e quando a luz não interfere no processo germinativo, fotoblásticas neutras ou não fotoblásticas (Vázquez-Yanes e Orozco-Segovia 1993)

Muitos processos biológicos das plantas são influenciados pela luz, na faixa do espectro entre 400 e 700 nm, pelo fato dos pigmentos responsáveis pela captação dos sinais trazidos pela luz, apresentarem picos de absorção nesse intervalo de comprimento de ondas. Esses pigmentos são chamados de fotorreceptores, podem ser os fitocromos, que absorvem luz vermelho (650-680 nm) e vermelho-extremo (710-740 nm) e os criptocromos, que absorvem luz azul (320-400 nm) (Taiz e Zeiger 2009).

Nas sementes, a detecção das alterações de iluminação no ambiente é feita pelo fitocromo, um pigmento azul protéico, que se apresenta em duas formas interconvertíveis: fitocromo vermelho (FV) que absorve a luz vermelha e é convertido

para uma forma que absorve a luz no vermelho-extremo denominada fitocromo vermelho-extremo (FVE) e o FVE, que pode ser convertido de volta à FV pela luz vermelho-extremo, propriedade esta chamada de fotoreversibilidade (Taiz e Zeiger 2009).

Quando as sementes necessitam da presença de luz para germinar, elas são denominadas fotoblásticas positivas; quando necessitam da ausência de luz, fotoblásticas negativas; e quando a luz não interfere no processo germinativo, fotoblásticas neutras ou não fotoblásticas (Mayer e Poljakoff Mayber, 1989; Vázquez-Yanes e Orozco-Segovia, 1993)

P. marginatum é considerada uma espécie pioneira. Este tipo de planta em geral possui sementes pequenas e grande requerimento de luz para germinação. Em florestas tropicais, as diferentes alturas das plantas que compõem o dossel, fazem com que haja uma filtragem dos comprimentos de ondas das radiações eletromagnéticas que chegam até ao solo, fazendo com que essas sementes se mantenham dormentes, no entanto são as primeiras a germinar na presença de grandes clareiras (Smith 1986; Merotto Junior et al. 2002).

Um parâmetro muito utilizado para saber quantidade de luz que uma semente precisa para germinar é a qualidade de luz, obtida relacionando as fluências entre dois comprimentos de onda específicos: o vermelho (V) na faixa de 655-665 nm e o vermelho-extremo (Ve) na faixa de 725—735 nm, através da razão-zeta (Casal e Sánchez 1998; Takaki 2001). A alta relação V (vermelho): Ve (vermelho-extremo), promove a germinação de sementes fotossensíveis, já a luz com baixa relação V:Ve, impede a germinação (Vidaver 1980). É assim que as sementes percebem as variações ambientais, através das mudanças na qualidade de luz incidente, que

indicam se as presentes condições são favoráveis para o desenvolvimento da planta (Brancalion *et al.* 2008).

Na literatura, há vários trabalhos que relatando uma metodologia que tem se mostrado eficiente de se obter diferentes qualidades de luz nos experimentos de germinação: envolver as sementes com papel celofane em diferentes cores, alterando assim a razão-zeta com o objetivo de avaliar o comportamento das sementes em relação à luz (Toledo *et al.* 1993; Rebouças e Santos 2007; Ferraresi *et al.* 2009). Quando a luz branca da lâmpada incide sobre o papel celofane colorido, parte dela será refletida no comprimento de onda que o compõe, que é a cor que o olho humano perceberá. Porém, esse comprimento de onda não será totalmente refletido pelo fato de que este tipo de papel possui um grau de transparência, sendo transmitido para as sementes, alterando a razão-zeta que incidirá sobre as sementes (Souza 2008).

Os filtros mais utilizados são: filtro de luz azul, com reflexão máxima de 450 nm; filtro de luz verde, com reflexão máxima a 500 nm; filtro de luz vermelha, com reflexão máxima a 700 nm; filtro de luz vermelho-extremo, com reflexão máxima a 730 nm e filtro transparente de luz branca (testemunha), quase sem reflexão na região visível. As leituras geralmente são feitas sob luz de segurança verde. Uma observação muito importante é o tipo da lâmpada que funcionará como fonte de radiação. As lâmpadas fluorescentes brancas emitem mais radiação no comprimento de onda na faixa do vermelho curto (680 nanômetros). Isso produz alta relação luz vermelha/luz vermelha distante ($V/VD = 2,28$) que produz um aumento no fotoequilíbrio, ou seja, favorece a formação do fitocromo ativo Fve. As lâmpadas incandescentes, ao contrário, produzem pouco vermelho e muita radiação vermelha distante.

Daws *et al.* (2002), analisando a coexistência de quatro espécies de *Piper* em uma floresta tropical, relataram que *P. marginatum* foi a que respondeu melhor à

qualidade de luz; a alta relação de V (vermelho): Ve (vermelho-extremo) promoveu a maior porcentagem de germinação (85%), além de diminuir o tempo do processo (27 dias).

Bergo *et al.* (2010) testando o efeito da qualidade de luz na germinação de *Piper hispidinervum* e *P. aduncum*, e Rios *et al.* (2015) com *P. hispidum*, observaram que a qualidade de luz não teve efeito sobre a germinação das espécies. No entanto, diferentemente de *Piper aduncum* que não sofreu alteração, o índice de velocidade de germinação aumentou quando utilizado luz branca em *P. hispidinervum* e luz difusa [(vermelho:azul (1:1)] para *P. hispidum*.

2.5. Propagação vegetativa via estaquia

A propagação vegetativa é uma técnica antiga que tem como princípio a totipotencialidade das células vegetais, onde cada célula viva de uma planta possui a informação genética suficiente para originar uma planta inteira. Nessa via de propagação, as plantas são obtidas a partir de um propágulo retirado da planta matriz, constituído apenas por células somáticas (Pinto *et al.* 2001; Hartmann *et al.* 2011)., Este método propagativo funciona como uma alternativa para a produção em larga escala de mudas em um pequeno intervalo de tempo, possibilitando a formação de cultivos homogêneos quanto à produtividade, qualidade de flores e frutos, precocidade e tolerância à pragas e doenças (Lira Júnior *et al.* 2007).

Dentre os métodos existentes, a estaquia é considerada de maior viabilidade econômica para estabelecimento de plantios de clones, pois possibilita a manutenção das características genéticas da planta matriz (Paiva *et al.* 1996; Pinto *et al.* 2001). As estacas podem ser confeccionadas por segmentos das folhas, caules ou raiz.

Geralmente utiliza-se a caulinar, devido ao potencial de regeneração das gemas já existentes e por requerer apenas que se forme um novo sistema radicular adventício. (Xavier *et al.* 2003). Este tipo de raiz (adventícia) é formada geralmente de caules ou folhas, ou explantes destes. A palavra adventícia é derivada do latim *adventicious*, e essas raízes recebem esse nome por se originarem de locais diferentes dos normais, que seriam do embrião ou da raiz primária.

As estacas podem ser classificadas em apicais (ou terminais), medianas e basais, de acordo com a posição ocupada no ramo de origem. Na literatura, encontram-se diversos trabalhos demonstrando diferentes respostas ao enraizamento de cada uma dependendo da espécie estudada (Dousseau 2009; Cunha *et al.* 2015).

Outra classificação que também pode ser adotada faz referência ao grau de lignificação da estaca, podendo ser lenhosa (apresenta tecidos lignificados), herbáceas (apresenta tecidos tenros, com coloração geralmente verde) e semi-herbácea ou semi-lenhosa (grau intermediário entre as duas primeiras). Geralmente as estacas herbáceas possuem mais facilidade de enraizamento que as lenhosas (Hartmann *et al.* 2011).

Para Hartmann *et al.* (2011), o processo de formação das raízes adventícias acontece em quatro fases:

- Desdiferenciação de células específicas diferenciadas;
- Formação de raízes iniciais a partir de células localizadas próximo dos feixes ou tecidos vasculares, que se tornaram meristemáticas por desdiferenciação;
- Desenvolvimento das raízes iniciais em primórdios radiculares organizados;
- Crescimento e emergência das raízes adventícias.

O crescimento desse tipo de raízes é dependente de fatores anatômicos e fisiológicos complexos. Quando é feito a separação da estaca da planta matriz, ela

sofre inúmeras mudanças na sua atividade metabólica e expressão gênica, devido ao ferimento físico causado pelo corte e isolamento da integridade funcional da planta inteira, resultando assim na rizogênese (Ahkami *et al.* 2009).

Fatores internos e externos influenciam na formação de raízes nas estacas, como idade e condição fisiológica da planta matriz, balanço hormonal, potencial genético, tipo de estaca, época do ano, luminosidade, umidade, temperatura e substrato. (Xavier *et al.* 2009; Hartmann *et al.* 2011). A luz é fundamental para rizogênese, uma vez que serve de fonte de energia para a fotossíntese. Por outro lado, altas doses de luminosidade ativam a enzima AIA-oxidase, degradadora de auxinas, reduzindo assim o potencial de enraizamento. Sendo assim, recomenda-se fazer o cultivo das plantas matrizes e condução do enraizamento das estacas sob baixas radiações, principalmente para espécie que apresentam dificuldades de enraizamento (Hartmann *et al.* 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a influência da qualidade de luz na propagação sexuada (germinação *in vitro*) e o efeito de diferentes níveis de sombreamento na propagação assexuada (estaquia) de *Piper marginatum* Jacq.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a germinação *in vitro* de sementes de *P. marginatum* em função da qualidade de luz.
- Avaliar a influência do sombreamento da planta matriz e da posição da estaca no ramo na propagação vegetativa via estaquia de *P. marginatum*.

4. Capítulo I

Manuscrito formatado para *Ciência Rural*

Efeito da qualidade de luz na germinação *in vitro* de capeba (*Piper marginatum* Jacq.)

Lorena de Paula Cabral² Sidney Alberto do Nascimento Ferreira³ Eva Maria Alves Cavalcante
Atroch⁴ Francisco Célio Maia Chaves⁵

RESUMO

A Capeba (*Piper marginatum*) é uma Piperaceae nativa da Amazônia, popularmente utilizada para fins fitoterápicos. Na literatura há relatos de que suas sementes possuem baixas taxas de germinação, o que, por ser uma espécie pioneira, em parte parece estar associado a qualidade de luz. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes filtros de luz sobre a germinação *in vitro* de *P. marginatum*. Para isso, sementes de *P. marginatum* foram colocadas para germinar em placas de *petri* contendo água solidificada com ágar e depois envolvidas com filtros de luz azul, verde, vermelho, vermelho extremo e transparente. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, constituído por cinco tratamentos (filtro de luz), com quatro repetições, cada uma contendo 25 sementes. Diariamente foi feito acompanhamento da germinação, considerando germinada a semente que apresentava a protusão da raiz primária, com aproximadamente 2 mm de comprimento. A partir dos dados de germinação foram calculados, a germinabilidade, o tempo médio de germinação (TMG) e o índice de velocidade de germinação (IVG). A germinação das sementes de *P. marginatum* não foi influenciada significativamente pelos diferentes filtros de luz. Porém, o IVG e o TMG apresentaram os melhores resultados quando sob a luz vermelha e essas variáveis foram inversamente associadas, ou seja, quanto maior o IVG menor o TMG e vice-versa.

Palavras-chave: Espectros de luz, *Piper marginatum*, planta amazônica, planta medicinal.

⁽¹⁾ Extraído da Dissertação de Mestrado apresentada pela primeira autora ao Programa de Pós-graduação em Agricultura no Tópico Úmido, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). ^(2,3) INPA, Coordenação de Biodiversidade, Avenida Rodrigo Otávio, nº 35, CEP 69.080-971, Manaus, AM, Brasil, E-mail: lorena.de.paula.cabral@hotmail.com, sanf@inpa.gov.br. ⁽⁴⁾ Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Rodrigo Otávio, nº 6200, Setor Sul, CEP 69.080-900, Manaus, AM, Brasil. E-mail: eatroch@hotmail.com. ⁽⁵⁾ Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-010, km 29, s/n, CEP 69.010-970, Manaus, AM, Brasil. E-mail: celio.chaves@embrapa.br.

