



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen
A *Meloidogyne javanica* E ESTUDO MORFO-ANATÔMICO DA
ESPÉCIE HOSPEDEIRA**

WELMO DA COSTA OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen
A *Meloidogyne javanica* E ESTUDO MORFO-ANATÔMICO DA
ESPÉCIE HOSPEDEIRA**

WELMO DA COSTA OLIVEIRA

**ORIENTADOR: JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS
CO-ORIENTADOR: DALVA GRACIANO RIBEIRO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 52/2012

**BRASÍLIA/DF
JUNHO/2012**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.)
Pedersen A *Meloidogyne javanica* E ESTUDO MORFO-
ANATÔMICO DA ESPÉCIE HOSPEDEIRA**

WELMO DA COSTA OLIVEIRA

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.**

APROVADA POR:

JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, Eng. Agrônomo Dr. (FAV-UnB)
(Orientador) CPF: 002.288.181-68 E-mail: jkamattos@gmail.com

CARLOS ROBERTO SPEHAR, Eng. Agrônomo PhD. (FAV-UnB)
(Examinador interno) CPF: 122.262.116-91 E-mail: spehar@unb.br

CHRISTOPHER WILLIAM FAGG, Botânico Dr. (IB-UnB)
(Examinador externo) CPF: 694.231.131-68 E-mail: acaciafagg@gmail.com

BRASÍLIA/DF, 29 de junho de 2012.

FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Welmo da Costa

Reação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen a *Meloidogyne javanica* e estudo morfo-anatômico da espécie hospedeira. / Welmo da Costa Oliveira. Brasília, 2012.

95 p. : il.

Orientador: Jean Kleber de Abreu Mattos.

Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2012.

1. *Pfaffia glomerata*. 2. Nematoides. 3. Resistência. 4. Anatomia foliar. 5. Morfologia.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

OLIVEIRA, W.C. **Reação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen a *Meloidogyne javanica* e estudo morfo-anatômico da espécie hospedeira.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 95 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Welmo da Costa Oliveira

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Reação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen a *Meloidogyne javanica* e estudo morfo-anatômico da espécie hospedeira

GRAU: Mestre ANO: 2012

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Welmo da Costa Oliveira

Email: welmocosta@yahoo.com.br

A meus pais, Antônio Valmir e Julia;
e a minha esposa Mariana,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua companhia constante em minha vida e por me iluminar em todos os momentos.

A minha esposa Mariana pela compreensão, pelo apoio, carinho e amor dispensados ao longo desta caminhada.

Aos meus pais, Antônio Valmir e Julia, e a minha irmã, Aline, por sempre acreditarem em mim e por todo carinho, amor e atenção dispensada.

Ao Seu Bernardino, a D^a Maria Aparecida (sogro e sogra) e a minha cunhada Natália por todo apoio ofertado e incentivo.

Ao Professor Jean Kleber de Abreu Mattos, por pacientemente me orientar, pelos ensinamentos compartilhados, dedicação constante, atenção dispensada e, sobretudo, pela valiosa amizade e pelo tratamento respeitoso e fraterno.

À Professora Dalva Graciano do Instituto de Biologia da UnB, pela confiança, incentivo, co-orientação e por gentilmente ceder a estrutura do Laboratório de Anatomia Vegetal.

Aos Professores José Ricardo Peixoto e Luiz Eduardo Bassay Blum, importantes na fase de inscrição no programa de pós-graduação.

A todos os funcionários da Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia pelo suporte oferecido.

Ao Professor Cícero Lopes da Silva – Diretor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – que se mostrou disposto a me ajudar no início do curso de Mestrado em Agronomia.

À Professora Maria Lucrecia Gerosa Ramos, então Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelo incentivo ofertado no sentido de continuar com o mestrado e por todo apoio dispensado nos primeiros meses do curso, quando ainda não dispunha de orientador.

À Sílvia Dias, aluna de doutorado do programa de Pós-graduação em Botânica, que, mesmo com o tempo escasso, auxiliou com material e na revisão da descrição anatômica dos genótipos.

Às técnicas do Laboratório de Anatomia Vegetal Jéssica e Daiane pelo apoio no desenvolvimento da metodologia e suprimento de material de laboratório; à técnica de laboratório Juliana e ao Wiliam, ambos do Laboratório de Fisiologia, pelas instruções e dicas no uso do programa para captação de imagens do fotomicroscópio.

À equipe do laboratório de nematologia vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Agronomia e do Programa de Pós-Graduação em Botânica.

Meus sinceros agradecimentos às bibliotecárias Márcia Queiroz Calil - da Biblioteca Central da Universidade Federal de Goiás e Maria de Fátima da Cunha - da Biblioteca da Embrapa SEDE-DF, pela valiosa e inestimável gentileza e presteza em contribuir com o andamento desta dissertação.

Aos ex-colegas de trabalho (Hélio, Maria do Céu, Magda, Flávia, Sabrina, Felipe, Alan, Jônatas, Tarso) e aos atuais colegas de trabalho (Adriano, Ana, Val, Débora, Victor, Rafael, Luis, Paulo), pelas palavras de apoio e incentivo.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	16
Objetivos	19
Revisão Bibliográfica	20
Botânica	20
A família Amaranthaceae	20
O gênero <i>Pfaffia</i> Mart.	20
<i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen	21
Descrição botânica	21
Variabilidade morfológica	22
Ambiente e centro de dispersão	24
Extração, comércio e riscos	25
Aspectos químicos e farmacológicos	26
Aspectos agronômicos	29
Propagação	30
Produtividade	32
Pragas e doenças	32
Referências bibliográficas	35
CAPÍTULO 1	
Introdução	48
Material e Métodos	49
Fundamento do ensaio	49
Avaliação da reação ao nematoide com infestação natural	49
Ensaio de inoculação controlada	50
Morfologia dos genótipos	51
Análises estatísticas	51
Resultados e Discussão	52
Conclusão	57
Referências bibliográficas	58

CAPÍTULO 2

Introdução	63
Revisão Bibliográfica	65
Material e Métodos	69
Origem do material	69
Coleta	69
Morfologia dos genótipos	69
Obtenção das secções transversais e paradérmicas.....	69
Resultados	71
Discussão	77
Conclusões	81
Referências Bibliográficas	82
ANEXO	87

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Médias do número ovos por planta, massa fresca da raiz, ovos por grama de raiz e fator de reprodução de cinco genótipos de *Pfaffia glomerata* relativo ao nematoide *Meloidogyne javanica*. 52

Tabela 2. Formato do limbo foliar, cor do talo e pilosidade de cinco genótipos de *Pfaffia glomerata* cultivados em vaso, sob estufa. 55

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Dados morfológicos obtidos no momento da coleta das folhas de oito genótipos de *Pfaffia glomerata*. 74

Tabela 2. Dados morfológicos e anatômicos dos oito genótipos de *P. glomerata* após análise das secções transversais e paradérmicas. 75/76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Genótipo 86. A) Lâmina plano convexa. B) Nervura central com feixe vascular envolto por parênquima de preenchimento; camadas de colênquima adaxial e abaxial. C) Lâmina foliar evidenciando parênquima paliçádico e lacunoso. D) Feixes vascular da nervura secundária. E) Região do bordo com tendência a formar epiderme bisseriada. F e G) Epidermes adaxial (células com paredes poligonais) e abaxial (células com paredes sinuosas). 88

Figura 2. Genótipo 07. A) Formato plano convexo da lâmina foliar. B) Células epidérmicas da região da nervura central de formato isodiamétrico. C) Secção transversal da lâmina foliar com feixes vasculares de terceira ordem. D) Convexidade da nervura secundária. E) Região do bordo com células epidérmicas de formato isodiamétrico. F) Cicatrizes do tricomas tectores com células subsidiárias dispostas radialmente. 89

Figura 3. Genótipo 11. A) Lâmina plano convexa. B) Tecido paliçádico interrompido pelas células de colênquima na região da nervura central. C) Feixes vasculares com bainha parenquimática completa localizados entre as células do tecido paliçádico e lacunoso. D) Nervura secundária com células colenquimáticas abaixo das epidermes adaxial e abacial. E) Parênquima paliçádico interrompido na altura do feixe vascular mais próximo da margem foliar. F) Epiderme adaxial com células de formato poligonal. G) Estômatos na epiderme abaxial. H) Tricoma glandular (seta) em secção paradérmica abaxial. 90

Figura 4. Genótipo 65. A) Lâmina plano convexa. B) Parênquima de preenchimento e feixes vasculares na nervura principal. C) Tricoma glandular na superfície abaxial da lâmina foliar. D) Colênquima na região abaxial da nervura secundária. E) Células subepidérmicas espessadas na região do bordo foliar. F) Cicatrizes dos tricomas em secção paradérmica. G) Estômatos em secção paradérmica abaxial. H) Células de formato alongado da região costal da lâmina foliar em secção paradérmica. I) Tricomas glandulares (seta azul) e tectores (seta vermelha). 91

Figura 5. Genótipo 93. A) Lâmina plano convexa. B) Células epidérmicas comuns adaxial da região costal menores que as demais células epidérmicas C) Parênquima lacunoso ocupando mais da metade do mesofilo. D) Nervura secundária: idioblasto com drusa. E) Epiderme adaxial com células epidérmicas poligonais, estômatos e células subsidiárias dos tricomas tectores dispostas radialmente. F) Formato do bordo truncado para baixo. 92

Figura 6. Genótipo 101. A) Nervura central com parênquima de preenchimento e colênquima. B) Lâmina foliar com ocorrência de idioblastos com drusas (setas vermelhas). C) Tricomas tectores nas epidermes adaxial e abaxial na região da nervura secundária. D) Bordo com tendência a se formar duas camadas epidérmicas. E-F) Secções epidérmicas evidenciando células envolta da base dos tricomas tectores em disposição radial (seta branca) e tricoma tector com articulações em forma de dentes (seta preta).93

Figura 7. Genótipo 102. A) Lâmina foliar plano convexa com grande quantidade de tricomas. B) Células do protoxilema, câmbio vascular e floema. C) Lâmina foliar com idioblasto (seta). D) Ocorrência de tricomas na nervura secundária. E) Grande quantidade de tricomas no bordo. F-G) Epidermes adaxial (células com paredes de formato poligonal) e abaxial (células com paredes sinuosas). 94

Figura 8. Genótipo 110. A) Lâmina plano convexa. B) Região da nervura principal com drusas e colênquima adaxial de paredes espessadas. C) Tricoma tector e células epidérmicas adaxiais maiores do que as células da epiderme abaxial. D) Parênquima paliádico interrompido pelo parênquima de preenchimento na nervura secundária. E) Região do bordo com células epidérmicas de formato isodiamétrico. F) Epiderme adaxial mostrando cicatrizes dos tricomas tectores circundadas por células subsidiárias radiais. G) Epiderme abaxial com células epidérmicas comuns de sinuosas e estômatos reniformes. 95

RESUMO

Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen, Amaranthaceae, é uma espécie nativa da América do sul com ampla distribuição no Brasil, sendo encontrada principalmente em beiras de rios e orlas de matas. Conhecida como ginseng brasileiro, suas raízes tem sido empregadas na medicina popular como tônicos, afrodisíacos, antidiarreicos, antihemorroidais e no tratamento de diabetes, sendo ainda fonte do resistógeno β -ecdisona. Inicialmente sujeita à coleta predatória, transformou-se em planta cultivada, porém se observam pragas e doenças na espécie, como o nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.). O presente trabalho teve como objetivos acessar a variabilidade morfológica e a reação de genótipos obtidos por autossesmeadura em relação ao nematoide *Meloidogyne javanica*. Acessos presumivelmente resistentes a *Meloidogyne javanica* foram submetidos à inoculação controlada com 4.000 ovos planta em ensaio de vasos sob estufa para obtenção do fator de reprodução do nematoide. Características da morfologia da planta foram examinadas para associação tipológica com a reação ao nematoide. Os resultados indicaram que houve diferença no potencial de multiplicação de *M. javanica* entre cinco genótipos de *P. glomerata* previamente selecionados como resistentes. Com base no fator de reprodução, apenas um genótipo se comportou como altamente resistente, enquanto os demais apresentaram reação de suscetibilidade. Caracterizou-se ainda a morfo-anatomia foliar de oito genótipos oriundos da autossesmeadura de acessos de *P. glomerata*. Secções transversais evidenciaram lâmina foliar plano-convexa, mesófilo heterogêneo bifacial, feixes vasculares colaterais, estômatos e tricomas tectores e glandulares nas duas faces da epiderme. As secções paradérmicas permitiram inferir que as paredes anticlinais das células epidérmicas da face adaxial apresentam traços poligonais enquanto que as da superfície abaxial têm paredes sinuosas; os estômatos são predominantemente do tipo anomocítico; os tricomas tectores pluricelulares são inseridos em células epidérmicas dispostas radialmente. Houve diferenças no formato das nervuras principal e secundárias, no número de camadas do colênquima e na distribuição dos feixes vasculares da nervura principal, no formato do bordo foliar e formato das

paredes anticlinais das células epidérmicas comuns. Dados morfológicos dos oito genótipos evidenciaram variabilidade quanto à pilosidade.

Palavras-chave: *Pfaffia glomerata*, ginseng-brasileiro, nematoides, resistência, morfologia, anatomia.

ABSTRACT

Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen, Amaranthaceae, is a species native to South America with a wide distribution in Brazil, being found mainly on river banks and forest edges. Known as Brazilian ginseng, its roots have been used in folk medicine as tonics, aphrodisiacs, anti-desyneric, anti-hemorroids and in the treatment of diabetes, being also a source of stimulant ecdysone. Initially subject to predatory collection, it has become a cultivated plant, however there are pests and diseases, like the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.), limiting its cultivation. The present work had as objectives accessing morphotipical variability and the reaction of genotypes obtained by self-sowing in relation to root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Resistant accesses presumably to *Meloidogyne javanica* were tested by controlled inoculation with 4000 eggs per plant in pots grown under greenhouse conditions to obtain the reproduction factor. Characteristics of the morphology were examined for typological association with the reaction to the nematode. The results indicated difference in the potential multiplication of *M. javanica* among five genotypes of *P. glomerata* previously selected as resistant. Based on the reproductions factor, only one genotype behaved as highly resistant, while the others were susceptible. Leaf morpho-anatomy was also characterize for eight genotypes from self-sowing *P. glomerata*. Cross sections showed leaf blade, convex plane heterogeneous mesophyll bifacial, collateral vascular bundles and glandular trichomes and stomata on both sides of the epidermis. Paradermal sections allowed to infer that the adaxial face of epidermal cells are polygonal shaped while in the abaxial surface there are sinuous walls; the stomata are anomocytic and multicellular trichomes were inserted into epidermal cells arranged radially. There were differences in the shape of the main and secondary veins, in the layers of the collenchyma and in the distribution of vascular bundles on the main vein, in the shape of the margin and shape of the anticlinal walls epidermal cells. Morphological data of the eight genotypes showed variability as to hairiness.

Key Words: *Pfaffia glomerata*, Brazilian ginseng, nematodes, resistance, morphology, anatomy.

INTRODUÇÃO

Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen é uma espécie nativa da América do Sul e de ampla distribuição geográfica no Brasil, sendo encontrada principalmente em beiras de rios e orlas de matas (MARCHIORETTO *et al.*, 2009).

O gênero *Pfaffia* pertence à família Amaranthaceae, que de acordo com as características morfológicas e moleculares integra a ordem Caryophyllales (JUDD *et al.* 1999; BARROSO *et al.* 2002;; SOUZA & LORENZI, 2008).

A espécie-tipo, *Pfaffia glabrata* Mart., foi estabelecida em 1826 por Karl Friedrich Philipp Von Martius. O nome do gênero é uma homenagem ao professor de medicina na Alemanha, Christian Heinrich Pfaff (1774-1852) (SIQUEIRA, 1988).

No Brasil ocorrem 21 das 33 espécies de *Pfaffia* encontradas na América Central e do Sul. O Brasil é o mais importante centro de coleta do gênero nas Américas (SIQUEIRA, 1988).

A planta é conhecida principalmente como ginseng-brasileiro, no entanto várias denominações populares são aplicadas como: abranda, acônito do mato, corango, sempre viva, batata-do-mato, corrente, fáfia, para-tudo, suma, ginseng-do-pantanal, milagroso, malva-branca (VAN DEN BERG, 1982; POTT & POTT, 1994; LORENZI & MATOS, 2002; CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2006;).

A espécie *Pfaffia glomerata* há séculos tem sido empregada pela população indígena brasileira na cura e prevenção de doenças e como tônico geral e rejuvenescedor (LORENZI & MATOS, 2002). Assim como outras espécies do gênero, também denominadas de “ginseng brasileiro”, suas raízes são utilizadas na medicina popular como tônicos, estimulantes, afrodisíacas, antihemorroidais, antidiarreicos e no tratamento de diabetes.

No entanto as propriedades medicinais de *P. glomerata* foram confirmadas somente com a descoberta de constituintes químicos e com o isolamento do princípio ativo β -ecdisona de suas raízes (NISHIMOTO *et al.*, 1987; NISHIMOTO *et al.* 1988; NISHIMOTO *et al.*, 1990; SHIOBARA *et al.*, 1993).

O crescente interesse por plantas do gênero *Pfaffia* começou com a descoberta de ácido páfíico nas raízes da espécie *Pfaffia paniculata*

(TAKEMOTO *et al.*, 1983), que está relacionado a propriedades medicinais anti-tumorais (NISHIMOTO *et al.*, 1984). Nas raízes de *P. paniculata* também foi encontrada alantoína, que poderia estar relacionada à ação cicatrizante e anti-úlceras da planta.

