

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

JEANE CRASQUE

**COMPATIBILIDADE DE PIMENTEIRA-DO-REINO
ENXERTADA EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Piper***

**São Mateus – ES
Fevereiro de 2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

**COMPATIBILIDADE DE PIMENTEIRA-DO-REINO
ENXERTADA EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Piper***

JEANE CRASQUE

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Espírito
Santo, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agricultura Tropical, para a obtenção
do título de Mestre em Agricultura
Tropical.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sara Dousseau Arantes

**São Mateus – ES
Fevereiro de 2020**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

C894c Crasque, Jeane, 1996-
Compatibilidade de pimenteira-do-reino enxertada em espécies do gênero Piper / Jeane Crasque. - 2020.
66 f. : il.

Orientador: Sara Dousseau Arantes.
Coorientador: Edilson Romais Schmildt.
Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo.

1. Pimenteira-do-reino. 2. Enxertia. 3. Propagação de plantas. 4. Porta-enxertos. 5. Pimenta. 6. Fotossíntese. I. Arantes, Sara Dousseau. II. Schmildt, Edilson Romais. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 63

JEANE CRASQUE

**COMPATIBILIDADE DE PIMENTEIRA-DO-REINO ENXERTADA EM
ESPÉCIES DO GÊNERO *Piper***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2020.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof(a). Dr(a). Sara Dousseau Arantes
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador(a)

Prof. Dr. Edilson Romais Schimildt
Universidade Federal do Espírito Santo



**Prof(a). Dr(a). Andreia Barcelos Passos
Lima Gontijo**
Universidade Federal do Espírito Santo

**Prof. Dr. Carlos Alberto Spaggiari
Souza**
Centro Pesquisa Agropecuária do
Espírito Santo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
EDILSON ROMAIS SCHMILDT - SIAPE 1172860
Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas - DCAB/CEUNES
Em 14/04/2022 às 07:41

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/448206?tipoArquivo=O>

ASSINATURAS (2)

Documento original assinado eletronicamente, conforme MP 2200-2/2001, art. 10, § 2º, por:

SARA DOUSSEAU ARANTES
AGENTE DE PESQUISA E INOVACAO EM DESENVOLVIMENTO
RURAL
CPDI NORTE - INCAPER - GOVES
assinado em 28/04/2022 09:33:06 -03:00

CARLOS ALBERTO SPAGGIARI SOUZA
CIDADÃO
assinado em 28/04/2022 18:09:00 -03:00



INFORMAÇÕES DO DOCUMENTO

Documento capturado em 28/04/2022 18:09:00 (HORÁRIO DE BRASÍLIA - UTC-3)
por SARA DOUSSEAU ARANTES (AGENTE DE PESQUISA E INOVACAO EM DESENVOLVIMENTO RURAL - CPDI
NORTE - INCAPER - GOVES)
Valor Legal: ORIGINAL | Natureza: DOCUMENTO NATO-DIGITAL

A disponibilidade do documento pode ser conferida pelo link: <https://e-docs.es.gov.br/d/2022-00J5QP>

AGRADECIMENTOS

Apresente dissertação de mestrado não poderia chegara bom porto sem o precioso apoio de várias pessoas. Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela força para alcançar a alegria nos dias de tristeza, e permitir sentir tua presença sempre que desanimei e me encontrei em crise.

Aos meus familiares, meu pai Genildo, minha mãe Cleonice, ao meu irmão Samuel e meu avô Ruidembelque, por todo amor e apoio que me dedicaram. Agradeço por sempre me incentivarem nos estudos e acreditarem no meu potencial, estando sempre ao meu lado fazendo o possível e o impossível para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Também sou grata ao meu namorado Felipe por ter caminhado ao meu lado apoiando, com paciência e compreensão.

Também não posso deixar de agradecer a minha orientadora, Professora Dr^a. Sara Dousseau Arantes, a qual aprendi a admirar, por toda a paciência, sabedoria, empenho e que sempre me orientou. Muito obrigada por ter corrigido, ensinado, orientado e dado apoio quando necessário.

Agradeço aos meus coorientadores professor Dr. Edilson Romais Schimldt e Dr. José Altino Machado Filho, pelas contribuições na execução do trabalho.

Aos colaborador Dr. Carlos Alberto Spaggiari Souza, pela disponibilidade e ajuda. Desejo igualmente agradecer a todos os meus colegas do Mestrado e do laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita do INCAPER, e muitos outros que passaram por lá e contribuíram de diversas formas para a realização do trabalho.

À Universidade Federal do Espírito Santo ao Centro Universitário Norte do Espírito Santo, e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical (PPGAT), pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa. Ao INCAPER pela disponibilização da área experimental. Ao Departamento de Operações Técnicas - Meteorologia do INCAPER, pela disponibilização dos dados meteorológicos solicitados e revisados.

O meu muito obrigado a todos que, de alguma forma, contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	vi
1. CAPÍTULOS	1
1.1 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i> PARA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA ENXERTIA DA PIMENTEIRA-DO-REINO (<i>Piper nigrum</i> L.) SOB PORTA-ENXERTOS INTRA E INTERESPECÍFICOS	2
Resumo.....	2
Abstract.....	3
1.1.1 Introdução.....	4
1.1.2 Material e Métodos.....	6
1.1.3 Resultados.....	10
1.1.4 Discussão.....	12
1.1.5 Conclusões.....	17
Referências.....	17
Tabelas e Figuras.....	22
1.2 METABOLISMO PRIMÁRIO E SUA RELAÇÃO COM O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MUDAS ENXERTADAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO	27
Resumo.....	27
Abstract.....	28
1.2.1 Introdução.....	29
1.2.2 Material e Métodos.....	30
1.2.3 Resultados.....	34
1.2.4 Discussão.....	37
1.2.5 Conclusões.....	44
Referências.....	45
Tabelas e Figuras.....	50

RESUMO

CRASQUE, Jeane; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; Fevereiro de 2020; **Compatibilidade de pimenteira-do-reino enxertada em espécies do gênero *Piper***; Orientadora: Sara Dousseau Arantes; Coorientadores: Edilson Romais Schimldt e José Altino Machado Filho.

Na cultura da pimenta-do-reino a produtividade brasileira é restringida por diversos fatores bióticos e abióticos, destacando a incidência do fungo *Fusarium solani* f. sp. *Piperis*, visto que as técnicas existentes de manejo químico são pouco eficientes. Dentre as estratégias a prática de enxertia de cultivares da pimenta-do-reino em espécies silvestres vem se mostrando eficiente e sustentável, contudo, o sucesso desta técnica depende da compatibilidade entre o enxerto e porta-enxerto. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência da enxertia utilizando diversos porta-enxertos e identificar descritores morfofisiológicos relacionados com a incompatibilidade. Foram estudadas espécies do gênero *Piper* resistentes à Fusariose utilizando duas técnicas de enxertia. Na garfagem lateral foram avaliados como porta-enxertos três espécies nativas do gênero *Piper* (*Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw. e *Piper tuberculatum* Jacq.) e a cultivar BRS Kottanadan. No experimento de garfagem de topo foram avaliados como porta-enxertos três espécies nativas do gênero *Piper* (*Piper arboreum* Aubl., *P. aduncum* e *P. tuberculatum*) e a 'Balankotta', e como enxerto de ambos os ensaios utilizou-se a cultivar Bragantina. O primeiro capítulo foi intitulado "Fluorescência da clorofila a para avaliação da eficiência da enxertia da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) sob porta-enxertos intra e interespecíficos" e o segundo, intitulado "Metabolismo primário e sua relação com o desenvolvimento inicial de mudas enxertadas de pimenteira-do-reino". Quando analisado o aparato fotossintético pelo método de fluorescência da clorofila a, a enxertia sob espécies selvagens foram melhores nos dois métodos de enxertia com maior índice de desempenho da eficiência fotossintética. O método recomendável, a nível de produção, destaca-se a enxertia de garfagem lateral em fenda cheia. Pode-se concluir que a enxertia é uma estratégia viável para mitigação dos fatores bióticos e abióticos. Quanto ao capítulo dois foram avaliadas características referentes ao desenvolvimento vegetativo, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, alocação de carboidratos. *P. tuberculatum* apresentou

incompatibilidade inicial. A análise da sobrevivência ao longo do tempo e os parâmetros relacionados à capacidade fotossintética do enxerto e de qualidade da muda indicaram que não houve incompatibilidade entre a 'Bragantina' e os porta-enxertos *P. aduncum*, *P. hispidum* e a 'Kottanadan'. Porém, as espécies *P. hispidum* e 'Kottanadan' apresentaram maior limitação na união por diferença de diâmetro. No estudo das correlações foi possível observar decréscimo no investimento em parte aérea, contribuindo para o aumento da eficiência do uso da água. O teor de AR e AST do caule acima da região do enxerto possibilitou maior acúmulo de massa seca nesta região. A espécie com maior desempenho fotossintético e de alocação dos carboidratos foi *P. aduncum*.

Palavras-chave: enxerto, pimenta preta, pimenta selvagem.

ABSTRACT

CRASQUE, Jeane; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; February 2020; **Characterization of the compatibility of black pepper grafted on species of the genus *Piper***; Advisor: Sara Dousseau Arantes; Co-advisers: Edilson Romais Schmildt and José Altino Machado Filho.

In the black pepper culture, Brazilian productivity is restricted by several biotic and abiotic factors, highlighting the incidence of the fungus *Fusarium solani* f. sp. *Piperis*, since the existing chemical management techniques are not very efficient. Among the strategies, the practice of grafting black pepper cultivars into wild species has proved to be efficient and sustainable, however, the success of this technique depends on the compatibility between the graft and rootstock. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of grafting using various rootstocks and to identify morphophysiological descriptors related to incompatibility. *Fusarium* species resistant to *Piper* species were studied using two grafting techniques. In the lateral fork, three native species of the genus *Piper* (*Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw. And *Piper tuberculatum* Jacq.) And the cultivar BRS Kottanadan were evaluated as rootstocks. In the top fork experiment, three native species of the genus *Piper* (*Piper arboreum* Aubl., *P. aduncum* and *P. tuberculatum*) and 'Bankankotta' were evaluated as rootstocks, and as a graft from both trials, cultivar was used Bragantina. The first chapter was entitled "Chlorophyll a fluorescence for assessing the efficiency of grafting of black pepper (*Piper nigrum* L.) under intra and interspecific rootstocks" and the second, entitled "Primary metabolism and its relationship with development of grafted seedlings of black pepper ". When the photosynthetic apparatus was analyzed using the chlorophyll a fluorescence method, grafting under wild species was better in both grafting methods with a higher performance index of photosynthetic efficiency. The recommended method, at the production level, is the grafting of the side fork in a full slit. It can be concluded that grafting is a viable strategy for mitigating biotic and abiotic factors. As for chapter two, characteristics related to vegetative development, gas exchange, photosynthetic pigments, carbohydrate allocation were evaluated. *P. tuberculatum* showed initial incompatibility. The analysis of survival over time and the parameters related to the photosynthetic capacity of the graft and seedling quality indicated that there was no incompatibility between 'Bragantina' and the rootstocks *P. aduncum*, *P. hispidum*

and 'Kottanadan'. However, the species *P. hispidum* and 'Kottanadan' showed greater limitation in union due to difference in diameter. In the study of correlations, it was possible to observe a decrease in investment in aerial parts, contributing to the increase in water use efficiency. The content of AR and AST of the stem above the graft region allowed greater accumulation of dry mass in this region. The species with the highest photosynthetic performance and carbohydrate allocation was *P. aduncum*.

Key words: graft, black pepper, wild pepper.

1. CAPÍTULOS

1.1 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* PARA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA ENXERTIA DA PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.) SOB PORTA-ENXERTOS INTRA E INTERESPECÍFICOS

“Preparado de acordo com as normas do Periódico Environmental and Experimental Botany”

Resumo

A produção de mudas de pimenteira-do-reino enxertadas em espécies selvagens do gênero *Piper*, poderá aumentar a tolerância aos estresses ambientais e a produtividade, reduzindo a vulnerabilidade da cultura. No entanto, a eficiência da técnica é determinada pela escolha do método de enxertia e pela interação entre o enxerto e o porta-enxerto. A análise da fluorescência da clorofila *a* é considerada uma ferramenta eficiente para determinar o impacto de várias tensões ambientais que influenciam o aparato fotossintético. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho avaliar os métodos de enxertia e os porta-enxertos através da análise da fluorescência da clorofila *a*. Foram realizados dois experimentos para avaliar o método de garfagem lateral em fenda cheia o experimento 1 e o método de garfagem de topo em fenda cheia, o experimento 2, utilizando como enxerto a pimenteira-do-reino cultivar Bragantina e diversos porta-enxertos intra e interespecíficos. No experimento 1 foram avaliados como porta-enxertos três espécies nativas do gênero *Piper* (*Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw. e *Piper tuberculatum* Jacq.) e a cultivar BRS Kottanadan. No experimento 2 foram avaliados como porta-enxertos três espécies nativas do gênero *Piper* (*Piper arboreum* Aubl., *P. aduncum* e *P. tuberculatum*) e a 'Balankotta'. Em ambos os ensaios foi considerado como controle a autoenxertia da 'Bragantina' (homoenxerto). Quando as mudas atingiram o padrão comercial (cerca de três meses da enxertia) foi efetuada a avaliação da sobrevivência e brotamento da

fluorescência transiente da clorofila *a* utilizando-se o fluorômetro Handy PEA. O porta-enxerto *P. tuberculatum* apresentou incompatibilidade inicial com a pimenteira-do-reino 'Bragantina', com sobrevivência de 35% (Lateral) e 63% (Topo) e total inibição da brotação do enxerto, não sendo possível avaliar a fluorescência da clorofila *a*. A enxertia lateral sob *P. aduncum* obteve um percentual de sobrevivência de 84,00 %, enquanto a enxertia de topo 47,5 %. Os parâmetros do teste JIP indicaram melhor eficiência na captação, absorção e uso da energia luminosa nas espécies enxertadas no método lateral. Os dados gerais mostraram que a enxertia de pimenteira-do-reino é um método de propagação possível e a fluorescência possibilitou identificar compatibilidade inicial dos enxertos dos dois métodos.

Termos para indexação: pimenta, Teste JIP, propagação.

Abstract

The production of black pepper seedlings grafted on wild species of the genus *Piper*, may increase the tolerance to environmental stresses and productivity, reducing the vulnerability of the crop. However, the efficiency of the technique is determined by the choice of grafting method and the interaction between the graft and the rootstock. The analysis of chlorophyll *a* fluorescence is considered an efficient tool to determine the impact of various environmental stresses that influence the photosynthetic apparatus. Therefore, the objective of this work was to evaluate grafting methods and rootstocks through the analysis of chlorophyll *a* fluorescence. Two experiments were carried out to evaluate the side fork method in full slot, experiment 1 and the top fork method in full slot, experiment 2, using black pepper cultivar Bragantina and several intra and interspecific. In experiment 1, three native species of the genus *Piper* (*Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw. And *Piper tuberculatum* Jacq.) And the cultivar BRS Kottanadan were evaluated as rootstocks. In experiment 2, three native species of the genus *Piper* (*Piper arboreum* Aubl., *P. aduncum* and *P. tuberculatum*) and 'Balankotta' were evaluated as rootstocks. In both tests, 'Bragantina' (homograft) autografting was considered as a control. When the seedlings reached the commercial standard (about three months of grafting), the assessment of survival and budding of the transient fluorescence of chlorophyll *a* was performed using the Handy PEA fluorometer. The rootstock

P. tuberculatum showed an initial incompatibility with the 'Bragantina' pepper, with 35% survival (Lateral) and 63% (Top) and total inhibition of graft sprouting, and it was not possible to evaluate the fluorescence of the chlorophyll a. The lateral grafting under *P. aduncum* obtained a survival percentage of 84.00%, while the top grafting 47.5%. The parameters of the JIP test indicated better efficiency in the capture, absorption and use of light energy in the species grafted in the lateral method. General data showed that black pepper grafting is a possible method of propagation and fluorescence made it possible to identify initial compatibility of the grafts of the two methods.

Index terms: Pepper, JIP test, propagation.

1.1.1 Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor de pimenta-do-reino, de acordo com dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), tendo produzido 79.371 t da especiaria em 2017. Na região Sudeste concentra-se 60% da produção brasileira, sendo que o Espírito Santo se destaca em 1º na produção, com 60.425 t de pimenta colhido em 2018 (IBGE, 2019). Dentre os entraves para o cultivo da pimenteira-do-reino no estado do Espírito Santo destacam-se os fatores bióticos, como doenças do solo (Fusariose, Nematóide e *Phytophthora*), e os fatores abióticos (salinidade, seca e inundação) (Kumar et al., 2015).

Os efeitos dos fatores bióticos / abióticos são componentes críticos na produção de diversas culturas (Rouphael et al., 2018). Uma alternativa eficaz e sustentável é a técnica de enxertia para proporcionar resistência a doenças do solo, tolerância ao estresse abiótico e aumentar a produtividade das cultivares (Albacete et al., 2015). A enxertia da pimenteira-do-reino em espécies selvagens de *Piper* é uma prática de produção de mudas bastante difundida em diversos países, visando a superação de estresses bióticos e abióticos (Vanaja et al., 2007).

A principal doença da pimenteira-do-reino no Brasil é a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *Piperis*, que ataca o sistema radicular e causa a morte das plantas (Rana et al., 2017). Controlar esta doença requer o uso extensivo de fungicidas (Amira et al., 2017), além disso, a baixa variabilidade genética e o grau de suscetibilidade das cultivares dentre os

genótipos de pimenteira dificultam o controle genético da fusariose (Castro et al., 2016). Portanto, a enxertia em espécies selvagens resistentes é a estratégia mais viável para o controle da fusariose na pimenteira-do-reino (Albuquerque et al., 2001).