SUMMARY

Piper marginatum is a Piperaceae native to the Amazon that is popularly used for herbal medicine purposes. In the literature, there are reports that its seeds have low germination rates and can be attributed to some type of dormancy. It is known that this is a pioneer, thus requiring a large amount of light to germinate its seeds. Thus, the objective of this work was evaluated as the effect of different light filters on an in vitro germination of *P. marginatum*. For this, as seeds were placed to germinate in Petri dishes containing solid water with agar and then wrapped with blue, green, red, red and transparent light filters. (DIC), consisting of five treatments (light filter) with four replicates, composed of one petri dish with 25 seeds each. Seeds with a protrusion of about 2 mm in length were considered germinated. As analyzed variables were percentage of germination, percentage of normal seedlings, mean germination time (MGT) and germination speed index (GSI), making daily evaluations not even hourly. The seed germination of was not significantly influenced by light filter. However, the GSI and the MGT presented the best results when under the red light and these variables were inversely associated, that is, the higher the GSI the lower the MGT and vice versa.

Key words: Light spectra, *Piper marginatum*, Amazonian plant, medicinal plant.

INTRODUÇÃO

Piper marginatum é considerada uma espécie pioneira. Em geral, este tipo de planta possui sementes pequenas, com grande requerimento de luz para sua germinação. Em florestas tropicais, as diferentes alturas das plantas, faz com que haja uma filtragem dos comprimentos de ondas das radiações eletromagnéticas que chegam até ao solo, fazendo com que essas sementes se mantenham dormentes, no entanto são as primeiras a germinar na presença de grandes clareiras (SMITH, 1986; MEROTTO JUNIOR et al., 2002).

Na literatura há relatos de que a propagação dessa espécie possui algumas limitações. Normalmente, as sementes apresentam baixa taxa de germinação, tanto no campo quanto *in vitro* (DELGADO-PAREDES et al., 2012; CHAVES et al., 2014a). Quando uma espécie apresenta baixa porcentagem de germinação ou emergência, é possível que seja devido à um dos fatores a seguir: sementes dormentes, baixo vigor ou fatores ambientais como dificuldade de embebição, temperatura e luz (MENEZES et al., 2004).

A luz branca proveniente do sol é composta por diferentes comprimentos de onda, sendo alguns visíveis aos olhos humanos, os quais chamamos de cores (NOVO, 2010). Nas sementes, a detecção das alterações de iluminação no ambiente é feita pelo fitocromo, um pigmento azul, que pode se converter entre a forma ativa e inativa. Quando a forma ativa absorve na faixa do vermelho extremo, ocorre uma alteração na conformação estrutural do seu cromóforo se convertendo na forma inativa, e ao absorver luz azul ou vermelha, retorna à forma ativa (KULKAMI et al., 2006).

Um parâmetro muito utilizado para saber a quantidade de luz que uma semente precisa para germinar é a qualidade de luz, obtida relacionando as fluências entre dois comprimentos de onda específicos: o vermelho (V) na faixa de 655-665 nm e o vermelho-extremo (Ve) na faixa de 725—735 nm, através da razão-zeta (CASAL E SÁNCHEZ, 1998; TAKAKI, 2001). A alta relação V (vermelho): Ve (vermelho-extremo), promove a germinação de sementes

fotossensíveis, já a luz com baixa relação V:Ve, impede a germinação (VIDAVER, 1980). É assim que as sementes percebem as variações ambientais, através das mudanças na qualidade de luz incidente, que indicam se as presentes condições são favoráveis para o desenvolvimento da planta (BRANCALION et al., 2008).

Sabendo-se que dependendo da espécie, as sementes respondem de modo fisiologicamente diferente conforme a qualidade de luz, o objetivo desse trabalho foi avaliar a germinação das sementes de *P. marginatum* em função da qualidade de luz à que foram submetidas.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram obtidas a partir da coleta de espigas maduras, com polpa amolecida (BATISTA, 2015), de populações de ocorrência natural, na área da Embrapa Amazônia Ocidental, em Manaus/AM (2°53'18.5"S e 59°58'08.9"W). Antes da abscisão das espigas, estas foram envoltas em sacos de filó, a fim de evitar que tivessem contato com o solo e ficassem susceptíveis à predação (Fig. 1a).

As sementes foram beneficiadas conforme descrito em CAVALCANTE et al. (2002), ou seja, imersão das espigas em água por 24 horas (Fig. 1b); depois, maceração das espigas com as mãos com o objetivo de separar as sementes (Fig. 1c); em seguida peneiramento para retirada das impurezas (Fig. 1d,e); e por fim, secagem das sementes, sobre papel toalha, à temperatura ambiente, por 48 horas (Fig 1f).

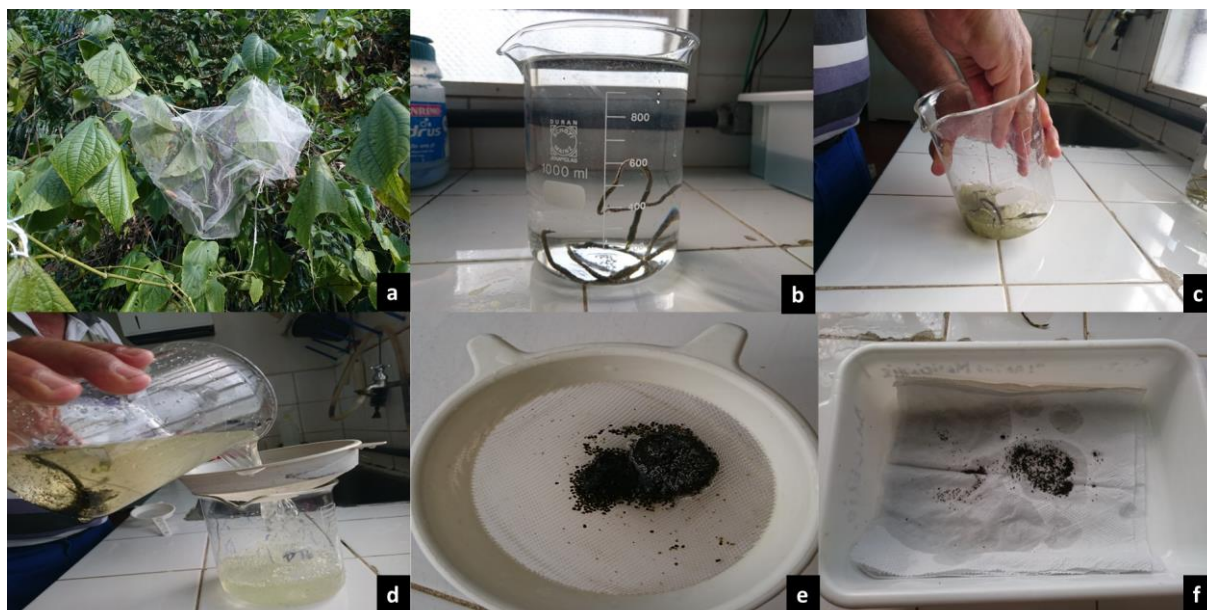


Figura 1: Processo de coleta das espigas e beneficiamento das sementes de *Piper marginatum*. (a) espigas envoltas em sacos de filó; (b) espigas imersas em água por 24h; (c) maceração das espigas com as mãos; (d,e) peneiramento das sementes; (f) secagem das sementes sobre papel toalha, em condições ambiente, por 48h. Foto: Lorena Cabral.

As sementes foram armazenadas em frascos de vidros, envoltos em papel alumínio, e transportadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas, onde foi conduzido o experimento.

Para a desinfestação superficial das sementes, as mesmas foram lavadas em água corrente com detergente comercial. Em seguida, foram submersas em fungicida Benomil, a 0,1 %, com agitação, durante duas horas. Logo após, em câmara de fluxo laminar horizontal, foram submersas em álcool a 70%, por 5 minutos, e por fim em hipoclorito de sódio a 9%, por 30 minutos. Após cada imersão nas substâncias assépticas descritas foi feita uma tríplice lavagem com água destilada e autoclavada.

As sementes foram semeadas em placas de *petri* contendo água solidificada com ágar a 6 g.L⁻¹. Depois, visando proporcionar diferentes qualidades de luz, as placas de *petri* foram revestidas com diferentes filtros, compostos por duas folhas de papel celofane com a cor correspondente ao tratamento, com exceção do filtro vermelho extremo que foram utilizadas uma folha vermelha e outra azul. Os filtros utilizados foram: luz azul, com reflexão máxima de 450 nm; luz verde, com reflexão máxima a 500 nm; luz vermelha, com reflexão máxima a 700

nm; luz vermelho-extremo, com reflexão máxima a 730 nm; e luz branca (transparente, testemunha), quase sem reflexão na região visível (Fig. 2). As contagens da germinação foram diárias, sempre no mesmo horário, feitas dentro de uma sala escura, sob luz de segurança verde, com auxílio de lupa eletrônica, pelo período de 45 dias.



Figura 2: Placas de *petri* contendo as sementes de *Piper marginatum* cobertas com os filtros, confeccionados com papel celofane duplo.

As placas, com os diferentes filtros de luz, foram acondicionadas em prateleiras, instaladas em sala com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. A fonte de luz foi proveniente de lâmpadas fluorescentes posicionadas acima das prateleiras.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, constituído por cinco tratamentos (filtro de luz), com quatro repetições, cada uma composta por 25 sementes. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão da raiz primária, com aproximadamente 2mm de comprimento. As variáveis analisadas foram:

Germinação: a coleta de dados foi realizada no quadragésimo quinto dia após a semeadura, último dia de experimento, expressos os resultados em porcentagem média com base no número de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Tempo médio de germinação: calculado através das contagens diárias das sementes germinadas até o quadragésimo quinto dia após a semeadura, através da formula abaixo, conforme LABOURIAU (1983).

$$TMG = \frac{\sum(ni \cdot ti)}{\sum ni}$$

Onde:

TMG = tempo médio de germinação (dias);

ni = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem;

ti = tempo decorrido entre o início da germinação e a i-ésima contagem.

Índice de velocidade de germinação: obtido pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de MAGUIRE (1962).

$$I.V.G = \left(\frac{G_1}{N_1}\right) + \left(\frac{G_2}{N_2}\right) + \dots + \left(\frac{G_n}{N_n}\right)$$

Onde:

IVG = índice de velocidade de germinação;

G = número de sementes germinadas computadas nas contagens;

N = número de dias da semadura à 1ª, 2ª... enésima avaliação.

Além das descritas, as outras variáveis foram: contaminação por fungo (%) e contaminação por bactéria (%).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F. As médias das variáveis que apresentaram teste F significativo foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Todos os procedimentos estatísticos foram feitos com o programa EXCEL® e ASSISTAT® (SILVA e AZEVEDO, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes, nas condições *in vitro* em que foram semeadas (Fig. 3a), começaram a germinar a partir do décimo dia após a semeadura. Primeiramente ocorre o rompimento do pólo micropilar, causado pela absorção de água pela semente e pelo desenvolvimento do embrião (Fig. 3b). Em seguida houve a protrusão da raiz primária com a nítida presença de numerosas raízes secundárias (Fig. 3c), o mesmo foi observado por VIANNA e AKISUE (1997) e DOUSSEAU et al. (2011) em sementes de *Piper aduncum*. O próximo evento foi a formação do gancho hipocotiledonar (Fig. 3d). À medida que a plântula foi se desenvolvendo, no início os cotilédones ficaram presos no endocarpo (Fig. 3e), de onde, depois, se desprenderam completamente e elevaram-se do substrato, com as folhas cotiledonares expandidas, formando a plântula normal (Fig. 3f). Com este comportamento, a germinação foi classificada como epígea e fanerocotiledonar, o mesmo que foi constado para a germinação de sementes de *Piper aduncum* (DOUSSEAU et al., 2011).