A denominação “ginseng brasileiro” abrange, principalmente, as espécies *Pfaffia glomerata* Pedersen (Syn.) *P. iresinoides* (H.B.K) Sprengel e a *P. paniculata* Kuntze, que possuem maior número de estudos fitoquímicos e grande interesse pela indústria farmacológica e também alimentícia (OLIVEIRA, 1986).

Devido suas propriedades medicinais, *P. glomerata* vem sendo alvo da coleta intensiva e predatória. Tal procedimento pode colocar em risco a perpetuação da espécie em seu ambiente natural, considerando que não há nenhuma preocupação, por parte dos coletores, em preservar o material genético (CORRÊA JÚNIOR, 2003; MONTANARI JÚNIOR, 2005).

Praticamente todo o fornecimento mundial de *Pfaffia* provém do Brasil, em virtude das condições ecológicas demandadas pela planta (ALCÂNTARA, 1994). De acordo com Ming & Corrêa Júnior (2002) cerca de 120 toneladas de raízes de *Pfaffia* spp. foram exportadas para o Japão no ano de 1995. Os Estados Unidos da América e a União Européia também demonstraram interesse na importação das raízes de *P. glomerata*. Dados recentes demonstram que, de janeiro a maio de 2012, foram exportados quase 2 toneladas de raízes de “ginseng” (MDIC, 2012).

Considerando o crescimento do consumo dessa espécie estimado em 10% ao ano (MING & CORRÊA JÚNIOR, 2002) e a prática extrativista severa, totalmente descontrolada e intensificada a partir da validação científica de suas propriedades terapêuticas, tal prática coloca em risco a variabilidade das populações e conseqüentemente o fornecimento de matéria-prima.

Pesquisas com *Pfaffia glomerata* têm sido desenvolvidas no intuito de incentivar seu cultivo para diminuir a coleta predatória (CORRÊA JÚNIOR, 2003; MONTANARI JÚNIOR, 2005), porém problemas fitossanitários são relatados colocando em risco a sanidade dos plantios, cujo principal método de propagação é a estaquia (MATTOS *et al.*, 1997).

Por tal razão, faz-se necessário o estudo mais detalhado desta planta, tanto para a elaboração de novos medicamentos, quanto para o

desenvolvimento de planos de manejo e/ou cultivo, que venham a garantir a perpetuação da espécie *Pfaffia glomerata*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a reação de genótipos de *Pfaffia glomerata* a nematóides do gênero *Meloidogyne javanica* e descrever genótipos de *P. glomerata* resultantes de autossesmeadura mediante análise morfo-anatômica.

OBJETIVO ESPECÍFICO:

Avaliar a resistência de genótipos a nematoides da espécie *Meloidogyne javanica*; e

Proceder à análise morfo-anatômica de oito genótipos de *Pfaffia glomerata* resultantes da autossesmeadura.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

BOTÂNICA

A família Amaranthaceae

De distribuição cosmopolita, Souza & Lorenzi (2008) consideram a família Amaranthaceae possuir 2000 espécies distribuídas em cerca de 170 gêneros, sendo que o Brasil apresenta 20 gêneros nativos com aproximadamente 100 espécies. Estas apresentam as mais variadas formas de utilização como ornamentais, alimentares e medicinais. Algumas espécies podem se comportar como invasoras de culturas.

Segundo Marchioretto *et al.* (2012), no Brasil a família Amaranthaceae compreende 19 gêneros com cerca de 145 espécies que se apresentam na forma de ervas, subarbustos e arbustos e ocorrem nos mais variados tipos de vegetação. Os principais gêneros são: *Achyranthes* L., *Alternanthera* Forssk., *Amaranthus* L., *Blutaparon* Raf., *Celosia* L., *Chamissoa* Kunth, *Chenopodium* L., *Cyathula* Blume, *Froelichia* Moench, *Froelichiella* R.E.Fr., *Gomphrena* L., *Hebanthe* Mart., *Herbstia* Sohmer, *Iresine* P.Browne, *Lecosia* Pedersen, *Pedersenia* Holub, *Pfaffia* Mart., *Quaternella* Pedersen, *Xerosiphon* Turcz.

O gênero *Pfaffia* Mart.

Para o gênero *Pfaffia* são encontrados cerca de 33 espécies distribuídas nas Américas Central e do Sul, sendo que 21 espécies ocorrem no Brasil. Este país é tido como um importante centro de coleta de espécies deste gênero para fins medicinais (SIQUEIRA, 1989)

Entretanto, após revisão taxonômica do gênero no Brasil, Marchioretto *et al.* (2010) registraram o gênero *Pfaffia* Mart. como neotropical, composto por 20 espécies de origem nativa. Possui ampla distribuição geográfica no território brasileiro. Citam-se: *Pfaffia acutifolia* (Moq.) O.Stützer, *Pfaffia aphylla* Suess., *Pfaffia argyrea* Pedersen, *Pfaffia cipoana* Marchior. *et al.*, *Pfaffia denudata* (Moq.) Kuntze, *Pfaffia elata* R.E.Fr., *Pfaffia glabrata* Mart., *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, *Pfaffia gnaphaloides* (L.f.) Mart., *Pfaffia hirtula* Mart., *Pfaffia jubata* Mart., *Pfaffia minarum* Pedersen, *Pfaffia rupestris* Marchior. *et al.*, *Pfaffia sarcophylla* Pedersen, *Pfaffia sericantha* (Mart.)

Pedersen, *Pfaffia siqueiriana* Marchior. & Miotto, *Pfaffia townsendii* Pedersen, *Pfaffia tuberculosa* Pedersen, *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken, *Pfaffia velutina* Mart.

***Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.**

A espécie *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, conhecida popularmente como “ginseng brasileiro”, apresenta ampla distribuição geográfica (MARCHIORETTO *et al.*, 2009). Consiste em uma planta que varia de erva a subarbusto nativa do Brasil e distribuída no México, Guianas, Bolívia, Peru, Colômbia, Paraguai, Argentina e Uruguai (MARCHIORETTO *et al.*, 2010). Considerada típica de matas de galeria e ciliares, está presente nas regiões da Amazônia, do Cerrado e da Mata Atlântica. Pode ser encontrada em todas as regiões e praticamente em todas as Unidades da Federação.

DESCRIÇÃO BOTÂNICA

P. glomerata é uma espécie herbácea, perene, com aproximadamente 2,0m de altura (VASCONCELOS, 1982). Caule ereto com nós engrossados e entrenós em torno de 23 cm. A maioria das ramificações são dicotômicas, glabras ou pubescentes. As flores são hermafroditas, com sementes de coloração verde claro quando imaturas e marrom acastanhado quando maduras. Os órgãos subterrâneos são compostos por uma raiz tuberosa, que apresenta na parte superior uma parte caulinar de tamanho variável.

Na descrição de Van Den Berg (1982), *P. glomerata* apresenta-se como uma erva com caule geralmente ereto, com cerca de 1m de altura, ramoso, râmulos glabrescentes, dicotômicos. Suas folhas variam de elípticas, oblongas ou elíptico ovadas, com 3 a 6 cm de comprimento e 2 a 3,5 cm de largura, ápice agudo, base arredondada. Inflorescências axilares, espiciformes, glomeruladas; flores com presença de brácteas e bractéolas com ápice espinhoso; tépalas pilosas, com 2,5 a 3 mm de altura, ápice agudo ou acuminado; androceu com 5 estames com base concrecida, intercalado com estaminódios com ápice laciniado; gineceu com ovário globoso, estilete alongado, estigma capitado. Fruto do tipo aquênio suborbicular com cerca de 1,5 mm de comprimento.

Conforme estudo recente de Marchioretto *et al.* (2010) a descrição morfológica de *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen consiste em: “erva a subarbusto, 0,40-3 m de altura, caule semiprostrado, lenhoso na base, fistuloso, engrossado nos nós, estriado, glabro a piloso, tricomas setosos a estrigosos articulados, densamente ramificados dicotômica ou tricotômica; entrenós de 3,0-27 cm comprimento; raiz suculenta. Folhas linear-oblongas, linear-lanceoladas, lanceoladas, ovalado-lanceoladas, 3,0-15,0 × 0,2-3,5 cm, pecíolos 0,5-2 cm comprimento, brevemente pilosos, ápice agudo a acuminado, base decurrente, face adaxial glabra a levemente pilosa, tricomas estrigosos, articulados, face abaxial com nervuras mais proeminentes, pilosas, tricomas estrigosos a hispídeos. Inflorescência capituliforme ou em espiga, reunidas em dicásios, simples, di ou tricotômica, terminal, pedúnculo curto ou longo, 2-20 cm comprimento, breve a densamente piloso, tricomas estrigosos ou hispídeos, ráquis densamente lanosa. Bráctea mediana ovalada, ápice agudo, acuminado ou mucronado, univervada, hialina, pilosa na base, 1-1,5 mm comprimento, brácteas laterais ovaladas, côncavas, ápice apiculado, hialinas, glabras a levemente pilosas no dorso, 1 mm comprimento, pequena quantidade de tricomas alvos entre as brácteas e sépalas. Sépalas oblongas, oblongo-lanceoladas, ápice agudo, trinervadas, glabras, 2-3,5 mm comprimento. Tubo estaminal mais curto que as sépalas, margens fimbriadas, filamentos laterais subtriangulares ou quadrangulares fimbriados, filamento anterífero subulado, inteiro e maior que os laterais, anteras oblongas, 0,5-0,8 mm comprimento. Ovário ovalado-globoso, 1,2-1,5 mm comprimento, estigma capitado-bilobado, papiloso”.

VARIABILIDADE MORFOLÓGICA

Mattos (1993) percebeu a existência de dois grupos de tipos de *Pfaffia glomerata*. O primeiro grupo foi descrito como plantas mais altas, de folhas longo lanceoladas, com tendência a apresentar talos arroxeados e exibindo abundante florescimento. Por sua vez, o segundo grupo foi caracterizado por apresentar plantas mais baixas, talos esverdeados, com folhas curto lanceoladas e, além de tardio, escasso florescimento.

Usando descritores morfológicos e químicos, Alves *et al.* (2010) caracterizaram acessos de um banco de germoplasma de *Pfaffia glomerata*.

Para as oito populações coletadas nos Estados do Paraná e de São Paulo foram avaliados os seguintes descritores: altura, comprimento de raiz principal, comprimento de nó, haste número e diâmetro, hábito, diâmetro de raiz principal, número de raízes secundárias, matéria seca e fresca parte aérea, matéria seca e fresca raiz, índice de colheita, cor do caule, raiz e pecíolo, pilosidade, formato da folha, do ápice e da base de folha, largura da base e conteúdo de β -ecdisona. Os autores concluíram que existe variabilidade entre e dentro de uma população de *P. glomerata*. Essa variabilidade além de poder explicar a capacidade de adaptação desta espécie pode ser usada no melhoramento genético visando teor mais elevado de β -ecdisona em raízes de *P. glomerata*. Relataram ainda que tais variações envolvem características morfológicas e químicas relacionadas ao princípio ativo β -ecdisona. Os dois principais componentes da análise foram a matéria fresca da parte aérea e a matéria fresca da raiz, responsáveis pela maioria das variações.

Quanto à morfologia polínica, Bastos *et al.* (2009/2010) relatam que as espécies dos gêneros *Pfaffia* e *Hebanthe* apresentam grãos de pólen em mônades, pequenos, esféricos, âmbito circular e pantoporados. Os poros são circulares e distribuídos por toda a superfície do grão de pólen. Os grãos são semitectados, reticulados (metarreticulados), com um poro em cada lúmen. A sexina, além de ser mais espessa do que a nexina, apresenta-se reticulada. O diâmetro polar (DP) do grão de pólen de *Pfaffia glomerata*, assim como o diâmetro equatorial (DE) é 14,42 μm , sendo a relação DP/DE igual a 1,00 e a espessura da exina igual a 1,92 μm .

O comportamento de acessos de *P. glomerata* em telado foi investigado por Sá & Sousa (2006). Estes autores, combinando duas características, como a cor do talo e a pilosidade, constataram a existência de sete tipos: verde-glabra (46%), arroxeadá-glabra (8%), arroxeadá-pilosa (4%) arroxeadá-puberulenta (8%), roxa-glabra (8%), roxa-pilosa (8%) e roxa-puberulenta (17%). Observaram ainda que, dos 14 acessos estudados, onze provavelmente pertencem ao primeiro grupo fenológico de florescimento precoce e abundante descrito por Mattos (1993), enquanto que três acessos são inseridos no segundo grupo, que compreende plantas de florescimento tardio e menos abundante.

Os estudos realizados por Crisóstomo Filho & Santiago (2010), a partir de 110 plantas oriundas de uma coleção de *P. glomerata* mantidas em estufa, permitiram identificar vinte e sete tipos morfológicos de plantas de *Pfaffia glomerata* na progênie.

Kamada *et al.* (2009a) estudaram a variabilidade de caracteres morfológicos de populações naturais de *P. glomerata* e demonstraram que os maiores valores de divergências ocorrem entre indivíduos de populações diferentes. Os menores valores foram encontrados entre os indivíduos da mesma população.

AMBIENTE E CENTRO DE DISPERSÃO

Marchioretto *et al.* (2009) relataram que *P. glomerata* é uma planta amplamente distribuída em todo o Brasil, sendo facilmente encontrada em beiras de rios e borda de matas. Devido a sua ampla distribuição geográfica, sendo localizada em condições climáticas e edáficas variadas, considera-se natural o número de formas e variedades dentro da espécie (SIQUEIRA, 1988).

P. glomerata ocorre espontaneamente na vegetação das margens e ilhas do Rio Paraná, entre os Estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Paraná (SMITH & DOWNS, 1972; SOUZA *et al.*, 1997; STEVAUX *et al.*, 2012).

Conforme Siqueira (1989), a denominação de *P. iresinoides* (H.B.K.) Spreng também é utilizada para *P. glomerata*, que apresenta alto grau de polimorfismo, e as diferenças morfológicas encontradas entre os materiais classificados como uma e outra se devem principalmente ao efeito do ambiente. Marchioretto (2009) relata que o material citado como *P. iresinoides*, no Brasil, refere-se a *P. glomerata*.

P. glomerata distribui-se em região de clima tropical a subtropical, com regimes de precipitação pluviométrica oscilando entre 1.200 e 1.500 mm anuais (CORRÊA JÚNIOR, 2003).

De ocorrência comum em ambientes com ótimo suprimento de água e onde recebe bastante luminosidade, é considerada como uma espécie hidrófita e heliófita. Desenvolve-se em altitudes de até 1000 metros ou mais, todavia baixas temperaturas prejudicam o seu crescimento. Ocorre em solos arenosos e ricos em matéria orgânica, porém, desenvolve-se bem em solos argilosos,

nos quais demonstra maior produção de raízes e também maior dificuldade de colheita (SMITH & DOWNS, 1972).

EXTRAÇÃO, COMÉRCIO E RISCOS

A extração de recursos naturais sem a preocupação com a conservação das espécies constitui uma atividade que resulta na degradação do meio ambiente.

Segundo Corrêa Júnior (2003) esta espécie encontra-se em risco de extinção, devido à coleta intensiva de suas raízes.

A Instrução Normativa nº 06, de 23 de setembro de 2008, dispõe que as espécies *Pfaffia argyrea*, *Pfaffia minarum* e *Pfaffia townsendii* são citadas na lista de espécies ameaçadas de extinção, isto é, apresentam alto risco de desaparecimento na natureza em futuro próximo (BRASIL, 2008).

Conforme o Decreto Estadual nº 42.099, de 31 de dezembro de 2002, que declara as espécies da flora nativa ameaçadas de extinção no Estado do Rio Grande do Sul, *P. glomerata* é mencionada como vulnerável, isto é, corre um alto risco de extinção em médio prazo (RIO GRANDE DO SUL, 2003).

Segundo Corrêa Júnior (2003), estima-se que no ano de 2002 foram extraídas cerca de 720 toneladas da raiz, resultando em aproximadamente 190 toneladas beneficiadas na forma de pó, destinadas ao mercado interno e exportação.

De acordo com dados do Departamento de Operações de Comércio Exterior (DECEX) citado por Corrêa Júnior (2003), no ano de 2001, de uma produção de aproximadamente 190 toneladas de raízes beneficiadas (peso líquido) cerca de 12 % foram exportadas. Ressalta-se ainda que espécies de *Pfaffia* têm sido exportadas como ração, cuja, alíquota é mais baixa, omitindo a condição de planta medicinal, perante o DECEX.

Ming & Corrêa Júnior (2002) relatam que cerca de 120 toneladas de raízes de *Pfaffia* spp. foram exportadas para o Japão no ano de 1995. Os Estados Unidos da América e a União Européia também demonstraram interesse na importação das raízes de *P. glomerata*. Dados recentes demonstram que, de janeiro a maio de 2012, foram exportados quase 2 toneladas de raízes de “ginseng” (MDIC, 2012).

O preço por quilo de raiz varia de R\$ 0,15 a R\$ 0,25. Entretanto um quilograma de raízes de fáfia beneficiada é comercializado por U\$\$ 5,00 no mercado interno brasileiro, alcançando valores de U\$\$ 15,00 no mercado internacional (MING & CORRÊA JÚNIOR, 2002).

A coleta indiscriminada de plantas medicinais, que crescem espontaneamente nas mais diversas formações vegetais do país, pode levá-las à extinção (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1994). O extrativismo ilegal além de causar a drenagem de genes, mediante exportação de genótipos, possibilita a devastação do patrimônio genético vegetal.