Estudos com espécies de *Piper* da Amazônia, previamente infectadas com *F. solani* f. sp. *piperis*, identificaram como resistentes *Piper colubrinum* Link., *Piper aduncum* Linn., *Piper tuberculatum* Jacq., *Piper hispidinervum* C. D. C. e *Piper hispidum* Sw (Albuquerque et al., 2001). No entanto, destas espécies, apenas a *P. colubrinum* foi testada como porta-enxerto da pimenteira-do-reino (Aarthi e Kumar, 2019; Lakshmana et al., 2016, Vanaja et al., 2007). A maior parte dos estudos avaliam como enxerto a cultivar Panniyur 1, no Brasil registrada como 'Bragantina' (Schmidt et al., 2018), principal genótipo cultivado em todo o mundo. Embora a enxertia desta cultivar em espécies selvagens seja possível, são necessários mais estudos para avaliar outras cultivares de pimenteira-do-reino e espécies selvagens nativas do Brasil como porta-enxertos.

Além da interação entre enxerto e porta-enxerto, outros fatores determinam a sobrevivência das mudas, como o método utilizado e a época que é efetuada a enxertia. O método mais utilizado na enxertia da pimenteira-do-reino 'Panniyur-1' em *P. colubrinum* é a garfagem de topo em fenda cheia, com sobrevivência de 76,2% (Chinnapappa et al., 2018), 86% (Lakshmana et al., 2016) e variando entre 25% a 100% dependendo da época do ano (Vanaja et al., 2007). Recentemente, Aarthi e Kumar. (2019), avaliaram outro método de enxertia, denominado de "Stenting", no qual a união do enxerto e a formação das raízes adventícias ocorrem simultaneamente, identificando pegamento de 41,11% da Panniyur-1 enxertada sob *P. hymenophyllum*.

Não foram encontrados na literatura nenhum trabalho que tenha avaliado o método de garfagem lateral em fenda cheia para as espécies de pimenta-do-reino. Nesta técnica a parte aérea é preservada até a formação do broto e é um método recomendado para frutíferas, proporcionando maior crescimento, acúmulo de matéria seca da planta e aumento da massa seca do sistema radicular, sendo mais promissora ao pegamento (De Paiva et al. 2015; De Góes et al., 2016).

A escolha da técnica errada e de um porta-enxerto incompatível pode acarretar abortamento do enxerto, evidenciada logo após a enxertia (Barreto et al., 2017). No entanto, pode haver ligação deficiente entre o enxerto e o porta-enxerto, havendo o surgimento de sinais de incompatibilidade evidentes somente após anos depois da enxertia, podendo acarretar morte da planta enxertada dentro de três a cinco anos (Baron et al., 2019). Estudos conduzidos por Albuquerque. (1968), Alconero et al. (1971) e Barriga et al. (1982) evidenciaram que os genótipos da pimenteira-do-reino enxertada em *P. colubrinum* não são inteiramente compatíveis, pois após quatro anos houve morte das plantas no campo.

O estresse causado pelo emprego de técnica e/ou porta-enxerto inadequados devido ao elevado stress oxidativo ou a reconstituição incompleta do sistema vascular poderá afetar diretamente o aparato fotossintético. Portanto, é necessário utilizar ferramentas sensíveis e não destrutivas para identificar precocemente sinais de incompatibilidade. A produção elevada da atividade dos antioxidantes não enzimáticos pelo acúmulo de carotenóides é documentada na literatura em enxertos incompatíveis, como indicador da presença de estresse com a finalidade de proteção e melhorar o processo de fotossíntese (Kiran et al., 2019). Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* são frequentemente considerados ferramentas importantes para determinar o impacto de várias tensões ambientais que influenciam no aparato fotossintético (Ghassemi-Golezani e Lotfi, 2015). Assim, os parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila *a* podem ser usados como marcadores confiáveis para avaliação do status da saúde das plantas enxertadas. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho, avaliar o efeito de métodos de enxertia e de porta-enxertos através da análise da fluorescência da clorofila *a*, visando evidenciar a possibilidade de utilização como um marcador precoce de incompatibilidade.

1.1.2 Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos na fazenda experimental do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), localizada a 19°25'00,1" S e 40°04'35,3" W, no município de Linhares, região Norte do estado do Espírito Santo. Durante o período da condução dos

experimentos foram obtidos os dados climáticos da estação meteorológica automática do INCAPER.

A primeira etapa consistiu na produção das mudas das plantas utilizadas como porta-enxertos, utilizando propágulos de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do INCAPER. Esta etapa foi efetuada entre junho de 2018 a junho de 2019 e os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, registrados durante este período foram respectivamente 30.24°C, 21.28°C, 24.75°C, 2.51 mm, 75.78 %.

As mudas das espécies nativas foram obtidas utilizando o protocolo proposto por Dousseau et al. (2011) com modificações, onde foi feito a pré-germinação em câmara tipo BOD e após 40 dias as plântulas transferidas para bandejas de isopor com 200 células, contendo substrato orgânico comercial (Bioplant®). Após 60 dias em viveiro recoberto com sombrite (50%) foram transplantadas para tubetes com capacidade de 280 cm³ preenchidos com o substrato orgânico comercial, adubado com 2 g de adubo de liberação lenta 3 a 4 meses (Osmocote®), e permaneceram por mais 48 dias no viveiro, com sombrite (50%). A enxertia foi efetuada aos 234 dias após a semeadura.

As mudas das cultivares de pimenteira-do-reino foram produzidas conforme descrito em Ambrozim et al. (2017) com adaptações. Foram utilizadas estacas herbáceas com um nó e duas folhas, coletadas da região mediana do ramo herbáceo. As estacas foram imersas em uma solução contendo fungicida Carbendazin (princípio ativo) por um período de 5 minutos. Após este tratamento as estacas foram cortadas e colocadas em potes plásticos contendo solução de regulador de crescimento ácido indolbutírico 400 mg.L⁻¹, de modo que apenas a parte basal das estacas se mantivessem em contato com a solução, por um período de 12 horas. As estacas foram plantadas em tubetes com capacidade de 280 cm³ preenchidos com substrato orgânico comercial (Bioplant®), adubado com 2 g de adubo de liberação lenta 3 a 4 meses (Osmocote®).

Quando as mudas apresentaram o padrão da enxertia, entre 4 e 5 mm de diâmetro do coleto, foram instalados dois ensaios para avaliar os métodos de enxertia entre a pimenteira do reino 'Bragantina' e os porta-enxertos intra e interespecíficos. O enxerto foi obtido a partir de estacas coletadas de plantas

matrizes com 2 anos de idade, em uma lavoura comercial, no município de Linhares-ES localizada a 19°24'51" S e 40°13'37" W. Os ramos ortotrópicos coletados foram mantidos por 24 horas em sacos de estopa umedecidos. Os enxertos foram preparados com dois nós sem folhas e a base preparada em forma de cunha em bisel duplo, com 3 cm. Em ambos os ensaios o procedimento foi realizado por um enxertador experiente no período de 7:00 às 12:00 horas.

O experimento 1 foi realizado em casa de vegetação entre fevereiro a junho de 2019, utilizando o método de enxertia garfagem lateral em fenda cheia, avaliando-se como porta-enxerto três espécies nativas do gênero *Piper* (*Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw. e *Piper tuberculatum* Jacq.) e a cultivar de pimenteira-do-reino 'BRS Kottanadan'. Os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, registrados foram respectivamente, 32.05 °C, 23.01 °C, 26.36 °C, 2.12 mm, 74.59%.

No experimento 1, o método da garfagem lateral em fenda cheia, o porta-enxerto foi preparado efetuando-se um corte lateral com 3 cm na altura do quarto nó, a partir do coleto da muda. Após a inserção do enxerto no porta-enxerto, foi realizado o amarrão com elástico de borracha nº 18. Imediatamente após o procedimento da enxertia foi efetuada a pulverização com fungicida Carbendazin (princípio ativo) e o enxerto recoberto com plásticos transparentes 6x23 cm amarrado logo abaixo do ponto da enxertia. Entre 28 e 30 dias com surgimento da primeira folha aberta procedeu-se a remoção dos sacos plásticos e após 15 dias foi feita a decapitação da parte aérea do porta-enxerto.

O experimento 2 foi conduzido entre abril a agosto de 2019 utilizando o método da garfagem de topo em fenda cheia e avaliando-se três espécies nativas do gênero *Piper* (*Piper arboreum* Aubl., *P. aduncum*, *P. tuberculatum*) e a cultivar 'Balankotta'. Em ambos os ensaios o homoenxerto (enxertia da 'Bragantina' nela mesma), foi utilizado como controle. Os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, registrados foram respectivamente, 28.79 °C, 19.71 °C, 23.25 °C, 1.79 mm, 77.51%.

No experimento 2, o método de garfagem de topo em fenda cheia foi efetuado conforme descrito detalhadamente em Albuquerque (1968), com adaptações. Os porta-enxertos foram decapitados logo abaixo do quarto nó, no

qual foi feita uma fenda perpendicular, com profundidade de 3 cm, e após a inserção do enxerto foi efetuado o amarrio com elástico de borracha nº 18. Foi efetuada a pulverização com o fungicida Carbendazin (princípio ativo) e enxerto recoberto com sacos plásticos transparentes 6x23 cm, sendo preso logo abaixo do enxerto, até obtenção da folha, assim procedeu-se a remoção dos sacos plásticos.

Após a enxertia, todas as plantas foram mantidas em viveiro com tela de 50% de sombreamento com irrigação por aspersão quatro vezes ao dia, 07:30, 11:00, 12:30 e 15:00 horas, por 25 minutos. Com aplicação de fungicida quando necessário.

Quando as mudas atingiram o padrão comercial (cerca de três meses da enxertia), foi efetuada a avaliação da sobrevivência e da fluorescência transiente da clorofila *a*. No experimento 1, a porcentagem de sobrevivência foi obtida aos 95 dias após a enxertia e a fluorescência da clorofila *a* avaliada aos 98 dias. No experimento 2, a sobrevivência foi avaliada aos 88 dias a fluorescência da clorofila *a* aos 102 dias.

A Fluorescência da clorofila *a* foi avaliada com fluorômetro portátil (Handy-PEA - Hansatech, UK). As folhas foram adaptadas ao escuro utilizando-se cliques foliares apropriados (Hansatech, UK) por 30 minutos, período para oxidação completa do fotossistema. Após foi emitido um flash de luz saturante de $3000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fótons com duração de 1s, sendo as leituras realizadas entre as 08:00 às 09:00h. A partir das intensidades de fluorescência foram calculados os parâmetros do teste JIP (Strasser e Strasser, 1995) utilizando-se o software Biolyzer (Laboratório de Bioenergética, Universidade de Genebra, Suíça).

O delineamento experimental adotado em ambos os experimentos foi o de blocos casualizados, com 4 repetições de 25 mudas por parcela. As análises estatísticas foram efetuadas no programa estatístico SISVAR versão 4.3 (Ferreira, 2011). Após análise de variância as médias foram submetidas ao teste de agrupadas Scott-Knott ao nível de significância de 5%.

Foi realizada uma análise conjunta dos dois métodos para avaliar a relação da sobrevivência e brotamento dos porta-enxertos (*P. aduncum*, *P. tuberculatum* e 'Bragantina'). A análise conjunta de fluorescência foi considerando um fatorial simples 2x2, sendo 2 porta-enxertos (*P. aduncum* e

‘Bragantina’) e 2 métodos de enxertia. Para analisar as relações entre a fluorescência da clorofila *a*, sobrevivência e brotamento nos diferentes métodos de enxertia, foi obtido coeficiente de correlação de Pearson, utilizando as médias dos tratamentos, com auxílio do programa estatístico PAST versão 3.25 (Hammer et al., 2001).

Os parâmetros de fluorescência, sobrevivência e brotamento foram submetidos as análises multivariadas, efetuadas com base no método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average), obtendo-se o dendrograma através da distância de Mahalanobis (D^2) como medida de dissimilaridade. O ponto de corte (P_c) do dendrograma formado pelo método de UPGMA foi definido conforme o proposto por Mojena (1977), seguindo-se a fórmula $P_c = m + kdp$, sendo m = a média dos valores de distância dos níveis de fusão correspondentes aos estádios; $k = 1,25$ (Milligane Cooper, 1985); dp = desvio padrão. As análises estatísticas e os dados foram analisados utilizando o software estatístico GENES (Cruz, 2013).

1.1.3 Resultados

No método de garfagem lateral em fenda cheia (Figura 1 A e C), o porta-enxerto *P. tuberculatum* apresentou menor porcentagem de sobrevivência (34,5%) (Figura 1 A) e total inibição da brotação do enxerto (Figura 1 C), não sendo possível avaliar a emissão da fluorescência da clorofila *a*. Na garfagem de topo em fenda cheia (Figura 1 B) todos os porta-enxertos avaliados diferiram do homoenxerto, com a maior porcentagem de sobrevivência obtida com a ‘Balankotta’ (92,5%), seguido da ‘Bragantina’ (73,75%) e das espécies selvagens *P. arboreum* (45%), *P. aduncum* (47,5%) e *P. tuberculatum* (62,5%), que não diferiram entre si. ‘Kottanadan’ proporcionou a maior porcentagem de brotação (68,7%), seguido da ‘Bragantina’ (55%) e das espécies selvagens, *P. hispidum* (33,75%) e *P. aduncum* (33,75%), que não se diferenciam entre si (Figura 1 D).

Todos os porta-enxertos nos dois métodos de enxertia avaliados mantiveram-se fotossinteticamente ativos, e apresentaram um aumento polifásico típico nos transientes OJIP, exceto *P. tuberculatum* que não foi avaliada (Figuras 2 A e B). No método da enxertia lateral em fenda cheia nenhum aumento foi observado em F_o e F_m , comparado ao homoenxerto

‘Bragantina’ (Figura 2 A). Na enxertia de topo, F_o também não apresentou alterações. No entanto, houve aumento em F_m em todos os tratamentos comparados ao homoenxerto (Figura 2 B).

Na enxertia lateral em fenda cheia não foram observadas diferenças significativas entre os porta-enxertos para nenhum dos parâmetros técnicos obtidos no Teste JIP (Tabela 1). Na enxertia de topo em fenda cheia pode-se verificar diferenças significativas nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, exceto para os parâmetros F_o , F_m , fluxo de transporte de elétrons fotossintéticos por centro de reação (ETo/RC).

Valores mais altos de fluxo de absorção (ABS/RC), dissipação (Dlo/RC) e rendimento quântico de dissipação de energia (ϕDo) foram observados para o homoenxerto (Tabela 1). O rendimento quântico fotoquímico (ϕPo) foi maior na enxertia sob as espécies selvagens e ‘Balankotta’ do que para o homoenxerto. Para o parâmetro fluxo de absorção captura (TRo/RC) foram obtidos valores mais baixos para as espécies selvagens. A densidade de centro de reação por seção transversal máxima (RC/CSm) foi maior para *P. aduncum* e *P. arboreum*, seguidas por ‘Balankotta’ e ‘Bragantina’. Valores mais altos de $PI_{(ABS)}$ foram observados para as espécies selvagens *P. arboreum* e *P. aduncum* (Tabela 1).

Os tipos de porta-enxertos avaliados e os métodos de enxertia influenciaram na sobrevivência e na brotação das mudas enxertadas (Tabela 2). O homoenxerto proporcionou maior porcentagem de sobrevivência e brotação entre as espécies e no método de enxertia. A enxertia da pimenteira-do-reino no porta-enxerto *P. aduncum* e ‘Bragantina’ teve as maiores porcentagem sobrevivência (70 e 84 %) e brotamento (69 e 58%) no método de enxertia lateral em fenda cheia. Na enxertia fenda cheia de topo, *P. aduncum* teve a menor valor de sobrevivência (47.50%) e *P. tuberculatum* apresentou a menor porcentagem de brotação (1.25%).

Foram observadas interações significativas entre os métodos de enxertia e as combinações de porta-enxertos apenas para o TRo/RC (Tabela 3). A ‘Bragantina’ apresentou o maior valor de TRo/RC no método garfagem de topo em fenda cheia, enquanto que *P. aduncum* não diferiu entre os métodos. Quando comparado espécies no método, TRo/RC para *P. aduncum* não diferiu

da 'Bragantina' no método enxertia lateral em fenda cheia, e no método garfagem de topo em fenda cheia a *P. aduncum* apresentou menor valor.

O método de enxertia de garfagem lateral em fenda cheia mostrou maiores valores para F_o e F_m quando comparado ao método de topo em fenda cheia e não se diferenciam nos parâmetros RC/CSm e ETo/RC (Tabela 3). Os parâmetros ABS/RC, DIo/RC, ϕD_o foram influenciados pela espécie, com maiores valores obtidos para a 'Bragantina'. *P. aduncum* apresentou maiores valores para os parâmetros ϕP_o e $PI_{(ABS)}$ (Tabela 3).

As informações obtidas foram submetidas à estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson (r) em nível de significância de 5% de probabilidade. Foram observadas relações positivas e negativas entre as variáveis analisadas no estudo da enxertia (Figura 3). A sobrevivência foi positivamente correlacionada com a brotação. F_o e F_m correlacionaram positivamente com o RC/CSm. ϕP_o foi positivamente correlacionado com ETo/RC e $PI_{(ABS)}$. ϕP_o correlacionou-se negativamente com ABS/RC, TRo/RC e DIo/RC. ABS/RC correlacionou-se positivamente com o TRo/RC e com DIo/RC. ϕD_o correlacionou positivamente a ABS/RC, TRo/RC e DIo/RC e negativamente com ϕP_o , ETo/RC e $PI_{(ABS)}$. DIo/RC teve correlação positiva com ϕD_o , ABS/RC e TRo/RC e também teve correlação inversamente proporcional a ETo/RC, ϕP_o e $PI_{(ABS)}$. O $PI_{(ABS)}$ teve uma forte correlação com ϕP_o e ETo/RC.

Na comparação do dendograma para os métodos de enxertia formaram-se dois grupos composto por 'Kottanadan', 'Bragantina', *P. hispidum* e *P. aduncum* e outro grupo composto por 'Balankotta', *P. arboreum*, *P. aduncum* e 'Bragantina' separados de acordo com o método de enxertia (Figura 4).