A partir das observações da germinação, pode-se inferir que cada drupa continha apenas um embrião. Este resultado também foi encontrado para outras espécies de piperáceas, como *Piper amalado* var. *medium* (ROSA e SOUZA, 2004) e *Peperomia parnassifolia* (OLIVEIRA et al., 2008). No entanto, ao contrário do observado nesse estudo, DOUSSEAU et al. (2011) relataram ter encontrado até três embriões em cada drupa de *P. aducum*, que originavam uma plântula com tamanho normal e as demais reduzidas.

No presente estudo, todas as sementes que germinaram produziram plântulas normais. Segundo BRASIL (2009), plântulas normais são aquelas que apresentam estruturas essenciais como sistema radicular e parte aérea (hipocótilo, epicótilo, gemas terminais e cotilédones), e demonstram potencial para continuar seu desenvolvimento. Plântulas anormais, ao contrário das primeiras, são aquelas desprovidas de qualquer uma das estruturas essenciais e que não

demonstram potencial para continuar seu desenvolvimento, mesmo submetidas às condições favoráveis.

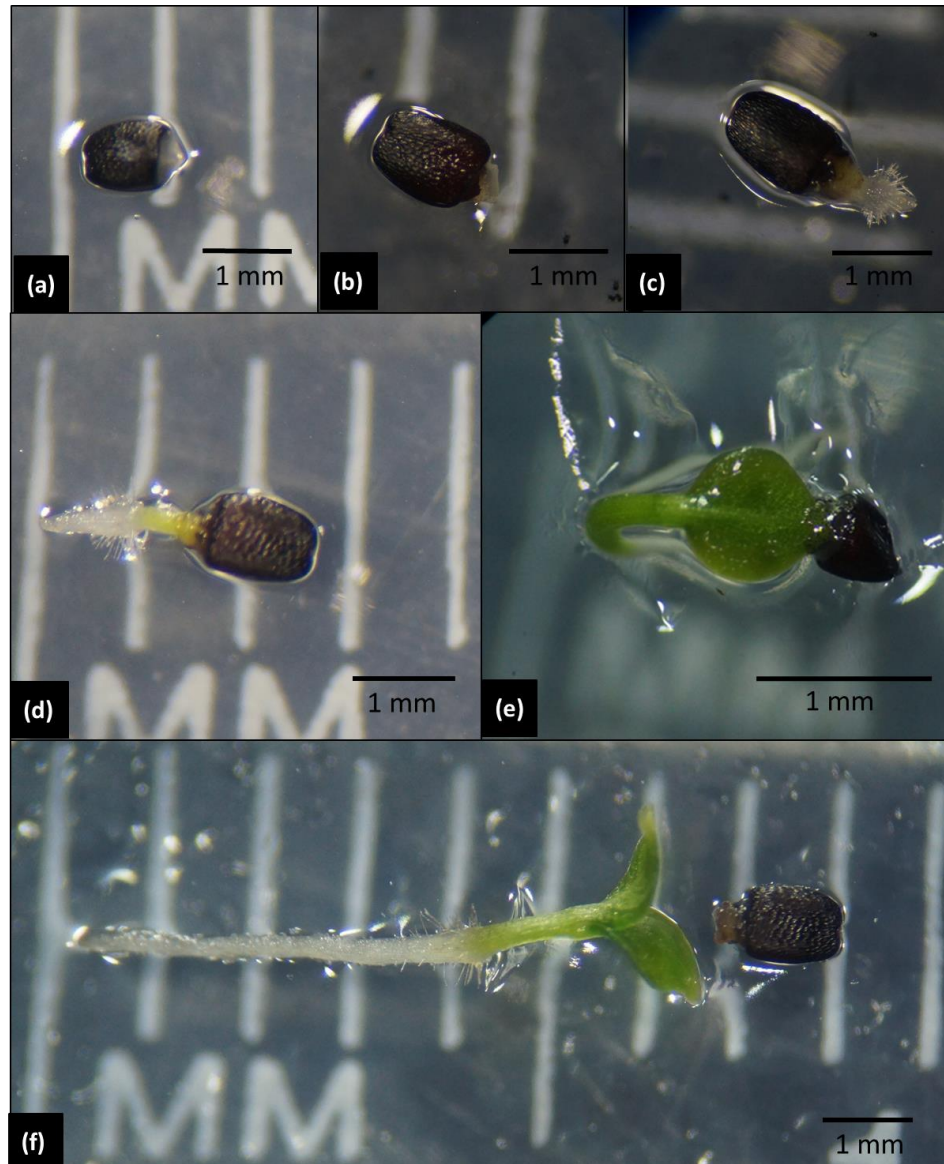


Figura 3: Sequência do desenvolvimento da plântula de *Piper*: (a) semente colocada para germinar em água solidificada com ágar; (b) ruptura do endocarpo e emissão da raiz primária; (c) plântula na fase inicial de desenvolvimento, com profusão de raízes secundárias; (d) plântula com a formação do gancho hipocotiledonar; (e) Plântula prestes a liberar o endocarpo e; (f) Plântula considerada normal. Foto: Lorena Cabral.

O protocolo utilizado por CAVALCANTE et al. (2002), para assepsia de semente de *Piper hispidinervum*, também se mostrou eficiente para sementes de *Piper maginatum*, pois apenas 5,2 % do total de sementes colocadas para germinar foram contaminadas por fungos e

2,2% por bactérias, aparentemente de forma aleatória no experimento. EFFEGEM et al. (2014) utilizando as mesmas substâncias assépticas também obtiveram resultados satisfatórios no controle de contaminação de sementes de *Piper nigrum*.

Vários autores relataram sucesso na assepsia de sementes de espécies de Piperaceae utilizando apenas imersão em álcool 70% e depois imersão em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, como YESPES (2007) trabalhando com *Pothomorphe umbellata*, VALLE (2003) com *Piper hispidinervum*, MOURA et al. (2008) com *Piper nigrum* e DELGADO-PAREDES et al. (2012) com *P. marginatum*. Pelos valores de germinação (Tabela 2), supõe-se que o método utilizado para assepsia não ocasionou danos às sementes que comprometessem sua viabilidade.

Os diferentes filtros de luz não influenciaram a germinação e sim o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação (TMG) (Tabela 1). Apesar da germinação não ter apresentado diferenças significativas em relação aos filtros de luz, observou-se variação considerável das médias dos tratamentos: 85% (mínimo) para a luz transparente e 96% (máximo) para o filtro vermelho (Tabela 2). A média do experimento, como um todo, foi igual a 92,4% de germinação.

TOLEDO et al. (1993), avaliando o processo germinativo de *Xanthium strumarium*, verificaram os mesmos reduziram a germinabilidade em mais 50%, em relação ao transparente (testemunha), sem apresentarem diferença entre eles. FERRARESI et al. (2009), trabalhando com *Murdannia nudiflora*, também constatou essa diminuição de germinabilidade ao fazer a mesma filtragem de luz, sendo o transparente, novamente, o tratamento com melhor desempenho. Então, é possível inferir que existem sementes que possuem um fotoblastismo preferencial o que não foi encontrado em sementes de *P. marginatum*, pelo fato da germinação ter sido estatisticamente igual para todos os filtros testados. A luz tem sido considerada essencial para a germinação de sementes pequenas, como de plantas pioneiras, que em geral

possuem poucos tecidos de reserva, fazendo com que para sua sobrevivência, elas precisem estar sobre ou próxima da superfície do solo, onde chegam mais raios solares (MEROTTO JUNIOR et al., 2002; VIVIAN et al., 2008).

Tabela 1 – Quadrados médios das análises de variância da germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) em relação aos filtros de luz utilizados na geminação *in vitro* de sementes de *Piper marginatum*.

Fonte de variação	G. L.	Quadrados médios		
		GER	IVG	TMG
Tratamentos	4	97,200 ^{ns}	0,800**	12,325 [*]
Resíduo	15	35,733	0,015	2,770
C. V. (%)		6,47	10,24	7,86

* e ** significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; ^{ns} não significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.

O maior valor numérico do IVG foi para o filtro vermelho, porém não diferiu estatisticamente dos filtros vermelho extremo e azul, mas foi superior ao filtro verde e ao transparente. Os filtros vermelho extremo, verde, azul e transparente não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 2). Com o aumento no IVG das sementes, constatou-se diminuição no tempo médio de germinação e vice-versa. Sob a luz vermelha onde foi alcançado o maior IVG (1,38) obteve-se o menor tempo médio de germinação (18,68 dias); onde os IVG foram menores, luz transparente (1,05) e luz verde (1,10), os tempos médios de germinação foram maiores (22,48 e 22,96 dias, respectivamente). Esses resultados concordam com BASKIN e BASKIN (1998), que afirmam que grande parte das sementes de espécies que possuem esse tipo de resposta à qualidade de luz, não passou pelo processo de domesticação, como é o caso de *P. marginatum*.

Tabela 2 - Germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) em função da sementeira *in vitro* de *Piper marginatum* sob diferentes filtros de luz.

Filtro de luz	GER	IVG	TMG
Transparente (quase sem reflexão na região visível)	85 a	1,05 b	22,48 a
Azul (reflexão máxima de 450 nm)	94 a	1,19 ab	21,60 ab
Verde (reflexão máxima de 500 nm)	90 a	1,10 b	22,96 a
Vermelho (reflexão máxima de 700 nm)	96 a	1,38 a	18,68 b
Vermelho extremo (reflexão máxima de 730 nm)	97 a	1,30 ab	20,16 ab

Médias seguidas da mesma letra, na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Supõe-se que esse aumento no IVG induzido pela luz vermelha e vermelho-extremo ocorreu pelo fato de uma das características inerentes das sementes fotoblásticas positivas é de necessitarem de um elevado limiar de Fve para germinarem. Se dentro das sementes a quantidade desse fitocromo for insuficiente, é necessário que se exponha as sementes à luz vermelho-extremo para atingir uma quantidade satisfatória, promovendo assim a germinação (TAKAKI et al., 1983).

Segundo VIDAVER (1980) e TAIZ e ZEIGER (2009), a incidência de luz nas sementes no comprimento de onda vermelho-extremo, deveria impedir a germinação, uma vez que faz com que o fitocromo se converta na forma inativa fve. Esse efeito não foi notado nesse trabalho, uma vez que a diferença no comprimento de onda dos filtros não influenciou na germinabilidade das sementes, sendo todas as médias iguais estatisticamente (Tabela 2).

REBOUÇAS e SANTOS (2007), submetendo sementes de *Melocactus conoideus* a diferentes espectros de luz, obtiveram os maiores resultados de germinabilidade quando usaram a luz vermelho extremo, no entanto o IVG foi o influenciado negativamente, tendo o pior valor de todos os filtros testados.

O filtro transparente foi o que proporcionou os piores resultados para todas as variáveis consideradas. Isso foi contrário ao resultado encontrado por BERGO *et al.* (2010), que avaliando a germinação de *Piper hispidum* e *Piper aduncum*, sob influência da luz branca, obtiveram os melhores resultados de IVG e germinabilidade.

CONCLUSÕES

A germinação das sementes de *Piper marginatum* não foi influenciada significativamente pela qualidade de luz. Porém, o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação (TMG) apresentaram os melhores resultados quando sob a luz vermelha e, essas variáveis, foram inversamente associadas, ou seja, quanto maior o IVG menor o TMG e vice-versa.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pelo apoio institucional; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de mestrado; e ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas, pela concessão da estrutura física e disponibilização de materiais para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

BATISTA, A.C. **Ambientes, embalagens e épocas de armazenamento na qualidade fisiológica de sêmenes de *Piper marginatum* e *Piper tuberculatum***. 2015. 120f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds: ecology, Biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 666p, 1998.