Soares *et al.* (2007) observaram o valor de R\$ 4.018,90 ha⁻¹ para a produção comercial de fáfia. Prejuízos ocorrem apenas quando as taxas de descontos são superiores a 52% a.a. Dessa forma o cultivo comercial de fáfia é viável economicamente, principalmente para agricultura familiar, gerando renda aos produtores e reduzindo o extrativismo predatório da espécie.

Estudos recentes realizados por Kamada *et al.* (2009b) relacionados a distribuição da variabilidade genética de *P. glomerata* apontam para necessidade de preservação da espécie em áreas alvos de extrativismo.

Nesse sentido, Corrêa Júnior *et al.*, (1994) afirmam que a maneira mais segura de se evitar a coleta clandestina e o risco de extinção da espécie é proceder com o cultivo das plantas medicinais em áreas específicas, dentro dos padrões agrônômicos, visando sempre melhorar a produtividade e a qualidade do material e assegurando as qualidades fitoquímicas e farmacológicas das matérias-primas para a produção de fitoterápicos que produzem efeitos desejados.

ASPECTOS QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS

Substâncias como o ácido glomérico, o ácido pfamérico e a rubrosterona, β -ecdisona (ecdisterona), Chikusetsusaponina e β -D glucopiranosil oleato foram isoladas de *P. glomerata* (NISHIMOTO *et al.*, 1987; NISHIMOTO *et al.*, 1990; SHIOBARA *et al.*, 1992; SHIOBARA *et al.*, 1993).

Conforme Nishimoto *et al.* (1984) as saponinas isoladas da *P. paniculata* apresentaram atividades anti-tumorais. Cabe mencionar que no extrato de suas raízes também foram encontradas substâncias empregadas no tratamento de

anemia falciforme, em preparados para prevenção de queda de cabelos e em soluções afrodisíacas (CORTEZ *et al.*, 1998).

O ecdisteroide, β -ecdisona ou 20-hydroxyecdysone (20E), pode ser encontrado em diversos órgãos da planta, como em flores, folhas, caules e raízes de fáfia (NISHIMOTO *et al.*, 1987; FESTUCCI-BUSELLI *et al.* 2008). No entanto a extração comercial de β -ecdisona ocorre nas raízes (TANAKA, *et al.*, 1995).

Os teores de ecdisona em raízes secas podem variar entre 0,29% a 0,76% (NISHIMOTO *et al.*, 1987; NISHIMOTO *et al.* 1990;, e CORRÊA JÚNIOR *et al.* 2008).

Extraído de diversas plantas, inclusive *P. glomerata*, a ecdisterona ou β -ecdisona constitui o esteróide mais importante empregado nas formulações cosméticas (CORTEZ *et al.* 1998). Os ecdisteróides (β -ecdisona) e seus derivados acetilados são capazes de fortalecer a barreira hídrica da pele, proporcionando função hidratante e impedindo a perda excessiva de água da epiderme. Além disso, têm-se extraído ecdisona para diversos usos: como atividade analgésica; como feromônio no controle de insetos; e como inibitório ao desenvolvimento de microrganismos.

Há ainda compostos que associam extratos de plantas do gênero *Pfaffia* com flavonóides, com a finalidade de manter e promover a saúde, tratar e prevenir doenças, exercendo atividade imunoestimulante, antialérgica, anti-glicemiante, psicotrópica e/ou tônica.

Cortez *et al.*, (1998) e Sanches *et al.*, (2001) citam produtos contendo extratos de espécies do gênero *Pfaffia* patenteados como preparados anti-rugas, compostos antialérgicos e conservante de geléia real.

Estudos realizados por Freitas *et al.*, (2003), constataram que além de apresentar ação protetora da mucosa gástrica, o extrato hidroalcoólico de raízes de *Pfaffia* sp. foi capaz de inibir a secreção ácida confirmando informações a respeito do uso popular da planta para tratar distúrbios gástricos. O mesmo efeito foi observado para o extrato aquoso bruto de raízes de *Pfaffia glomerata*, que ainda demonstrou ação cicatrizante em úlcera gástrica pré-formada (FREITAS *et al.*, 2004).

Otofujii (2005), estudando as vias envolvidas no mecanismo de ação de extratos de raízes de *P. glomerata*, relata que o extrato hidroalcoólico 50% foi o

que melhor protegeu a mucosa gástrica, enquanto que o extrato hidroalcoólico 70% demonstrou ser mais eficiente em reduzir a secreção ácida gástrica. O estudo ainda apontou a predominância de triterpenos e esteroides, sugerindo serem estes compostos os responsáveis pelo efeito protetor gástrico.

Visando o controle de qualidade de raízes de espécies do gênero *Pfaffia*, Gosmann *et al.* (2003) identificaram a presença do componente ecdisterona em extratos de *P. glomerata*, corroborando com os registros de Shiobara *et al.* (1993). Porém, o mesmo componente não foi identificado em extratos de *P. paniculata*. Além disso, os autores relatam que o extrato etanólico de *P. glomerata* não apresentou atividade antiproliferativa, antiviral, antifúngica ou atividade inibitória de monoaminoxidases.

O liofilizado de raízes de *P. glomerata* testado em roedores atua no sentido de melhorar a aprendizagem e capacidade de memória de ratos idosos tratados cronicamente, com toxicidade em níveis muito baixos (MARQUES, 1998). Verificou-se em humanos melhora na memória imediata e remota, no entanto houve prejuízo na atividade psicomotora (MARQUES, 2004).

Alvim *et al.* (1999) avaliaram os efeitos biológicos de *P. glomerata* em caramujos e em roedores. O extrato bruto metanólico de *P. glomerata* apresentou atividade moluscicida a partir de 200 ppm, enquanto que o extrato de *P. paniculata* mostrou-se inativo. A atividade moluscicida pode estar relacionada à maior quantidade de saponinas hemolíticas encontradas em *P. glomerata*. Quanto ao efeito hipoglicemiante do extrato metanólico de *P. glomerata*, os autores relatam que não houve redução significativa da glicemia. Entretanto Sanches *et al.* (2001) demonstraram efeito anti-hiperglicemiante de extratos butanólicos de *P. glomerata*.

Pesquisa realizada por Fenner *et al.* (2008) aponta que o efeito hipnótico de extrato etanólico de raízes de *P. glomerata* pode ser atribuído ao componente ecdisterona.

Vigo *et al.* (2003) realizaram testes com extratos hidroalcoólicos de raízes de *Pfaffia glomerata*, a fim de verificar suas propriedades biológicas no crescimento de bactérias, e concluíram que o produto não apresenta atividade antibacteriana. Moura *et al.* (2011), por vez, demonstraram que extratos de *P. glomerata* apresentaram atividade antimicrobiana contra patógenos da

superfície bucal, sugerindo, portanto, a aplicação desta planta na prevenção de cáries dentárias.

ASPECTOS AGRONÔMICOS

Conforme Magalhães (2000), em solos argilosos as mudas geralmente são plantadas em topos de leiras, procedimento este que facilita a colheita de raízes.

Recomenda-se espaçamento de 1,5 m entre sulcos e 0,5 m entre plantas nas leiras para solos argilosos ou de boa fertilidade. Para solos tipo argissolos também se adota o espaçamento 1,0 x 1,0. Em solos arenosos ou de baixa fertilidade usa-se 1,0 m entre linhas e 0,5 m entre plantas (CORRÊA JÚNIOR & MING, 2004).

Avaliação agronômica realizada por Montanari Júnior (2005) concluiu que a espécie *P. glomerata* responde favoravelmente quando oferecidas melhores condições de fertilidade do solo. Skrebsky, *et al.* (2008) constataram que, em argissolo vermelho distrófico arênico, o crescimento da planta é reduzido quando da ausência de N, K, S e P na adubação. Conforme relatado por Corrêa Júnior *et al.* (2008), baixa fertilidade natural do solo pode influenciar na produtividade de raízes.

Serra *et al.* (2011), em ensaio de vasos, observaram efeito interativo do N e P, no desenvolvimento de *P. glomerata*, exceto com relação ao teor de P na parte aérea e radicular. Tanto a produção de biomassa como a absorção de N e P pela *P. glomerata* foram influenciadas pelas doses de N e P empregadas no experimento. Relataram também que para a produtividade máxima, as doses de N variaram entre 42,9 e 346,01 mg vaso⁻¹ e as doses de P entre os valores de 72,02 e 500 mg vaso⁻¹.

A fertilidade residual de um solo cultivado com outras culturas é suficiente para um bom crescimento desta espécie. A planta demonstra boa produtividade em solos ricos em matéria orgânica e férteis, sendo recomendado o controle do mato na área de cultivo e, sobretudo, realizar irrigações sistemáticas em períodos de estiagem. Esta espécie suporta bem as condições de inundação (MAGALHÃES, 2000; CORRÊA JÚNIOR, 2003; MONTANARI JÚNIOR, 2005).

De modo geral a planta é frágil, sofrendo acamamento e quebra de ramos com o vento, chuvas fortes ou capinas. Portanto carece de proteção local contra ventos fortes.

O florescimento ocorre durante oito meses do ano, geralmente da primavera ao outono, perdendo praticamente todas as folhas no inverno (CORRÊA JÚNIOR, 2003).

A época de colheita recomendada para as raízes de fáfia é de doze meses após o plantio, de preferência no final do outono e inverno. Segundo Vigo *et al.* (2004) e Corrêa Júnior *et al.* (2008) há variação sazonal nas raízes de *Pfaffia glomerata* quanto aos teores de extrativos, cinzas, saponinas e ecdisona.

Recomenda-se utilizar subsolador, sulcador ou enxadão para auxiliar a retirada das raízes do solo. Em áreas onde ocorre a coleta das raízes de forma extrativista, é recomendável que se faça o manejo da parte aérea visando à propagação do material por estaquia. (MAGALHÃES, 2000; CORRÊA JÚNIOR, 2003; CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2008).

Corrêa Júnior *et al.* (2006) relataram que depois da colheita, o produto é submetido às primeiras etapas do processamento, isto é, as raízes de fáfia são lavadas, trituradas até formar uma 'pasta' e submetidas à pré-secagem. Em seguida o material seco é moído e levado para a secagem final, até cerca de 10 a 12% de umidade. Depois de seco e moído, o pó é vendido pelos intermediários aos atacadistas e ou exportadores.

PROPAGAÇÃO

A propagação de *Pfaffia glomerata* pode ocorrer de forma sexuada ou assexuada. Suas sementes são férteis e o poder germinativo oscila entre 50 e 77% (MAGALHÃES, 2000). Resultados compatíveis foram obtidos por Mattos & Salis (2005), cujas plantas apresentaram alto percentual de germinação (74%) após nove dias. Os autores relacionaram a rápida e alta taxa de germinação ao tamanho e ao ciclo anual da espécie. Silva Júnior & Osaida (2005) relataram que para cada grama encontra-se aproximadamente 6.200 a 6.300 sementes e que a germinação pode variar de 93 a 95 %. Mattos *et al.* (1997) registraram que o método de propagação preferencial é o vegetativo. Entretanto, a

produção de raízes através da propagação sexuada demonstra-se superior a produção de raízes via propagação vegetativa (MONTANARI JÚNIOR, 2005).

Scalon *et al.* (2009), verificaram que as sementes de ginseng brasileiro tem a germinação acelerada quando tratadas com KNO_3 , sendo este tratamento o método mais eficiente proporcionando 63% de germinação. As estacas de ginseng brasileiro imersas apenas em água apresentaram 100% de enraizamento, maiores número de brotos (2,5) e maior comprimento de raiz (8,6 cm). Concluíram que tanto a germinação quanto a estaquia são eficientes na propagação da espécie.

Renner *et al.* (2007) verificaram que os tratamentos com ácido giberélico (GA3) não aumentaram a germinação das sementes de *Pfaffia glomerata* e o pré-resfriamento reduziu significativamente a porcentagem de germinação, além de atrasar tal processo.

Observam-se registros de que o tamanho da estaca não interfere na porcentagem de enraizamento, tampouco na produção de massa seca de folhas e raízes (NICOLOSO *et al.*, 2001). Porém, mudas oriundas de estacas de 10 cm mostraram maior número de brotações, comprimento das brotações, massa seca de talos e massa seca total produzida por estaca quando comparadas às estacas de 20 cm. Concluindo, portanto, que o uso de estacas com 10 cm de comprimento, além de viável, possibilita a obtenção de um maior número de estacas por ramo.

Estacas obtidas das porções medianas e basal dos ramos apresentaram maior capacidade de enraizamento quando comparado às apicais (NICOLOSO *et al.*, (1999). Estes autores consideraram também a mistura de solo + casca de arroz carbonizada um substrato viável para a estaquia e para o desenvolvimento das mudas a campo.

Para Nicoloso *et al.* (2002) o tipo de segmento nodal, definido pela posição que ocupa na maior brotação, influencia marcadamente o crescimento das plântulas de *P. glomerata* cultivadas *in vitro*. Os segmentos basais proporcionam a maior taxa de multiplicação e plantas maiores em biomassa, altura, número de raízes e brotações.

De acordo com May *et al.* (2008), plantas de *P. glomerata* propagadas por estaca apresentaram maior acúmulo de massa seca da parte aérea quando comparadas àquelas propagadas por sementes. A produção de raízes, após

300 dias, foi semelhante para os dois tratamentos estudados, obtendo valores de até 349,65 g planta⁻¹ de massa seca da raiz.

PRODUTIVIDADE

A produtividade média das raízes secas de *Pfaffia glomerata*, doze meses após o plantio, pode variar de 1.211 kg.ha⁻¹ a 2.013 kg.ha⁻¹ (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2003; CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2008). Magalhães (2000) obteve 1.900 kg.ha⁻¹ de raízes secas.

PRAGAS E DOENÇAS

A espécie *P. glomerata* é relatada na literatura como susceptível aos fungos *Uromyces platensis* e *Septoria* sp. – agentes causais da ferrugem e da septoriose, respectivamente –, ao vírus do mosaico da fáfia – potivirus – *Pfaffia* mosaic vírus (PfMV), e a nematoides do gênero *Meloidogyne* (MATTOS, 1993; MATTOS *et al.*, 1997; PAULO *et al.*, 2003; MOTA, *et al.*, 2004).

Em experimento realizado com 14 acessos de *Pfaffia glomerata*, Sá & Sousa (2006) observaram o Vírus do Mosaico da *Pfaffia* (PfMV) em 54,6% das plantas. Sintomas do mosaico em acessos de *Pfaffia glomerata* da coleção da Universidade de Brasília também foram relatados por Ramos & Sales-Neto (2008).

Artrópodes associados a cinco acessos de *Pfaffia glomerata* foram identificados por Leite *et al.* (2008). Os artrópodes que apresentaram as maiores densidades populacionais foram os seguintes: *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Tetranychus ludeni* (Acari: Tetranychidae).

Leite *et al.* (2008) também observaram aumento na população de ácaros *Tetranychus ludeni* Zacher (Acari: Tetranychidae), *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Poliphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae) em períodos de menor umidade.

A ferrugem da *P. glomerata* (*Uromyces platensis*) foi pesquisada por Mattos & Dianese (1995) e Mattos *et al.*, (1997), que selecionaram seis acessos tolerantes à doença. Esta doença foi registrada por Arias *et al.* (2001) no Estado de Mato Grosso do Sul. Lima *et al.* (2004) relataram também a

ocorrência deste fungo em plantas de *P. glomerata* localizadas no Horto da Universidade Federal de Lavras-MG.

Pesquisa envolvendo a reação de acessos de *P. glomerata* a *Meloidogyne incognita* foi desenvolvida por Gomes *et al.* (2006), na qual todo material foi inoculado com 5.000 ovos planta⁻¹ e avaliados noventa dias após a inoculação de acordo com a escala de Taylor & Sasser (1978), utilizando-se o fator de reprodução (FR) e o índice de galhas. Foram considerados altamente resistentes (FR=1) os seguintes acessos: São Luís (MA), UFV (MG), Cenargen 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) e Cenargen 2213-6; moderadamente resistentes (RF = do 1,9 para 2,3) os acessos: IAPAR (PR), Cenargen 2216-10 e Cenargen 2216-16; e suscetíveis (FR=10,0) os acessos Cenargen 2217-10 e UFC (CE). Os acessos Farmacotécnica-DF e Cenargen 2217-9 foram considerados altamente suscetíveis com RF > 80.

Gomes (2006), visando ainda elucidar o mecanismo de resistência a *Meloidogyne incognita*, observou em secções histológicas das raízes que a resistência do acesso UFV, classificado como altamente resistente, associava-se a um fator não identificado que limitou a penetração do nematóide e a uma resposta bioquímica, cuja expressão se revelou após a penetração do nematóide. O autor observou células alteradas, indicando uma resposta de hipersensibilidade nas células parasitadas da planta resistente e/ou entre elas. Células gigantes deformadas foram também observadas muitas vezes associadas a nematóides com autofluorescência azul esbranquiçada, indicando uma degeneração citoplasmática, devido à presença de compostos fenólicos no seu interior.

Carneiro *et al.* (2006) relataram que *P. glomerata* e *P. paniculata* apresentaram alta suscetibilidade ao nematóide *M. javanica*. Observou-se que as duas espécies apresentaram reações diferentes, isto é, em *P. glomerata* ocorreu grande quantidade de galhas e em *P. paniculata* as raízes se mostraram engrossadas e necrosadas. Comparado ao tratamento testemunha, a massa das raízes de *P. glomerata* foi inferior e em *P. paniculata*, foi superior. *P. glomerata* apresentou fator de reprodução (FR) de *M. javanica* médio de 7,9 confirmando a alta suscetibilidade de alguns acessos. Quanto à concentração do principio ativo (β -ecdisona) nas raízes, constatou-se aumento significativo nas plantas parasitadas pelo nematóide, sobretudo em *P. glomerata*.