1.1.4 Discussão

O sucesso da enxertia ocorre quando a planta manifesta uma perfeita junção, ocasionada pela uniformidade do material quanto ao diâmetro, e uma adequada soldadura dos tecidos na região do enxerto (Roncatto et al., 2011). Assim, quando a enxertia foi por garfagem lateral em fenda cheia foi observado sucesso no pegamento (Figura 1, Tabela 2). No método garfagem de topo em fenda cheia (Figura 1B) os maiores valores de sobrevivência foram obtidos em 'Balankotta' ao porta-enxerto, já que para *P. aduncum* não diferiu

estatisticamente de *P. tuberculatum* e *P. arboreum*, que obteve a menor porcentagem de sobrevivência. A enxertia de *P. arboreum* foi testada em outra espécie do gênero *Piper*, a *P. wallichii* (Miq.) Hand-Mazz, porém, foi considerada incompatível, pois não apresentando um bom estabelecimento entre enxerto e porta-enxerto (John et al., 2019). A compatibilidade inicial é muito importante para que se tenha sucesso na produção de mudas enxertadas.

Na literatura estudos relataram sucesso inicial na enxertia de pimenta-do-reino. Lakshmana et al. (2016) utilizaram o método de garfagem de topo em fenda cheia para enxertia das espécies 'Panniyur-1' sob *P. colubrinum* e observaram 86% de sucesso das plantas enxertadas a partir de ramos ortotrópicos e 95% de plantas enxertadas a partir ramos plagiotrópicos. Assim, a escolha do ramo também interfere no sucesso do enxerto. Chinnapappa et al. (2018) estudaram enxertia de fenda-cheia com estacas de dois nós, como no presente estudo, e a maior taxa de pegamento foi na enxertia de Karimunda e *P. colubrinum*, com o maior sucesso de enxerto de 81,2%, seguido de 76,2% para 'Panniyur 1' enxertado no porta-enxerto de *P. colubrinum*, sendo o menor sucesso de 38,9 % foi observada em 'Panniyur 1' enxertado no porta-enxerto IISR Sakthi em 90 dias após o enxerto. Estes dados encontrados corroboram com o encontrado no presente estudo com o método de enxertia de garfagem lateral em fenda cheia.

A espécie *P. colubrinum* é o principal porta-enxerto utilizado e as plantas enxertadas sob *P. colubrinum* podem apresentar máximo de pegamento, de 95%, sendo influenciado principalmente pelo mês/estação de enxertia, sendo a melhor época para a enxertia de pimenta-do-reino no final do inverno/início da primavera (Vanaja et al., 2007), com melhor pegamento e lançamento de brotação.

O sucesso do enxerto foi significativamente influenciado pelas espécies. Pode ser observado que, quanto maior a proximidade genética maior foi a sobrevivência e o brotamento. O método também influenciou no pegamento, as espécies selvagens não diferenciaram das cultivares no experimento 1, e no experimento 2 tiveram os menores valores de sobrevivência e brotamento. De Paiva et al. (2015), também observaram maiores valores de brotação de mudas de romãzeira para o método fenda

lateral do que no método fenda cheia. Acredita-se que esta diferença observada no presente estudo, esteja atribuída às espécies e ao tipo da técnica utilizada.

O comportamento do aparato fotossintético dos enxertos por meio da fluorescência da clorofila *a* no OJIP demonstrou um aumento na magnitude de F_o ao F_m , com ponto intermediário do transientes bem definidos, indicando que as amostras estavam fotossinteticamente ativas em todos os tratamentos (Figura 2).

Em relação os parâmetros do teste JIP, houve ausência de diferença significativa no experimento 1 para F_o (Tabela 1) nos diferentes tratamentos, mostra que o fluxo de elétrons do centro de reação para a Q_A se manteve para todos os tratamentos, mantendo equilibrado o fluxo de retenção de energia (Fracheboud et al. 2004). Os fluxos de energia ABS/RC, TRo/RC, ETo/RC e Dlo/RC não apresentaram diferenças significativas. Assim, a alta eficiência de conversão da energia de excitação foi preservada. Os resultados mostraram que o método de enxertia lateral em fenda cheia não causou danos fisiológicos negativos, provado pelo maior aproveitamento de energia pelo fotossistema.

Estresses bióticos e abióticos podem diminuir a eficiência quântica da fotoquímica do PSII (Guo et al., 2018). Valores mais altos ϕP_o implicam em um maior rendimento quântico no doador e lados aceitadores do PSII. Todavia, no método de enxertia de garfagem lateral em fenda cheia, *P. aduncum* apresentou valores ϕP_o 0,75, atribuído este resultado a funcionalidade do aparato fotossintético, indicando que estes porta-enxertos estavam livres de estresse, pois plantas livres de estresse apresentam com valores ótimos de ϕP_o entre 0,75 a 0,85 para a maioria das espécies (Bolhàr-Nordenkampf et al., 1989). A ausência de diferenças significativas para ϕP_o no método enxertia lateral em fenda cheia indica que não houve danos às proteínas D1 e D2, dos complexos fotoquímicos das membranas do tilacóides (Da Silva et al., 2016), o que refletiu em maior valor de $PI_{(ABS)}$.

No experimento 2, não foram observadas diferença significativa em F_o e F_m nos porta-enxertos em comparação ao controle (Tabela 1), indicando um fluxo de transporte de elétrons no doador do PSII eficiente, com maior aproveitamento de energia e menor dissipação não fotoquímica (Kalaji et al., 2014).

Em relação aos parâmetros de fluxo por centro de reação (RC), a enxertia sob os porta-enxertos *P. aduncum* e *P. arboreum* apresentou menor valor de TRo/RC , indicando aumento dos RCs ativos (Meng et al., 2015). Entretanto, os menores valores observados da energia absorvida e aprisionada não resultou na diminuição de ETo/RC . A captura e a transferência de energia das antenas para os centros de reação levaram a uma alta eficiência ETo/RC do PSII, seguido de uma dissipação baixa de energia (DIo/RC) nos porta-enxerto 'Blankotta', *P. arboreum* e *P. aduncum* (Dai et al., 2016), portanto, mantiveram sua capacidade funcional de absorção de energia e dissipação. Essas respostas eficientes na capacidade funcional foram confirmadas por um aumento dos RCs ativos em F_m (Ferrante et al., 2007), os quais aumentaram em *P. aduncum* e *P. arboreum*, indicando a funcionalidade do PSII se manteve.

Quanto aos parâmetros de rendimento quântico fotoquímico do PSII ϕPo e ϕDo aumentaram e diminuíram respectivamente, nas espécies selvagens, indicando eficiência na dinâmica de transporte e uso de energia de excitação (Zhuo et al., 2017). O aumento de ϕPo é indicativo que grande parte dos fótons absorvidos pela Chl do PSII da antena foi convertida em produtos químicos (Kalaji et al. 2014). Esse resultado é apoiado pelo aumento do valor de $PI_{(ABS)}$. O índice de desempenho $PI_{(ABS)}$ tem sido considerado como um parâmetro sensível na detecção e quantificação de estresse em plantas (Oukarroum et al., 2007). Portanto, a enxertia de topo em fenda cheia não prejudicou o PSII dos porta-enxertos das espécies selvagens, visto que apresentaram maior valor de $PI_{(ABS)}$ em comparação ao controle, com melhor capacidade fotossintética (Zhuo et al., 2017).

Os resultados da análise de variância conjunta para os parâmetros do teste JIP (Tabela 3) evidenciam que não houve interação entre os métodos de enxertia e espécies comparadas *P. aduncum* e 'Bragantina' para maioria das variáveis. Os valores da F_o foram maiores na enxertia lateral em fenda cheia. Esses valores podem aumentar se os centros de reação do PSII foram comprometidos ou se a transferência de energia de excitação do complexo antena para o centro de reação estiver danificada (Baker et al., 2004). A F_m aumentou na enxertia lateral em fenda cheia e diminuiu na enxertia de topo em fenda cheia. A diminuição de F_m pode ser detectado quando as plantas estão sobre condições de estresse (Li et al. 2012; Rattan et al. 2012).

P. aduncum teve menor valor de TRo/RC quando comparada a 'Bragantina' no método enxertia de topo em fenda cheia, indicando que a espécie teve maior ativação dos RCs (Meng et al., 2015). Os diferentes métodos de enxertia não prejudicaram a cadeia fotossintética de transporte de elétrons do lado doador do PSII até a redução dos receptores finais do PSI, visto que não houve diferenças significativas no parâmetro do fluxo de transporte de elétrons além de $Q_A - (ETo/RC)$ para as 'Bragantina' e a *P. aduncum*. *P. aduncum* apresentou menor fluxo de dissipação de energia, e maior valor de RC/CSm no método de garfagem lateral em fenda cheia, consequentemente, maior aproveitamento de energia (Yusuf et al. 2010). *P. aduncum* mostrou resultados superiores ao controle quanto ao parâmetro ao $PI_{(ABS)}$.

O estudo das correlações comprovou que o PSII teve um bom aproveitamento de energia, o qual o ETo/RC se correlacionou de forma positiva com $PI_{(ABS)}$. Esse mesmo comportamento de crescimento linear em função do fluxo de transporte de energia pode ser observado no estudo feito por Oukarroum et al. (2007), que estudaram a seca de cevada (*Hordeum vulgare* L.). Pode-se também observar, que a resposta do índice de desempenho depende do nível do ABS/RC. O fato do fluxo de absorção de energia ter correlacionado com ϕD_0 sugere que isso é foi proporcionado pela capacidade de proteção da planta, uma vez que, a planta recebe grande quantidade de energia luminosa na fotossíntese, ela é capaz de dissipar.

O agrupamento formado pelo método UPGMA (figura 4) formada com base nas características de fluorescência da clorofila *a* utilizando a distância generalizada de Mahalanobis (D^2), permitiu identificar a formação de dois grupos. Quanto aos grupos, formou-se um grupo composto por 'Kottanadan', 'Bragantina', *P. hispidum* e *P. aduncum* e outro grupo composto por 'Balankotta', *P. arboreum*, *P. aduncum* e 'Bragantina'. Pela análise multivariada os porta-enxertos separaram-se de acordo com o método de enxertia empregado. Isto torna os resultados obtidos neste experimento ainda mais significativos, refletindo a diferença entre os métodos. O que pode explicar diferentes respostas verificadas onde foi utilizada uma mesma combinação de porta-enxerto e enxerto.

1.1.5 Conclusões

A espécie *Piper tuberculatum* apresentou incompatibilidade inicial independente dos métodos. As espécies foram influenciadas pelo método de enxertia e pela proximidade botânica proporcionando maior sobrevivência das espécies cultivares.

A enxertia de garfagem lateral em fenda cheia é a mais indicada para propagação de *P. aduncum*, por proporcionar maior percentagem de pegamento.

As espécies selvagens foram melhores nos dois métodos de enxertia quanto à análise de fluorescência da clorofila *a*.

Referências

AARTHI, S., KUMAR, N. Stenting Propagation-A Method in Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Using Wild Species of *Piper* as Rootstock. **International Journal of Innovative Horticulture**, v. 8, n. 1, p. 35-39, 2019.

ALBACETE, A., MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C., MARTÍNEZ-PÉREZ, A., THOMPSON, A. J., DODD, I. C., PÉREZ-ALFOCEA, F. Unravelling rootstock × scion interactions to improve food security. **Journal of experimental botany**, v. 66, p. 2211-2226, 2015.

ALBUQUERQUE, F. C. D., DUARTE, M. D. L. R., BENCHIMOL, R. L., ENDO, T. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. **Acta Amazonica**, v. 31, n. 3, p. 341-341, 2001.

ALBUQUERQUE, F. C. *Piper colubrinum* Link. porta-enxerto para *Piper nigrum* L. resistente às enfermidades causadas por *Phytophthora palmivora* Butl. E *Fusarium solani* f. *piperi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 141-145, 1968.

ALCONERO, R., ALBUQUERQUE, F., ALMEYDA, N., SANTIAGO, A. G. (*Phytophthora* foot rot of black pepper in Brazil and Puerto Rico. **Phytopathology**, v. 62, n. 1, p. 144-148, 1971.

AMBROZIM, C. S., FURTADO, J. G., VALANI, R. S., POSSE, R. P., VARNIER, E., POSSE, S. C. P., DOUSSEAU, S., ARANTES, L. de O., OLIVEIRA, E. C. Propagação de pimenta do reino em diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Iles Ciência**, v. 3, p. 17-28, 2017.

AMIRA, M. B., LOPEZA, D., MOHAMEDC A. T., KHOUAJAB, A., CHAARD, H., FUMANALA, B., GOUSSET-DUPONTA, A., BONHOMMEE, L., LABELA, P., GOUPILA, P., RIBEIROA, S., PUJADE-RENAUDA, V., JULIENA, J-L., AUGUING, D., VENISSEA, J. S. Beneficial effect of *Trichoderma harzianum*

strain Ths97 in biocontrolling *Fusarium solani* causal agent of root rot disease in olivetrees. **Biological Control**, v. 110, p. 70-78, 2017.

BAKER, N. R., ROSENQUIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**. 2004, 55: 1607-1621.

BARRIGA, R. H. 1982. Pimenta-do-reino: origem e distribuição geográfica, caracteres botânicos e melhoramento genético. Belém, PA, **EMBRAPA/CPATU**. 25p.

BARRETO, C.F., KIRINUS, M.B.M., DA SILVA, P.S., ANDRADE, S.B., ROMBALDI, C.V., MALGARIM, M.B., FACHINELLO, J.E.C. Growth, yield and fruit quality of Chimarrita peach trees grafted on different rootstocks. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 39, p. 2933-2939, 2017.

BARON, D., AMARO, A. C. E., PINA, A., FERREIRA. An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. **Scientia horticultrae**, v. 243, p. 84-91, 2019.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R., LONG, S. P., BAKER, N. R., OQUIST, G., SCHREIBER, U., LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.

CASTRO, G.L.S., LEMOS, O.F., TREMACOLDI, C.R., MORAES, F.K.C., SANTOS, L.R.R., PINHEIRO, H.A. Susceptibility of in vitro black pepper plant to the filtrate from a *Fusarium solani* f. sp. *piperis* culture. **Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 127, n. 1, p. 263-268, 2016.

CHEN, S.G., STRASSER, R.J., QIANG, S. *In vivo* assessment of effect of phytotoxintenuazonic acid on PSII reaction centers. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p. 10-21, 2014.

CHINNAPAPPA, M., RAMAR, A., PUGALENDHI, L., MUTHULAKSHMI, P., VETRIVELKALAI, P. Screening of *Piper* Species for Resistance to Quick Wilt caused by *Phytophthora capsici* under Glasshouse Condition. **Madras Agricultural Journal**, v. 6, 77-84, 2018.

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DAI, L., SONG, X., HE, B., VALVERDE, B. E., QIANG, S. Enhanced photosynthesis endows seedling growth vigour contributing to the competitive dominance of weedy rice over cultivated rice. **Pest management science**, v. 73, p. 1410-1420, 2016.

DaSILVA, E. C., PRADO, T. B., DE ALCÂNTARA, R. N., DA SILVA JUNIOR, C. D., NOGUEIRA, L. C. Different levels of water deficit induces changes in growth

pattern but not in chlorophyll fluorescence and water relations of *Hancornia speciosa* Gomes seedlings. **Scientia Plena**, v. 12, n. 2, 2016.

De GÓES, G. B., COSTA, I. G., MENDONÇA, V., DANTAS, D. J., LEITE, G. A. Métodos de enxertia na produção de mudas de tamarindeiro. **Revista Ceres**, v. 63, n. 6, p. 853-859, 2016.

De PAIVA, E. P., ROCHA, R. H. C., DE SOUSA, F. D. A., NOBRE, R. G., GUEDES, W. A., DOS SANTOS MOREIRA, I., DA SILVA SÁ, F. V. Crescimento e fisiologia de mudas de romãzeira cv. Wonderful propagadas por enxertia. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 117-122, 2015.

DOUSSEAU, S., RODRIGUES, A. C., LIRA, J. M. S., RIBEIRO JÚNIOR, P. M., PACHECO, F. V., ALVARENGA, A. A. de, RESENDE, M. L. V., PAULA, A. C. C. F. F. de. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 191-197, 2016.

FRACHEBOUD, Y., JOMPUK, C., RIBAUT, J. M., STAMP, P., LEIPNER, J. Genetic analysis of cold-tolerance of photosynthesis in maize. **Plant molecular biology**, v. 56, n. 2, p. 241-253, 2004.

FAO. Food and Agriculture of the United Nations. **StatisticalDatabases**. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 30 de junho de 2019.

FERRANTE, A, MAGGIORE, T. Chlorophyll a fluorescence measurements to evaluate storage time and temperature of Valeriana leafy vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 73-80, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GHASSEMI-GOLEZANI, K, LOTFI, R. The impact of salicylic acid and silicon on chlorophyll a fluorescence in mung bean under salt stress. **Russian journal of plant physiology**, v. 62, n. 5, p. 611-616, 2015.

GUO, Y., NIE, H., YU, H., KONG, D., WU, J. Effect of salt stress on the growth and photosystem II photochemical characteristics of *Lycium ruthenicum* Murr. seedlings. **Photosynthetica**, v. 57, n. 2, p. 564-571, 2019.

HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 9. 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. r/Produção Agrícola nacional e regional. Acesso em:< <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613>>. Acessado em: de outubro de 2019.

JOHN, K. J., PRADHEEP, K., JAISANKAR, I., NAIR, R. A., SHARMA, T. V. R. S.,KRISHNARAJ, M. V., ZACHARIAH, T. J., NISSAR, V. A. M., LATHA, M., BHAT, K. V. 'Choijwal'(*Piper wallichii* (Miq.) Hand.-Mazz.): a wild pepper used

as spice and medicine in Andaman Islands of India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.67, n.1, p.257–262. 2019.

KALAJI, H. M., OUKARROUM, A., ALEXANDROV, V., KOUZMANOVA, M., BRESTIC, M., ZIVCAK, M., SAMBORSKA, I. A., CETNER, M. D., ALLAKHVERDIEV, S. I., GOLTSEV V. Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 30, p. 1-10. 2014.

KIRAN, S., BAKHSH, A., IQBAL, J., IQBAL, A., RAZA, S., AHMAD, N., ALI, M. A., DANISH, S. Effect of changing weather on success of wedge and veneer grafting and chlorophyll content in mango cv. Sufaid Chaunsa. **International Journal of Biosciences**, v. 14, n. 2, p. 91-99, 2019.