BERGO, C.L. **Estudos agronômicos e fitoquímicos de *Piper hispidinervum* C.DC. e *Piper aduncum* L. para produção de safrol e dilapiol.** 2010. 138f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná.

BRANCALION, P.H.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R.; CHAMMA, H.M.C.P. Efeito da luz e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Heliocarpus popayanensis* L. **Revista Árvore**, v.32, n. 2, p. 225-232, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622008000200005&script=sci_abstract&tlng=pt. Acessado em 25 de agosto de 2016. doi: 10.1590/S0100-67622008000200005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes.** Brasília: Secretaria de defesa agropecuária, 2009. 399p.

CASAL, J.J.; SÁNCHEZ, R. Phytochromes and seed germination. **Seed Science Research**, v.8, p. 317-329, 1998. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02506854>. Acessado em 27 de agosto de 2016. doi: 10.1007/BF02506854

CAVALCANTE, M.J.B. (Ed). **Cultivo da pimenta longa (*Piper hispidinervum*) na Amazônia Ocidental.** Rio Branco: Embrapa, 2002. 29p.

CHAVES, F.C.M.; CUNHA, A.L.B; BATISTA, A.C.; HIDALGO, A.F. Caracterização e germinação de sementes de *Piper hispidum* Sw., *Piper marginatum* Jacq. e *Piper tuberculatum* Jacq., 2014, Manaus, AM. **Anais...** III Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, Santos, São Paulo - SP. Disponível em: [file:///C:/Users/loren/Downloads/ResumoCBRG-752%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/loren/Downloads/ResumoCBRG-752%20(2).pdf). Acessado em 23 de agosto de 2016. ISBN 978-85-66836-07-3

DELGADO-PARÉDES, G.E.; KATO, M.J.; VÁSQUEZ- DUEÑAS, N.; MINCHALA-PATÍÑO, J.; ROJAS-IDROGO, C. Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): propagation, organogênese y conservation de germoplasma *in vitro*. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v.14, n.2, p. 49-60, dez. 2012. Disponível em: <http://www.redalyc.org/pdf/776/77625401006.pdf>. Acessado em: ISSN 0123-3475

DOUSSEAU, S.; ALVARENGA, A.A.; ALVES, E.; CHAVES, I.S.; SOUZA, E.S.; ALVES, J.S. Physiological, morphological and biochemical characteristics of the sexual propagation of *Piper aduncum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.34, n.3, p.297-305, jul/set 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042011000300005. Acesso: 15 de outubro de 2016. doi: 10.1590/S0100-84042011000300005

EFFEGEM, C.; GONTIJO, A.B.P.L.; CAMPANHARO, A.; GONTIJO, I. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, p.1221-1228, jul. 2014. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/AGRARIAS/Desinfestacao.pdf>. Acesso em 15 de outubro de 2016.

FERRARESI, D.A.; YASHAMITA, O.M.; CARVALHO, M.A.C. Superação de dormência e qualidade de luz na germinação de sementes de *Murdannia nudiflora* (L.) Brenans. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.126-132, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222009000400015&script=sci_abstract&tlng=pt. Acessado em 15 de outubro de 2016. doi: 10.1590/S0101-31222009000400015.

KULKAMI, M.G.; SPARG, S.G.; STADEN, J. V. 2006. Dark conditioning, cold stratification and a smoke-derived compound enhance the germination of *Eucomis autumnalis* sbsp. *autumnalis* seeds. **South African Journal of Botany**, v.72, n.1, p. 157-162, fev. 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629905000189>. Acessado em 13 de outubro de 2016. doi: 10.1016/j.sajb.2005.06.006

LABOURIAU, L. G. A germinação das sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n. 1, p.176-177, jan/feb, 1962. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176>. Acessado em: 23 de outubro de 2016.

MENEZES, N.L.; FRANZIN, S.M.; ROVERSI, T.; NUNES, E.P. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p. 32-37, 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222004000100005.

Acessado em 15 de outubro de 2016. doi: /10.1590/S0101-31222004000100005.

MEROTTO JUNIOR, A.; VIDAL, R.A.; FLECK, N.G.; ALMEIDA, M.L. 2002. Interferência das plantas daninhas sobre o desenvolvimento inicial de plantas de soja e arroz através da qualidade da luz. **Planta Daninha**, v.20, n.1, p.9-16, 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0100-83582002000100002&lng=pt&nrm=iso. Acessado em 30 de agosto de 2016. doi: 10.1590/S0100-83582002000100002.

MOURA, E.F.; MENEZES, I.C.; LEMOS; O.F. Concentrações de citocinina e carvão ativado na micropropagação de pimenta-do-reino. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p. 72-76, jan/fev. 2008. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000100012. Acessado em 13 de outubro de 2016. doi: 10.1590/S0103-84782008000100012.

NOVO, E.M. 2010. **Sensoriamento Remoto: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Blucher, 2010, 387p.

OLIVEIRA, J.H.G.; SOUZA, L.A. IWAZAKI, M. Estruturas de reprodução de *Peperomia parnassifolia* Miq. (Piperaceae). **Acta Scientiarum**, v.30, n. 1, p.1-7, 2008. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/1401/872>. Acessado em 14 de outubro de 2016. doi: 10.4025/actascibiolsci.v30i1.1401.

REBOUÇAS, A.C.M.N.; SANTOS, D.L. Influência do fotoperíodo e qualidade de luz na germinação de sementes de *Melocactus conoideus* (Cactaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.2, p.900-902, jul. 2007. Disponível em: www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/download/740/621. Acessado em 13 de outubro de 2016.

ROSA, S.M.; SOUZA, L.A. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *médium* Linnaeus (Piperaceae). **Científica Venezolana**, v.55, n.1, p. 27-34, 2004. Disponível em: http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-55042004000100004&lng=es&nrm=iActa. Acessado em 25 de agosto de 2016.

SILVA, F.A.S; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.39, p. 3733-3740, set. 2016. Disponível em: <http://www.assistat.com/indexp.html>. Acessado em 20 de outubro de 2016. doi: 10.5897/AJAR2016.11522.

Smith, H. The perception of light quality. In. Kendrik, R. E.; Kronenberg (eds.). **Photomorphogenesis in plants**, Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986, p. 187-210.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TAKAKI, M.; HEERINGA, G.H.; CONE, J.W.; KENDRICK, R.E. Analysis of the effect light and temperature on the fluence response curves for germination of *Rumex obtusifolius*. **Plant Physiology**, v.77, p.731-734, 1984. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1064592/pdf/plntphys00585-0231.pdf>. Acessado em 27 de outubro de 2016.

TAKAKI, M. New proposal of classification of seed based on forms of phytochrome insted of photoblastism. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 103-107, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfv/v13n1/9277.pdf>. Acessado em 20 de agosto de 2016. doi: 10.1590/S0103-31312001000100011.

TOLEDO, R.E.B.; KUVA, M.A. ALVES, P.L.C.A. Fatores que afetam a germinação e a emergência de *Xantium strumarium* L.: Dormência, qualidade de luz e profundidade de semeadura. **Planta daninha**, v.11, n. 1-2, p.15-20. 1993. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pd/v11n1-2/a03v11n1.pdf>. Acessado em 13 de outubro de 2016. doi: 10.1590/S0100-83581993000100003.

VALLE, R.C.S.C. **Estratégias de cultivo de células de pimenta longa (*Piper hispidinervium*) e determinação de parâmetros cinéticos**. 2003. 165f. Tese (Doutorado em

engenharia química) – Curso de Pós-graduação em engenharia química, Universidade Federal de Santa Catarina.

VIANNA, W.O.; AKISUE, G. Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L. **Lecta**, v.15, n.1-2, p.11-62, 1997. Disponível em: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-280208>. Acessado em 13 de setembro de 2016.

VIDAVER, W. Light and seed germination. In. **The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination** (A. A. Khan, ed.). New York: North-Holland Publishing Company, p.181-192, 1980.

VIVIAN, R.; SILVA, A.A.; GIMENES, Jr., M.; FAGAN, E.B.; RUIZ, S.T.; LABONIA, V. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência – breve revisão. **Planta Daninha**, v.26, n.3, p.695-706, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pd/v26n3/a26v26n3.pdf>. Acessado 23 de outubro de 2016. doi: 10.1590/S0100-83582008000300026

YESPEZ, C.C.B.; TEJADA, E.C.S.; LIMA, G.P.P. 2007. Micropropagación de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. vía organogénesis direta. **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, v.12, n. 4, p.1-12, out-dez. 2007. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v12n4/pla06407.pdf>. Acessado 23 de outubro de 2016.

5. Capítulo II

Manuscrito formatado para *Pesquisa Agropecuária Brasileira*

Enraizamento em função do sombreamento e do tipo de estaca de capeba (*Piper marginatum* Jacq.)

Lorena de Paula Cabral ⁽²⁾, Sidney Alberto do Nascimento Ferreira⁽³⁾, Eva Maria Alves

Cavalcante Atroch⁽⁴⁾, André Luiz Borborema da Cunha⁽⁵⁾ Francisco Célio Maia Chaves⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Extraído da Dissertação de Mestrado apresentada pela primeira autora ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Tropicó Umidado, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). ^(2,3) INPA, Coordenação de Biodiversidade, Avenida Rodrigo Otávio, nº 35, CEP 69.080-971, Manaus, AM, Brasil. E-mail: lorena.de.paula.cabral@hotmail.com, sanf@inpa.gov.br ⁽⁴⁾ Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Rodrigo Otávio, nº 6200, Setor Sul, CEP 69.080-900, Manaus, AM, Brasil. E-mail: eatroch@hotmail.com. ^(5,6) Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-010, km 29, s/n, CEP 69.010-970, Manaus, AM, Brasil. E-mail: andre_am10@hotmail.com, celio.chaves@embrapa.br.

Resumo

A capeba (*Piper marginatum* Jacq.), pertencente à família Piperaceae, é uma planta amazônica utilizada para fins fitoterápicos. Este trabalho objetivou avaliar a propagação via estaquia da espécie em função do nível de sombreamento da planta matriz e do tipo de estaca. O experimento foi instalado em casa de vegetação, com sistema de irrigação por nebulização, na cidade de Manaus/AM (2°53'18.5"S e 59°58'08.9"W). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 2 x 3, com 4 repetições de 12 estacas, sendo 2 tipos de sombreamento da planta matriz (pleno sol e sombreamento de 50%) e 3 tipos de estacas (apical, mediana e basal). As estacas foram mantidas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células durante 60 dias. As variáveis analisadas foram: sobrevivência (%); enraizamento (%); número médio de brotações; número médio de folhas; comprimento médio da maior raiz (cm); massa seca média da raiz (g) e massa seca média das brotações (g). Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando o teste F foi significativo, as médias dos tratamentos foram submetidas ao teste Tukey a 5% de probabilidade. Estacas apicais apresentaram o melhor desempenho para todas as variáveis analisadas, seguidas das basais e por fim as medianas, independente do sombreamento das plantas matrizes.

Termos para indexação: Piperaceae, *Piper marginatum*, planta medicinal, propagação, estaquia.

Abstract:

The capeba (*Piper marginatum* Jacq.), belonging to the family Piperaceae, is an amazonian plant used for the purpose of medicine. The objective of this work was to test the propagation via cutting of the species according to the type of shading of the matrix plant and the types of cuttings. The experiment was carried out in a greenhouse with a nebulization irrigation system, in the city of Manaus / AM (02° 53 '28,7 "S and 59° 58' 15,3" W). It was used a completely randomized design, in a 2 x 3 factorial scheme, with 4 replications of 12 stakes, 2 types of shading of the matrix plant (full sun and 50% shading) and 3 types of cuttings (apical, median and basal). The stakes were maintained in 72 cell expanded polystyrene trays for 60 days. The variables analyzed were: survival (%); Rooting (%); Average number of shoots; Average number of leaves; Average length of the largest root (cm); Mean dry mass of the root (g) and average dry mass of the shoots (g). The data were submitted to analysis of variance and, when the F test was significant, the means of the treatments were submitted to the Tukey test at 5% of probability. Apical cuttings obtained the best performance for all analyzed variables, followed by basal and finally medium ones, regardless of the shading of the matrix plants.