Iarema (2008) verificou, em condições de campo, diferenças na fenologia dos dois acessos de *P. glomerata*, sobretudo em relação à produção de raízes e inflorescências, assim como na susceptibilidade ao ataque de insetos. O autor observou que as maiores concentrações do princípio ativo nas folhas foram constituídas pelas plantas do acesso 2202. Ressalta-se que estas plantas também demonstraram o maior número de danos ocasionados pelo ataque de insetos na parte aérea. O acesso que mais produziu o princípio ativo (β -ecdisona) foi susceptível ao ataque de nematóides e apresentou sintomas de galhas, enquanto o outro acesso mostrou-se resistente. Evidenciou-se que a produção do princípio ativo nas raízes foi influenciada pelos nematoides, que não comprometeram o desenvolvimento das plantas. Os nematoides constatados foram *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria* com 30 a 80% de raízes infectadas e também a presença de *Helicotylenchus* sp.

Ramos & Sales-Neto (2008) compararam o índice de galhas de *Meloidogyne javanica* em acessos de *P. glomerata* da coleção da Universidade de Brasília e encontraram resultados semelhantes aos obtidos por Mattos *et al.* (1997) e Gomes *et al.* (2006).

Vasconcelos (2009), estudando acessos da coleção de *P. glomerata* da Universidade de Brasília, constatou que há diferenças de reação a *Meloidogyne javanica* entre os acessos, evidenciando a existência de variabilidade genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, M.F.A. Atividade antimicrobiana de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **XIII. Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. Fortaleza – CE. 72p. 1994.
- ALVES, R.B.N.; VIEIRA, R.F.; PEREIRA, P.S.; BERTONI, B.W.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A.M.S. **Morphological and chemical characterization of the Brazilian Ginseng *Pfaffia glomerata* (Amaranthaceae)** – In – BARICEVIC, D.; NOVAK, J.; PANK, F. Eds. Annals of IV International Symposium on Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants. Ljubljana, Slovenia, v. 1, 2010.
- ALVIM, N.R.; CUNHA, K.C.T.; CORTEZ, L.E.R.; BAZOTTE, R.B.; MARQUES, L.C.; CORTEZ, D.A.G. Efeitos biológicos da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e da *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (Amaranthaceae). **Acta Scientiarum**, v. 21, n. 2, p. 349-352, 1999.
- ARIAS, S. M. S.; URBEN, A. F.; LAURA, V. A. *Uromyces platensis* em *Pfaffia* spp. no Mato Grosso do Sul. Resumos, **34º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, São Pedro, SP, 359 p., 2001.
- BARROSO, G. M.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L.; GUIMARÃES, E.L. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, v. 1, 2ª Ed., UFV ed., Viçosa. 309 p. 2002.
- BASTOS, J.R.; BAUERMANN, S.G.; MARCHIORETTO. M.S. Morfologia polínica dos gêneros *Hebanthe* Mart. e *Pfaffia* Mart. nativos do Rio Grande do Sul. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, p. 37-42, 2009/2010.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, v. 145, n. 185, Seção 1, p. 75-83, 24 setembro de 2008.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; MESQUITA, L.F.G.; CIROTTI P.A.S.; PEREIRA, S.I.V.; PEREIRA, P.S.; SILVA, D.B.; VIEIRA, R.F. Detecção de *Meloidogyne* spp. em *Pfaffia* spp. no Distrito Federal e patogenicidade de *M. javanica* a *P.*

glomerata e *P. paniculata*. **Nematologia Brasileira**. Brasília-DF, v. 30, n. 2, p. 159-163, 2006.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2ª Ed. Jaboticabal, FUNEP, 162 p. 1994.

CORRÊA JÚNIOR, C. **Estudo Agronômico de [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]: Sazonalidade na Produção de Raízes e Conteúdos de β-ecdisona em Diferentes Acessos de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul**. 2003. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

CORRÊA JÚNIOR, C. & MING, L.C. **Fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]: O ginseng brasileiro**. In: Productos forestales, médios de subsistência y conservación. Estudios de caso sobre sistemas de manejo de produtos forestales no maderables. Volumen 3 – America Latina/ Editado por Miguel N. Alexiades e Patricia Shanley. CIFOR, p. 349-363, 2004.

CORRÊA JÚNIOR, C.; CORTEZ, D.A.G.; MING, L.C.; SOARES, W. **Fáfia o ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen): aspectos agronômicos e fitoquímicos**. Curitiba; Clichetec, 22 p., 2006.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; CORTEZ, D.A.G. Sazonalidade na produção de raízes e teor de β-ecdisona em acessos de fáfia. **Horticultura brasileira**, v. 26, n. 3, p. 393-397, 2008.

CORTEZ, D. A. G., TORRADO, M. C., CORTEZ, L.E.R. Ginseng Brasileiro. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 2, n. 3, p. 299-306, 1998.

CRISÓSTOMO FILHO, C.V. & SANTIAGO, L.A.A.C. **Multiplicação gâmica em *Pfaffia glomerata*. Diversidade e chance de plantas livres do Vírus do Mosaico da *Pfaffia* (PfMV)**. Brasília, 2010. 20 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

FENNER, R.; ZIMMER, A.R.; NEVES, G.; KLIEMANN, M.; GOSMANN, G.; RATES, S.M. K. Hypnotic effect of ecdysterone isolated from *Pfaffia glomerata*

(Spreng.) Pedersen. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 2, p. 170-176, 2008.

FESTUCCI-BUSELLI, R.A.; CONTIM, L.A.S.; BARBOSA, L.C.A.; VIEIRA, R.F.; OTONI, W.C. Level and distribution of 20-hydroxyecdysone during *Pfaffia glomerata* development. **Brazilian society of plant physiology**, v. 20, n. 4, p. 305-311, 2008.

FREITAS, C.S.; PAULA, M.F.R.; RIECK, L.; MARQUES, M.C.A. Actions of crude hydroalcoholic extract of *Pfaffia* sp. on gastrointestinal tract. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 46, n. 3, p. 355-360, 2003.

FREITAS, C. S.; BAGGIO, C. H.; SILVA-SANTOS, J. E.; SANTOS, C.A.D., JUNIOR, C.C.; MING, L.C. CORTEZ, D.A.G.; MARQUES, M.C.A. Involvement of nitric oxide in the gastroprotective effects of aqueous extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, Amaranthaceae, in rats. **Life Sciences**, v. 74, n. 9, p. 1167-1179, 2004.

GOMES, A.C.M.M. **Resistência e caracterização histológica de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. Brasília, 2006. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

GOMES, A.C.M.M.; MATTOS, J.K.; CIROTO, P.A.S.; CARNEIRO, R.M.D.G. Resistência de Acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita* Raça 1. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 189-194, 2006.

GOSMANN, G.; GATTUSO, S.; GATTUSO, M.; FENNER, R.; PACHECO, E.F.; FERRAZ, A.; SAVI, L.A.; BARARDI, C.R.M.; SIMÕES, C.M.O.; SORTINO, M.; ZACCHINO, S.; GNERRE, C.; TESTA, B.; RATES, S.M.K. Botanical (morphological, micrographic), chemical and pharmacological characteristics of *Pfaffia* species (Amaranthaceae) native to South Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 2, p. 141-147, 2003.

IAREMA, L. **Enxertia e propagação in vitro de fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]**. Viçosa-MG, 2008. 170 f. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics – A phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Inc. 1999.

KAMADA, T.; PICOLI, E.A.E.; VIEIRA, R.F. BARBOSA, L.C.A.; CRUZ, C.D.; OTONI, W.C. Variação de caracteres morfológicos e fisiológicos de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e correlação com a produção de β -ecdisona. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.11, n. 3, p. 247-256, 2009a.

KAMADA, T.; PICOLI, E.A.T.; ALFENAS, A.C.; CRUZ, C.D.; VIEIRA, R.F.; OTONI, W.C. Diversidade genética de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen estimada por marcadores RAPD. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 403-409, 2009b.

LEITE, G.L.D., PIMENTA, M., FERNANDES, P.L., VELOSO, R.S. & MARTINS, E.R. Fatores que afetam artrópodes associados a cinco acessos de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*) em Montes Claros, Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 7-11, 2008.

LIMA, C.S.; SOUZA, P.E.; BOTELHO, A.O. Fungos da família Pucciniaceae causadores de ferrugem em plantas medicinais. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n. 5, p. 499-503, 2004.

LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP : Instituto Plantarum, 512 p., 2002.

MAGALHÃES, P.M. de. Agrotecnologia para el cultivo de fáfia o ginseng brasileiro. In: MARTINEZ, J.V. *et al.* **Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas**. Santafé de Bogotá: Convênio Andrés Bello/CYTED, p. 323-332, 2000.

MARCHIORETTO, M.S. **Os gêneros Hebanthe Mart. e Pfaffia Mart. (Amaranthaceae) no Brasil**. Porto Alegre, 2008. 255 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MARCHIORETTO, M. S., MIOTTO, S. T. S. & SIQUEIRA, J. C. Padrões de distribuição geográfica das espécies brasileiras de *Pfaffia* (Amaranthaceae) **Rodriguésia**, v. 60, n. 3, p. 667-681, 2009.

MARCHIORETTO, M.S.; MIOTTO, S.T.S.; SIQUEIRA, J.C. O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil. **Hoehnea**, v. 37, n. 3, p. 461-511, 2010.

MARCHIORETTO, M.S.; SENNA, L.; SIQUEIRA, J.C. Amaranthaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000042>). 2012.

MARQUES, L.C. **Avaliação da ação adaptógena das raízes de *Pfaffia glomerata* (Sprengel) Pedersen-Amaranthaceae**. São Paulo, 1998. 145 f. Tese (Doutorado em Psicobiologia) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1998.

MARQUES, L.C.; GALVÃO, S.M.; ESPINDOLA, E.; DIAS, R.F.; MATTEI, R.; OLIVEIRA, M.G.; DE ARAÚJO CARLINI, E.L. Psychopharmacological assessment of *Pfaffia glomerata* roots (extract BNT-08) in rodents. **Phytotherapy Research**, v. 7, p. 566-572, 2004.

MATTOS, J. K. A. & DIANESE, J.C. Effect of the environment on infection and sources of resistance to *Uromyces platensis* among accesses of *Pfaffia glomerata*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 591-596, 1995.

MATTOS, J. K. A. **Biologia da ferrugem (*Uromyces platensis* Speg.) da *Pfaffia glomerata* Pedersen**. Brasília, 1993. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 1993.

MATTOS, J.K.A.; DIANESE, J.C.; SOUSA, R.M.; ARAÚJO, W. P. & ROCHA, R.S. Reação de acessos de *Pfaffia glomerata* à ferrugem (*Uromyces platensis*) e ao nematóide *Meloidogyne javanica*. **Anais da III Jornada Paulista de Plantas Mediciniais**. Campinas- SP , 11 a 15 de outubro de 1997.

MATTOS, P.P. & SALIS, S.M. **Resultados preliminares do plantio do Ginseng-do-Pantanal (*Pfaffia glomerata*) no Pantanal**. Comunicado Técnico nº 49 - EMBRAPA. Corumbá-MS, 2005.

MAY A.; BOVI, O.A.; MAIA, N.B.; MORAES, A.R.A.; PINHEIRO, M.Q. Análise de crescimento de fáfia em função do tipo de propagação. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 375-378, 2008.

MDIC - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior – 2012. Disponível em: <http://aliceweb.mdic.gov.br//consulta-ncm/consultar>. Raízes de "ginseng", frescas, secas, incl.cortad.tritur.pó. acesso em: 10/05/2012.

MING, L.C. & CORRÊA JÚNIOR, C. Collection of Fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] in North western State of Paraná – Brazil. Coleta de fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] na região noroeste do estado do Paraná Brasil. **Acta Horticulturae**, ISHS, n. 576, p. 29-32, 2002.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Avaliação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen visando seu cultivo comercial**. Campinas-SP, 2005. 45 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônômico de Campinas-SP, 2005.

MOTA L. D. C.; DELLA VECCHIA M. G. S. ; GIORIA R. ; KITAJIMA E. W REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. E. A.; AMORIM, L. *Pfaffia mosaic virus: a new potyvirus found infecting *Pfaffia glomerata* in Brazil*. **Plant Pathology**, UK, v. 53, p. 368-373, 2004.

MOURA, C.L.; CASEMIRO, L.A.; MARTINS, C.H.G.; CUNHA, W.R.; SILVA, M.L.A.; CURY, A.H.V. Evaluation of the antimicrobial activity of the plant species *Pfaffia glomerata* against oral pathogens. **Investigação**, v. 11, p. 24-28, 2011.

NICOLOSO, F.T.; FORTUNATO, R.P.; FOGAÇA, M.A.F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 277-283, 1999.

NICOLOSO, F.T.; CASSOL, L.F.; FORTUNATO, R.P. Comprimento da estaca de ramo no enraizamento do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*) **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, 2001.

NICOLOSO, F.T. & ERIG, A.C. Efeito do tipo de segmento nodal e tamanho do recipiente no crescimento de plantas de *Pfaffia glomerata in vitro*. **Ciência e agrotecnologia**. Edição Especial, p.1499-1506, 2002.

NISHIMOTO, N., NAKAI, S., TAKAGI, N., HAYASHI, S., TAKEMOTO, T., ODASHIMA, S., KIZU, H., WADA, Y. Pfaffosides and nortriterpenoid saponins from *Pfaffia paniculata*. **Phytochemistry**, v. 23, p.139-142, 1984.

NISHIMOTO, N., SHIOBARA, Y.; INOUE, S.; TAKEMOTO, T.; OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K; HASHIMOTO, G.; TANAKA, O.; KASAI, R.;

MATSUURA, H. Ecdysteroids from *Pfaffia iresinoids* and reassignment of some ¹³C-NMR chemical shifts. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2505-2507, 1987.

NISHIMOTO, N.; SHIOBARA, Y.; INOUE, S.S.; FUJINO, M.; TAKEMOTO, T. YEOH, C.L.; OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISEU, M.K.; HASHIMOTO, G. Three ecdysteroid glycosides from *Pfaffia iresinoides*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 6, p. 1665-1668, 1988.

NISHIMOTO, N.; SHIOBARA, Y.; INOUE, S.; TAKEMOTO, T.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F.; AKISUE, M.K.; HASHIMOTO, G. Ecdisteroides de *Pfaffia glomerata*. **Anais do XI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. Universidade Federal da Paraíba – João Pessoa – PB, 1990.

OLIVEIRA, F. De *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze – o ginseng brasileiro. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 1, p. 86-92, 1986.

OTOFUJI, G.M. **Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das raízes da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen**. Curitiba, 2005. 177 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

PAULO, J. A. O.; MENDES, M. A. S.; ALVES, R. B. N. & VIEIRA, R. Mancha de Septoria em *Pfaffia Glomerata* No Distrito Federal. **VIII Encontro do Talento Estudantil, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília-DF, p. 143, 2003.

POTT, A. & POTT, V.J. **Plantas do Pantanal**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 320 p., 1994.

RAMOS, D & SALES NETO, J.B. **Recuperação da coleção de acessos de *Pfaffia glomerata* da Universidade de Brasília**. Brasília, 2008. 18 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

RENNER, G.D.R.; CAMACHO, F.; PEIXE, S. Ação da temperatura, ácido giberélico e luz na germinação de sementes de fáfia – *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 349-354, 2007.

RIO GRANDE DO SUL. Decreto nº 42.099 de 31 de dezembro de 2002. **Declara as espécies da flora nativa ameaçadas de extinção no Estado do**

Rio Grande do Sul e dá outras providências. Diário Oficial Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, v. 42, n. 1. Janeiro de 2003.

SÁ, F.H. & E SOUSA, J. A.. **Diagnóstico preliminar da coleção de acessos de *Pfaffia glomerata* da Universidade de Brasília.** Brasília, 2006. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

SANCHES, N. R., GALLETTO, R., OLIVEIRA C. E., BAZOTTE. R. B. & CORTEZ, D. A. G. Avaliação da atividade anti-hiperglicemiante da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 613-617, 2001.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; ROSA, G.T.S.; MORAES, K.C.; SCALON-FILHO, H. Enraizamento e germinação na propagação de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (ginseng-brasileiro). **Ciência e agrotecnologia**, v. 33, n. 5, A, 2009.

SERRA, A.P.; MARCHETTI, M.E.; VIEIRA, M.C.; SILVA, M.A.G.; ROSA JUNIOR, E.J.; NASCIMENTO, J.M.; GUEDES, E.M.S. Produção de biomassa e absorção de N e P pela *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em função de doses de N e P em condições de casa de vegetação. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.13, n.3, p. 265-270, 2011.

SHIOBARA, Y.; INOUE, S.; NISHIGUCHI, Y.; TAKEMOTO, T.; NISHIMOTO, N.; OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Iresinoide, a yellow pigment from *Pfaffia iresinoides*. **Phytochemistry**, England, v. 31, n. 3, p. 953-956, 1992.

SHIOBARA, Y.; INOUE, S-S.; KATO, K.; NISHIGUCHI, Y.; OISHI, Y.; NISHIMOTO, N.; OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K.; HASHIMOTO, G. A nortriterpenoid, triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, v. 32, p. 1527-1530, 1993.

SILVA JÚNIOR, A. & OSAIDA, C. C. Ginseng-brasileiro – novo estímulo para o campo e para o corpo. **Agropecuária catarinense**, Florianópolis, v.18, n.2, p.41-44, 2005.