KUMAR, P., RANA, S., SHARMA, P., NEGI, V. Enxerto de vegetais: um benefício para os produtores de vegetais para combater estresses bióticos e abióticos. **Himachal Journal of Agricultural Research**, v. 41, n. 1, p. 1-5, 2015.

LI, X., BU, N., LI, Y., MA, L., XIN, S., ZHANG, L. Growth, photosynthesis and antioxidant responses of endophyte infected and non-infected rice under lead stress conditions. **Journal of hazardous materials**, v. 213, p. 55-61, 2012.

MENG, L. L., SONG, J. F., WEN, J., ZHANG, J., WEI, J. H. Effects of drought stress on fluorescence characteristics of photosystem II in leaves of *Plectranthus scutellarioides*. **Photosynthetica**, v. 54, n. 3, p. 414-421, 2016.

MILLIGAN, GLENN W.; COOPER, MARTHA C. An examination of procedures for determining the number of clusters in a data set. **Psychometrika**, v. 50, n. 2, p. 159-179, 1985.

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.

LAKSHMANA, M., HANUMANTHAPPA, M., SUNIL, C. "Effect of propagation method on successful growth performance of pepper plants". In: MALHOTRA, S K, KANDIANNAN, K., RAJ, K. M., NEEMA, V. P., PRASATH, SRINIVASAN, D, FEMINA, H. C. V. Advances in planting material production technology in spices, **Directorate of Arecanut and Spices Development**, Kohzikode, Kerala, India. v. 18, n. 4, p. 124-129, 2016.

OUKARROUM, A., EL MADIDI, S., SCHANSKER, G., STRASSER, R. J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 3, p. 438-446, 2007.

RANA, A., SAHGAL, M., JOHRI, B. N. *Fusarium oxysporum*: Genomics, Diversity and Plant–Host Interaction. In: Satyanarayana T, Deshmukh SK, Johri BN, editors. **Developments in Fungal Biology and Applied Mycology**. Springer, Singapore, p.159-199, 2017.

RATTAN, K. J., TAYLOR, W. D., SMITH, R. E. H. Nutrient status of phytoplankton across a trophic gradient in Lake Erie: evidence from new fluorescence methods. **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, v. 69, n. 1, p. 94-111, 2012.

RONCATTO, G., ASSIS, G. M. L., OLIVEIRA, T. K., LESSA, L. S. Pegamento da enxertia em diferentes combinações de variedades e espécies utilizadas como copa e como porta-enxertos de maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.3, p. 948-953, 2011.

ROUPHAEL, Y., KYRIACOU, M. C., COLLA, G. Vegetablegrafting: A toolbox for securing yield stability under multiple stress conditions. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 2255, 2018.

SCHMILDT, E. R., ARANTES, L. De O., HELL, L. R., LAVANHOLE, D.F. SCHMILDT.O. **Variedades de pimenta-do-reino**. In: SILVA. M.B., Da VITÓRIA, E. L. CAMPANHARO, A. Cultura da pimenta-do-reino, Araçá, São Mateus, Espírito Santo, Brasil. v.1, n.1, p. 19-39, 2018.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test, P. Mathis (Ed.), Photosynthesis: From Light to Biosphere, Vol. V. In: **Proceedings of the Xth International Photosynthesis Congress. Montpellier, France, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht**. 1995.

VANAJA, T., NEEMA, V. P., RAJESH, R., MAMMOOTTY, K. P. Graft recovery of *Piper nigrum* L. runner shoots on *Piper colubrinum* Link. rootstocks as influenced by varieties and month of grafting. **Journal of Tropical Agriculture**, v. 45, n. 1-2, 61–62, 2007.

YUSUF, M. A., KUMAR, D., RAJWANSHI, R., STRASSER, R. J., TSIMILLI-MICHAEL, M., GOVINDJEE, SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1428-1438. 2010.

ZHANG, M., SHAN, Y., KOCHIAN, L., STRASSER, R. J., CHEN, G. Photochemical properties in flag leaves of a super-high-yielding hybrid rice and a traditional hybrid rice (*Oryza sativa* L.) probed by chlorophyll *a* fluorescence transient. **Photosynthesis research**, v. 126, n. 2-3, p. 275-284, 2015.

ZHUO, Y., QIU, S., AMOMBO, E., ZHU, Q., TANG, D., HUANG, M., HAN, X., CHEN, L., WANG, S., CHEN, K., SUN, J. Nitric oxide alleviates cadmium toxicity in tall fescue photosystem II on the electron donor side. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 110-118, 2017.

Tabelas e Figuras

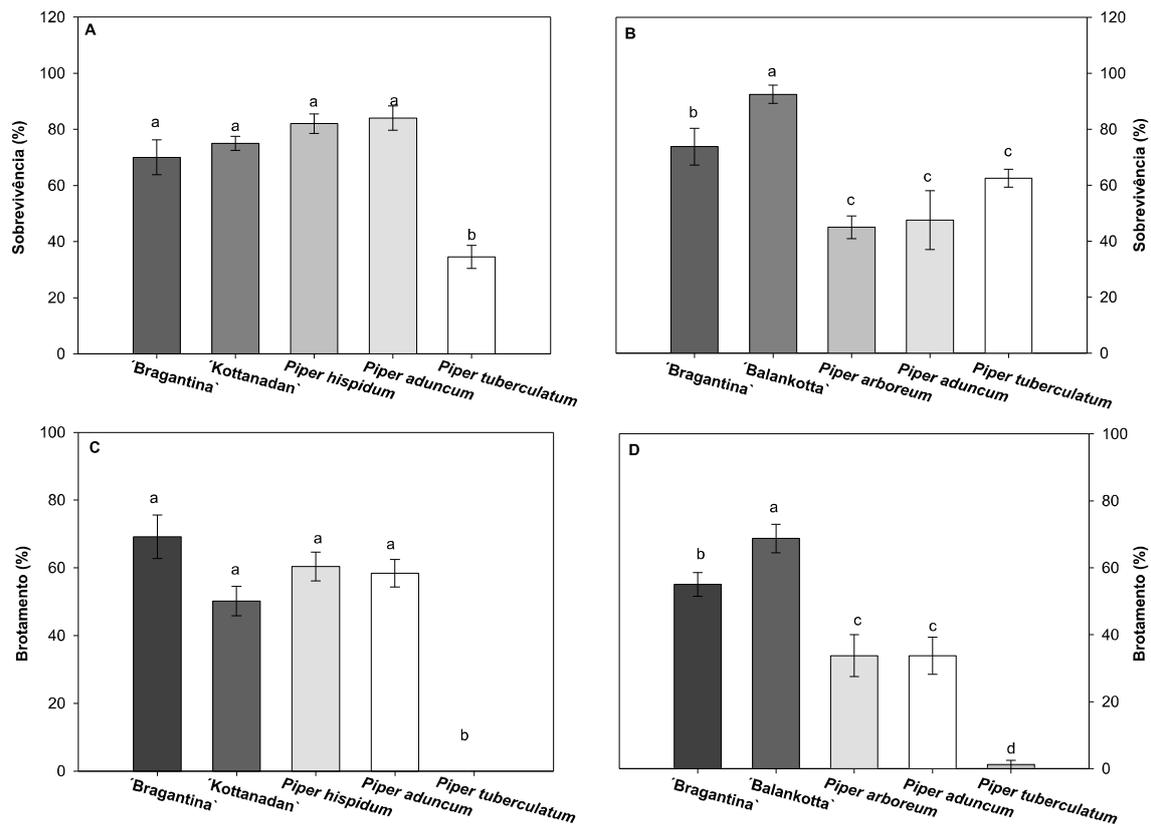


Figura 1. Porcentagem de sobrevivência e de brotação de pimenta-do-reino 'Bragantina' sob diferentes porta-enxertos no método garfagem lateral em fenda cheia (A e C) e de topo em fenda cheia (B e D). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de probabilidade de 5%. A barra corresponde ao erro padrão da média de quatro repetições.

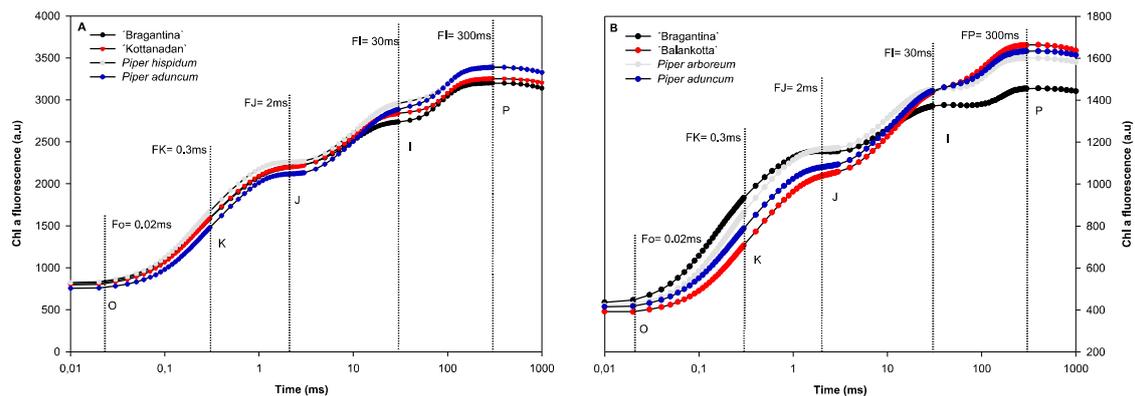


Figura 2. (A) a curva polifásica de emissão da fluorescência da clorofila *a*, do enxerto *Piper nigrum* sob diferentes porta-enxertos. (A) métodos enxertia lateral em fenda cheia, (B) na enxertia de topo em fenda cheia.

Tabela 1. Análise do Teste JIP da pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertadas sob diferentes porta-enxertos nos métodos enxertia lateral em fenda cheia e de enxertia de topo em fenda cheia. Fo = rendimento mínimo de fluorescência do estado de adaptação, Fm = Fluorescência máxima, ABS/RC = fluxo de absorção de energia, TRo/RC = fluxo de energia capturada, ETo/RC = fluxo de transporte de elétrons fotossintéticos por centro de reação, Dlo / RC = fluxo de dissipação de energia por centro de reação, RC/CSm= Densidade de centro de reação por seção transversal máxima, ϕP_o = máximo rendimento quântico da fotoquímica primária, ϕD_o = dissipação de calor e $PI_{(ABS)}$ = índice de desempenho da eficiência fotossintética.

ENXERTIA LATERAL EM FENDA CHEIA

Porta-enxertos	Fo	Fm	ABS/RC	TRo/RC	ETo/RC	Dlo/RC	RC/CSm	ϕP_o	ϕD_o	$PI_{(ABS)}$
'Bragantina'	743.63 a	3202.00 a	3.00 a	2.10 a	0.87 a	0.90 a	1153.20 a	0.71 a	0.29 a	9.03 a
'Kottanadan'	717.75 a	3253.50 a	2.92 a	2.11 a	0.91 a	0.82 a	1125.17 a	0.72 a	0.28 a	8.46 a
<i>P. hispidum</i>	742.50 a	3386.88 a	3.09 a	2.22 a	1.00 a	0.87 a	1136.47 a	0.72 a	0.28 a	8.69 a
<i>P. aduncum</i>	678.88 a	3388.63 a	2.66 a	2.00 a	0.99 a	0.66 a	1285.52 a	0.75 a	0.25 a	12.00 a
CV (%)	8.92	9.38	16.28	12.64	7.78	26.99	15.72	4.10	10.96	47.00 a

ENXERTIA DE TOPO EM FENDA CHEIA

Porta-enxertos	Fo	Fm	ABS/RC	TRo/RC	ETo/RC	Dlo/RC	RC/CSm	ϕP_o	ϕD_o	$PI_{(ABS)}$
'Bragantina'	413.50 a	1457.00 a	4.18 a	2.61 a	0.82 a	1.57 a	363.20 c	0.64 b	0.36 a	2.37 b
'Balankotta'	386.25 a	1600.88 a	3.27 b	2.25 a	0.87 a	1.02 b	505.58 b	0.70 a	0.30 b	5.01 b
<i>Piper arboreum</i>	356.33 a	1658.33 a	2.64 b	1.95b	0.92 a	0.69 b	640.09 a	0.74 a	0.26 b	11.53 a
<i>Piper aduncum</i>	359.50 a	1663.38 a	2.50 b	1.84 b	0.96 a	0.66 b	685.51 a	0.74 a	0.26 b	12.90 a
CV (%)	1.06	9.40	16.44	10.41	17.02	33.06	15.96	5.58	13.26	28.58 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade

Tabela 2. Percentagem de pegamento e brotações da pimenta-do-reino 'Bragantina' enxertada em diferentes porta-enxertos e utilizando o método de enxertia lateral em fenda cheia (Lateral) e o método de enxertia fenda cheia de topo (Cheia).

Porta-enxerto	Sobrevivência		Brotamento	
	Lateral	Cheia	Lateral	cheia
'Bragantina'	70.00 Aa	73.75 Aa	69.25 Aa	55.00 Ba
<i>P. aduncum</i>	84.00 Aa	47.50 Bb	58.25 Aa	33.75 Bb
<i>P. tuberculatum</i>	34.75 Bb	62.50 Aa	0.00 Ab	1.25 Ac

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade. Letras maiúscula na linha comparam os métodos de enxertia para cada porta-enxerto e minúscula na coluna comparam os porta-enxertos em cada método.

Tabela 3. Análise do Teste JIP de pimenta-do-reino 'Bragantina' enxertadas sob os porta-enxertos 'Bragantina' e *P. aduncum* no Método de enxertia lateral em fenda cheia e método de enxertia fenda cheia de topo.

PORTA ENXERTOS	MÉTODO DE ENXERTIA		
	Fenda Lateral	Fenda Cheia	Médias
	Fo		
'Bragantina'	743.63	413.5	
<i>P. aduncum</i>	678.88	359.5	
Médias	711.25 a	386.5 b	
	Fm		
'Bragantina'	3202	1457	
<i>P. aduncum</i>	3388.63	1663.37	
Médias	3295.31 a	1560.18 b	
	ABS/RC		
'Bragantina'	3	4.18	3.59 A
<i>P. aduncum</i>	2.66	2.5	2.58 B
	TRo/RC		
'Bragantina'	2.10 Ba	2.60 Aa	
<i>P. aduncum</i>	2.00 Aa	1.84 Ab	
	ETo/RC		
'Bragantina'	0.87	0.81	
<i>P. aduncum</i>	0.99	0.91	
	Dlo/RC		
'Bragantina'	0.9	1.57	1.24 A
<i>P. aduncum</i>	0.66	0.66	0.66 B
	RC/CSm		
'Bragantina'	1153.20	363.20	
<i>P. aduncum</i>	1285.52	685.50	
Médias	1219.36 a	524.35 b	
	ϕP_o		
'Bragantina'	0.71	0.64	0.67 B
<i>P. aduncum</i>	0.75	0.74	0.74 A
	ϕD_o		
'Bragantina'	0.29	0.36	0.33 A
<i>P. aduncum</i>	0.25	0.25	0.25B

	$PI_{(ABS)}$		
'Bragantina'	9.03	2.37	5.70 B
<i>P. aduncum</i>	12	12.90	12.45 A

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha ou minúscula na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade. Método de enxertia lateral em fenda cheia (Fenda Lateral), método de enxertia fenda cheia de topo (Fenda Cheia).

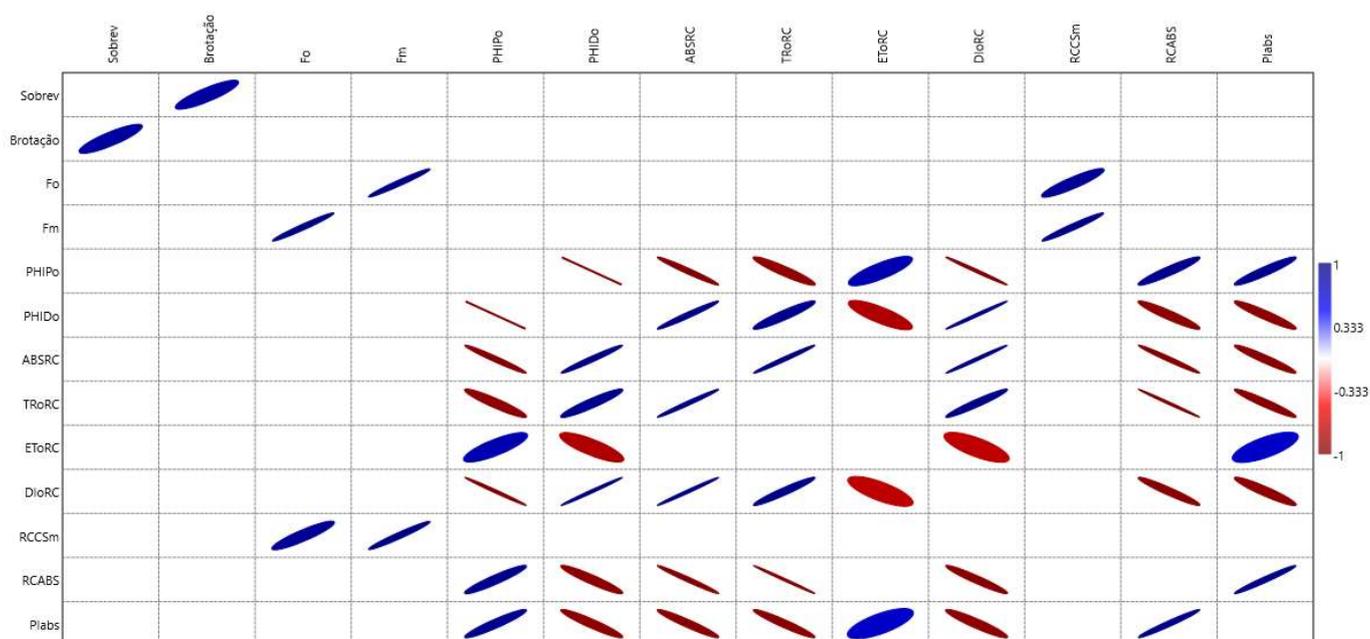


Figura 3. Matriz de correlação de Pearson entre os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e sobrevivência e brotamento dos métodos de enxertia fenda lateral e fenda cheia. Porcentagem de sobrevivência (Sobrev.), porcentagem de brotamento (Brotação), Fo = rendimento mínimo de fluorescência do estado de adaptação, Fm = Fluorescência máxima, ABS/RC = fluxo de absorção de energia, TRo/RC = fluxo de energia capturada, ETo/RC = fluxo de transporte de elétrons fotossintéticos por centro de reação, Dio/RC = fluxo de dissipação de energia por centro de reação, RC/CSm= densidade de centro de reação por seção transversal máxima, ϕPo = máximo rendimento quântico da fotoquímica primária, ϕDo = dissipação de calor e $PI_{(ABS)}$ = índice de desempenho da eficiência fotossintética.