Index terms: Piperaceae, *Piper marginatum*, medicinal plant, propagation, cutting.

Introdução

A Amazônia possui uma rica biodiversidade florística, com as mais diversas aplicações como, por exemplo, cosmética, madeireira, óleos essenciais, alimentícia e medicinal, que têm grande importância cultural para as populações tradicionais da região. Apesar dessa enorme quantidade de espécies, ainda são poucas as que foram estudadas cientificamente, principalmente com respeito as suas características agronômicas, ou silviculturais. Conhecer os métodos de propagação de uma espécie nativa um dos passos iniciais para a domesticação da mesma, o que possibilita a sua utilização de forma sustentável, protegendo populações de ocorrência natural de coletas excessivas (Tombolato et al., 2004).

Piper marginatum Jacq. é uma Piperaceae amazônica popularmente conhecida por capeba, malvarisco, pimenta-do-mato, capeba-cheirosa e nhandi. É utilizada como fitoterápico contra doenças hepáticas, vesiculares, espasmos musculares, picadas de cobras e de insetos e para alívio de gases intestinais (Maia et al., 2001; Chaves et al., 2006). Na culinária pode ser utilizada para substituir a pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) (Guimarães & Giordano, 2004). Estudos demonstram que o extrato da folha e o óleo essencial possuem atividades biológicas como cercaricida (Frischkorn, 1978), inseticida (Coitinho et al., 2010; Coitinho et al., 2011; Mesa et al., 2012), acaricida (Assis et al., 2010) e fungicida (Silva & Bastos, 2007; Araújo et al., 2014).

Na literatura, há relatos de que a propagação sexuada dessa espécie possui algumas limitações. Em geral, as sementes apresentam baixa taxa de germinação, tanto no campo quanto *in vitro* (Delgado-Paredes et al., 2012; Chaves et al., 2014a).

Um método alternativo de propagação dos vegetais é a propagação vegetativa ou assexuada. Seu princípio é baseado na totipotencialidade das células vegetais, ou seja, cada célula viva possui a informação genética necessária para regenerar um novo indivíduo inteiro e independente (Hartmann et al., 2011).

Dentre os métodos de propagação assexuada existentes, a estaquia é considerada a mais popular, por ser de fácil manipulação e de maior viabilidade econômica para estabelecimento de plantios de clones, uma vez que possibilita a manutenção das características genéticas da planta matriz (Paiva et al., 1996; Pinto et al., 2001). As estacas podem ser confeccionadas por segmentos das folhas, caules ou raiz. Geralmente utiliza-se a caulinar, devido ao potencial de regeneração das gemas já existentes e por requerer apenas que se forme um novo sistema radicular adventício (Xavier et al., 2003).

Uma das classificações utilizadas para estacas é feita de acordo com a posição ocupada no ramo de origem, podendo ser apicais (ou terminais), medianas e basais. Estas diferentes posições conferem diferenças principalmente anatômicas e hormonais, que, dependendo da espécie, podem gerar distintos resultados sobre os pegamentos dessas estacas (Dousseau, 2009; Cunha et al., 2015).

Fatores internos e externos influenciam na formação de raízes nas estacas, como idade e condição fisiológica da planta matriz, balanço hormonal, potencial genético, tipo de estaca, época do ano, luminosidade, umidade, temperatura e substrato (Xavier et al., 2009; Hartmann et al., 2011). A luz é fundamental para rizogênese, uma vez que serve de fonte de energia para a fotossíntese. Por outro lado, luminosidade elevada ativa a enzima AIA-oxidase, degradadora de auxinas, reduzindo assim o potencial de enraizamento. Sendo assim, recomenda-se fazer o cultivo das plantas matrizes e condução do enraizamento das estacas sob baixas radiações, principalmente para espécies que apresentam dificuldades de enraizamento (Hartmann et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da combinação de níveis de iluminação da planta matriz com tipos de estaca no enraizamento de estacas de *P. marginatum*, a fim de contribuir com subsídios para a domesticação da espécie.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com sistema de irrigação por nebulização, localizada no Setor de Plantas Medicinais e Hortaliças da Embrapa Amazônia Ocidental, em Manaus - AM (2°53'18.5"S e 59°58'08.9"W). A altitude média é de 50 metros e temperatura média anual de 25,6 °C, com precipitação média de 2.200 mm anual. A coleta de ramos plagiotrópicos, para confecção das estacas, foi realizada em fevereiro de 2016, no período da manhã.

Para o fator sombreamento foram utilizadas plantas matrizes de ocorrência espontânea que apresentavam boa qualidade fitossanitária, sob duas condições de luminosidade: a pleno sol e sombreadas há um ano com telas de polipropileno (Sombrite®) com nível de sombreamento de 50%.

Para o fator posição no ramo, foram confeccionadas estacas basais (diâmetro médio de 9 mm) (Fig. 1A), medianas (diâmetro médio de 6 mm) (Fig. 1B) e apicais (diâmetro médio de 2 mm) (Fig. 1C). Estas possuíam tamanho médio de 10 ± 3 cm, duas gemas e apenas as apicais continham uma folha, reduzida à 1/3 do seu tamanho original. As estacas foram plantadas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células contendo substrato comercial Topstrato®, enterradas até 1/3 do seu comprimento (Fig. 1D).

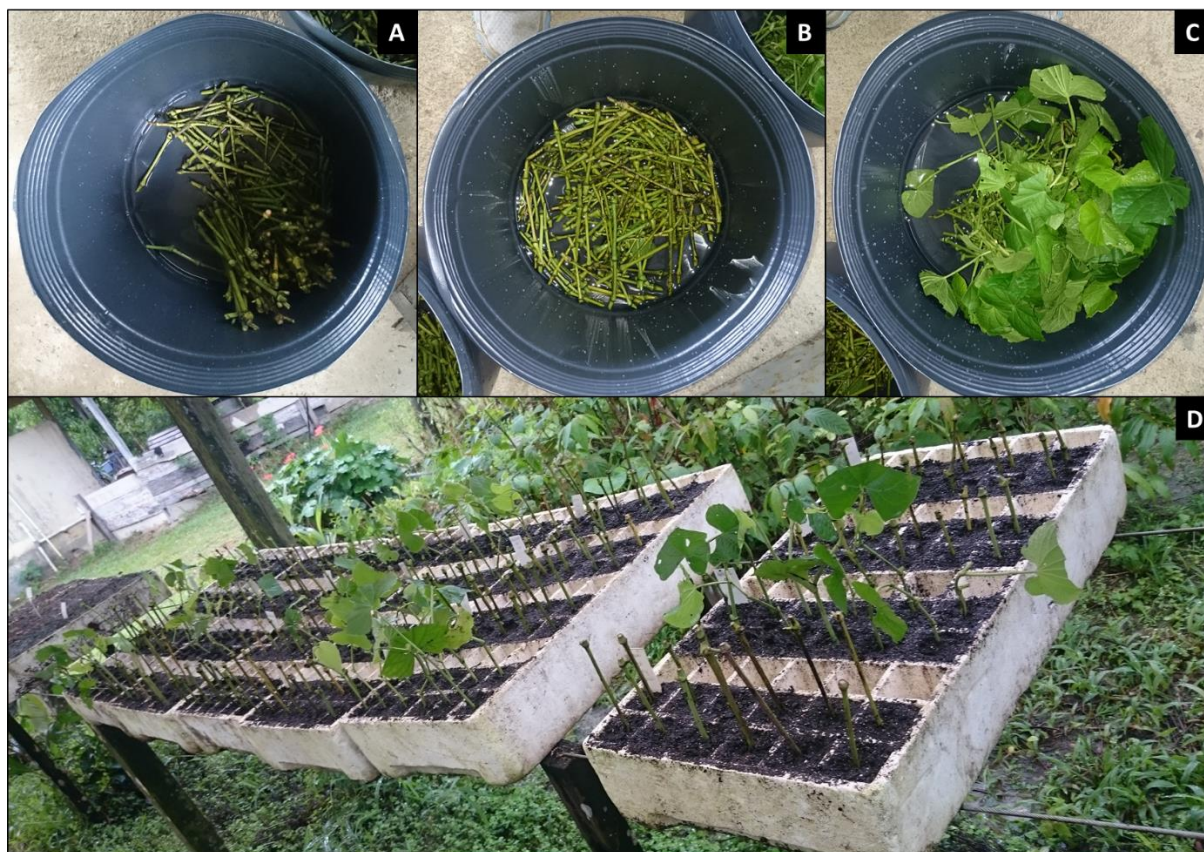


Figura 1: Aspectos das estacas de *Piper marginatum*: (A) basais; (B) medianas; (C) apicais; e (D) em bandejas de poliestireno expandido de 72 células, contendo Topstrato®.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 2 (sombreamento das plantas matrizes: pleno sol e sombreamento de 50%) X 3 (posição da estaca no ramo: apical, mediana e basal), com 4 repetições, cada uma composta por 12 estacas. O experimento teve duração de 60 dias e as variáveis analisadas foram: sobrevivência (%); enraizamento (%); número médio de brotações; número médio de folhas; comprimento médio da maior raiz (cm); massa seca média da raiz (g) e massa seca média das brotações (g). Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando o teste F foi significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Efetuou-se a transformações dos dados a fim de normalizá-los, sendo que para as variáveis oriundas de porcentagem e contagens, utilizou-se $\sqrt{x + 0,5}$ por conter alguns dados nulos e para as

variáveis oriundas de pesagens apenas $\sqrt{x}$. Os dados foram analisados por meio dos programas computacionais Excel® e ASSISTAT® (Silva & Azevedo, 2016).

Resultados e Discussão

Nenhuma das variáveis observadas apresentou efeito significativo quanto ao tipo de sombreamento, enquanto, com exceção do comprimento da maior raiz (CMR), todas foram influenciadas significativamente pelo tipo de estaca (Tabela 1). Por outro lado, apenas a massa seca da raiz (MSR) e a massa seca dos brotos (MSB) apresentaram efeito de interação significativo entre os fatores sombreamento e tipo de estacas.

Não há relatos na literatura sobre o efeito do sombreamento da planta matriz no enraizamento de estacas de *P. marginatum*. O resultado aqui alcançado diverge do encontrado por Costa Junior et al. (2003), que trabalhando com duas cultivares de goiabeira (*Psidium guajava* L.), Rica e Kumagai, observaram que plantas matrizes com sombreamento de 30%, apresentaram maior porcentagem de enraizamento, em relação as mantidas a pleno sol. Os mesmos inferiram que isto estaria relacionado à concentrações maiores de auxinas endógenas nos ramos, estimuladas pelo sombreamento. Schwengber et al. (2009), trabalhando com araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine), espécie do mesmo gênero da goiaba, não encontraram efeito significativo quanto aos níveis de sombreamento testados, no enraizamento de estacas.

Tabela 1 – Quadrados médios das análises de variância para sobrevivência (SOB), enraizamento (ENR), número médio de brotações (NB), número médio de folhas (NF), comprimento médio da maior raiz (CMR), massa seca média das raízes (MSR), massa seca média das brotações (MSB), referentes a combinação de dois tipos de sombreamento da planta matriz com três tipos de estacas de *Piper marginatum*.