SIQUEIRA, J.C. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae). **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 10, n.

2, p. 269-278, 1988.

SIQUEIRA J. C., In RIZZO J.A. (coordenador). **A Flora do Estado de Goiás. Coleção Rizzo**, Coordenação: José Ângelo Rizzo. vol 12, Goiânia, 44p,1989.

SKREBSKY, E.C.; NICOLOSO, F.T.; MALDANER, J.; RAUBER, R.; CASTRO, G.Y. JUCOSKI, G.O.; SANTOS, D.R. Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 989-996, 2008.

SMITH, L.B. & DOWNS, R.J. **Flora ilustrada catarinense: Amarantáceas**. Itajaí, 110 p. 1972.

SOARES, T.S., MOTA, J.H., VIEIRA, M.C. **Viabilidade econômica da produção comercial de *Pfaffia glomerata***. 47^o. Congresso Brasileiro de Olericultura. Porto Seguro, BA. Resumo, 2007.

SOUZA, M.C.; CISLINSKI, J.; ROMAGNOLO, M.B. Levantamento florístico. In: VAZZOLER, A.E.A. de M.; AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. (Eds.). **A planície de inundação do Alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos**. Maringá. EDUEM : Nupélia, p. 343-368, 1997.

SOUZA, V.C & LORENZI, H. 2008. **Botânica Sistemática – Guia Ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2^a edição. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 252-256, 2008.

STEVAUX, J.C.; CORRADINE, F.A.; AQUINO, S. Connectivity processes and riparian vegetation of the upper Paraná River, Brazil. **Journal of South American Earth Sciences**, XXX, p. 1-9, 2012.

TAKEMOTO, T.; NISHIMOTO, N.; NAKAI, S.; TAKAGI, N. HAYASHI, S.; ODASHIMA, S.; WADA, Y. Pfaffic acid, a novel nortriterpene from *Pfaffia paniculata* Kuntze. **Tetrahedron Letters**, v. 24, n. 10, p. 1057-60, 1983.

TANAKA, N.; YAMASHITA, K.; TAKAO, M.; MATSUMOTO, T. Clonal propagation of 20-hydroxyecdysone producing plant, *Pfaffia iresinoides*. **Plant Tissue Culture Letters**, v. 12, n. 2, p. 187-191, 1995.

VAN DEN BERG, M. E. **Plantas Medicinais na Amazônia – Contribuição ao seu conhecimento sistemático**. Belém, CNPq/PTU. 223 p. 1982.

VASCONCELOS, J.M.O. **Estudo taxonômico sobre Amaranthaceae no RS, Brasil**. Porto Alegre, 1982. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1982.

VASCONCELOS, V. M. **Inventário da Coleção de acessos de *Pfaffia glomerata* da Universidade de Brasília**. Brasília, 2009. 30 f. Monografia (Graduação em Agronomia). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

VIGO, C.L.S.; NARITA, E.; NAKAMURA, C.V., MARQUES, L.C. Avaliação dos efeitos das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen sobre o tempo de sono e crescimento bacteriano. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13 supl. 2, p. 14-17, 2003.

VIGO, C.L.S.; NARITA, E.; MARQUES, L.C. Influências da variação sazonal e tipos de secagem nas características da droga vegetal – raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n, 2, p. 137-144, 2004.

CAPÍTULO 1

Variabilidade morfológica e reação de genótipos de *Pfaffia glomerata* obtidos por autossesmeadura em relação ao nematoide *Meloidogyne javanica*.

RESUMO

A espécie brasileira cultivada *Pfaffia glomerata*, fonte do resistógeno beta-ecdisona, inicialmente sujeita à coleta predatória, transformou-se em planta cultivada. Observa-se a existência de vários morfotipos e também uma variação na concentração de beta-ecdisona seu princípio ativo presente nas raízes tuberosas, conforme o acesso analisado. Observa-se também pragas e doenças na espécie, algumas das quais como o nematoide-das-galhas *Meloidogyne* spp. constituindo fator limitante à cultura. O objetivo do presente trabalho foi acessar a variabilidade morfotípica e a reação de genótipos obtidos por autossesmeadura em relação a *Meloidogyne javanica*. Acessos presumivelmente resistentes foram submetidos à inoculação controlada com 4.000 ovos planta em ensaio de vasos sob estufa para obtenção do fator de reprodução do nematoide. Também tiveram suas características morfológicas examinadas para associação tipológica com a reação ao nematoide. Os resultados indicaram que houve diferença no potencial de multiplicação de *M. javanica* entre cinco genótipos de *P. glomerata* previamente selecionados como resistentes. Com base no fator de reprodução, apenas um genótipo comportou-se como altamente resistente. Todos os demais apresentaram reação de suscetibilidade.

Palavras-chave: Resistência, nematoide das galhas, índice de galhas, fator de reprodução, morfologia.

ABSTRACT

The cultivated species *Pfaffia glomerata*, source of the β -ecdisona, initially subject to predatory collection, became domesticated. It was noted the existence of several morphotypes and also a variation in the concentration of β -ecdisona, the active ingredient present in its tuberous roots. Also pests and diseases were observed, some of which such as root-knot nematode *Meloidogyne* spp. acted as limiting factor. The goal of this work was to access the morphotypical variability and the reaction of genotypes obtained by self-sowing to nematode *Meloidogyne javanica*. Presumably resistant accessions to *Meloidogyne javanica* were subjected to controlled inoculation with 4000 eggs of the nematode per plant in pot test under greenhouse to obtain the reproduction factor of nematode. The plants also had their external morphological characteristics examined for association with typological reaction to nematode. The results indicated differences in multiplication potential of *M. javanica* between the five genotypes of *P. glomerata* previously selected as resistant. Based on the reproduction factor, only one genotype behaved as highly resistant. All others reported reaction of susceptibility.

Key-words: Resistance, root-knot, gall index, reproduction factor, morphology

INTRODUÇÃO

Pfaffia glomerata, o ginseng brasileiro, despontou no mercado brasileiro ao final da década de 1970 como uma planta resistógena, fonte do esteróide beta-ecdisona (CORRÊA JÚNIOR *et al.* 2002).

Inicialmente submetida à coleta predatória logo teve seu sistema de produção elaborado, haja vista a sua grande facilidade de propagação, especialmente vegetativa e à sua relativa rusticidade (IAREMA, 2008).

A partir dos primeiros cultivos observou-se a existência de vários morfotipos e também uma variação na concentração de β -ecdisona, seu princípio ativo presente nas raízes tuberosas, conforme o acesso analisado (KAMADA *et al.*, 2009).

Observaram-se pragas e doenças, algumas das quais como a ferrugem fúngica (*Uromyces platensis*) e o nematoide-das-galhas *Meloidogyne* spp., surgindo como fatores limitantes à cultura (MATTOS *et al.*, 1997).

Surpreendentemente foi observado que o aumento na concentração de β -ecdisona estava, em alguns casos, associado à presença do nematoide-das-galhas na raiz da planta. No entanto, em caso de elevada suscetibilidade ao nematoide, a planta pode morrer. (GOMES *et al.*, 2010)

A espécie pode ser propagada por estacas e sementes, produz flores hermafroditas e seu sistema reprodutivo não está claramente definido como planta alógama ou autógama (MONTANARI JÚNIOR, 2005).

A planta apresenta diversidade quanto à resistência à *Meloidogyne javanica*. Uma avaliação rápida de genótipos em solo naturalmente infestado sugeriu a presença de casos de resistência genética a serem confirmados com inoculação controlada mediante o cálculo do fator de reprodução (RAMOS & SALES-NETO, 2008; SALVIANO & CUNHA, 2011).

O objetivo do presente trabalho foi acessar a variabilidade morfológica e a reação de genótipos obtidos por autossmeadura em relação ao nematoide *Meloidogyne javanica*.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido na Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília (UnB), em condições de casa de vegetação do tipo *Glasshouse*, com temperatura média de 21 °C (média das mínimas 12° C e média das máximas 30° C) e aproximadamente 50% de sombreamento (conforme o fotômetro Asahy Pentax SP 500).

Fundamento do ensaio

O trabalho teve como base a avaliação da reação ao nematoide-das-galhas (*Meloidogyne javanica*) de plântulas oriundas da autossemeadura de uma coleção remanescente de acessos (matrizes) de *Pfaffia glomerata* mantida na estufa em vasos de 4 litros contendo a mistura EEB: (latossolo vermelho textura média + areia + composto orgânico + vermiculita), tendo os itens da mistura apresentado respectivamente as seguintes proporções: 3:1:1:1. Para cada 20 litros da mistura haviam sido incorporados 100 g da formulação 4-16-8.

Os vasos foram dispostos em sistema retangular sobre a bancada de cimento, sendo todos contíguos entre si. Após o florescimento de parte das plantas da coleção, surgiram na superfície do substrato dos vasos, plântulas oriundas de autossemeadura.

Avaliação da reação ao nematoide com infestação natural

As plântulas oriundas da autossemeadura foram transplantadas para vasos de 2L de capacidade contendo a mesma mistura EEB, e dispostas sobre bancadas de cimento. Foram avaliadas pela primeira vez após seis meses de crescimento, tendo sido levantada a presença do nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* nas raízes, pelo índice de galhas (IG), segundo Hartman & Sasser (1985) com adaptações: 1 (1 a 2 galhas); 2 (3 a 10 galhas); 3 (11 a 30 galhas); 4 (31 a 100 galhas) e 5 (mais de 100 galhas). As plantas selecionadas foram transplantadas a seguir em novos vasos com a mistura EEB e deixadas a crescer por mais seis meses, quando então se procedeu a nova avaliação pelo IG. Os genótipos que apresentaram IG's superiores a 2,0 foram descartados.

Ensaio de inoculação controlada

Das plantas selecionadas foram produzidas mudas, mediante estaquia uninodal, de cinco genótipos, para confirmação por inoculação controlada da hospedabilidade a uma população de *Meloidogyne javanica* obtida em solo nativo de cerrado e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum*), gentilmente cedida pela pesquisadora Dra. Regina M. D. Gomes Carneiro da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Os tratamentos envolveram cinco genótipos postos a crescer por 60 (sessenta) dias depois de serem inoculados em vasos de alumínio de 2,0 L contendo mistura de latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico respectivamente na proporção 3:1:1:1, mais a formulação 4-16-8, na dose de 100g para 20 L da mistura. A mistura foi previamente esterilizada em autoclave a 120° C por período de 1 hora.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado constituído de seis repetições. As plantas, ao tempo do transplante, foram inoculadas com 4.000 ovos de *Meloidogyne javanica*.

No ato da inoculação, verteram-se 5 ml de uma suspensão contendo os ovos do nematoide em um furo no solo ao lado do colo da planta recém transplantada.

Os tratos culturais resumiram-se apenas à irrigação manual sempre que necessária.

Após 60 dias de cultivo as ervas tiveram a parte aérea cortada e as raízes coletadas em sacos plásticos. As raízes foram lavadas, secas em papel toalha, pesadas e cortadas em pequenos segmentos.

Para a extração de ovos de raízes utilizou-se a metodologia proposta por Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti & Ferraz (1981). Triturou-se, em liquidificador, o sistema radicular de plantas individuais (as raízes foram cortadas em pedaços de ± 2 cm) em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por 2 minutos. Em seguida, a suspensão foi passada por um conjunto de peneiras de 20, 100 e 500 mesh. Os ovos foram recuperados da peneira de 500 mesh e o volume padronizado para 100 ml. A quantificação foi realizada em lâmina de Peters ao microscópio óptico. Foram feitas três contagens de cada amostra de raiz e a média das contagens utilizada para o cálculo do fator de reprodução (FR). O FR foi calculado, dividindo-se o número total de ovos/planta pelo número de

ovos inoculados. Foram consideradas más hospedeiras as plantas (genótipos) que apresentaram $FR < 1$ (Oostenbrink, 1966).

Morfologia dos genótipos

Foram anotados os dados da morfologia dos genótipos, quais sejam: índice de afilamento do limbo foliar, pilosidade e a cor do talo. A área do limbo foliar e o tamanho do pecíolo foram desprezados em virtude de sua grande dependência das condições ambientais.

Análises estatísticas

Os dados numéricos obtidos foram submetidos estatisticamente à análise de variância com auxílio do programa SISVAR (Ferreira, 2000). Para comparação das médias utilizou-se o Teste Tukey a 5% de significância (0,05). Para efeito de análise estatística, os dados originais foram transformados em $(X+1)^{0,5}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente ensaio encontram-se representados na Tabela 1, que apresenta as médias do número ovos por planta, da massa fresca da raiz, dos ovos por grama de raiz e do fator de reprodução de cinco genótipos de *Pfaffia glomerata*.

De 27 genótipos oriundos de autossesmeadura cultivados em solo sob estufa e com infestação natural do solo, submetidos recentemente a duas avaliações espaçadas de seis meses entre si, pelo índice de galhas e massas de ovos segundo Hartman & Sasser (1985), 6 deles apresentaram índice 1 (1 a 2 galhas); 7 apresentaram índice 2 (3 a 10 galhas); 3 apresentaram índice 3 (11 a 30 galhas); 3 apresentaram índice 4 (31 a 100 galhas) e 8 apresentaram índice 5 (mais de 100 galhas). Os cinco genótipos selecionados a partir desta avaliação para confirmação da hospedabilidade, mediante o cálculo do fator de reprodução, encontram-se listados na Tabela 1, tendo sido avaliados com vistas a definir sua reação ao nematoide *Meloidogyne javanica*.

Tabela 1. Médias do número ovos por planta, da massa fresca da raiz, dos ovos por grama de raiz e do fator de reprodução de cinco genótipos de *Pfaffia glomerata* relativo ao nematoide *Meloidogyne javanica*.

Genótipo	IGin(*)	Pf = nº ovos/planta	Massa fresca da raiz	Ovos por grama de raiz	FR = Pf/Pi
68	1,0	3.227,77 a	3,91	915,68 a	0,80
21	1,0	13.561,11 ab	3,91	3.565,85 ab	3,39
55	1,0	17.766,66 ab	4,40	3.973,36 ab	4,44
24	2,0	19.127,77 ab	4,33	5.852,03 ab	4,78
7	1,5	30.005,55 b	3,00	9.289,94 b	7,50

Obs.: Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5%. IGin(*): índice de galhas por infestação natural (média de duas leituras espaçadas de seis meses). Pi= 4.000 ovos. Para efeito de análise estatística, os dados originais foram transformados em $(X+1)^{0,5}$.

Houve diferença entre tratamentos para média do número de ovos recuperados por planta, ficando o tratamento Genótipo 7 diferente do Genótipo 68. Os demais genótipos situaram-se de modo intermediário.

Não houve diferença significativa entre tratamentos para massa fresca da raiz, mas houve diferença significativa para ovos por grama de raiz ficando novamente o Genótipo 7 com a maior média, diferindo estatisticamente do

Genótipo 68, enquanto os demais genótipos permaneceram em situação intermediária.

Quanto ao fator de reprodução (FR), apenas o Genótipo 68 aparece como mau hospedeiro, não tendo o FR atingido o índice 1,0. De acordo com o FR o melhor hospedeiro é o Genótipo 7.

Observa-se que o gradiente de IG's observado na infestação natural reproduz-se apenas discretamente na coluna do FR e um pouco mais nas colunas do número de ovos e número de ovos por grama de raiz.

P. glomerata tem sido relatada como suscetível a várias espécies de *Meloidogyne*. No entanto, como seu centro de dispersão se encontra na região sul do Brasil, particularmente no delta do Rio Paraná, o abundante número de genótipos lá encontrados, oferece a possibilidade de seleção daqueles que apresentam genes de resistência ao nematoide. Curiosamente, o princípio ativo de interesse farmacológico, β -ecdisona, tem apresentado uma correlação positiva em relação ao parasitismo do nematoide. (CORREA JÚNIOR *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 2010).

Gomes *et al.* (2010) encontraram diferenças a maior na concentração de β -ecdisona, o principal componente farmacológico do "ginseng brasileiro" *P. glomerata*, em raízes da planta infectadas por *Meloidogyne incognita*.

Carneiro *et al.* (2006) observaram que *P. glomerata* e *P. paniculata* apresentaram alta suscetibilidade a *M. javanica*. O fator de reprodução (FR) de *M. javanica* em *P. glomerata*, observados pelos autores foi em média 7,9 confirmando a alta suscetibilidade de alguns acessos. No entanto a planta não apresentou redução de porte e nenhum outro sintoma na parte aérea no período do ensaio. Quanto à concentração do princípio ativo (β - ecdisona) nas raízes, os autores observaram significativo aumento nas plantas parasitadas pelo nematóide, sobretudo em *P. glomerata*.

Visando elucidar o mecanismo de resistência a *Meloidogyne incognita*, observou-se, em secções histológicas das raízes, que a resistência do acesso UFV, classificado como altamente resistente, associava-se a um fator não identificado que limitou a penetração do nematóide e a uma resposta bioquímica, cuja expressão se revelou após a penetração do nematoide. Foram observadas ainda células alteradas indicando uma resposta de hipersensibilidade nas células parasitadas da planta resistente. Células

gigantes deformadas foram também observadas muitas vezes associadas à nematóides com autofluorescência azul esbranquiçada, indicando uma degeneração citoplasmática, devido à presença de compostos fenólicos no seu interior (GOMES *et al.*, 2010).

Gomes *et al.* (2006) relataram a reação de acessos de *P. glomerata* também a *Meloidogyne incognita* Raça 1. Seis acessos comportaram-se como altamente resistentes com $FR < 1$, três acessos comportaram-se como moderadamente resistentes com FR variando de 1,9 a 2,3), dois acessos apresentaram-se como suscetíveis ($FR = 10$) e dois acessos apresentaram-se como altamente suscetíveis com $FR > 80$.