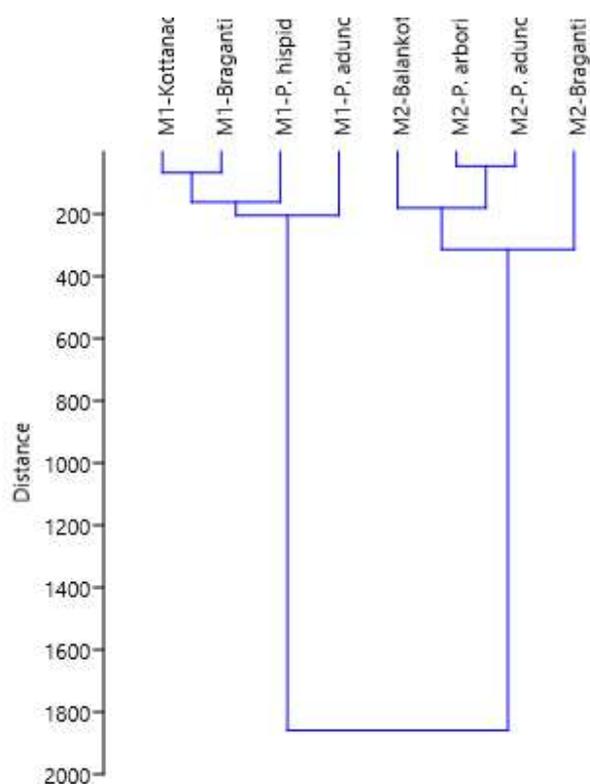


Figura 4. Dendrograma de distância genética (UPGMA -Mahalanobis) de diferente porta-enxertos e dois métodos de enxertia: Método de enxertia fenda lateral em cheia= M1-´Bragantina`, M1-´Kottandan`, M1- *P. hispidum*, M1- *P. aduncum* e método de enxertia de topo em cheia= M2-´Bragantina`, M2-´Balankotta`,M2- *P. arboreum*, M2- *P. aduncum*.

1.2 METABOLISMO PRIMÁRIO E SUA RELAÇÃO COM O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MUDAS ENXERTADAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO

“Preparado de acordo com as normas do Periódico *Environmental and Experimental Botany*”

Resumo

A produção de mudas da pimenteira-do-reino através da enxertia é uma estratégia promissora para mitigar o efeito dos estresses ambientais que limitam o seu cultivo. No entanto, ainda são escassos os estudos de compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto, principalmente considerando as espécies selvagens do gênero *Piper* e os genótipos cultivados de pimenteira-do-reino. Objetivou-se com este trabalho avaliar a relação entre o metabolismo primário e o desenvolvimento das mudas da pimenteira-do-reino obtidas através da enxertia intra e interespecífica. O método empregado foi o de enxertia lateral em fenda cheia, como enxerto foi utilizada a cultivar Bragantina, mais conhecida no mundo como ‘Panniyur 1’ e como porta-enxerto foram avaliados a cultivar Kottanadan e três espécies selvagens (*Piper hispidum*, *Piper aduncum* e *Piper tuberculatum*). Como controle foi efetuado a enxertia da ‘Bragantina’ nela mesma (homoenxerto). O experimento foi conduzido durante 110 dias e as mudas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento, trocas gasosas e alocação de carboidratos. O porta-enxerto influencia no desenvolvimento e no metabolismo primário das mudas. Somente *P. tuberculatum* apresentou incompatibilidade inicial com a ‘Bragantina’ e embora tenha apresentado 35% de sobrevivência no período de avaliação do experimento, não apresentou brotação, não havendo mudas para serem avaliadas. As demais espécies avaliadas foram compatíveis, apresentando em média 78% de sobrevivência e 60% de brotamento. Os porta-enxertos não influenciaram na capacidade fotossintética do enxerto e não alteraram diversos parâmetros de desenvolvimento da muda. As espécies *P. hispidum* e a ‘Kottanadan’ tiveram limitação ao fluxo de carboidratos, evidenciados pelo

acúmulo de AST e o maior diâmetro acima da união da enxertia. De forma geral, o trabalho mostrou os resultados promissores da enxertia sob espécies nativas de *Piper*, podendo ser avaliadas em campo quanto a produção e visando a exploração comercial.

Termos para indexação: pimenta preta, 'Bragantina' ('Panniyur 1'), 'Kottanadan', *Piper hispidum*, *Piper aduncum*, *Piper tuberculatum*.

Abstract

The production of black pepper seedlings through grafting is a promising strategy to mitigate the effect of environmental stresses that limit its cultivation. However, studies on compatibility between grafts and rootstocks are still scarce, especially considering the wild species of the genus *Piper* and the cultivated genotypes of black pepper. The objective of this work was to evaluate the relationship between primary metabolism and the development of black pepper seedlings obtained through intra and interspecific grafting. The method used was that of lateral grafting in a full slit, as a graft the Bragantina cultivar, better known in the world as 'Panniyur 1', was used and as a rootstock the Kottanadan cultivar and three wild species (*Piper hispidum*, *Piper aduncum* and *Piper tuberculatum*). As a control, 'Bragantina' was grafted onto itself (homograft). The experiment was carried out for 110 days and the seedlings were evaluated for development, gas exchange and carbohydrate allocation. The rootstock influences the development and primary metabolism of seedlings. Only *P. tuberculatum* showed initial incompatibility with 'Bragantina' and although it had 35% survival in the period of evaluation of the experiment, it did not show sprouting, with no seedlings to be evaluated. The other species evaluated were compatible, with an average of 78% survival and 60% sprouting. The rootstocks did not influence the photosynthetic capacity of the graft and did not change several parameters of seedling development. The species *P. hispidum* and 'Kottanadan' had limitation to the carbohydrate flow, evidenced by the accumulation of AST and the larger diameter above the graft union. In general, the work showed promising results of grafting under native *Piper* species, which can be evaluated in the field regarding production and aiming at commercial exploitation.

Index terms: black pepper, 'Bragantina' ('Panniyur 1'), 'Kottanadan', *Piper hispidum*, *Piper aduncum*, *Piper tuberculatum*.

1.2.1 Introdução

A pimenta do reino é o principal condimento produzido em todo o mundo, sendo conhecido como “King of Spices” (Joshi et al., 2018). O Brasil se destaca no ranking mundial na produção desta especiaria, sendo considerado em 2017 o terceiro maior produtor (FAO, 2019). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a área colhida no Brasil em 2018, foi de aproximadamente 34.299 ha e a produção de 1.012.741 t (IBGE, 2019).

Embora o Brasil seja destaque mundial na produção da pimenta-do-reino, o rendimento médio é muito baixo, cerca de 85% inferior ao país de maior rendimento, o Vietnã e Indonésia (FAO, 2019). Dentre os fatores que restringem a produtividade brasileira, destaca-se a incidência do fungo *Fusarium solani* f. sp. *Piperis* que ataca o sistema radicular e se espalha rapidamente na lavoura levando à morte das plantas (Rana et al., 2017). Atualmente não existem fontes de resistência para a fusariose nas cultivares de pimenteira-do-reino desenvolvidas em todo o mundo. Estratégias de controle químico são pouco eficientes, além de elevar o custo de cultivo e causar poluição ambiental e riscos à saúde (Amira et al., 2017).

Uma opção para o cultivo da pimenteira do reino em áreas contaminadas é utilizar espécies selvagens do gênero *Piper* resistentes como porta-enxerto de cultivares comerciais. Embora a fonte de resistência do gênero *Piper* ainda tenha sido pouco explorada, haja vista o número reduzido de espécies avaliadas, diante das centenas deste gênero, algumas espécies selvagens têm sido consideradas resistentes ao fusário incluindo *Piper colubrinum* Link, *Piper aduncum* Linn., *Piper tuberculatum* Jacq., *Piper hispidinervium* C. D. C. e *Piper hispidum* Sw (Albuquerque et al., 2001).

A produção de mudas de pimenteira-do-reino enxertadas em espécies selvagens tem sido considerada possível, no entanto, a resposta depende da interação do enxerto com o porta-enxerto. Em países como a Índia a enxertia da pimenteira-do-reino em *Piper colubrinum* é uma prática de produção de mudas bastante difundida, visando a superação de estresses bióticos e

abióticos (Vanaja et al., 2007). A cultivar Panniyur 1, no Brasil registrada como 'Bragantina' (Schmidt et al., 2018), é o principal genótipo da pimenteira-do-reino cultivado em todo o mundo e embora diversos estudos indiquem que seja possível efetuar a enxertia desta cultivar em espécies selvagens (Aarthi e Kumar, 2019; Lakshmana et al., 2016; Vanaja et al., 2007), ainda são necessários mais estudos entre as cultivares comerciais de pimenteira-do-reino enxertadas em espécies nativas do Brasil.

Evidências de incompatibilidade tardia na pimenteira-do-reino foi relatada por Alconero et al. (1972) e Barriga et al. (1986), onde as plantas obtidas por enxertia entre *Piper nigrum* e o porta-enxerto *P. colubrinum* morreram após quatro anos. Embora os estudos relatem que a compatibilidade na enxertia depende da interação entre enxerto e porta-enxerto, ainda são necessários elucidar os mecanismos relacionados com a incompatibilidade. Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar a relação entre o metabolismo primário e o desenvolvimento das mudas da pimenteira-do-reino obtidas através da enxertia intra e interespecífica visando identificar porta-enxertos compatíveis e elucidar mecanismos envolvidos na incompatibilidade.

1.2.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Instituto Capixaba de Pesquisa Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Linhares, Brasil (19°25'00,49" S - 40°04' 38,52" W). Durante o período de condução do experimento (julho de 2018 a junho de 2019), foram coletados dados climáticos 33 na estação meteorológica automática de Linhares/ES (INCAPER, 2019), sendo os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, respectivamente, 30.24 °C, 21.28 °C, 24.75 °C, 2.51 mm e 75.78 %.

Como enxerto foi utilizada a 'Bragantina' e como porta-enxerto foram avaliados a 'Kottanadan' e três espécies nativas (*Piper hispidum*, *Piper aduncum* e *Piper tuberculatum*). Como controle foi efetuada a enxertia da cultivar 'Bragantina' nela mesma, considerado homoenxerto.

Na primeira etapa do experimento as mudas dos porta-enxertos foram produzidas utilizando propágulos de plantas matrizes do Banco Ativo de

Germoplasma (BAG) do INCAPER. As mudas das espécies nativas foram obtidas utilizando o protocolo proposto por Dousseau et al. (2011) com modificações, onde foi feito a germinação em câmara tipo BOD e as plântulas transferidas após 40 dias para bandeja de isopor com 200 células, contendo substrato orgânico comercial (Bioplant®), mantidas por 60 dias em viveiro recoberto com sombrite (50%) e transplantadas para tubetes com capacidade de 280 cm³ preenchidos com o substrato orgânico comercial, adubado com 2 g de adubo de liberação lenta 3 a 4 meses (Osmocote®), onde permaneceram por mais 48 dias. Após este período a enxertia foi efetuada (234 dias após a semeadura).

As mudas das cultivares de pimenteira do reino foram produzidas conforme descrito em Ambrozim et al. (2017) com adaptações. Foram utilizadas estacas herbáceas com um nó e duas folhas, coletadas da região mediana do ramo, que foram desinfestadas através da imersão em solução fungicida por 5 minutos, seguida da imersão por 12 horas em solução contendo 400 mg L⁻¹ do regulador de crescimento ácido indolbutírico. A enxertia nas cultivares foi feita aos 160 dias após o estaqueamento.

A enxertia foi efetuada entre fevereiro a junho de 2019, sendo os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, registrados durante estes períodos foram respectivamente, 32.05°C, 23.01°C, 26.36°C, 2.12 mm, 74.59%. O enxerto foi obtido a partir de estacas coletadas de plantas matrizes com 2 anos de idade, em uma lavoura comercial, localizada no município de Linhares-ES localizada a 19°24'51" S e 40°13'37" W. Os ramos ortotrópicos foram coletados e mantidos umedecidos por 24 horas em sacos de estopa umedecidos. Foram preparados os enxertos contendo dois nós sem folhas provenientes de ramos herbáceos. O método de enxertia utilizado foi a garfagem lateral e o procedimento foi realizado por um enxertador experiente, no período de 7:00 às 12:00 horas.

O porta-enxerto foi preparado efetuando-se um corte lateral com 3 cm na altura do quarto nó, a partir do coleto da muda. No enxerto fez-se uma cunha em bisel duplo, com 3 cm e após a inserção no porta-enxerto, foi realizado o amarrão com elástico de borracha nº 18. Imediatamente após o procedimento da enxertia foi efetuada a pulverização com fungicida

Carbendazin (princípio ativo) e o enxerto recoberto com plásticos transparentes 6x23 cm amarrado logo abaixo do ponto da enxertia. Entre 28 e 30 dias com surgimento da primeira folha aberta procedeu-se a remoção dos sacos plásticos e após 15 dias foi feita a decapitação da parte aérea do porta-enxerto.

Após a enxertia, as mudas foram mantidas no viveiro com tela de 50% de sombreamento com irrigação por aspersão por um período de 110 dias. O experimento de enxertia foi organizado em blocos casualizados, perfazendo o total de 5 tratamentos e 4 repetições, contendo 25 mudas por parcela.

A percentagem de sobrevivência foi calculada a partir de avaliações semanais, considerando a seca total do enxerto e após 95 dias da enxertia foi efetuada a avaliação da incidência de brotação do enxerto. Após 110 dias da enxertia foi efetuada a avaliação quanto ao desenvolvimento das mudas, as trocas gasosas, os teores de pigmentos fotossintéticos e a quantidade de carboidratos alocados.

O desenvolvimento das mudas foi avaliado com dez plantas de cada parcela, que tiveram o substrato retirado em água corrente. As mudas foram levadas para o Laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita (LFVPC) do INCAPER, onde foram avaliadas quanto ao comprimento do caule do broto (CC_{broto}) mm, comprimento da raiz (CR) mm, diâmetro do caule do broto (DC_{broto}) mm, número de folhas (NF), área foliar (AF) cm^2 , diâmetro caule acima do ponto de enxertia (DC_{ac}) mm, diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia (DC_{ab}) mm, volume radicular (VR) cm^3 , alocação de massa seca e índice SPAD. A área foliar foi obtida através do medidor de área foliar (Li-Cor, modelo 3100). O índice SPAD (intensidade de cor verde) foi avaliado uma folha completamente expandida e duas plantas por parcela utilizando um Medidor Portátil de Clorofila, modelo SPAD-502 "Soil Plant Analyser Development" (Minolta, Japão).

A alocação de massa seca foi efetuada a partir do seccionamento da muda e secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até peso constante. Foram obtidos os valores de massa seca das folhas (MS_{folha}) g, do caule do Broto (MSC_{broto}) g, do caule acima do ponto de enxertia (MSC_{ac}) g (corresponde à estaca do enxerto), do caule abaixo do ponto de enxertia (MSC_{ab}) g, da estaca do porta-enxerto (MS_{estaca}) g e das raízes (MS_{raiz}) g. A

partir destes dados foram calculados a massa seca do caule do enxerto (MSC_{enx}) g somando-se a MSC_{brot} e MSC_{ac} ; massa seca do porta-enxerto ($MSCPE$) g pela soma do MSC_{ab} e MS_{estaca} ; massa seca da parte aérea da muda ($MSPA$) g pela soma de MS_{folha} , MSC_{enx} e $MSCPE$; massa seca total da muda (MST) g.

As trocas gasosas foram avaliadas em duas plantas por parcela, em uma folha completamente expandida, utilizando-se o analisador de gás por infravermelho (IRGA) portátil (Li-Cor, modelo LI-6400). As análises foram efetuadas no horário entre 8h00 e 10h00 horas, sob luz saturante com densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e sob condições temperatura de 25°C e CO_2 de 400 ppm, sendo avaliadas as seguintes características: taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (C_i , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). De posse destes dados, foram calculados a razão entre a concentração interna externa de CO_2 (C_i/C_a , ppm/ppm), eficiência no uso da água [$EUA - A/E$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1})$], eficiência instantânea no uso de água [$EiUA - A/gs$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1})$], eficiência instantânea de carboxilação [$EiC - A/C_i$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$].

Os pigmentos fotossintéticos foram extraídos de folhas completamente expandidas, utilizando-se as metodologias propostas por Arnon (1949) para as clorofilas e Rodriguez-Amaya e Kimura (2004) para os carotenóides. As folhas foram coletadas e imediatamente levadas para o Laboratório de Fisiologia vegetal e Pós-Colheita do Incaper. Para a extração das clorofilas e carotenóides foram utilizados 2 e 4 discos de 2mm respectivamente. Os discos foram pesados e o teor dos pigmentos foi expresso em $\mu\text{g/ml}$ de massa fresca. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Beckman, modelo 640B).

A alocação de carboidratos foi avaliada através da quantificação dos açúcares redutores (AR), açúcares solúveis totais (AST) e do amido de folhas, caule acima e abaixo do ponto de enxertia e das raízes. Os tecidos vegetais utilizados para a avaliação de massa seca foram moídos em moinho de facas tipo Willev e modelo STAR FT-50, armazenados em freezer a -18°C . Os extratos foram obtidos conforme Zanandrea et al. (2009), utilizando massa

variável, sendo 0,15 g (folha e do caule abaixo do ponto de enxertia), 0,1 g (caule abaixo do ponto de enxertia), 0,3 g (raiz das cultivares) e 0,4 g (raiz das selvagens).