Fonte de variação	G. L.	Quadrados médios						
		SOB	ENR	NB	NF	CMR	MSR	MSB
Sombreamento (S)	1	3,458 ^{ns}	3,946 ^{ns}	0,008 ^{ns}	0,069 ^{ns}	0,836 ^{ns}	0,000 ^{ns}	0,001 ^{ns}
Estacas (E)	2	32,064**	38,771**	0,179**	0,192**	0,852 ^{ns}	0,009**	0,106**
Interação (S x E)	2	0,114 ^{ns}	0,443 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,217 ^{ns}	0,845 ^{ns}	0,001*	0,008*
Tratamentos	5	13,563**	16,475**	0,074**	0,099**	0,526 ^{ns}	0,004**	0,046**
Resíduo	18	1,112	1,785	0,006	0,020	0,385	0,000	0,002
C. V. (%)		15,02	20,14	7,56	12,12	19,10	20,66	20,71

* e ** significativos a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; ^{ns} não significativos a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Independente da combinação de estacas apicais ou medianas, de plantas matrizes sombreadas ou a pleno sol, estas não produziram valores diferentes estatisticamente de massa seca média das brotações (MSB) e nem de massa seca média das raízes (MSR), diferentemente de quando foram usadas estacas basais, que tiveram o pior desempenho nas duas variáveis quando provenientes de matrizes sombreadas (Tabela 2).

Tabela 2 – Massa seca média das brotações e massa seca média das raízes, em função da interação entre os fatores sombreamento e tipo de estaca, referentes a estaquia de *Piper marginatum*.

Fatores	Massa seca das brotações (g)		Massa seca das raízes (g)	
	Pleno sol	Sombreamento 50%	Pleno sol	Sombreamento 50%
Apical	0,134 aA	0,131 aA	0,011 aA	0,011 aA
Mediana	0,017 aC	0,031 aB	0,001 aC	0,003 aB
Basal	0,046 aB	0,022 bB	0,004 aB	0,002 bB

Para cada variável, as médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e mesma letra maiúscula na vertical não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Era esperado que o sombreamento das plantas matrizes influenciasse positivamente o enraizamento das estacas, uma vez que o sombreamento provoca o estiolamento das plantas, fazendo com que ocorram alterações nas quantidades de carboidratos, compostos fenólicos e dos reguladores de crescimento, principalmente a auxina, presentes no caule e nas folhas de maneira a aumentar o potencial do enraizamento (Voltolini, 1996; Casa Grande Junior et al., 1999; Hartmann et al., 2011).

Casa Grande Junior et al. (1999) estudando a influência de três níveis de sombreamento (30, 50 e 70%) sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine), observaram que o aumento da intensidade de sombreamento provocou elevação dos teores de amido e redução dos teores dos compostos fenólicos nas folhas e nos caules. Com o aumento no teor de amido, que é uma substância de reserva, espera-se que estacas sombreadas tenham maior capacidade de enraizamento e resistência quando submetidas às condições adversas. Voltolini (1996), também trabalhando com araçazeiro, conseguiu maior porcentagem de estacas enraizadas, raízes mais numerosas e compridas além da redução da mortalidade, quando utilizou material sombreado. Já a diminuição dos compostos fenólicos

facilita o enraizamento, pois quando estes compostos entram em contato com o oxigênio, sofrem oxidação causando necrose nos tecidos (Casa Grande Junior et al., 1999).

Os resultados encontrados nesse trabalho, quando usadas estacas basais provenientes de matrizes sombreadas ou à pleno sol, diferem dos autores acima citados. É possível que nas estacas basais a emissão de raízes seja prejudicada fisicamente pela lignificação, que constitui uma verdadeira barreira física e também quimicamente, pois a peroxidase, enzima responsável pela síntese de lignina, degrada a auxina, baixando assim sua concentração, diminuindo a quantidade das raízes e consequentemente prejudicando o desenvolvimento de sua parte aérea (Taiz & Zeiger, 2009). No entanto, existem espécies como a hortências [*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.], que mesmo se tratando de um arbusto semi-lenhoso, conseguem obter melhores resultados de enraizamento e qualidade de raízes, quando usadas estacas basais (Luz et al., 2007).

De um modo geral, as estacas apicais proporcionaram os melhores resultados nas diversas variáveis, seguidas das basais e, por fim, as medianas (Tabela 3). É comum que estacas oriundas de diferentes porções da planta possuam características fisiológicas e anatômicas distintas, que podem induzir diferentes respostas em relação aos fatores que afetam a rizogênese (Dousseau, 2009). Órgãos que estão em pleno crescimento ativo apresentam maiores concentrações de auxinas (e. g., ácido indolacético), o que faz com que estacas de diferentes idades apresentem taxas variáveis de enraizamento (Neves et al., 2006).

Tabela 3 - Médias da sobrevivência (SOB), porcentagem de enraizamento (ENR), número de brotações (NB), número de folhas (NF) e comprimento médio da maior raiz (CMR), em relação aos níveis do fator tipo de estaca de *Piper marginatum*.

Tipo de estaca	SOB (%)	ENR (%)	NB	NF	CMR (cm)
Apical	83,33 a	81,25 a	0,98 a	1,22 a	11,69 a
Mediana	27,08 c	23,96 b	0,31 c	0,51 b	8,50 a
Basal	46,87 b	39,58 b	0,57 b	0,94 a	11,19 a

Médias seguidas da mesma letra, na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As estacas apicais foram as únicas confeccionadas com uma folha reduzida a 1/3 do seu tamanho original. A biossíntese do ácido indol-3-acético (AIA), principal auxina encontrada naturalmente nas plantas, está associada aos tecidos com rápida divisão celular e crescimento, especialmente nas partes aéreas. Mesmo que todos os tecidos vegetais sejam capazes de produzir níveis baixos de AIA, os meristemas apicais de caules e folhas jovens são os principais locais de síntese desse hormônio, que em altos níveis, estimula a iniciação de raízes laterais (ramificadas) e raízes adventícias. (Ljung et al., 2001; Taiz & Zeiger, 2009). O efeito da presença de folhas no enraizamento também está relacionado à translocação de carboidratos para a base da estaca e à regulação do estado hídrico da estaca (Oliveira et al., 2001; Ahkami et al., 2009).

Como o transporte de auxina na planta é feito principalmente em sentido basípeto, ou seja, das extremidades apicais para as basais (Taiz & Zeiger, 2009), é normal que as concentrações desse hormônio variem de acordo com os tipos de estacas, sendo mais concentrado naquelas retiradas de locais mais próximos aos ápices dos ramos e menos concentradas naquelas retiradas mais próximas da base. O mesmo acontece com outras substâncias promotoras e inibidoras de enraizamento adventício (Gontijo et al., 2003). Sendo assim, era esperado que as estacas apicais tivessem maiores médias de enraizamento, o que foi encontrado nesse trabalho, onde 81,25% enraizaram. No entanto, seguindo esse raciocínio, as

estacas basais (39,58%) deveriam ter o pior desempenho, porém, apesar de estatisticamente serem iguais, as menores médias pertenceram às estacas medianas (23,96%).

Cunha et al. (2015) avaliando o enraizamento de diferentes tipos de estacas de *Piper hispidum*, combinados com diferentes tipos de substratos, obtiveram resultados semelhantes, onde estacas apicais (85,67%) apresentaram as maiores médias de enraizamento, mas foram estatisticamente iguais as medianas que obtiveram baixos índices de enraizamento, com apenas 53,87%. Os autores atribuíram esses valores das estacas basais ao fato de apresentarem constituição semilenhosa, devido a maior maturidade dos tecidos, proporcionando, assim, maior capacidade de disponibilizar os carboidratos necessários para o crescimento das raízes e brotações, reforçando o que foi mencionado no início da discussão. É importante enfatizar que o papel destes carboidratos é de permitir a sobrevivência das estacas durante todo o processo e não como regulador na formação de raízes.

Para o número de brotações, as estacas apicais obtiveram a maior média (0,98), no entanto para número de folhas, essas não diferiram estatisticamente das estacas basais. As estacas medianas obtiveram pior desempenho para ambas as variáveis. Este resultado contrário ao de Pio et al. (2006), onde afirmaram que quando se retira a gema apical, há uma quebra da dominância apical, estimulando assim a ativação das gemas laterais para o lançamento das brotações e conseqüentemente, há um aumento no número de folhas. Porém, é importante salientar que esse resultado pode ser consequência dos baixos níveis de enraizamento e sobrevivências dos demais tipos de estacas, diminuído conseqüentemente os números médios de brotações e números médios de folhas.

Conclusões

As estacas apicais de *Piper marginatum* apresentaram melhor desempenho na propagação por estaquia, seguidas das basais e, por fim, medianas, as quais, em geral, independem do sombreamento da planta matriz.

Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pelo apoio institucional; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de mestrado; e à Embrapa Amazônia Ocidental, pela concessão de logística e de estrutura para realização da pesquisa.

Referências

- ARAÚJO, E.R.; HARAND, W.; LIMA, I.C.; DIAS, F.C.R.; SANTANA, A.D.; CARVALHO, R.R.C.; LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.2, p.88-94, 2014.
- AHKAMI, A.H.; LISCHESKI, S.; HAESCH, K.T.; PORFIROVA, S.; HOFMANN J.; ROLLETSCHEK, H.; MELZER, M.; FRANKEN, P.; HAUSE, B.; DRUEGE, U.; HAJIREZAEI, M. R. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings; involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, v.181, n.3, p.613-625, 2009.
- ASSIS, C.P.O. **Toxidade de óleos essenciais sobre *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) e *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata)**. 2010. 32p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco.
- CASAGRANDE JUNIOR, J.G; BIANCHI, V.J.; STRELOW, E.Z.; BACARIN, M.A.; FACHINELLO, J.C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em

estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.12, p.2219-2223, 1990.

CHAVES, F.C.M.; CUNHA, A.L.B.; BATISTA, A.C.; HIDALGO, A.F. Caracterização e germinação de sementes de *Piper hispidum* Sw., *Piper marginatum* Jacq. e *Piper tuberculatum* Jacq. em Manaus-AM. In: III Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos. **Anais**. São Paulo, 2014.

CHAVES, M.C.O.; SANTOS, B.V.O.; OLIVEIRA, A.H. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 75-77, 2006.

COITINHO, R.L.B.C.; CASTRO, L.B.; OLIVEIRA, J.V.; GONDIM JR, M.G.C.; CAMARA, C.A.G. Persistence of essential oils in stored maize submitted to infestation of maize weevil. **Ciência Rural**, v.40, p. 1492-1496, 2010.

COITINHO, R.L.B.C.; OLIVEIRA, J.V.; GONDIM JR, M.G.C.; CAMARA, C.A.G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.172-178, 2011.

COSTA JÚNIOR, W.H.; SCAPARE FILHO, J.A.; BASTOS, D.C. Estiolamento da planta matriz e uso de ácido indolbutílico no enraizamento de estacas de goiabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.2, p.301-304, 2003.

CUNHA, A.L.B.; CHAVES, F.C.M.; BATISTA, A.C.; HIDALGO, A.F. Propagação vegetativa de estacas de *Piper hispidum* Sw. em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17, n.4, p.685-692, 2015.

DELGADO-PARÉDES, G.E.; KATO, M.J.; VÁSQUEZ- DUEÑAS, N.; MINCHALA-PATIÑO, J.; ROJAS-IDROGO, C. Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): propagation, organogênese y conservation de germoplasma *in vitro*. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v.14, n.2, p. 49-60, 2012.

DOUSSEU, S. **Propagação, características fotossintéticas, estruturais, fitoquímicas e crescimento inicial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae).** 2009. 129p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FRISCHKORN, C.G.B; FRISCHKORN, H.E. Cercaricidal activity of some essential oils of plants from Brazil. **Naturwissenschaften**, v.65, p. 480-483, 1978.