De acordo com a escala utilizada, obteve-se para o presente ensaio quatro genótipos suscetíveis e um altamente resistente.

Segundo Iarema (2008), que realizou ensaio em condição de campo, o acesso considerado o maior produtor de princípio ativo da *P. glomerata*, (β -ecdisona) foi susceptível ao ataque de nematóides e apresentou sintomas de galhas, enquanto o outro acesso mostrou-se resistente. Os nematóides influenciaram a produção do princípio ativo nas raízes, mas não comprometeram o desenvolvimento das plantas. Os nematoides constatados foram *Meloidogyne javanica* (fenótipos de esterase J2 e J3), *Meloidogyne arenaria* (A2) com 30 a 80% de raízes infectadas e também a presença de *Helicotylenchus sp.*

Conforme experimento realizado por Gomes *et al.* (2010), as maiores concentrações de β -ecdisona foram evidenciadas em raízes do acesso suscetível (Farm) infectado com *M. incognita*, sugerindo que a concentração desse esteroide não está relacionada à resistência de *P. glomerata* a *M. incognita*.

Mattos *et al.* (1997) verificaram a hospedabilidade de quinze acessos de *P. glomerata* a *M. javanica*. Doze acessos revelaram-se como maus hospedeiros. Três acessos revelaram-se como suscetíveis. Nos três acessos multiplicadores o fator de reprodução variou de 3,83 a 10,14.

Alguns resultados obtidos no presente ensaio eram esperados na forma de reação diferenciada a *M. javanica*, considerando que os genótipos testados são oriundos de autossmeadura da mesma coleção estudada por Mattos *et al.* (1997) e Gomes *et al.*, (2006).

A Tabela 2 apresenta dados sobre a diversidade na morfologia externa dos cinco genótipos avaliados quanto à reação a *M. javanica*, quanto a três características marcantes quais sejam: o formato do limbo foliar, cor do talo e a pilosidade. Constatou-se a ocorrência de dois formatos de limbo foliar, três cores de talo e três graus de pilosidade.

Tabela 2. Formato do limbo foliar, cor do talo e pilosidade de cinco genótipos de *Pfaffia glomerata* cultivados em vaso, sob estufa.

Genótipo	Formato do limbo foliar	Cor do talo	Pilosidade
07	Lanceolado	Lilás	Pubescente
21	Lanceolado	Roxo	Pilosa
24	Lanceolado	Roxo	Glabra
55	Lanceolado	Verde	Pilosa
68	Longo lanceolado	Lilás	Pilosa

Mattos *et al.* (1997) sugeriram, após experimentação, que hospedeiros de *M. javanica* seriam mais encontrados entre genótipos de *P. glomerata* mais frequentes nas coleções do Sul do Brasil, caracterizados em sua maioria por folhas mais longo lanceoladas, talos mais arroxeados, abundante florescimento e porte maior, grupo este que Mattos & Dianese (1995) definira como grupo fenológico 2, em contraposição ao grupo fenológico 1, caracterizado por apresentar folhas mais curtas, talos menos arroxeados, porte menor e mais encontrados nas coleções do nordeste, mais resistentes a *Meloidogyne* spp, o que aparentemente não se confirmou no presente ensaio, com um elenco de genótipos pouco representativo.

O reduzido número de genótipos inoculados no presente ensaio não permite questionar a tendência sugerida por Mattos *et al.* (1997).

Segundo Salviano & Cunha (2011), de 110 genótipos oriundos de autossesmeadura submetidos à avaliação pelo índice de galhas e massas de ovos segundo Hartman & Sasser (1985), sob infestação natural do solo, 21 deles apresentaram índice 1 (1 a 2 galhas); 26 apresentaram índice 2 (3 a 10 galhas); 29 apresentaram índice 3 (11 a 30 galhas); 17 apresentaram índice 4 (31 a 100 galhas) e também 17, apresentaram índice 5 (mais de 100 galhas).

No ensaio referido, os autores não confirmaram a tendência sugerida por Mattos *et al.* (1997).

CONCLUSÃO

Houve diferença no potencial de multiplicação de *Meloidogyne javanica* entre cinco genótipos de *Pfaffia glomerata* previamente selecionados como resistentes.

Com base no fator de reprodução, apenas um genótipo comportou-se como altamente resistente. Todos os demais apresentaram reação de suscetibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONETTI, J.I.S. & FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p. 553, 1981.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MESQUITA, L.F.G; CIROTTI P.A.S., PEREIRA, S.I.V; PEREIRA, P.S., SILVA, D.B. & VIEIRA, R.F. 2006. Detecção de *Meloidogyne spp.* em *Pfaffia spp.* no Distrito Federal e patogenicidade de *M. javanica* a *P. glomerata* e *P. paniculata*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p.: 159-163, 2006.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; CORTEZ, D.A.G. **Aspectos gerais da espécie fáfia (*Pfaffia glomerata* Pedersen) e recomendações técnica para seu cultivo**. Guatemala-Antigua. Anais... CYTED-Centro Iberoamericano de Formacion. Antigua, 11p., 2002.

FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0**. In. 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, p. 255-258, Julho de 2000.

GOMES, A.C.M.M.; MATTOS, J.K.A.; CIROTO, P.A.S.; CARNEIRO, R.M.D.G. Resistência de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita* Raça 1. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 189-194, 2006.

GOMES, A.C.M.M.; NICOLE, M.; MATTOS, J.K.A.; PEREIRA, S.I.V.; PEREIRA, P.; SILVA, D.B.; VIEIRA, R.F.; CAPDEVILLE, G.; MOITA, A.W.; CARNEIRO, R. M.D.G. Concentration of Beta-ecydisone (20E) in susceptible and resistant accessions of *Pfaffia glomerata* infected with *Meloidogyne incognita* and histological characterisation of resistance. **Nematology**, v. 12, p. 701-709, 2010.

HARTMAN, K.M & SASSER, J.N. **Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology**. In: Barker, K.R, Carter, C.C. & Sasser, J.N. (Eds.) *Advanced Treatise on Meloidogyne*, Vol. II. Methodology. Raleigh NC. North Carolina State University. p. 69-77, 1985.

HUSSEY, R.S. & BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant disease report**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

IAREMA, L. **Enxertia e propagação in vitro de fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]**. Viçosa-MG, 2008. 170 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008

KAMADA, T., PICOLI E.A.de T., ALFENAS, A.C., CRUZ, C.D.,VIEIRA, R.F., OTONI, W.C. Diversidade genética de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen estimada por marcadores RADP. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 403-409, 2009.

MATTOS, J.K.A.; DIANESE, J.C.; SOUSA, R.M.; ARAÚJO, W. P. & ROCHA, R.S. **Reação de acessos de *Pfaffia glomerata* à ferrugem (*Uromyces platensis*) e ao nematóide *Meloidogyne javanica***. Anais da III Jornada Paulista de Plantas Mediciniais. Campinas-SP , 11 a 15 de outubro de 1997.

MATTOS, J. K. A. & DIANESE, J.C. Effect of the environment on infection and sources of resistance to *Uromyces platensis* among accesses of *Pfaffia glomerata*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n. 4, p. 591-596, 1995.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Avaliação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen visando seu cultivo comercial**. Campinas-SP, 2005. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2005.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics on relation between nematodes and plants. **Mededel Landbouwhogeschool**, v. 66, p. 1-46. 1966.

RAMOS, D. & SALES-NETO, J. B. **Recuperação da coleção de acessos de *Pfaffia glomerata* da Universidade de Brasília**. Brasília, 2008. 20 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SALVIANO, F. & CUNHA, I. A. **Estudo Morfológico e avaliação fitossanitária de plantas de *Pfaffia glomerata* oriundas de autosemeadura**. Brasília, 2011. 34 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

CAPÍTULO 2

Morfo-anatomia foliar de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.

RESUMO

Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen, planta perene pertencente à família Amaranthaceae, conhecida como ginseng brasileiro devido as suas propriedades medicinais, é encontrada em todo o território brasileiro. Suas raízes são amplamente empregadas como tônicas, estimulante, afrodisíacas e antidiarreica. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a anatomia foliar de oito genótipos oriundos da autossesmeadura de acessos de *P. glomerata*. Folhas coletadas da região do terceiro nó, a partir do ápice caulinar, foram fixadas em FAA (formaldeído: ácido acético: álcool) 70% e posteriormente conservadas em solução de etanol 70%. Secções transversais foram realizadas a mão livre, onde se verificaram lâmina foliar plano-convexa, mesofilo heterogêneo bifacial, feixes vasculares colaterais, estômatos e tricomas tectores e glandulares nas duas faces da epiderme. As secções paradermicas permitiram inferir que as células epidérmicas da face adaxial apresentam traços poligonais enquanto que as da superfície abaxial têm paredes sinuosas; os estômatos são do tipo anomocítico; os tricomas tectores pluricelulares apresentam células subsidiárias dispostas radialmente. Houve diferenças no formato das nervuras principal e secundárias, no número de camadas do colênquima e na distribuição dos feixes vasculares da nervura principal, no formato do bordo foliar e formato das paredes anticlinais das células epidérmicas comuns. Dados morfológicos dos oito genótipos evidenciaram variabilidade quanto à pilosidade.

Palavras-chave: Ginseng brasileiro, anatomia foliar, morfologia, Amaranthaceae.

ABSTRACT

Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen, perennial plant belong to family Amaranthaceae, known as Brazilian ginseng because of its medicinal properties, it is found throughout the Brazilian territory. Its roots are widely used as tonic, stimulant, aphrodisiac and anti-dysenteric. This work aimed to characterize the leaf anatomy of eight genotypes self sowing from *P. glomerata*. Collected leaves of third node, from the shoot apex, they were fixed in FAA 70% and subsequently preserved in ethanol solution 70. Transversal sections were performed freehand where there have been leaf blade convex plane, heterogeneous bifacial mesophyll, collateral vascular bundles, stomata and tectores and glandular trichomes on both sides of the epidermis. The paradermal view allowed to infer that the sections epidermal cells of the adaxial face are polygonal line shape while the abaxial surface have sinuous anticlinal walls; anomocytic stomata; the nonglandular trichomes are multicellular with elongated cells and cells subsidiaries arranged radially. There were differences in the shape of the main and secondary veins, in the layers of the collenchyma and in the distribution of vascular bundles on the main vein, in the shape of the margin and shape of the anticlinal walls epidermal cells. Morphological data of the eight genotypes showed variability as to hairiness.

Key words: Brazilian ginseng, leaf anatomy, morphology, Amaranthaceae.

INTRODUÇÃO

A flora brasileira proporciona uma infinidade de plantas que constituem um recurso de enorme valor, tendo em vista as diversas aplicações, como: alimentação, medicina, indústria moveleira e de vestuário e ainda na construção civil.

Diversas plantas encontradas no Brasil, por sua vez, destacam-se por apresentarem constituintes químicos com valores medicinais que podem auxiliar no tratamento de diversos males. Entre as plantas medicinais encontradas no Brasil, destacam-se várias espécies do gênero *Pfaffia*, que vem sendo utilizadas em substituição ao ginseng coreano, *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae) (RATES & GOSMANN, 2002).

Conhecida como “ginseng-brasileiro”, *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, é uma das espécies de ginseng com propriedades medicinais. O gênero pertence à família Amaranthaceae, que se encontra inserida na ordem Caryophyllales (JUDD *et al.*, 1999; SOUZA & LORENZI, 2008).

Conforme Marchioretto *et al.* (2010) o gênero *Pfaffia* inclui 20 espécies confirmadas no Brasil. A espécie *Pfaffia glomerata* pode ser encontrada em todas as regiões do Brasil e praticamente em todos os Estados. Trata-se de uma planta perene, que geralmente ocorre em orlas de matas e beiras de rios.

Estudos de anatomia vegetal são valiosos no intuito de fornecer informações a respeito das plantas e constitui uma poderosa ferramenta na solução de problemas envolvendo prováveis relações entre famílias, gêneros, espécies e variedades. Seus resultados também podem auxiliar na identificação correta de espécies e servir de subsídio para classificação de grupos vegetais.

Por conseguinte, pesquisas na área de anatomia vegetal com plantas de interesse medicinal vêm sendo realizadas a fim de verificar possíveis diferenças entre espécies e solucionar problemas existentes na identificação no campo.

No que se refere à legislação, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece, na Resolução – RDC nº 17/2000, que para o registro de medicamento fitoterápico deverá constar, dentre outras especificações, a nomenclatura botânica oficial, o laudo de identificação botânica e o teste de

autenticidade (caracterização organoléptica, identificação macroscópica e microscópica) (BRASIL, 2000).

Nesse sentido, visando contribuir para a descrição da espécie, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar e diferenciar a anatomia foliar de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Handro (1964), estudando a venação e a anatomia foliar de seis espécies da família Amaranthaceae de ocorrência em Cerrados (*Gomphrena macrocephala* St. Hil., *G. prostrata* Mart., *G. pohlii* Moq., *G. officinalis* Mart., *Froelichia interrupta* (L.) Moq. e *Alternanthera regelii* (Seub.) Schinz), concluiu que todas as espécies apresentam o mesmo padrão de venação, além de caracteres comuns como estômatos do mesmo tipo e tricomas em ambas as faces, presença de drusas e células epidérmicas de paredes mais espessas na face adaxial. Quanto à venação, as características estruturais dividiram as espécies em três grupos distintos: I - nervuras com bainhas lignificadas, espessas; II - nervuras com bainhas celulósicas, espessas; e III - nervuras sem bainha (somente parênquima adjacente).

Tendo em vista o controle de qualidade de plantas medicinais e a identificação da droga vegetal, estudos foram conduzidos no intuito de se conhecer a morfo-anatomia de folhas e caules de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, planta da família Amaranthaceae, conhecida popularmente como penicilina ou terramicina, cujas ações anti-inflamatória, analgésica e antiviral são comprovadas e bastante utilizadas na medicina tradicional. As principais características observadas foram tricomas tectores ornamentados, bainha de célula parenquimáticas de tamanho irregulares envolvendo os feixes de menor calibre, folhas anfiestomática, mesófilo dorsiventral com uma camada de células de parênquima paliçádico e abundância de drusas no pecíolo e no mesófilo. O caule apresentou epiderme unisseriada, colênquima angular e arcos cambiais concêntricos e feixes vasculares dispostos linearmente na medula (HORWAT DELAPORTE *et al.*, 2002; DUARTE & DEBUR, 2004).

Pereira *et al.* (2008), visando colaborar com a diferenciação entre as espécies *Alternanthera brasiliana* e *Alternanthera dentata*, ambas da família Amaranthaceae, desenvolveram estudos anatômicos de suas estruturas foliares. Diferentemente de *A. brasiliana*, os autores relataram para *A. dentata* epiderme hipoestomática, ocorrência de tricomas apenas na face abaxial e colênquima subjacente as duas faces epidérmicas.

A arquitetura, anatomia e histoquímica de folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (Amaranthaceae) foram relatadas por Fank-de-Carvalho &

Graciano-Ribeiro (2005). Neste estudo as autoras concluíram que, além da morfologia variável, as folhas da espécie apresentam duas formas de tricomas tectores e características da síndrome Kranz associadas ao ciclo fotossintético C₄.

Plântulas de *Gomphrena elegans* Mart. (Amaranthaceae) tiveram sua anatomia registradas por Mussury *et al.* (2006). Destaca-se que a lâmina foliar e o pecíolo apresentam epiderme unisseriada com células de tamanho variável e estômatos anomocíticos; em secção paradérmica as células epidérmicas possuem contornos sinuosos. Presença de drusas de oxalato de cálcio nas lâminas foliares e pecíolos e mesofilo dorsiventral com uma camada de parênquima paliçádico e 3 a 4 camadas de tecido lacunoso.

Saad Ul Islam *et al.* (2008) realizaram estudos de diferentes tipos de anteras de plantas dicotiledôneas da flora da região de Karachi, no Paquistão e relataram que as espécies *Achyranthes aspera* L., *Aerva javanica* (Burm.f.) Juss.ex Schultes, *Amaranthus viridus* L., *Celosia argentea* L., *Digera muricata* (L.) Mart. e *Pupalia lappacea* (L.) Juss., pertencentes à família Amaranthaceae, apresentam anteras deiscentes do tipo introrsa.

Investigações foram realizadas na Sérvia por Vrbničanin *et al.* (2009) comparando a anatomia de caule e folha de duas populações de *Amaranthus retroflexus* L.. No que se referem ao caule, estes autores indicaram diferenças estatísticas significativas para todos os parâmetros estudados, tais como diâmetro do caule, espessura da epiderme, diâmetro do córtex, espessura do colênquima e diâmetro do cilindro central. Todavia, diferenças significativas na lâmina foliar foram detectadas apenas na espessura do mesofilo.

Características morfológicas e anatômicas de flores e frutos durante o desenvolvimento de *Chamissoa altissima* (Jacq.) Kunth (Amaranthaceae), uma espécie de liana ocorrente em remanescentes florestais da região do Estado do Paraná, foram estudadas por Oyama *et al.* (2010).