Para a quantificação dos AST e do amido foi utilizado o método da Antrona (Yemm e Willis, 1954), com modificações, sendo utilizado 2 mL da solução de antrona a 0,19% em ácido sulfúrico a 93,33%, em um volume reacional de 3 mL, submetido a 100°C por 3 minutos. Os AR foram quantificados segundo o protocolo descrito por Miller (1959), através do método do Ácido Dinitrosalicílico (DNS).

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.6 (Ferreira, 2011). A relação entre os diâmetros acima e abaixo do ponto de enxertia foi avaliada considerando um fatorial simples 4x2 (4 porta-enxertos x duas posições de medições do diâmetro do caule). A alocação de carboidratos foi avaliada considerando um fatorial 37 duplo 4x4, sendo 4 porta-enxertos e 4 órgãos (folhas, caule acima e abaixo do ponto de enxertia e raízes). Para analisar as relações entre o metabolismo primário (trocas gasosas e carboidratos) com o desenvolvimento das mudas, foi obtido coeficiente de correlação de Pearson, utilizando as médias dos tratamentos, com auxílio do programa estatístico PAST versão 3.25 (Hammer et al., 2001).

1.2.3 Resultados

A utilização da *P. tuberculatum* como porta-enxerto não possibilitou a formação da parte aérea, embora o porta-enxerto estava vivo, emitindo brotações na base do caule, a ligação no ponto de enxertia não ocorreu adequadamente (Figura 1), havendo eliminação do enxerto ao longo do tempo (Figura 2 A). A porcentagem de sobrevivência apresentou o menor valor, 34,5% (Figura 2 A), com ausência total de brotamento (Figura 2 B). Os demais porta-enxertos apresentaram, em média, 78% de sobrevivência (Figura 2 A) e 60% de brotamento (Figura 2 B).

Observa-se na Figura 2 A que os enxertos começaram a morrer quando o saco foi retirado, cerca de 30 dias após o procedimento da enxertia,

momento que iniciaram as brotações do enxerto. Também se verifica que no momento da decapitação da parte aérea do enxerto (45 dias após a enxertia), intensificaram-se as mortes, inclusive brotos que haviam se formado sofreram abscisão.

Os porta-enxerto avaliados não apresentaram diferença significativa no comprimento do caule do broto (CC_{broto}), diâmetro do caule do broto (DC_{broto}), número de folhas (NF), área foliar (AF), diâmetro do caule acima do ponto de enxertia (DC_{ac}) e volume radicular (VR) (Tabela 1). O porta-enxerto *P. hispidum* apresentou o maior comprimento da raiz (CR), com valores cerca de 50% superior aos demais. O maior diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia (DC_{ab}) foi obtido com o porta-enxerto *P. aduncum*.

Não foram observadas diferenças significativas no acúmulo de massa seca nas folhas (MS_{folha}), no caule dos brotos (MSC_{brot}), no caule acima do ponto de enxertia (MSC_{ac}) e no caule do enxerto (MSC_{enx}) (Tabela 2). A massa seca do caule abaixo do ponto de enxertia (MSC_{ab}) foi inferior nas cultivares. A massa seca da parte aérea das mudas (MSPA) e a massa seca do porta-enxerto (MS_{PE}) foram superiores nas cultivares em relação as espécies selvagens, devido a presença da massa seca da estaca (MS_{estaca}), advinda do processo de estaquia para a obtenção dos porta-enxertos das cultivares. A 'Kottanadan' alocou menor massa seca para o sistema radicular (MS_{raiz}), contribuindo para a menor massa total da muda (MST).

Os porta-enxertos avaliados não influenciaram nos parâmetros de trocas gasosas (Tabela 3), nos teores de clorofilas e no índice SPAD (Tabela 4) das folhas da pimenteira-do-reino 'Bragantina'. Os teores de carotenóides foram superiores nos porta-enxertos em relação ao homoenxerto, exceto para o α -Caroteno, que não diferiu (Tabela 4).

A relação entre os diâmetros acima e abaixo do ponto de enxertia foi influenciada pelos porta-enxertos, onde apenas o homoenxerto não apresentou diferenças significativas (Figura 3 A). Para os demais porta-enxertos avaliados o comportamento foi diferente. Para o *P. aduncum* o diâmetro abaixo foi superior ao diâmetro acima do ponto de enxertia, enquanto para *P. hispidum* e a 'Kottanadan' ocorreu o inverso.

Os teores de carboidratos diferiram entre os porta-enxertos considerando os órgãos avaliados, exceto para o amido, que variou apenas entre os órgãos (Figuras 3 B, C e D). O teor de açúcares redutores (AR) e açúcares solúveis totais (AST) nas folhas e raízes não diferiram entre os porta-enxertos (Figura 3 B e C). O homoenxerto teve maior acúmulo de AR e AST no caule abaixo do ponto de enxertia com relação aos porta-enxertos avaliados. No caule acima do ponto de enxertia o menor teor de açúcares redutores (AR) foi obtido com o porta-enxerto *P. aduncum*.

A alocação de carboidratos nos diferentes órgãos avaliados foi influenciada pelos porta-enxertos, porém com padrões distintos (Figuras 3 B, C e D). No homoenxerto, AR e AST foram superiores no caule acima, seguido das folhas e caule abaixo, que não diferiram e, inferior na raiz. Com a utilização do porta-enxerto *P. hispidum*, AR e AST foram superiores no caule acima, seguido das folhas e do caule abaixo e raízes, que não diferiram. Para a 'Kottanadan', o mesmo comportamento que *P. hispidum* foi observado para os AR, contudo, os AST foram superiores nas folhas e no caule acima, que não diferiram, seguido do caule abaixo e das raízes. No *P. aduncum*, AR foram superiores nas folhas e no caule acima, enquanto os AST foram superiores nas folhas e no caule abaixo.

Para o teor de amido não foi observada interação entre porta-enxertos e órgão, sendo apenas significativo o efeito dos órgãos, com valores superiores para folhas e caule acima, que não diferiram, seguido do caule abaixo e das raízes (Figura 3 D).

No estudo de correlação foram observadas relações positivas e negativas entre as variáveis analisadas no estudo da enxertia (Figura 4). A sobrevivência foi positivamente correlacionada com a taxa fotossintética e inversamente proporcional à massa seca da parte aérea. O brotamento se correlacionou-se positivamente com o teor de amido do caule abaixo do ponto de enxertia.

O comprimento do caule do broto teve correlação positiva com número de folhas, massa seca do caule broto, condutância estomática e transpiração. O número de folhas correlacionou-se positivamente com o teor de açúcares redutores nas folhas e com o comprimento da raiz. A massa seca das folhas foi

diretamente proporcional a massa seca total, concentração interna de CO₂, razão entre a concentração interna e externa de CO₂ e inversamente proporcional a eficiência intrínseca e instantânea no uso da água e aos teores de carotenóides (exceto o licopeno).

A massa seca do caule acima do ponto de enxertia foi diretamente proporcional ao teor de AR e AST do caule acima do ponto de enxertia e inversamente proporcional a EUA. A massa seca do caule abaixo do ponto de enxertia correlacionou-se positivamente com a taxa fotossintética e negativamente com a massa seca da estaca, do caule do porta-enxerto e da parte aérea da muda.

O diâmetro do caule do broto foi correlacionado fortemente ao teor de amido acumulado no caule acima do ponto de enxertia. O diâmetro do caule acima correlacionou-se positivamente com o amido da raiz, enquanto o diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia foi inversamente proporcional com os açúcares solúveis totais da folha. A massa seca do caule acima do ponto de enxertia foi diretamente proporcional ao teor de açúcares redutores e solúveis totais do caule acima do ponto de enxertia e inversamente proporcional a eficiência intrínseca no uso da água.

O teor de AST do caule abaixo do ponto de enxertia foi positivamente correlacionado com o acúmulo de massa seca e AR do caule acima do ponto de enxertia. O teor de amido da folha correlacionou-se positivamente com a massa seca das raízes e inversamente ao AR da raiz. O teor de amido do caule acima do ponto de enxertia foi diretamente proporcional ao brotamento e inversamente ao volume de raiz. O teor de amido do caule abaixo do ponto de enxertia foi diretamente proporcional ao diâmetro do broto. O teor de amido da raiz foi positivamente correlacionado com o diâmetro do caule acima do ponto de enxertia e com o teor de clorofila *a* e total.

1.2.4 Discussão

Estudos sobre a enxertia com diversas espécies de plantas evidenciam que sinais de incompatibilidade podem ocorrer na fase inicial ou tardia, identificada entre três a cinco anos após enxertia (Baron et al., 2019). *P.*

tuberculatum apresentou incompatibilidade inicial com a pimenteira-do-reino 'Bragantina', causada pela ausência de ligação no ponto de enxertia, havendo eliminação do enxerto ao longo do tempo.

Sabe-se que um dos principais fatores responsáveis pela incompatibilidade é a união entre o enxerto e o porta-enxerto, que não ocorre adequadamente, causando diversos prejuízos no metabolismo primário (Albrecht et al., 2019). Embora até os 110 dias da condução do experimento uma porcentagem reduzida tenha sobrevivido (34,5%), cerca de 40 dias depois os enxertos morreram.

A incompatibilidade entre *P. tuberculatum* e a 'Bragantina' não possibilitou o estabelecimento da parte aérea do enxerto. *P. tuberculatum* apresenta elevado vigor vegetativo, observado pelo excessivo brotamento na base do porta-enxerto, que mesmo após a eliminação do enxerto, continuou vivo e emitindo brotações. Estudos de enxertia com outras espécies comprovam que porta-enxertos vigorosos muitas vezes não possibilitam o estabelecimento da união com o enxerto, havendo elevada mortalidade (Li et al., 2017). Isto acontece porque a energia e os esqueletos de carbono necessários para o estabelecimento do novo sistema vascular para conectar o enxerto e o porta-enxerto e estabelecer uma nova planta funcional estão sendo direcionados para a brotação do porta-enxerto, que investem na formação de uma nova copa ao invés de consolidar a ligação (Daley e Hassell, 2014).

Outra explicação para a incompatibilidade observada com *P. tuberculatum* é a ausência de produção de tecido mucilaginoso após o corte do porta-enxerto. Em todos os demais porta-enxertos foi observada a produção de uma mucilagem quando seccionada, que pode ter auxiliado na redução da ocorrência de oxidação na região do corte conforme sugerido por Garner e Beakbane, 1968.

A análise da sobrevivência ao longo do tempo possibilitou identificar duas etapas críticas no processo de enxertia por fenda lateral, uma no momento que retirou os sacos plásticos do enxerto e a outra após a decapitação da parte aérea do enxerto. A queda na sobrevivência pode estar relacionada à retirada do plástico como observado por Wendling et al. (2016). Provavelmente isso se deve a exposição a superfície, que ainda não estava

bem soldada deixando exposta à oxidação e infiltração de umidade. Ambas as etapas estão relacionadas com processos de elevada demanda energética e indicam limitação na transferência de energia para manter a brotação do enxerto. O fato que o tipo de recipiente também influencia na soldadura entre o enxerto e porta-enxerto, isso porque, a formação da união está intimamente correlacionada ao desenvolvimento radicular, e a resistência hidráulica (Adams et al., 2018), uma vez que, foi observado correlação direta do comprimento da raiz com o desenvolvimento da parte aérea.

Como o homoenxerto não diferiu dos demais porta-enxertos e as taxas médias de sobrevivência (78%) e de brotamento (60%), possibilitou observar que todos os porta-enxertos interespecíficos (*P. aduncum*, *P. hispidum*) e intraespecífico ('Kottanadan'), apresentam compatibilidade inicial com a 'Bragantina'.

A enxertia da pimenteira-do-reino em espécies nativas do gênero *Piper* é uma prática comum em países como a Índia, sendo *Piper colubrinum*, a principal espécie utilizada como porta-enxerto (Vanaja et al., 2007). De acordo com a literatura, a sobrevivência de mudas da cultivar Panniyur-1 (no Brasil registrada como 'Bragantina') enxertada depende do porta-enxerto, com maior sucesso obtido com o uso da *P. colubrinum*, com sobrevivência de 76,2% (Chinnapappa et al., 2018), de 86% (Lakshmana et al., 2016) e variando entre 25% a 100% dependendo da época do ano (Vanaja et al., 2007).

Estudos realizados com outros porta-enxertos indicam que a sobrevivência depende do porta-enxerto e da cultivar. No estudo de Aarthi e Kumar (2019), a sobrevivência foi de 60% com o porta-enxerto *Piper hymenophyllum* e de 42% com *Piper attenuatum*, enquanto no estudo de Chinnapappa et al. (2018), a sobrevivência foi de 38,9% com IISR Sakthi e aproximadamente 45% para *Piper argyrophyllum* e 58% para IISR Thevam. No entanto, as espécies avaliadas como porta-enxertos intra e interespecíficos no nosso ensaio, nunca foram testadas na enxertia da pimenteira-do-reino, sendo inéditos os resultados do presente estudo.

Além da interação entre enxerto e porta-enxerto, outros fatores determinam o sucesso da enxertia, como o método utilizado e a época que é efetuada a enxertia. O método mais utilizado na enxertia da pimenteira-do-reino

'Panniyur-1' em espécies selvagens do gênero *Piper* é enxertia de topo fenda cheia (Chinnappa et al., 2018; Lakshmana et al., 2016; Vanaja et al., 2007). Recentemente, Aarthi e Kumar. (2019), avaliaram um outro método de enxertia, denominado de "Stenting", no qual a união do enxerto e a formação das raízes adventícias ocorre simultaneamente, identificaram pegamento de 41,11% da Panniyur-1 enxertada sob *P. hymenophyllum*.

Não foram encontrados na literatura nenhum trabalho que avaliou a enxertia lateral em fenda cheia. Nesta técnica a parte aérea é preservada até a formação do broto e é um método recomendado para frutíferas, proporcionando maior crescimento, acúmulo de matéria seca da planta e maior à massa seca do sistema radicular, sendo mais suscetível ao pegamento (De Paiva et al. 2015; De Góes et al., 2016). Essa técnica foi escolhida neste ensaio devido a evidências de melhor pegamento efetuada em ensaios preliminares.

Sobre o efeito da época de enxertia, Vanaja et al. (2007), em um estudo preliminar com genótipos da pimenteira-do-reino enxertadas em *Piper colubrinum*, conduzido na região de Panniyur, Kerala, na Índia, verificaram que o maior pegamento (100%) foi no final do inverno/início da primavera, época de menor precipitação. O clima da região é bem diferente da nossa, mas as condições térmicas durante o período que eles observaram melhor pegamento são semelhantes aos meses de condução do presente ensaio de enxertia. No entanto, as precipitações são bem diferentes, havendo grande variação na radiação incidente, o que interfere diretamente na fotossíntese e no desenvolvimento vegetativo, influenciando no sucesso da enxertia. Portanto, é importante efetuar estudos no Brasil, especialmente nas regiões produtoras, para melhor compreensão do efeito do ambiente na enxertia da pimenteira-do-reino, para se isolar o efeito do ambiente.

No presente experimento verificou-se que os porta-enxertos avaliados não influenciaram na capacidade fotossintética do enxerto (teores de clorofilas, índice SPAD e trocas gasosas) e conseqüentemente não alteraram diversos parâmetros de desenvolvimento da muda e nem na capacidade de produção de açúcares redutores (AR) e açúcares solúveis totais (AST) nas folhas.

Os teores de carotenóides foram superiores nos porta-enxertos em relação ao homoenxerto, que pode ser um indicativo da ocorrência de estresse provocado pela união intra e interespecífica. Esse maior acúmulo de carotenóides pode desempenhar um papel importante como antioxidante não enzimático, sendo o licopeno principal carotenóide antioxidante, cujo aumento indica presença de estresse (Kiran et al., 2019). Portanto, a capacidade antioxidante dos carotenóides provavelmente garantiu a homeostase nas espécies reativas de oxigênio produzidas em função do estresse da enxertia, promovendo maior proteção ao aparato fotossintético, garantindo assim, seu funcionamento.

Uma característica interessante observada entre os porta-enxertos avaliados foi o maior comprimento do sistema radicular de *P. hispidum*, que atingiu valores cerca de 50% superior aos demais. Por outro lado, 'Kottanadan' alocou 70% menos massa seca para o sistema radicular que os demais porta-enxertos. O desenvolvimento do sistema radicular pode ser uma característica importante para a melhor eficiência do uso da água sob condições de limitação hídrica, devendo ser avaliada em ensaios futuros para melhor compreensão deste efeito (Franck et al., 2019).

Segundo Dias et al. (2013), o menor desenvolvimento das mudas pode estar associado ao estresse sofrido no processo de enxertia ou mesmo por incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto. No entanto, o maior acúmulo de massa seca da parte aérea das mudas e do caule do porta-enxerto observados com o uso do homoenxerto e da 'Kottanadan', ocorreu devido a presença da estaca, advinda do processo de estaquia para a obtenção dos porta-enxertos das cultivares. Essa estaca tem uma massa seca significativa, que representa 81% da massa do caule do porta-enxerto. Portanto, esse maior acúmulo de massa não pode ser indicativo de melhor qualidade da muda, haja vista inclusive, que não alterou a massa seca total da muda.

A caracterização da incompatibilidade não é um processo simples pois pode haver pegamento e desenvolvimento posteriormente de sintomas de incompatibilidade devido a falha na união ou desenvolvimento de condições anormais, padrões de crescimento, e acúmulo de carboidratos (Priyanka et al., 2019). Apesar da porcentagem de sobrevivência, das características

fotossintéticas e de qualidade da muda indicarem que não houve incompatibilidade entre a 'Bragantina' e os porta-enxertos *P. aduncum*, *P. hispidum* e a 'Kottanadan', a avaliação da relação entre os diâmetros e massa seca do caule abaixo e acima do ponto de enxertia, bem como a alocação dos carboidratos para os diferentes órgãos avaliados, em comparação com o homoenxerto, indicaram que a ligação entre o enxerto e o porta-enxerto não ocorreu adequadamente.