GONTIJO, T.C.A.; RAMOS, J.D.; MENDONÇA, V.; PIO. R.; ARAÚJO NETO, S.E.; OLIVEIRA CORREA, F.L. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.2, p.290-292, 2003.

GUIMARÃES, E.F.; GIORDANO, L.C.S. Piperaceae do nordeste brasileiro I: Estado do Ceará. **Rodriguésia**, v.55, p. 21-46, 2004.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T.; GENEBE, R.L. **Plant propagation: principles and practices.** Boston: Prentice-Hall, 8.ed, 2011. 915p.

LJUNG, K.; BHALERAO, R.P.; SANDBERG, G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. **Plant**, v.1, n.29, p.465-474, 2001.

LUZ, P.B.; PAIVA, P.D.O; LANDGRAF, P.R.C. Influência de diferentes tipos de estacas e substratos na propagação assexuada de hortências [*Hydrangea macrophylla*] (Thunb.) Ser. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p. 699-703, 2007.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E. H. A. **Plantas aromáticas da Amazônia e seus óleos essenciais.** Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2001. 138p.

MESA, A.M.; TORO, J.F.; CARDONA,F.; BLAIR, S. Actividad antiplasmodial y citotóxica de extractos etanólicos de especies género *Piper*. **Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas**, v.11, p.154-162, 2012.

NEVES, T.S.; CARPANEZZI, A.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; MARENCO, R.A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.12, p.1699-1705, 2006.

OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO, J.F.; RIOS, M.N.S.; REZENDE, M.E. **Enraizamento de estacas para a produção de espécies nativas de matas de galeria**. Brasília: Embrapa cerrados, v.41, 4p. 2001.

PAIVA, H.N.; GOMES, J.M.; COUTO, L.C.; SILVA, A.R. Propagação vegetativa de Eucalyptus por estaquia. **Informativo Agropecuário**, v.18, n.185, p. 23-27, 1996.

PINTO, E.B.P.; LAMEIRA, O.A. SANTIAGO, E.J. DE. SILVA, F.G. **Cultivo de plantas medicinais aromáticas e condimentares**. Lavras: FAEPE1ª ed., 185p. 2001.

SCHWENGBER, J.E.; DUTRA, L.; KERSTEN, E. Efeito do sombreamento da planta matriz e do pvp no enraizamento de estacas de ramos de açazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.6, n.1. p.30-34, 2000.

SILVA, D.M.H.; BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinispellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.143-145, 2007.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016.

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

VOLTOLINI, J.A. **Influência do sombreamento em plantas matrizes de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) para a produção de mudas por estacas**. 1996. 59p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

XAVIER, A.; SANTOS, G.A.; OLIVEIRA, M.L. Enraizamento de miniestacas caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Árvore**, v.27, n.3, p. 351-356, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272p.

6. SÍNTESE

Os resultados evidenciaram que é possível, através da otimização de determinados fatores, tornar mais eficientes diferentes meios de propagação da espécie *Piper marginatum*. Na propagação sexuada, a germinação das sementes de *P. marginatum* não foi influenciada significativamente pela qualidade de luz. Porém, o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação (TMG) apresentaram os melhores resultados quando sob a luz vermelha e, essas variáveis, foram inversamente associadas, ou seja, quanto maior o IVG menor o TMG e vice-versa. Na propagação vegetativa via estaquia convencional, as estacas apicais de *Piper marginatum* apresentaram melhor desempenho, seguidas das basais e, por fim, medianas, as quais, em geral, independem do sombreamento da planta matriz.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahkami, A.H.; Lischewski, S.; Haesch, K.T.; Porfirova, S.; Hofmann J.; Rolletschek, H.; Melzer, M.; Franken, P.; Hause, B.; Druege, U.; Hajirezaei, M. R. 2009. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings; involvement of wound response and primary metabolism. *New Phytologist*, 181(3): 613-625.

Andrade, E.H.A.; Carreira, L.M.M.; Silva, M.H.L.; Silva, J.D.; Bastos, C.N.; Sousa, P.J.C.; Guimarães, E.F.; Maia, J.G. 2008. Variability in essential-oil composition of *Piper marginatum sensu lato*. *Chemistry & Biodiversity*, 5(1)197-208.

Andrade, E.H.A.; Guimarães, E.F.; Maia, J.G.S. 2009. *Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia*. 22^a ed. FEQ/ UFPA, Belém, Pará, 448p.

Andrade, M.W.; Luz, J.M.Q.; Lacerda, A.S.; Melo, P.R.A. 2000. Micropropagação de aroeira (*Myracrodum urundeuva* Fr. All). *Ciência Agrotécnica*, 24(1):174-180.

Araújo, E.R.; Harand, W.; Lima, I.C.; Dias, F.C.R.; Santana, A.D.; Carvalho, R.R.C.; Laranjeira, D. 2014. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49 (2): 88-94.

Assis, C.P.O. 2010. *Toxidade de óleos essenciais sobre Tyrophagus putrescentiae (Schrank) e Suidasia pontifica Oudemans (Acari: Astigmata)*. Dissertação de Mestrado em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 32 p.

Barroso, G.M.; Guimarães, E.F.; Ichaso, C.L.F.; Costa, C.G.; Peixoto, A.L. 1978. Sistemática de angiospermas do Brasil. Vol. 1. 1^a ed. LCT/EDUSP, São Paulo. 139p

Barrueto Cid, L.P.; Zimmermann, M.J. 2006. A contaminação *in vitro* de plantas. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento). Brasília, Distrito Federal. 20p.

Baskin, C.C.; Baskin, J.M. 1998. *Seeds: ecology, Biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, San Diego, 666p.

Batista, A.C. 2015. *Ambientes, embalagens e épocas de armazenamento na qualidade fisiológica de sêmenes de Piper marginatum e Piper tuberculatum*. Tese de doutorado em Agronomia Tropical, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 120 p.

Bergo, C.L. 2010. *Estudos agronômicos e fitoquímicos de Piper hispidinervum C.DC. e Piper aduncum L. para produção de safrol e dilapiol*. Tese de Doutorado em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 138p.

Bonga, J.M.; Durzan, D.J. 1985. *Cell and tissue culture in forestry*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 416p.

Bonga, J.M.; Von Aderkas, P. 1992. *In vitro culture of trees.v.2*. Kluwer Academic Publishers, Boston, 236 p.

Brancalion, P.H.S.; Novembre, A.D.L.C.; Rodrigues, R.R.; Chamma, H.M.C.P. 2008. Efeito da luz e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Heliocarpus popayanensis* L. *Revista Árvore*, 32(2): 225-232.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. *Regras para análises de sementes*. Secretaria de defesa agropecuária, Brasília, Distrito Federal, 399 p.

Burguer, W.C. 1971. Piperaceae. In. Burguer, W. C. (Ed.), *Flora Costaricensis. Fieldiana Botany*, 35: 5-227.

Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. 2000. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. FUNEP, Jaboticabal, 588p.

Casagrande Junior, J.G; Bianchi, V.J.; Strelow, E.Z.; Bacarin, M.A.; Fachinello; J.C. 1990. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(12):2219-2223.

Casal, J.J.; Sánchez, R. 1998. Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research*, (8): 317-329.

Cavalcante, M.J.B. (Ed) 2002. *Cultivo da pimenta longa (Piper hispidinervum) na Amazônia Ocidental*. Embrapa, Rio Branco, 29p.

Cavalcante, R. 2013. *Fitodontia*. 1ª ed., Ed. do autor, Rio Branco, Acre, 269p.

Chaves, F.C.M.; Cunha, A.L.B; Batista, A.C.; Hidalgo, A.F. 2014. Caracterização e germinação de sementes de *Piper hispidum* Sw., *Piper marginatum* Jacq. e *Piper tuberculatum* Jacq. em Manaus-AM. In: Anais do III Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, Santos, São Paulo - SP. (a)

Chaves, F.C.M.; Cunha, A.L.B; Batista, A.C.; Hidalgo, A.F. 2014. Propagação por estaquia de *Piper hispidum* Sw., *Piper marginatum* Jacq. e *Piper tuberculatum* Jacq. em Manaus- Am. In: Anais do III Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, Santos, São Paulo. (b)

Chaves, M.C.O.; Santos, B.V.O.; Oliveira, A.H. 2006. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34: 75-77.

Ciccio, J.F. 1996. Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum* (Piperaceae). *Revista de Biología Tropical*, 44(2): 507-511.

Coitinho, R.L.B.C.; Castro, L.B.; Oliveira, J.V.; Gondim Jr, M.G.C.; Camara, C.A.G. 2010. Persistence of essential oils in stored maize submitted to infestation of maize weevil. *Ciência Rural*, 40: 1492-1496.

Coitinho, R.L.B.C.; Oliveira, J.V.; Gondim Jr, M.G.C.; Camara, C.A.G. 2011. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). *Ciência e Agrotecnologia*, 35: 172-178.

Costa Júnior, W.H.; Scapare Filho, J.A.; Bastos, D.C. 2003. Estiolamento da planta matriz e uso de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de goiabeiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(2):301-304.

Cunha, A.L.B. 2014. *Propagação vegetativa de Piper hispidum Sw. e Piper tuberculatum Jacq. em função de diferentes substratos e tipos de estacas*. Dissertação de mestrado em Agronomia Tropical, Manaus, Amazonas, 81p.

Cunha, A.L.B.; Chaves, F.C.M.; Batista, A.C.; Hidalgo, A.F. 2015. Propagação vegetativa de estacas de *Piper hispidum* Sw. em diferentes substratos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(4):685-692.

D'Angelo, L.C.A.; Xavier, H.S.; Torres, L.M.B., Lapa, A.J.; Souccar, C. 1997. Pharmacology of *Piper marginatum* Jacq. a folk medicinal plant used as an analgesic, antiinflammatory and hemostatic. *Phytomedicine*, 4: 33-40.

Daws, M.I.; Burslem, D.F.R.P.; Crabtree, L.M.; Kirkman, P.; Mullins, C.E.; Dalling, J. W. 2002. Differences in seed germination responses may promote coexistence of four sympatric *Piper* species. *Functional Ecology*, 16: 258-267.

Delgado-Parédes, G.E.; Kato, M.J.; Vásquez- Dueñas, N.; Minchala- Patiño, J.; Rojas-Idrogo, C. 2012. Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): propagation, organogênese y conservation de germoplasma *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2): 49-60.

Dousseu, S. 2009. *Propagação, características fotossintéticas, estruturais, fitoquímicas e crescimento inicial de Piper aduncum L. (Piperaceae)*. Dissertação de mestrado em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 129 p.

Dousseau, S.; Alvarenga, A.A.; Alves, E.; Chaves, I.S.; Souza, E.S.; Alves, J.S. 2011. Physiological, morphological and biochemical characteristics of the sexual propagation of *Piper aduncum* (Piperaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 34(3):297-305.

Effegem, C.; Gontijo, A.B.P.L.; Campanharo, A.; Gontijo, I. 2014. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). *Enciclopédia Biosfera*, 10(18):1221-1228.

Felippe, L.G.; Baldoqui, D.C.; Kato, M.J.; Bolzani, V. S.; Guimarães, E. F.; Cicarelli, R. M. B.; Furlan, M. 2008. Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from *Peperomia blanda*. *Phytochemistry*, 69: 445-450.

Ferraresi, D.A.; Yashamita, O.M.; Carvalho, M.A.C. 2009. Superação de dormência e qualidade de luz na germinação de sementes de *Murdannia nudiflora* (L.) Brenans. *Revista Brasileira de Sementes*, 31(4):126-132.

Figueiredo, R.A.; Sazima, M. 2000. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, 85: 455-460.

Frischkorn, C.G.B; Frischkorn, H.E. 1978. Cercaricidal activity of some essential oils of plants from Brazil. *Naturwissenschaften*, 65: 480-483.

Garcia, J.; Kamada, T.; Jacobson, T.K.B.; Curado, M.A.; Oliveira, S.M. 2000. Superação de dormência em sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 30 (2): 51-54.