Os aspectos ecológicos e descrições das características morfológicas e da anatomia foliar de seis espécies da família Amaranthaceae, incluindo duas espécies de *Pfaffia*, (*Froelichiella grisea* (Lopr.) R.E. Fr., *Gomphrena hermogenesii* J. C. Siqueira, *Gomphrena lanigera* Pohl ex Moq. , *Gomphrena prostrata* Mart., *Pfaffia gnaphalioides* (L.f.) Mart., *Pfaffia townsendii* Pedersen) encontradas na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Cara Preta,

em Alto Paraíso no Estado de Goiás, foram analisadas por Fank-de-Carvalho *et al.* (2010b). As espécies do gênero *Gomphrena* apresentaram folhas anfiestomática, mesofilo dorsiventral e feixes vasculares envolvidos por uma bainha completa de paredes mais espessa em relação às paredes das células do mesofilo. A espécie *F. grisea* demonstrou uma camada de células epidérmicas com cutícula de espessura mediana, folhas anfiestomáticas, mesofilo isobilateral e bainha de feixe pouco evidente. Para as duas espécies do gênero *Pfaffia* os autores registraram a ocorrência de epiderme uniestratificada com cutícula mais fina, folhas anfiestomática (*P. gnaphalioides*) e hipoestomática (*P. townsendii*), sendo os estômatos da superfície abaxial elevados em relação às demais células epidérmicas, mesofilo dorsiventral e feixes vasculares colaterais com bainha parenquimática pouco evidente.

No intuito de auxiliar na diferenciação das espécies *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Pfaffia paniculata* (Mart.) O. Kuntze, Gosmann *et al.* (2003) realizaram estudos das características botânicas, químicas e farmacológicas. A pesquisa conclui que há diferenças entre as características morfológicas e anatômicas nos seguintes aspectos: diâmetro da raiz, número de camadas da periderme, número de anéis de feixes vasculares, forma dos cristais de oxalato de cálcio, comprimento e diâmetro dos vasos, fibras e fibrotraqueídes.

Estudo realizado na Província de Córdoba, Argentina, por Grosso (2007) verificou a ocorrência de crescimento secundário anômalo/inusual em raiz principal de *Pfaffia gnaphalioides* (L. Fil.) Mart. (Amaranthaceae). A autora observou crescimento secundário anômalo na raiz principal com ocorrência de sucessivos câmbios adicionais. Concluiu ainda que a estrutura resultante caracteriza-se por apresentar grande quantidade de parênquima de reserva e ausência de raios parenquimáticos constituindo uma adaptação às condições de escassez de água e baixas temperaturas.

Quatro espécies do gênero *Pfaffia* de ocorrência nos Cerrados tiveram sua venação e anatomia foliar estudadas por Handro (1967) na qual, comparando dados da anatomia com dados da morfologia polínica, juntamente com informações de trabalho anterior (HANDRO, 1964) realizado com espécies da família Amaranthaceae, verificou-se a existência de dois grupos de gêneros. O grupo com feixes vasculares envolvidos por bainha de células espessas e

com muitos cloroplastos abrangendo os gêneros *Gomphrena* e *Froelichia* e o grupo de feixes vasculares envolvidos por células de paredes finas com poucos cloroplastos reunindo os gêneros *Alternanthera* e *Pfaffia*.

Mussury *et al.* (2008) estudaram a anatomia das espécies *Gomphrena elegans* Mart. e *Gomphrena vaga* Mart. de forma a auxiliar na taxonomia do gênero e facilitar a identificação das espécies em campo. Foram observadas diferenças quanto à presença de tricomas ramificado e maior quantidade de feixes vasculares no pecíolo de *G. elegans*. Em *G. vaga* observou-se menor sinuosidade das células epidérmicas em secção paradérmica, maior densidade de estômatos anomocíticos e tricomas pluricelulares unisseriados na superfície abaxial. A nervura principal de *G. elegans* é plano convexa enquanto que em *G. vaga* é biconvexa.

Marques (2007) pesquisou a estrutura anatômica de folhas de *P. glomerata* submetidas a 5 doses crescentes de Cádmio (0, 15, 25, 45 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$). O autor relata que quando houve aplicação de Cd verificou-se aumento do número de estômatos por mm^2 da epiderme da face abaxial, bem como alterações nos diâmetros equatorial e polar dos estômatos.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem do material

Genótipos selecionados conforme a coloração do caule (roxa, verde e lilás), a pilosidade (presente, intermediária e ausente) e largura da folha (afilada e larga) provenientes da coleção de plântulas oriundas da autossesmeadura de acessos de *Pfaffia glomerata* foram cultivados em casa de vegetação do tipo “glasshouse” na Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília – UnB.

Coleta

Realizou-se a coleta de folhas expandidas na região do terceiro nó, a partir do ápice, dos seguintes genótipos: 07; 11; 65; 86; 93; 101; 102; e 110. Os materiais foliares foram fixados em solução de FAA 70% (formaldeído: ácido acético glacial: álcool 70%), por período de 24 horas e, posteriormente, conservados em solução de álcool 70% (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Morfologia dos genótipos

No momento da coleta foram anotados os dados morfológicos das plantas selecionadas para estudo, quais sejam: formato do limbo foliar, pilosidade e a cor do talo. A área do limbo foliar e o tamanho do pecíolo foram desprezados em virtude de sua grande dependência das condições ambientais.

Obtenção das secções transversais e paradérmicas

As secções transversais foram efetuadas à mão livre, com auxílio de micrótomo de mesa, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biologia (IB) da Universidade de Brasília (UnB). Os cortes foram submetidos à clarificação em solução de hipoclorito de sódio 50% por aproximadamente 10 minutos; em seguida, lavados por 3 vezes em água destilada. Posteriormente os cortes foram imersos em corante dupla coloração (azul de alcian - safranina na proporção 4:1) (JOHANSEN, 1940) por cerca de 2 a 3 minutos. Na sequência, após a retirada do excesso do corante, as secções transversais foram submetidas às seguintes soluções: álcool 50% por 1 minuto; álcool comercial (92,8%) por 1 e 3 minutos respectivamente; e 2 vezes em álcool

absoluto (100%) por 5 minutos. Depois os cortes foram passados em série acetato de butila: álcool (1:3); acetato de butila: álcool (1:1); acetato de butila: álcool (3:1) e acetato puro para então serem dispostos em lâminas untadas com resina sintética (PAIVA *et al.*, 2006). Foram realizadas três repetições para cada genótipo.

Secções paradérmicas foram obtidas a partir da metodologia de Franklin (1945) com adaptações. Retângulos foliares de cada genótipo foram, separadamente, imersos em solução de peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial (1:1) e submetidos à placa aquecedora por aproximadamente 2 horas a fim de acelerar o processo de dissociação das células. Em seguida o material foi corado com safranina 1% em etanol 50% por cerca de 30 minutos; posteriormente lavados em água destilada para retirar o excesso de corante, submetidos a papel filtro para retirada do excesso de água e, por fim, montados em lâminas temporárias com gelatina glicerinada (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Secções transversais e paradérmicas foram fotografadas em microscópio óptico LEICA DM 750 com câmera LEICA ICC 50 HD, utilizando o *software* LAS EZ.

RESULTADOS

Estrutura da anatomia foliar de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen

Genótipo 86:

A lâmina foliar é plano convexa com convexidades na região das nervuras central e secundárias (Fig. 1A). Nota-se cutícula delgada com ornamentações nas células epidérmicas comuns da região costal da nervura central e das células epidérmicas dos bordos (Fig. 1E). A epiderme é uniestratificada com células retangulares a isodiamétrica. Salienta-se que as células epidérmicas da superfície adaxial apresentam maior volume quando comparadas àquelas da epiderme abaxial. As folhas são classificadas como anfihipoestomáticas, isto é, estômatos são encontrados nas duas superfícies epidérmicas e em maiores quantidades na superfície abaxial, são nivelados e possuem cavidade subestomática pequena. Tricomas tectores pluricelulares (4 a 5 células) ocorrem nas superfícies adaxial e abaxial; estes apresentam formato alongado, sendo a célula apical afilada e geralmente com célula basal dilatada (Fig. 1F). Os tricomas glandulares são pluricelulares (3 a 4 células), sendo a célula distal arredondada e a célula basal não dilatada. Os tricomas tectores apresentam articulações dentadas.

O mesofilo é do tipo heterogêneo bifacial com parênquima paliçádico voltado para a região adaxial e parênquima lacunoso direcionado para a região abaxial da lâmina foliar (Fig. 1C). O tecido paliçádico é constituído por uma camada de células alongadas, de paredes celulares delgadas e com seus eixos maiores organizados perpendicularmente à superfície foliar. As células paliçádicas são interrompidas na região da nervura principal. Estas ocupam aproximadamente 1/3 da região do mesofilo. O parênquima clorofiliano lacunoso normalmente ocupa mais da metade do mesofilo, possui de 5 a 6 camadas de células com formato isodiamétrico e de paredes celulares delgadas. Os feixes vasculares são colaterais, pequenos, envoltos por uma única bainha parenquimática. As células da bainha parenquimáticas apresentam paredes delgadas. Percebe-se que os cristais de drusas ocorrem com frequência ao longo da lâmina foliar e são de tamanhos muito grandes (Fig. 1D). Os feixes vasculares e os idioblastos observados na região do

mesofilo geralmente se posicionam na interface dos tecidos paliçádico e lacunoso.

Nas nervuras secundárias há parênquima de preenchimento de formato isodiamétrico na região das saliências (Fig. 1D). O colênquima é do tipo angular e geralmente se localiza na região abaxial das nervuras com 1 a 2 camadas apenas, podendo ocorrer colênquima também na superfície adaxial das nervuras secundárias. O sistema vascular constitui-se de feixes vasculares colaterais (floema mais externo e xilema interno). O floema primário é formado pelos seguintes tipos celulares: elemento de tubo crivado, células companheiras e parênquima de floema. Já o xilema primário constitui-se de duas a três camadas com células de elementos de vaso e parênquima. As células dos feixes vasculares de terceira ordem em diante são envolvidas por uma bainha parenquimática completa de paredes delgadas.

A região da nervura principal apresenta formato convexo (Fig. 1B). As células costais da epiderme adaxial são de formato isodiamétrico com paredes espessadas e apresentam tamanho reduzido se comparadas com as demais células epidérmicas. Já as células epidérmicas abaxial são isodiamétricas. Tricomas são encontrados nas epidermes abaxial e principalmente na região costal adaxial da nervura principal. Na região da nervura central são raras as ocorrências de estômatos. Os feixes vasculares da nervura principal são circundados por volumosas células de parênquima de preenchimento uniformes e de formato isodiamétrico; observam-se espaços intercelulares entre essas células. O colênquima é do tipo angular, sendo que as células colenquimáticas adaxiais possuem paredes mais espessas. São verificadas duas camadas de colênquima imediatamente abaixo da epiderme da face abaxial. Adjacente à epiderme adaxial, na região da nervura principal, delimitado pelo tecido paliçádico nas laterais e imediatamente abaixo pelo parênquima de preenchimento, tem-se de 4 a 5 camadas de células colenquimáticas. O sistema vascular está disposto em arco aberto com variação de 1 a 4 feixes. O câmbio vascular apresenta de 2 a 3 camadas de células retangulares achatadas. Verifica-se esclerênquima no floema secundário.

Na região dos bordos as células epidérmicas comuns são de formato isodiamétrico com ornamentações e paredes mais espessas (Fig. 1E).

Apresenta uma camada subepidérmica de células com paredes espessadas. O formato do bordo é arredondado levemente para baixo. Neste genótipo há ainda grande concentração de tricomas nessa região, e existe parênquima clorofiliano com células de formato isodiamétrico ao redor dos feixes vasculares. Não há distinção entre os tecidos paliçádico e lacunoso para esta região, sendo, portanto, homogêneo. O parênquima paliçádico é interrompido na região imediatamente acima do feixe vascular mais próximo do bordo.

Em vista paradérmica as paredes anticlinais das células epidérmicas comuns da superfície adaxial são de formato liso arredondado a poligonais, enquanto que as células epidérmicas da face abaxial apresentam formato sinuoso. Os estômatos, como citado anteriormente, são encontrados nas superfícies adaxial e abaxial. Estes são, predominantemente, do tipo anomocíticos (Fig. 1F), com ocorrência dos tipos anisocíticos e, raramente, diacíticos. Verificam-se tricomas pluricelulares tectores e glandulares em ambas as superfícies. As células epidérmicas que circundam os tricomas tectores são alongadas e apresentam disposição radial. O mesmo não se observa para os tricomas glandulares que, além de possuírem tamanho menor, aparentemente, apresentam-se em menor frequência.

Os dados morfológicos obtidos no momento da coleta das folhas, como coloração do caule, pilosidade e formato foliar dos oito genótipos estudados são apresentados na tabela 1. Constatou-se a ocorrência de dois formatos de limbo foliar, três cores de talo e três graus de pilosidade.

A tabela 2 apresenta dados da morfologia e da anatomia, após análise das secções transversais e paradérmicas, dos oito genótipos de *Pfaffia glomerata*.

Na seção morfologia da tabela 2, evidencia-se variação quanto ao grau de pilosidade.

Tabela 1: Dados morfológicos obtidos no momento da coleta das folhas de oito genótipos de *Pfaffia glomerata*.

Genótipo		7	11	65	86	93	101	102	110
Morfologia	Cor do caule	Roxa	Verde	Lilás	Verde	Verde	Verde	Lilás	Lilás
	Formato da folha	Lanceolada	Lanceolada	Lanceolada	Longo lanceolada	Lanceolada	Lanceolada	Lanceolada	Longo lanceolada
	Pilosidade	Muito pilosa	Pouco pilosa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Muito pilosa	Pouco pilosa

Tabela 2: Dados morfológicos e anatômicos dos oito genótipos de *P. glomerata* após análise das secções transversais e paradérmicas.

Genótipo		7	11	65	86	93	101	102	110	
Morfologia	Cor do caule (+)	Roxa	Verde	Lilás	Verde	Verde	Verde	Lilás	Lilás	
	Formato da folha (+)	Lanceolada	Lanceolada	Lanceolada	Longo lanceolada	Lanceolada	Lanceolada	Lanceolada	Longo lanceolada	
	Pilosidade	Intermediária	Intermediária	Intermediária	Intermediária	Intermediária	Pouca	Alta	Alta	
Anatomia	Geral	Formato da lâmina	PLANO CONVEXA							
		Cutícula	DELGADA							
		Formato das células epidérmicas comuns	RETANGULAR A ISODIAMÉTRICO							
		Estômatos	ADAXIAL E ABAXIAL							
		Tricomas	TECTORES E GLANDULARES							
	Nervura central	Formato	Convexa (ABA); Levemente convexa (ADA)	Convexa (ABA); Levemente convexa (ADA)	Convexa (ABA); Levemente convexa (ADA)	Convexa (ABA); Reta a levemente convexa (ADA)	Convexa (ABA); Levemente convexa a convexa (ADA)	Convexa (ABA); Reta a levemente convexa (ADA)	Convexa (ABA); Convexa (ADA)	Convexa (ABA); Reta a levemente convexa (ADA)
		Células epidérmicas comuns	Isodiamétricas com cutícula ornamentada	Isodiamétricas com cutícula ornamentada	Isodiamétricas com cutícula ornamentada	Isodiamétricas com cutícula ornamentada	Isodiamétricas com cutícula pouco ornamentada	Isodiamétricas com cutícula ornamentada	Isodiamétricas com cutícula ornamentada	Isodiamétricas com cutícula ornamentada
		Colênquima	3-4 camadas (ADA) 2 camadas (ABA)	4-5 camadas (ADA) 2-3 camadas (ABA)	4 camadas (ADA) 2-3 camadas (ABA)	4-5 camadas (ADA) 2(ABA)	4-5 camadas (ADA) 2 camadas (ABA)	4 camadas (ADA) 2 camadas (ABA)	6-7 camadas (ADA) 2 camadas (ABA)	4-5 camadas (ADA) 2-3 camadas (ABA)
		Parênquima	PREENCHIMENTO							
		Cambio vascular	2-3 CAMADAS DE CÉLULAS TABULARES							
		Distribuição do feixe vascular	1 feixe disposto em arco	3-4 feixes dispostos em arco	1 feixe disposto em arco e um feixe acessório	1-4 feixes dispostos em arco	1-2 feixes dispostos em arco	1-2 feixes dispostos em arco e 1 feixe acessório	1 feixe disposto em arco e 1 feixe acessório	1-2 feixes dispostos em arco
		Lâmina foliar	Mesofilo	HETEROGÊNEO BIFACIAL						
	Parênquima paliçádico		1 CAMADA							
	Parênquima lacunoso		4-5 camadas	4-5 camadas	4-5 camadas	5-6 camadas	5-6 camadas	5-6 camadas	4-5 camadas	4-5 camadas
Feixes vasculares	COLATERAIS									
Idioblastos	PRESENTES									

	Nervura secundária	Formato	Convexo (ABA) Reta (ADA)	Convexo (ABA) Reta a leve convexo (ADA)	Convexo (ABA) Reta (ADA)	Convexo (ABA) Reta a leve convexa (ADA)	Convexo (ABA) Reta a leve convexa (ADA)	Convexo (ABA) Reta (ADA)	Convexo (ABA) Reta a convexa (ADA)	Convexo (ABA) Reta (ADA)	
	Nervura terciária	Ocorrência	EVIDENTE								
	Bordo	Formato	Arredondado levemente para baixo	Arredondado para baixo	Truncado para baixo	Arredondado levemente para baixo	Truncado para baixo	Arredondado levemente para baixo	Arredondado para baixo	Truncado para baixo	
		Células epidérmicas	TENDÊNCIA A BISSERIADA								
	Paradérmico	Formato das células epidérmicas comuns	Lisa arredondada a poligonal (ADA) /Sinuoso (ABA)	Lisa arredondada a poligonal (ADA) /Sinuoso (ABA)	Poligonal a sinuosa (ADA) /Sinuoso (ABA)						
		Tricomas	TECTORES E GLANDULARES								
		Estômatos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos*	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos

(+) Dados obtidos no momento da coleta das folhas;

(*) Observou-se, além do tipo anomocítico, estômatos anisocíticos e diacíticos.