Os enxertos mal conectados limitam o transporte no xilema e no floema, promovendo o acúmulo de carboidratos nas partes superiores da planta levando a incompatibilidade (Zarrouk et al., 2010; Albrecht et al., 2019). Esses sinais de incompatibilidade são percebidos principalmente em longo prazo, pois durante o desenvolvimento da planta vai ocorrendo alocação inadequada de carboidratos e nutrientes, o que acarreta em estresse metabólico, que pode levar a morte das plantas (Goldschmidt, 2014; Baron et al., 2019). Possivelmente as conexões defeituosas entre a pimenteira-do-reino e as espécies selvagens, sejam as causas da morte das plantas no campo após quatro anos observadas por Alconero et al. (1972) e Barriga et al. (1986), com o uso de *P. colubrinum* como porta-enxerto.

A relação entre os diâmetros acima e abaixo do ponto de enxertia é considerado um indicador importante de incompatibilidade morfológica (Machado et al., 2017), podendo ser causado devido a diferenças de vigor entre enxerto e porta-enxerto, que pode acarretar desencontro entre os sistemas vasculares na região da enxertia com o desenvolvimento da planta (Foster et al., 2017; Tamilselvi e Pugalendhi, 2017). No nosso ensaio apenas o homoenxerto não apresentou diferenças entre os diâmetros, comprovando que existem sinais de incompatibilidade entre os demais porta-enxertos.

O maior diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia encontrado no porta-enxerto *P. aduncum*, sendo inclusive o único material cujo o diâmetro abaixo foi superior ao diâmetro acima do ponto de enxertia, pode ser um indicativo de incompatibilidade. Segundo Franco et al. (2018), o maior diâmetro no porta-enxerto do que no enxerto, é desejável, pois, a pressão aumenta, gerando uma rápida distribuição dos solutos por toda a estrutura da planta. Fato interessante observado é que houve um maior esgotamento de AST no

caule acima do ponto de enxertia e uma redução de AR no caule abaixo e nas raízes, indicando que os carboidratos estavam sendo direcionados para outros órgãos, como para o crescimento em diâmetro do caule e brotações do porta-enxerto (Ferriani e Krinski, 2019), haja vista que foi a espécie cujas brotações eram mais intensas. No entanto, essa força maior do dreno não induziu aumento na fotossíntese.

Quando acompanhamos o transporte de carboidratos ao longo do corpo da planta, observamos que existe uma maior resistência na passagem do AST quando transportado pelo ponto da enxertia nos porta-enxertos em comparação ao homoenxerto. A capacidade de produção na folha (órgão fonte) é a mesma entre os porta-enxertos, uma vez que os valores são iguais à taxa fotossintética e teor de AST. Considerando-se então as diferenças do transporte no caule no ponto acima e no ponto abaixo da enxertia, verifica-se que o menor valor de AST foi no homoenxerto (43), seguido do *P. aduncum* (62), da 'Kottanadan' (77) e do *P. hispidum* (103). Quando observamos as diferenças entre os diâmetros, verificamos que *P. hispidum* e a 'Kottanadan' tiveram teor de AST e diâmetro acima superior ao diâmetro abaixo, podemos então concluir que ambos os porta-enxertos tiveram limitação ao fluxo de carboidratos.

Levando-se ainda em consideração que as diferenças para as espécies selvagens são intensificadas pela força do dreno do porta-enxerto para as brotações na base do caule, podemos inferir que a 'Kottanadan' teve a maior resistência ao fluxo devido provavelmente as conexões vasculares defeituosas, acarretando em menor acúmulo de massa nas raízes (69% menor que os demais). Podemos ainda pensar que devido ao reduzido desenvolvimento das raízes, 'Kottanadan' teve baixa força de dreno, limitando o fluxo dos carboidratos.

Embora não tenha sido observada diferenças entre os porta-enxertos, a sobrevivência das mudas foi positivamente correlacionada com a taxa fotossintética e inversamente proporcional à massa seca da parte aérea. A eficiência da enxertia depende do reestabelecimento das conexões vasculares e todo processo que envolve divisão e diferenciação celular, depende de energia e esqueletos de carbono, obtidos principalmente pela fotossíntese,

além disso, é fundamental a manutenção da hidratação dos tecidos (Baron et al., 2019).

O estudo das correlações comprovou que um menor investimento em parte aérea contribui para a redução da condutância estomática e transpiração e aumenta a eficiência do uso da água. No entanto, é necessário um equilíbrio pois um investimento em folhas é necessário para o aumento na concentração interna de CO₂, na razão entre a concentração interna e externa de CO₂ e na produção de açúcares redutores nas folhas (Ibrahim et al., 2017; Zheng et al., 2019). Também é necessário investimento no sistema radicular, mantendo-se um equilíbrio entre raiz e parte aérea (Rouphael et al., 2018), haja vista a correlação positiva do número de folhas com o comprimento da raiz.

Não só a capacidade de síntese de carboidratos nas folhas, mas o seu transporte e alocação para os órgãos drenos são determinantes para o desenvolvimento da muda enxertada. Uma maior fotossíntese possibilita maior massa seca do caule abaixo do ponto de enxertia, mas reduz a massa seca da parte aérea da muda, sendo um forte indicativo da força do dreno do porta-enxerto. Quanto maior o acúmulo de AST nas folhas, menor o diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia, indicando que está ocorrendo maior investimento na formação da parte aérea em relação ao porta-enxerto. O teor de AR e AST do caule acima do ponto de enxertia é determinante para o acúmulo de massa seca nesta região. Portanto, a alocação de carboidratos pode ser utilizada para compreender as relações fonte-dreno no processo de enxertia.

1.2.4 Conclusões

O metabolismo primário de mudas de *Piper* foi afetado pela enxertia, porém apenas a enxertia interespecífica da 'Bragantina' sob *P. tuberculatum* resultou em morte dos enxertos, evidenciando incompatibilidade precoce. A enxertia nos demais portas-enxerto não alterou a sobrevivência, parâmetros fotossintéticos e a qualidade da muda. No entanto, a análise de carboidratos e as diferenças de diâmetro acima e abaixo do ponto de enxertia, revelaram alterações nas mudas enxertadas em *P. hispidum* e a 'Kottanadan' que podem indicar incompatibilidade tardia. Concluídos que *P. aduncum* é o melhor porta-

enxerto por apresentar maior compatibilidade inicial entre as selvagens, devido ao menor impedimento ao fluxo de carboidratos.

Para estudos futuros devem ser abordados os fatores ambientais, a época de enxertia, influência da retirada dos sacos plásticos na sobrevivência e a compreensão da secreção da mucilagem no processo de soldadura da enxertia, assim como a relação entre fonte dreno devem ser estudados no processo de enxertia.

Referências

AARTHI, S., KUMAR, N. Stenting propagation-a method in Black Pepper (*Piper nigrum* L.) using wild species of *Piper* as rootstock. **International Journal of Innovative Horticulture**, v. 8, n. 1, p. 35-39, 2019.

ADAMS, S., LORDAN, J., FAZIO, G., BUGBEE, B., FRANCESCOTTO, P., ROBINSON, T. L., BLACK, B. Effect of scion and graft type on transpiration, hydraulic resistance and xylem hormone profile of apples grafted on Geneva® 41 and M. 9-NIC™ 29 rootstocks. **Scientiahorticulturae**, v. 227, p. 213-222, 2018.

ALBRECHT, U., TRIPATHI, I., KIM, H., BOWMAN, K. D. Rootstock effects on metabolite composition in leaves and roots of young navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) and pummelo (*C. grandis* L. Osbeck) trees. **Trees**, v. 33, n. 1, p. 243-265, 2019.

ALBUQUERQUE, F. C. D., DUARTE, M. D. L. R., BENCHIMOL, R. L., ENDO, T. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococcaf. sp. piperis*. **Acta Amazonica**, v. 31, n. 3, p. 341-341, 2001.

ALCONERO, R., ALBUQUERQUE, F., ALMEYDA, N., SANTIAGO, A. G. (Phytophthora footrot of blackpepper in Brazil and Puerto Rico. **Phytopathology**, v. 62, n. 1, p. 144-148, 1971.

AMBROZIM, C. S., FURTADO, J. G., VALANI, R. S., POSSE, R. P., VARNIER, E., POSSE, S. C. P., DOUSSEAU, S., ARANTES, L. de O., OLIVEIRA, E. C. Propagação de pimenta do reino em diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Ifes Ciência**, v. 3, p. 17-28, 2017.

AMIRA, M. B., LOPEZA, D., MOHAMEDC A.T., KHOUAJAB, A., CHAARD, H., FUMANALA, B., GOUSSET-DUPONTA, A., BONHOMMEE, L., LABELA, P., GOUPILA, P., RIBEIROA, S., PUJADE-RENAUDA, V., JULIENA, J-L., AUGUING, D., VENISSEA, J.S. Beneficial effect of *Trichoderma harzianum* strain Ths97 in biocontrolling *Fusarium solani* causal agent of root rot disease in olive trees. **Biological Control**, v. 110, p. 70-78, 2017.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v. 24, n.1, p.1-15. 1949.

BARRIGA, R. H. 1982. Pimenta-do-reino: origem e distribuição geográfica, caracteres botânicos e melhoramento genético. Belém, PA, EMBRAPA/CPATU. 25p.

BARON, D., AMARO, A. C. E., PINA, A., FERREIRA. An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. **Scientia horticultrae**, v. 243, p. 84-91, 2019.

CHINNAPAPPA, M., RAMAR, A., PUGALENDHI, L., MUTHULAKSHMI, P., VETRIVELKALAI, P. Screening of *Piper* Species for Resistance to Quick Wilt caused by *Phytophthora capsici* under Glasshouse Condition. **Madras Agricultural Journal**, v. 6, 77-84, 2018.

DALEY, SHAWNA L., HASSELL, RICHARD L. Fatty alcohol application to control meristematic regrowth in bottle gourd and interspecific hybrid squash rootstocks used for grafting watermelon. **HortScience**, v. 49, n. 3, p. 260-264, 2014.

De GÓES, G. B., COSTA, I. G., MENDONÇA, V., DANTAS, D. J., LEITE, G. A. Métodos de enxertia na produção de mudas de tamarindeiro. **Revista Ceres**, v. 63, n. 6, p. 853-859, 2016.

De PAIVA, E. P., ROCHA, R. H. C., SOUSA, F. A., NOBRE, R. G., GUEDES, W. A., MOREIRA, I. S., SÁ, F. V. S. Crescimento e fisiologia de mudas de romãzeira cv. Wonderful propagadas por enxertia. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10, p.117-122, 2015.

DIAS, F. P., C, A. M., MENDES, A. N. G., VALLONE, H. S., FERREIRA, A. D., De REZENDE, J. C. Desenvolvimento de mudas de cultivares de café arábica enxertadas sobre Apoatã IAC 2258. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 29-36, 2013.

DOUSSEAU, S., RODRIGUES, A. C., LIRA, J. M. S., RIBEIRO JÚNIOR, P. M., PACHECO, F. V., ALVARENGA, A. A. de, RESENDE, M. L. V., PAULA, A. C. C. F. F. de. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 191-197, 2016.

FAO. Food and Agriculture of the United Nations. **StatisticalDatabases**. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 30 de junho de 2019.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical an alysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERRIANI, A. P., KRINSKI, D. Effect of cuttings defoliation and different substrates on the vegetative propagation of the monkey-pepper (*Piper aduncum*

L.) (Piperaceae). **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 13, n. 1, p. 130-136, 2019.

FOSTER, T. M., MCATEE, P. A., WAITE, C. N., BOLDINGH, H. L., MCGHIE, T. K. Apple dwarfing rootstocks exhibit an imbalance in carbohydrate allocation and reduced cell growth and metabolism. **Horticulture research**, v. 4, p. 1-13, 2017.

FRANCO, D. A., ARANGO, J. F., HURTADO-SALAZAR, A., CEBALLOS-AGUIRRE, N. Development, production, and quality of 'Chonto' type tomato grafted on cherry tomato introductions. **Revista Ceres**, v. 65, n. 2, p. 150-157, 2018.

FRANCK, N., ZAMORANO, D., WALLBERG, B., HARDY, C., AHUMADA, M., RIVERA, N., MONTOYA, M., URRÁ, C., MENESES, C., BALIC, I., MEJÍA, N., IBACACHE, A., ZURITA-SILVA, ANDRÉS. Contrasting grapevines grafted into naturalized rootstock suggest scion-driven transcriptomic changes in response to water deficit. **Scientia Horticulturae**, v. 262, p. 1-12, 2019.

GARNER, R.J, BEAKBANE, A. B. A note on the grafting and anatomy of black pepper. **Experimental Agriculture**, v. 4, n. 3, p. 187-192, 1968.

GOLDSCHMIDT, E. E. Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 727, 2014.

HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 9. 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. r/Produção Agrícola nacional e regional. Acesso em: < <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613>>. Acessado em: de outubro de 2019.

IBRAHIM, M. H., JAAFAR, H. Z., HARUN, M. H. leaf gas exchange and stomata properties of oil palm seedlings (*Elaeis guineensis* Jacq.) progenies exposed to elevated carbon dioxide. **Annual Research & Review in Biology**, v. 19, n.4, p. 1-13, 2017.

JOSHI, D. R., SHRESTHA, A. C., ADHIKARI. A review on diversified use of the king of spices: *piper nigrum* (black pepper). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 10, p. 4089-4101, 2018.

KIRAN, S., BAKHSH, A., IQBAL, J., IQBAL, A., RAZA, S., AHMAD, N., ALI, M. A., DANISH, S. Effect of changing weather on success of wedge and veneer grafting and chlorophyll content in mango cv. Sufaid Chaunsa. **International Journal of Biosciences**, v. 14, n. 2, p. 91-99, 2019.

LAKSHMANA, M., HANUMANTHAPPA, M., SUNIL, C. "Effect of propagation method on successful growth performance of pepper plants". In: MALHOTRA,

S K, KANDIANNAN, K., RAJ, K. M., NEEMA, V. P., PRASATH, SRINIVASAN, D, FEMINA, H. C. V. Advances in planting material production technology in spices, **Directorate of Arecanut and Spices Development**, Kohzikode, Kerala, India. v. 18, n. 4, p. 124-129, 2016.

LI, W., FANG, C., KRISHNAN, S., CHEN, J., YU, H., MURPHY, A. S., MEREWITZ, E., KATIN –GRAZZINI, L., MCAVOY, R. J., DENG, Z., ZALE, J., LI ,Y. Elevated auxin and reduced cytokinin contents in rootstocks improve their performance and grafting success. **Plant biotechnology journal**, v. 15, n. 12, p. 1556-1565, 2017.

MACHADO, B. D., MAGRO, M., RUFATO, L., BOGO, A., KREZTSCHMAR, A. A. Graft compatibility between european pear cultivars and east malling “c” rootstock. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 3, 2017.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

PRIYANKA, A., SUJATHA, K. B., SIVAKUMAR, T., RAJASREE, V. Morphological changes in the compatible grafts of tomato cv. PKM 1 with different solanaceous rootstocks. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 3, p. 2416-2419, 2019.

RANA, A., SAHGAL, M., JOHRI, B. N. *Fusarium oxysporum*: genomics, diversity and plant–host interaction. In: **Developments in Fungal Biology and Applied Mycology**. Springer, Singapore, p. 159-199, 2017.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., KIMURA, M. **HarvestPlus handbook for carotenoid analysis**. Washington: International Food Policy Research Institute (IFPRI), 2004.

ROUPHAEL, Y., KYRIACOU, M. C., COLLA, G. Vegetable grafting: A toolbox for securing yield stability under multiple stress conditions. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 2255, 2018.

SCHMILDT, E.R., ARANTES, L. De O., HELL, L. R., LAVANHOLE, D.F. SCHMILDT.O. Variedades de pimenta-do-reino. In: SILVA. M.B., Da VITÓRIA, E. L. CAMPANHARO, A. Cultura da pimenta-do-reino, **Araçá**, São Mateus, Espírito Santo, Brasil. v.1, n.1, p. 19-39, 2018.

TAMILSELVI, N. A., PUGALENDHI, L. Graft compatibility and anatomical studies of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) scions with cucurbitaceous rootstocks. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 2, p. 1801-1810, 2017.

VANAJA, T., NEEMA, V. P., RAJESH, R., MAMMOOTTY, K. P. Graft recovery of *Piper nigrum* L. runner shoots on *Piper colubrinum* Link. rootstocks as influenced by varieties and month of grafting. **Journal of Tropical Agriculture**, v. 45, n. 61-62, 2007.

WENDLING, I., STUEPP, C. A., ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Araucaria angustifolia grafting: techniques, environments and origin of propagation material. **Bosque**, v. 37, n. 2, p. 285-293, 2016.

YEMM, E. W., WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical journal**, v. 57, n. 3, p. 508, 1954.

ZANANDREA, I., BACARIN, M. A., BRAGA, E. J. B, BIANCHI, V. J., PETERS, J. A. Morphological and physiological photon flux influence under *in vitro* culture of apple shoots. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 5, p. 1091-1098, 2009.

ZARROUK, O., TESTILLANO, P. S., RISUEÑO, M. C., MORENO, M. Á., GOGORCENA, Y. Changes in cell/tissue organization and peroxidase activity as markers for early detection of graft incompatibility in peach/plum combinations. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 135, n. 1, p. 9-17, 2010.

ZHENG, Y., LI, F., HAO, L., YU, J., GUO, L., ZHOU, H., MA, C., ZHANG, X., XU, M. Elevated CO₂ concentration induces photosynthetic down-regulation with changes in leaf structure, non-structural carbohydrates and nitrogen content of soybean. **BMC plantbiology**, v. 19, n. 1, p. 255, 2019.