Grattapaglia, D.; Machado, M.A. 1998. Micropropagação. In: Torres, A.C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. (Eds.) *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. v. 1. Embrapa- SPI: Embrapa-CNPq, Brasília, Distrito Federal, p. 183-260.

Gontijo, T.C.A.; Ramos, J.D.; Mendonça, V.; Pio. R.; Araújo Neto, S.E.; Oliveira Correa, F.L. 2003. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25 (2):290-292.

Guimarães, E.F.; Giordano, L.C.S. 2004. Piperaceae do nordeste brasileiro I: Estado do Ceará. *Rodriguésia*, 55: 21-46.

Guimarães, E.F.; Carvalho-Silva, M.; Monteiro, D.; Medeiros, E.S.; Queiroz, G.A. 2015. *Piperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12813>>.

Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies junior, F.T.; Genebe, R.L. 2011. *Plant propagation: principles and practices*. 8.ed., Prentice-Hall, Boston, 915p.

Hill, A.F. 1974. *Economic botany, a text book of useful plants and products*. 2ª ed. MacGraw Hill, New Delhi, 500p.

Hurtado, F.B.; Teixeira, L.F.; Silva, I.C.F.; Facundo, V.A. 2012. Análise dos óleos essenciais de *Piper marginatum* Jacq. In. Anais do XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Bento Gonçalves - RS.

Hutchinson, J. 1973. *The families of flowering plants*. 3ª Ed. Claredon Press, London.

Jaramillo, M.A.; Manos, P.S.; Zimmer, E.A. 2004. Phylogenetic relationships of the perianthless Piperales: reconstructing the evolution of floral development. *International Journal of Plant Sciences*, 165: 403-416.

Jaramillo, M.A.; Marquis, R. 2004. *Future research in Piper biology*. In. Dyer, L.A.; Palmer, A.D.N. (Ed.) *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution, chemical ecology, and trophic interactions*. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, Boston, p. 2001-2004.

Joly, A. B. 1993. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 1ª ed. Editora nacional, São Paulo, 777p.

Klein, A.; Felipe, G.M. 1991. Efeito da luz na germinação de sementes de ervas invasoras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 26 (7): 955-966.

Kulkarni, M.G.; Sparg, S.G.; Staden, J. V. 2006. Dark conditioning, cold stratification and a smoke-derived compound enhance the germination of *Eucomis autumnalis* subsp. *autumnalis* seeds. *South African Journal of Botany*, 72(1): 157-162.

Labouriau, L. G. A germinação das sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

Lira Junior, J.S.; Bezerra, J.E.F.; Leberman, I.E.; Silva Junior, J.F.D. 2007. *Pitangueira*. Liceu, Recife, 87p.

Ljung, K.; Bhalerao, R.P.; Sandberg, G. 2001. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *Plant*, 1(29):465-474.

Luz, P.B.; Paiva, P.D.O; Landgraf, P.R.C. 2007. Influência de diferentes tipos de estacas e substratos na propagação assexuada de hortências [*Hydrangea macrophylla*] (Thunb.) Ser. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(3):699-703.

Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(1): 176-177.

Maia, J.G.S.; Zoghbi, M.G.B.; Andrade, E. H. A. 2001. *Plantas aromáticas da Amazônia e seus óleos essenciais*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, 138p.

Mantell, S.H.; Matthews, J.A.; Mckee, R.A. 1994. Técnicas de cultura de tecidos. In: Mantell, S. H.; Matthews, J. A.; Mckee, R. A. *Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, São Paulo, p. 101-181.

Mateo-Sagasta, L.A. 1990. In: Pierik, R. L. M. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*, Mundi-Prensa, Madrid, p.89-94.

Mendonça, R.P.D. 2007. *Atividade endectocida de uma nova alternativa terapêutica (scifenotrina, butóxido de piperonila, D-tetrametrina e ivermectina) em cães*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, São Paulo, 91p.

Menezes, N.L.; Franzin, S.M.; Roversi, T.; Nunes, E.P. 2004. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. *Revista Brasileira de Sementes*, 26(1): 32-37.

Merotto Junior, A.; Vidal, R.A.; Fleck, N.G.; Almeida, M.L. 2002. Interferência das plantas daninhas sobre o desenvolvimento inicial de plantas de soja e arroz através da qualidade da luz. *Planta Daninha*, 20(1):9-16.

Mesa, A.M.; Toro, J.F.; Cardona, F.; Blair, S. 2012. Actividad antiplasmodial y citotóxica de extractos etanólicos de especies género *Piper*. *Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas*, 11:154 - 162.

Moraes, M.M.; Silva, T.M.G.; Silva, R.R.; Ramos, C.S.; Câmara, C.A.G. 2014. Circadian variation of essential oil from *Piper marginatum* Jacq. *Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(3):270-277.

Moura, E.F.; Menezes, I.C.; Lemos, O.F. 2008. Concentrações de citocinina e carvão ativado na micropropagação de pimenta-do-reino. *Ciência Rural*, 38 (1):72-76.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473–497.

Neves, T.S.; Carpanezzi, A.A.; Zuffellato-Ribas, K.C.; Marengo, R.A. 2006. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(12):1699-1705.

Novo, E.M. 2010. *Sensoriamento Remoto: Princípios e Aplicações*. 4ª Ed. Blucher, São Paulo, 387p.

- Oliveira, J.H.G.; Souza, L.A. Iwazaki, M. 2008. Estruturas de reprodução de *Peperomia parnassifolia* Miq. (Piperaceae). *Acta Scientiarum*, 30(1):1-7
- OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO, J.F.; RIOS, M.N.S.; REZENDE, M.E. *Enraizamento de estacas para a produção de espécies nativas de matas de galeria*. Brasília: Embrapa cerrados, v.41, 4p. 2001.
- Paiva, H.N.; Gomes, J.M.; Couto, L.C.; Silva, A.R. 1996. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por estaquia. *Informativo Agropecuário*, 18(185): 23-27.
- Pinto, E.B.P.; Lameira, O.A. Santiago, E.J. de. Silva, F.G. 2001. *Cultivo de plantas medicinais aromáticas e condimentares*. 1ª ed., FAEPE, Lavras, Minas Gerais, 185p.
- Pio, R.; Ramos, J.D.; Chalfun, N.N.J.; Gontijo, T.C.A.; Mendonça, V.; Carrijo, E.P.; Chagas, E.A. 2006. Propagação de estacas apicais de figueira: diferentes ambientes, ácido indolbutírico e tipo de estaca. *Ciência e Agrotecnologia*, 30(5):1021-1026.
- Quijano-Abril, M.A.; Callejas-Posada, R.; Miranda-Esquivel, D.R. 2006. Areas of endemismo and distribution patterns for neotropical *Piper* species (Piperaceae). *Journal of Biogeography*, 33:1266-1278.
- Ramos, L.S.; Da Silva, M.L.; Luz, A.I.R.; Zoghbi, M.G. B.; Maia, J.G.S. 1986. Essential oil of *Piper marginatum*. *Journal of Natural Products*, 49: 712 - 713.
- Rebouças, A.C.M.N.; Santos, D.L. 2007. Influência do fotoperíodo e qualidade de luz na germinação de sementes de *Melocactus conoideus* (Cactaceae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2):900-902.
- Rios, A.M.R.; Pinheiro, M.V M.; Otoni, W.C.; Fernandes, S.A. 2015. Qualidade de luz influencia a germinação *in vitro* de *Piper crassinervium*. *Anais... 20º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais & 7º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas*, Piracicaba, São Paulo.

Rosa, F.A.F.; Nascimento, M.G.; Rebelo, R.A.; Pescador, R. 2000. Avaliação da atividade regulatória de crescimento de compostos análogos ao ácido indolacético em sementes de alface. *Anais... 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira De Química*, Poços de Caldas, MG.

Rosa, S.M.; Souza, L.A. 2004. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *médium* Linnaeus (Piperaceae). *Acta Científica Venezuelana*, 55(1): 27-34.

Sample, K.S. 1974. Pollination in Piperaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61: 868-871.

Schwengber, J.E.; Dutra, L.; Kersten, E. 2000. Efeito do sombreamento da planta matriz e do pvp no enraizamento de estacas de ramos de açazeiro (*Psidium cattleyanum* Sabine). *Revista Brasileira de Agrociência*, 6(1): 30-34.

Silva, D.M.H.; Bastos, C.N. 2007. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinispellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira*, 32:143-145.

Silva, E.M.J.; Machado, S.R. 1999. Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *regnellii* (Piperaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 22(2):117-124.

Silva, F.A.S; Azevedo, C.A.V. 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *African Journal of Agricultural Research*, 11(39):3733-3740.

Smith, H. 1986. *The perception of light quality*. In: Kendrik, R. E.; Kronenberg (eds.). *Photomorphogenesis in plants*, Martinus Nijhoff, Dordrecht, 187-210.

Souza, D.M.S. *Influência da qualidade de luz na germinação de sementes arbóreas nativas*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 32p.

Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2008. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. 2ª ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo. 704p.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2009. *Fisiologia vegetal*, 4ª ed, Artmed, Porto Alegre, 848 p.

Takaki, M.; Heeringa, G.H.; Cone, J.W.; Kendrick, R.E. 1983. Analysis of the effect light and temperature on the fluence response curves for germination of *Rumex obtusifolius*. *Plant Physiology*, 77:731-734.

Takaki, M. 2001. New proposal of classification of seed based on forms of phytochrome insted of photoblastism. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(1): 103-107.

Toledo, R.E.B.; Kuva, M.A. Alves, P.L.C.A. 1993. Fatores que afetam a germinação e a emergência de *Xantium strumarium* L.: Dormência, qualidade de luz e profundidade de semeadura. *Planta daninha*, 11(1-2):15-20.

Tombolato, A.F.C.; Veiga, R.F.A.; Barbosa, W.; Costa, A.A.; Junior, R.B.; Pires, E.G. 2004. Domesticação e pré-melhoramento de plantas: I. Ornamentais. *O Agrônomo*, 56(1): 12-14.

Valle, R.C.S.C. 2003. *Estratégias de cultivo de células de pimenta longa (Piper hispidinervium) e determinação de parâmetros cinéticos*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 165p.

Vásquez-Yánes, C.; Segovia, A.O. 1984. *Physiological ecology of plants of the wet tropics*, Dr. W. Publishers, The Hage, 37p.

Vázquez-Yanes, C.; Orozco-Segovia, A. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24 (1): 69-87.

Vianna, W.O.; Akisue, G. 1997. Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L. *Lecta*, 15 (1-2):11-62.

Vidaver, W. 1980. Light and seed germination. In. *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination* (A. A. Khan, ed.). North-Holland Publishing Company, New York, p.181-192.

Vivian, R.; Silva, A.A.; Gimenes, Jr., M.; Fagan, E.B.; Ruiz, S.T.; Labonia, V. 2008. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência – breve -revisão. *Planta Daninha*, 26 (3): 695-706.

Voltolini, J.A. 1996. *Influência do sombreamento em plantas matrizes de araçazeiro (Psidium cattleianum Sabine) para a produção de mudas por estacas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 59p.

Whatley, J.M.; Whatley, F.R. 1982. *A luz e a vida das plantas*. v.30. São Paulo, EPU: EDUSP, 101p.

Xavier, A.; Santos, G.A.; Oliveira, M.L. 2003. Enraizamento de miniestacas caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). *Revista Árvore*, 27(3):351-356.

Xavier, A.; Wendling, I.; Silva, R.L. 2009. *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 272p.

Yespez, C.C.B.; Tejada, E.C.S.; Lima, G.P.P. 2007. Micropropagación de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. vía organogénesis direta. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 12(4):1-12.

Yuncker, T.G. 1972. The Piperaceae of Brazil. *Hoehnea*, 2:1-366.