Tabelas e Figuras

Tabela 1. Desenvolvimento das mudas de pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertadas sobre diferentes porta-enxertos. Comprimento do caule do broto (CC_{broto}), comprimento da raiz (CR), diâmetro do caule do broto (DC_{broto}), número de folhas (NF), área foliar (AF), diâmetro caule acima do ponto de enxertia (DC_{ac}), diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia (DC_{ab}), volume radicular (VR).

Porta-enxertos	CC _{broto} (cm)	CR (cm)	DC _{broto} (mm)	NF	AF (cm ²)	DC _{ac} (mm)	DC _{ab} (mm)	VR (m ³)
'Bragantina'	7.4 a	26.6 b	3.9 a	3.0a	129.6 a	6.5 a	6.1 b	396.8 a
'Kottanadan'	6.8 a	23.9 b	3.5 a	2.8 a	90.8 a	6.4 a	5.7 b	506.7 a
<i>P. hispidum</i>	8.9 a	40.2 a	3.6 a	3.8 a	97.0 a	6.3 a	5.6 b	419.2 a
<i>P. aduncum</i>	6.6 a	22.9 b	3.9 a	3.3 a	110.4 a	6.6 a	7.1 a	418.9 a
CV (%)	43.3	5.7	12.7	33.4	38.9	4.2	6.2	22.9

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Alocação de massa seca (g), obtida de mudas de pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertadas sobre diferentes porta-enxertos. Massa seca das folhas (MS_{folha}), massa seca do caule do Broto (MSC_{broto}), massa seca do caule acima do ponto de enxertia (MSC_{ac}), massa seca do caule do enxerto (MSC_{enx}), massa seca do caule abaixo do ponto de enxertia (MSC_{ab}), massa seca da estaca (MS_{estaca}), massa seca do porta-enxerto (MSC_{pe}), massa seca da parte aérea da muda (MSPA), massa seca das raízes (MS_{raiz}), massa seca total da muda (MST).

Porta-enxertos	MS _{folha}	MSC _{broto}	MSC _{ac}	MSC _{enx}	MSC _{ab}	MS _{estaca}	MSC _{pe}	MSPA	MS _{raiz}	MST
'Bragantina'	8.54 a	1.41 a	9.29 a	10.70 a	4.92 b	19.00 a	23.92 a	43.16 a	20.28 a	63.44 a
'Kottanadan'	5.64 a	1.15 a	8.37 a	9.52 a	4.43 b	19.93 a	24.35 a	39.52 a	7.07 b	46.58 b
<i>P. hispidum</i>	7.13 a	2.05 a	8.79 a	10.84 a	9.42 a	-	9.42 b	27.39 b	25.59 a	52.98 a
<i>P. aduncum</i>	4.95 a	0.96 a	7.49 a	8.46 a	10.44 a	-	10.44 b	23.85 b	21.74 a	45.58 a
CV (%)	50.60	65.90	9.30	22.71	11.85	22.20	14.60	15.80	35.70	9.28

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Trocas gasosas de mudas de pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertadas sobre diferentes porta-enxertos. Taxa fotossintética (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Transpiração (E, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Concentração interna de CO_2 (C_i , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a , ppm/ppm), Eficiência no uso da água [EUA- A/E, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)], Eficiência instantânea no uso de água (EiUA- A/g s , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ [$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]), Eficiência instantânea de carboxilação [EiC - A/C i , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)].

Porta-enxertos	A	E	g_s	C_i	C_i/C_a	EUA	EiUA	EiC
'Bragantina'	5.7 a	2.6 a	0.2 a	323.8 a	0.8 a	2.3 a	35.3 a	0.1 a
'Kottanadan'	6.1 a	2.5 a	0.2 a	304.0 a	0.8 a	2.9 a	47.3 a	0.2 a
<i>P. hispidum</i>	7.2 a	2.9 a	0.2 a	314.8 a	0.8 a	2.6 a	39.5 a	0.1 a
<i>P. aduncum</i>	7.5 a	2.6 a	0.2 a	300.5 a	0.8 a	3.2 a	48.2 a	0.2 a
CV (%)	17.08	18.21	23.49	8.13	7.98	33.40	35.76	57.00

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade.

Tabela 4. Teores de pigmentos fotossintéticos, expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa fresca de mudas de pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertadas sobre diferentes porta-enxertos. Clorofila a (Cla), clorofila b (Clb), clorofila total (Cl total), β -Caroteno (β -Carot.), Zeaxantina (Zeax.), α -Caroteno (α -Carot.), β -Criptoxantina (β -Cript.), Carotenoides totais (Carot. totais), índice SPAD (SPAD).

Porta-enxertos	Cla	Clb	Cl total	β -Carot.	Licopeno	Zeax.	α -Carot.	β -Cript.	Carot. totais	SPAD
'Bragantina'	6.9 a	6.5 a	13.4 a	27.9 b	19.5 b	31.4 b	29.3 a	30.9 b	139.13 b	39.3 a
'Kottanadan'	5.8 a	4.2 a	10.0 a	35.7 a	25.5 a	40.7 a	36.3 a	40.0 a	178.2 a	38.0 a
<i>P. hispidum</i>	4.1 a	3.7 a	7.8 a	33.7 a	23.8 a	38.3 a	34.1 a	37.7 a	167.6 a	40.9 a
<i>P. aduncum</i>	6.9 a	5.9 a	12.9 a	36.5 a	25.5 a	41.5 a	36.9 a	40.8 a	167.6 a	48.7 a
CV (%)	51.4	49.4	23.5	10.9	11.4	11.0	11.2	11.0	10.9	12.2

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade.



Figura 1. Mudas de pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertada sob diferentes porta-enxertos. A- *P. nigrum* 'Bragantina', B- *P. nigrum* 'Kottanadan', C- *Piper hispidum*, D- *Piper aduncum*, E- *Piper tuberculatum*. A barra corresponde a 2 cm.

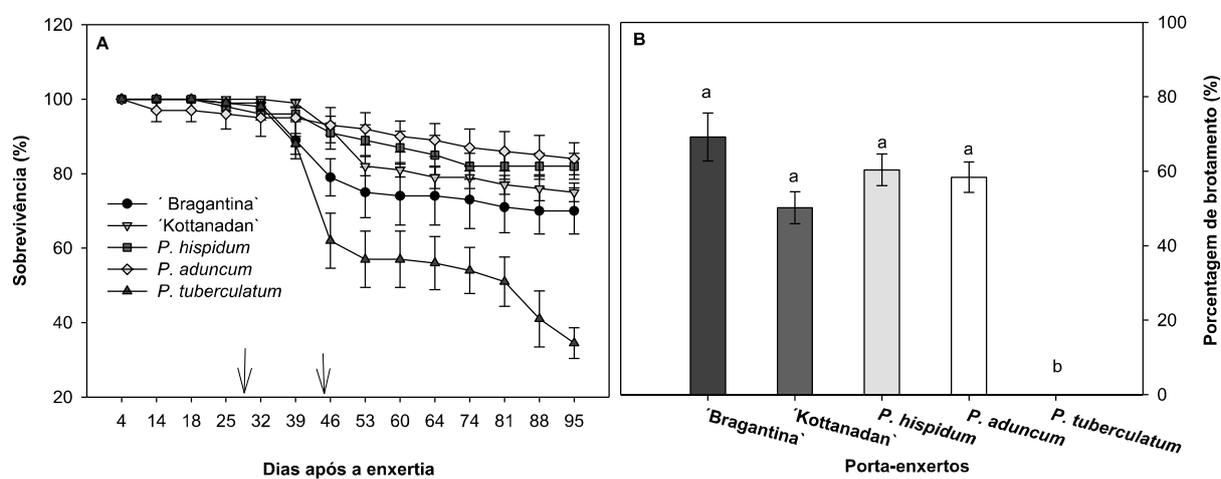


Figura 2. Avaliação das mudas da pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertada em diferentes porta-enxertos. A- Sobrevivência (%), B- Brotamento (%). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade. A barra corresponde ao erro padrão da média de quatro repetições.

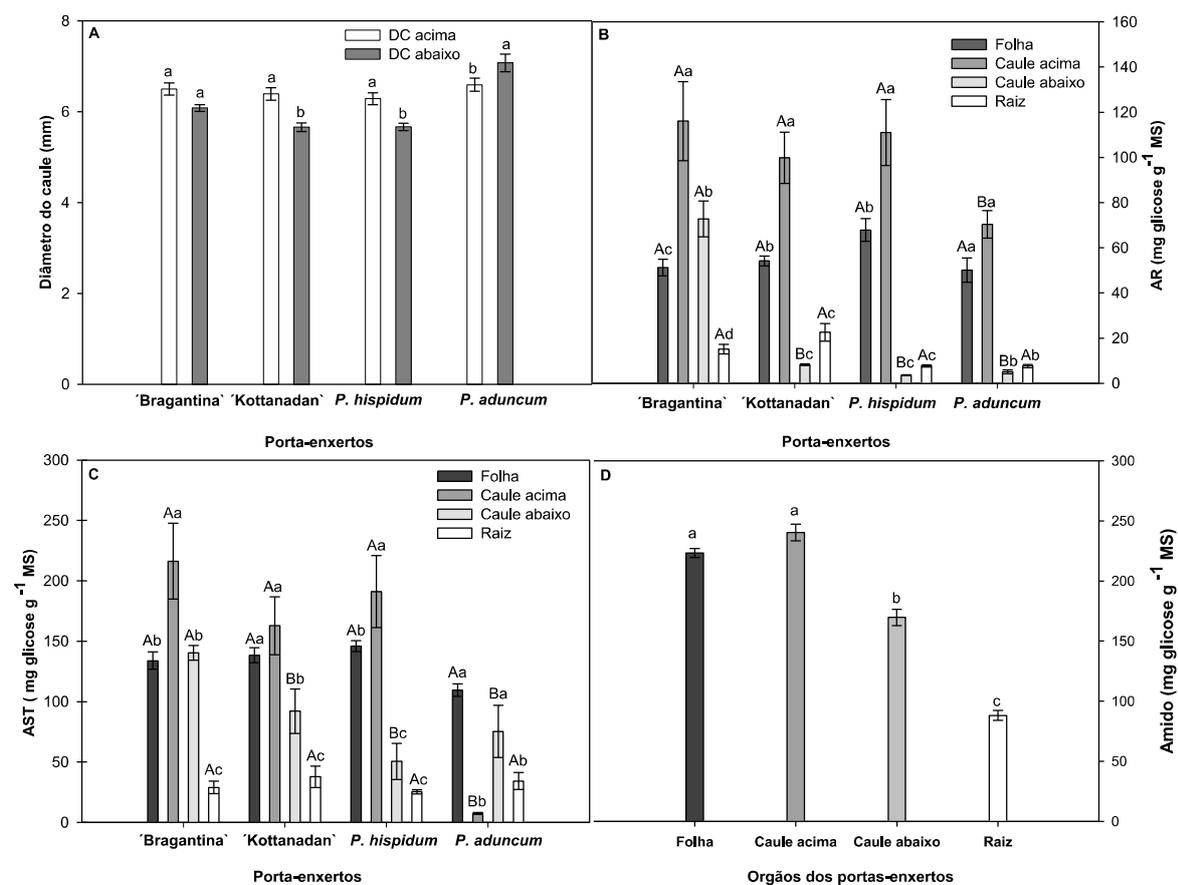


Figura 3. Comparação entre os diâmetros dos caules acima e abaixo do ponto de enxertia e alocação de carboidratos em mudas de pimenteira-do-reino 'Bragantina' enxertadas sobre diferentes porta-enxertos. A- Diâmetros dos caules acima (DC acima) e abaixo (DC abaixo) do ponto de enxertia, B- Açúcares redutores (AR), C- Açúcares solúveis totais (AST), D- Amido. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de agrupamento de Scott-Knotta 5% de probabilidade. Na figura A letras minúsculas comparam diâmetros entre os porta-enxertos. Nas figuras B e C letras maiúsculas comparam entre os porta-enxertos para cada órgão e letras minúsculas comparam entre os órgãos no porta-enxerto. A barra corresponde ao erro padrão da média de três repetições.

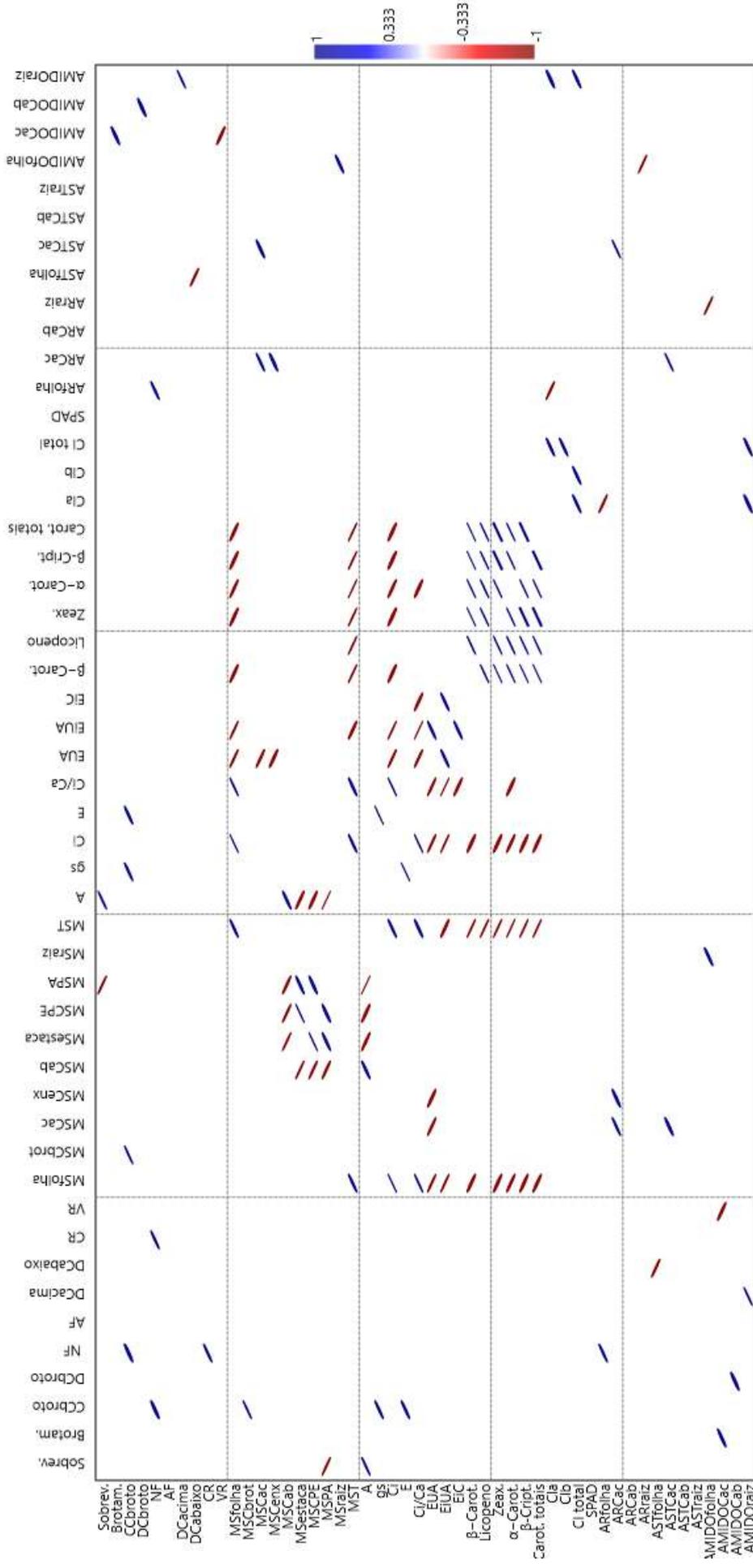


Figura 4. Matriz de correlação de Pearson entre o metabolismo primário (trocas gasosas e carboidratos) com o desenvolvimento das mudas. Porcentagem de sobrevivência (Sobrev.), porcentagem de brotamento (Brotam.), Comprimento do caule do broto (CCbroto), comprimento da raiz (CR), diâmetro do caule do broto (DCbroto), número de folhas (NF), área foliar (AF), diâmetro caule acima do ponto de enxertia (DCacima), diâmetro do caule abaixo do ponto de enxertia (DCabaixo), volume radicular (VR), massa seca das folhas (MSfolha), massa seca do caule do Broto (MSCbrot), massa seca do caule acima do ponto de enxertia (MSCac), massa seca do caule do enxerto (MSCenx), massa seca do caule abaixo do ponto de enxertia (MSCab), massa seca da estaca (MSeSTACKA), massa seca do porta enxerto (MSCPE), massa seca da parte aérea da muda (MSPA), massa seca da raízes (MSraiz), massa seca total da muda (MST), taxa fotossintética (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a , ppm/ppm), eficiência no uso da água [EUA- A/E , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($\text{mmol H}_2 \text{ O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)], eficiência instantânea no uso de água (EiUA- A/g_s , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ [$\text{mmol H}_2 \text{ O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]), eficiência instantânea de carboxilação [EiC - A/C_i , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)], clorofila *a* (Cl*a*), clorofila *b* (Cl*b*), clorofila total (Cl total), β -Caroteno (β -Carot.), Zeaxantina (Zeax.), α -Caroteno (α -Carot.), β -Criptoxantina (β -Cript.), Carotenoides totais (Carot. totais), índice SPAD (SPAD), açúcares redutores nas folhas (ARfolha), açúcares redutores no caule acima do ponto de enxertia (ARCaC), açúcares redutores caule abaixo do ponto de enxertia (ARCaB), açúcares redutores nas raízes (ARRaiz), açúcares solúveis totais nas folhas (ASTfolha), açúcares solúveis totais no caule acima do ponto de enxertia (ASTCaC), açúcares solúveis totais no caule abaixo do ponto de enxertia (ASTCaB), açúcares solúveis totais nas raízes (ASTRaiz), amido nas folhas (AMIDOfolha), amido no caule acima do ponto de enxertia (AMIDOCaC), amido no caule abaixo do ponto de enxertia (AMIDOCaB), amido nas raízes (AMIDORaiz). Elipses vermelhas indicam correlação negativa, enquanto as azuis indicam correlação positiva. Quanto mais fina a elipse, maior é a correlação entre as variáveis.