DISCUSSÃO

As análises das estruturas encontradas na anatomia foliar de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen mostram que a sua organização reproduz caracteres gerais observados para os exemplares da família Amaranthaceae (HANDRO, 1964; METCALFE & CHALK, 1979; FANK-DE-CARVALHO & BÁO, 2009).

Em *P. glomerata* as paredes anticlinais das células epidérmicas abaxiais são mais sinuosas do que as paredes das células epidérmicas adaxiais. Metcalfe e Chalk (1979) relataram que esta característica pode ser encontrada em várias espécies de diferentes famílias de plantas como Euphorbiaceae, Fabaceae, Lauraceae e Ranunculaceae. Handro (1964) cita para as espécies *Gomphrena macrocephala* St. Hil., *G. prostrata* Mart., *G. pohlii* Moq., *G. officinalis* Mart., *Froelichia interrupta* (L.) Moq. e *Alternanthera regelii* (Seub.) Schinz, a ocorrência de paredes sinuosas nas paredes das células epidérmicas da superfície abaxial. A sinuosidade da parede anticlinal está relacionada com o ambiente em que as folhas se desenvolvem (APPEZATTO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006). As paredes anticlinais sinuosas constituem uma característica que pode ser usada na distinção de grupos taxonômicos de plantas, conforme estudo realizado por Almeida *et al.*, (2009) com espécies da família Annonaceae.

Características da anatomia foliar de *Pfaffia glomerata* da presente trabalho, corroboram com os estudos de Fank-de-Carvalho & Báó (2009). Estes autores estudaram a anatomia e ultraestrutura de duas espécies da família Amaranthaceae (*Hebanthe eriantha* (Poir.) Pedersen e *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) e encontraram para a espécie *P. glomerata* epiderme unisseriada, mesofilo dorsiventral e ocorrência de estômatos do tipo anomocítico em ambas as superfícies, todavia em maiores quantidades na superfície abaxial.

Diversas espécies da família Amaranthaceae são citadas na literatura apresentando estômatos anomocíticos (HANDRO, 1964; HANDRO, 1967; HORWAT DELAPORTE *et al.*, 2002; DUARTE & DEBUR, 2004; MUSSURY *et al.*, 2007a; PERVEEN *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008; FANK-DE-CARVALHO *et al.*, 2010a). Embora tenham sido observados alguns estômatos

anisocíticos e diacíticos, constatou-se predominância do tipo anomocítico na espécie *Pfaffia glomerata*.

Para todos os genótipos descritos no presente trabalho foram observadas apenas uma camada de células de parênquima paliçádico. Os resultados confrontam com aqueles relatados por, Mussury *et al.* (2007b) e Fank-de-Carvalho & Bão (2009) que encontraram de 2 a 3 camadas de células de parênquima paliçádico em exemplares de *Pfaffia glomerata*.

Pfaffia glomerata apresenta células da bainha dos feixes vasculares com paredes delgadas. Handro (1967) inclui as espécies *Pfaffia gnaphalioides*, *P. velutina*, *P. sericea* e *P. jubata* como pertencentes ao grupo com feixes vasculares por células de paredes finas com poucos cloroplastos. Os resultados encontrados por Handro (1967) e Estelita-Teixeira & Handro (1984) demonstraram que *Pfaffia* spp. não apresentam anatomia Kranz. Verifica-se, em *P. jubata*, que os cloroplastos das células da bainha de feixes e do mesofilo são similares com grana bem desenvolvido. De acordo com Estelita-Teixeira e Handro (1984), devido à ausência de dados fisiológicos e bioquímicos sobre o processo fotossintético da espécie *P. jubata*, sua definição como uma planta C₃, C₄ ou intermediária ainda é difícil, apesar de suas características anatômicas e ultraestruturais se parecerem àquelas das plantas C₃. Fank-de-Carvalho *et al.* (2010b) relatam bainha parenquimática pouco evidente para as espécies *Pfaffia gnaphalioides* e *Pfaffia townsendii*, indicando ser a anatomia dessas espécies compatível com o metabolismo fotossintético C₃.

Estudos anatômicos realizados com *P. townsendii* e *P. gnaphalioides* ocorrentes em região dos Cerrados demonstraram que o mesofilo é organizado de forma dorsiventral (FANK-DE-CARVALHO *et al.*, 2010b). Da mesma forma, verificou-se que as células parenquimáticas do mesofilo de *P. glomerata* apresentam arranjo estrutural dorsiventral.

Em *P. glomerata* observa-se apenas uma camada de células paliçádicas. Já a espécie *Pfaffia jubata* tem a estrutura do mesofilo registrada como do tipo isobilateral (ESTELITA-TEIXEIRA & HANDRO, 1984). De acordo com Esau (1974) a presença de parênquima paliçádico em ambas as faces da folha confere uma característica xeromórfica à planta.

Os tricomas tectores de *P. glomerata* apresentam células unidas por formações que se assemelham a dentes. Os tricomas tectores de *Gomphrena*

officinalis Mart. e *Alternanthera regelii* (Seub.) Schinz são descritos por Handro (1964) com ocorrência de articulações com dentes. Fank-de-Carvalho *et al.* (2010a) relatam a ocorrência de articulações nodosas em *Gomphrena arborescens*, *G. pohlii*, *G. globosa* e *G. virgata* corroborando os dados observados.

Em *Pfaffia glomerata*, os tricomas glandulares (3-4 células) ocorrem em menores quantidades quando relacionados aos tricomas tectores (MUSSURY & SCALON, 2004).

Drusas de oxalato de cálcio encontradas nas células do mesofilo de espécies de *Pfaffia* foram relatadas por Handro (1967). Cabe mencionar que idioblastos contendo drusas podem ser encontrados nos demais órgãos vegetativos, como pecíolos e caules, e constituem uma característica comum nas espécies da família Amaranthaceae (HORWAT DELAPORT *et al.*, 2002; CARLQUIST, 2003; DUARTE & DEBUR, 2004). Drusas podem ser observadas em abundância no mesofilo da espécie *P. glomerata*. Estudos apontam que o excesso de cálcio pode ser armazenados na forma de oxalato de cálcio e que o cálcio pode ser remobilizado sob certas condições, regulando os níveis de cálcio nos tecidos (VOLK *et al.*, 2002). Por outro lado a presença de cristais de oxalato de cálcio nas plantas está relacionada a mecanismos de defesa contra herbivoria (LUCAS *et al.*, 2000; XIANG & CHEN, 2004).

Em secção paradérmica verificou-se que são raros os estômatos na face adaxial das folhas de *Pfaffia glomerata*. Na superfície abaxial, notadamente, os estômatos são observados com maior frequência. O mesmo padrão de distribuição de estômatos também foi observado para a espécie *Pfaffia gnaphalioides* (HANDRO, 1964; FANK-DE-CARVALHO *et al.*, 2010b). A espécie *Pfaffia townsendii* foi relatada como hipoestomática (FANK-DE-CARVALHO *et al.*, 2010b).

A morfologia das folhas de *P. glomerata* é bastante diversificada principalmente no que se refere à forma do limbo. Destaca-se por apresentar folhas linear-oblongas, linear-lanceoladas, lanceoladas, ovalado-lanceoladas (MARCHIORETTO *et al.*, 2010).

Quanto à pilosidade, foram efetuadas observações preliminares a olho nu sobre a morfologia das plantas de *Pfaffia glomerata* onde, inicialmente, os genótipos 65, 86, 93 e 101 foram classificados com ausência de pilosidade. Os

genótipos 11 e 110 foram incluídos no grupo de plantas com pouca pilosidade. Já os genótipos 07 e 102 se encontraram inseridos no grupo de plantas muito pilosas.

Entretanto, as análises das secções transversais anatômicas e das secções paradérmicas permitiram afirmar que todos os genótipos apresentam pilosidade, isto é, tricomas distribuídos aleatoriamente ao longo da superfície epidérmica. As lâminas com secções dos genótipos 102 e 110 apresentaram alta densidade de tricomas tectores quando comparado aos demais genótipos. Os genótipos 07, 11, 65, 86 e 93, aparentemente, situaram-se em posição intermediária, enquanto que o genótipo 101 demonstrou pouca pilosidade.

CONCLUSÕES

- Os genótipos analisados evidenciaram homogeneidade da anatomia foliar;
- A estrutura anatômica foliar dos genótipos de *Pfaffia glomerata* demonstram os caracteres gerais encontrados na anatomia das espécies da família Amaranthaceae, como lâmina foliar plano convexa, mesofilo bilateral, feixes vasculares colaterais e ocorrência de idioblastos com drusas;
- Os genótipos estudados apresentaram apenas uma camada de parênquima paliçádico;
- Os estômatos são predominantemente do tipo anomocítico, com baixa ocorrência dos tipos anisocíticos e raramente diacíticos. Geralmente são raros na superfície adaxial e com maior frequência na face abaxial.
- Existem variações de genótipos em relação à densidade de tricomas; são encontrados tricomas pluricelulares tectores e glandulares;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E.F.; POTIGUARA, R.C.V.; MACEDO, E.G.M.; LINS, A.L.F.A. Anatomia foliar de espécies de *Xylopia* L. (Annonaceae) ocorrentes no Parque Ecológico de Gunma, Santa Bárbara, Estado do Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Cienc. Nat.**, Belém, v. 4, n. 2, p. 175-194, 2009.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia Vegetal**. 2ª Ed. Viçosa. Editora UFV. 438 p. 2006.
- BRASIL. **Resolução – RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000**. Diário Oficial da União nº 40-E, de 25 de fevereiro de 200, Brasília, Seção 1, p. 25, 2000.
- CARLQUIST, S. Wood and stem anatomy of woody Amaranthaceae s.s.: ecology, systematics and the problems of defining rays in dicotyledons. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Santa Bárbara-USA, v. 143, p. 1–19, 2003.
- DUARTE, M.R. & DEBUR, M. do C. Characters of the leaf and stem morpho-anatomy of *Alternanthera brasiliana* (L.) O. Kuntze, Amaranthaceae. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Curitiba, v. 40, n. 1, p. 85-92, 2004.
- ESAU, K. 1974. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução: Berta Lange de Morretes – São Paulo: Editora Blucher, 293 p. 1974.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. & HANDRO, W. Leaf ultrastructure in species of *Gomphrena* and *Pfaffia* (Amaranthaceae). **Canadian Journal Botany**, São Paulo, v. 62, p. 812-817, 1984.
- FANK-DE-CARVALHO, S.M. & GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (Amaranthaceae). **Acta botanica brasílica**, v. 19, n. 2, p. 377-390, 2005.
- FANK-DE-CARVALHO, S.M. & BÁO, S.N. Anatomy and ultrastructure of the brazilian ginseng leaves: *Hebanthe eriantha* (Poir.) Pedersen and *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). **Acta microscopica**, Brasília, v. 18, Supp. C, p. 639-640, 2009.
- FANK-DE-CARVALHO, S.M.; GOMES, M.R. DE A.; SILVA, P.I.T.; BÁO, S.N. Leaf surfaces of *Gomphrena* spp. (Amaranthaceae) from Cerrado biome **BIOCELL**, v. 34, n. 1, p. 23-35, 2010a.

FANK-DE CARVALHO, S.M.; MARCHIORETTO, M.S.; BÃO, S.N. Anatomia foliar, morfologia e aspectos ecológicos das espécies da família Amaranthaceae da Reserva Particular do Patrimônio Natural Cara Preta, em Alto Paraíso, GO, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 10, n. 4, p. 77-86, 2010b.

FRANKLIN, G.L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature** **155** (3924): 51. 1945.

GOSMANN, G.; GATTUSO, S.; GATTUSO, M.; FENNER, R.; PACHECO, E.F.; FERRAZ, A.; SAVI, L.A.; BARARDI, C.R.M; SIMÕES, C.M.O.; SORTINO, M.; ZACCHINO, S.; GNERRE, C.; TESTA, B.; RATES, S.M.K. Botanical (morphological, micrographic), chemical and pharmacological characteristics of *Pfaffia* species (Amaranthaceae) native to South Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Porto Alegre, v. 39, n. 2, 2003.

GROSSO, M.A. Crecimiento secundario inusual en raíz principal de *Pfaffia gnaphalioides* (L. Fil.) Mart. (Amaranthaceae). **Acta botanica brasílica**, Córdoba, v. 21, n. 1, p. 21-26, 2007.

HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação e anatomia foliar das Amaranáceas dos Cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 480-499, 1964.

HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação e anatomia foliar das amarantáceas dos Cerrados. II - Gênero *Pfaffia*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 495-506, 1967.

HORWAT DELAPORTE, R.; MILANEZE, M.A.; PALAZZO DE MELLO, J.C.; JACOMASSI, E. Estudo farmacognóstico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Umuarama, v. 21, n. 3, p. 169-174, 2002.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. London, McGraw-Hill Book Company. 1940.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics – A phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Inc. 1999.

- KRAUS, J.E.; & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. EDUR, Rio de Janeiro. 1997.
- LUCAS, P. W.; TURNER, I. M.; DOMINY, N. J.; YAMASHITA, N. Mechanical defenses to herbivory. **Annals of Botany**, v. 86, p. 913-920, 2000.
- MARCHIORETTO, M.S.; MIOTTO, S.T.S.; SIQUEIRA, J.C. O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil. **Hoehnea**, v. 37, n. 3, p. 461-511, 2010.
- MARQUES, T.C.L.L.S.M. **Respostas anatômicas e fisiológicas de *Pfaffia glomerata* e *Eucalyptus camaldulensis* ao cádmio**. Lavras, 2007. 103 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons. Systematic Anatomy of the leaf and stem**. 2^a edition. Volume I. p. 63-75. Oxford University Press. 1979.
- MUSSURY, R.M. & SCALON, S.P.Q. Caracterização dos tricomas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen “ginseng brasileiro”- Amaranthaceae. **Horticultura Brasileira**, Suplemento CD-ROM, v. 22, n. 2, 2004.
- MUSSURY, R.M.; SCALON, S.P.Q.; GOMES, A.A. Caracterização morfoanatômica de plântulas de *Gomphrena elegans* Mart. (Amaranthaceae). **Acta Sci. Biol. Sci.** Maringá, v. 28, n. 2, p. 87-93, 2006.
- MUSSURY, R.M.; BETONI, R.; SCALON, S. de P.Q.; BATISTA, M.R.; GOMES, A.A.; OLIVEIRA, A.P.A. Anatomia como Subsídio para a Taxonomia de *Gomphrena* L. ocorrentes em Antônio João-MS. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 393-395, 2007a.
- MUSSURY, R.M.; VIDMANTAS, J.B.D.; BETONI, R.; SILVA, M.A.; DECIAN, V. Anatomia foliar de medicinal utilizada no preparo de extrato vegetal na prevenção da ferrugem asiática. I Congresso de farmácia de Maringá – 2006. **Arq. Mudi 2007**; 11 (Supl. 1) (Resumos), Maringá, p. 155, 2007b.
- MUSSURY, R.M.; BETONI, R.; SILVA, M.A.; SCALON, S.P.Q. Morfoanatomia foliar comparada de *Gomphrena elegans* Mart. e *G. vaga* Mart. (Amaranthaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 43-50, 2008.

OYAMA, S.O.; SOUZA, L.A.S.; MUNERATTO, J.C.; ALBIERO, A.L.M. Morphological and anatomical features of the flowers and fruits during the development of *Chamissoa altissima* (Jacq.) Kunth (Amaranthaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53 n. 6: p. 1425-1432, 2010.

PAIVA, J.G.A.; FANK-DE-CARVALHO, S.M.; MAGALHÃES, M.P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz vitral incolor 500[®]: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta botanica brasílica**, v. 20, n. 2, p. 257-264, 2006.

PEREIRA, D.F.; ZANON, R.B.; ZANETTI, G.D.; MANFRON, M.P.; ATHAYDE, M.L. Morfo-anatomia das folhas de *Alternanthera brasiliana* e *Alternanthera dentata* (Amaranthaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 178-84, 2008.

PERVEEN, A.; ABID, R.; FATIMA, R. Stomatal types of some dicots within flora of Karachi, **Pakistan Journal Botany**, Pakistan, v. 39, n. 4, p. 1017-1023, 2007.

RATES, S.M.K. & GOSMANN, G. Gênero *Pfaffia*: aspectos químicos, farmacológicos e implicações para o seu emprego terapêutico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 2, p. 85-93, 2002.

SAAD UL ISLAM, M.; ABID, R.; QAISER, M. Anther types of dicots within flora of Karachi, **Pakistan Journal Botany**, Pakistan, v. 40, n. 1, p. 33-41, 2008.

SOUZA, V.C & LORENZI, H. **Botânica Sistemática – Guia Ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2^a edição. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 252-256, 2008.

VOLK, G.; LYNCH-HOLM, V.; KOSTMAN, T.; FRANCESCHI, V. R. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. **Plant Biology**, v. 41, p. 34-45, 2002.

VRBNIČANIN, S.; STEFANOVIĆ, L.; BOŽIĆ, D.; SARIĆ, M.; RADOŠEVIĆ R. Comparative analysis of the anatomy of two populations of red-root Amaranth (*Amaranthus retroflexus* L.). **Pestic. Phytomed.** Belgrade, v. 24, p. 103-112, 2009.

XIANG, H. & CHEN, J. Interspecific variation of plant traits associated with resistance to herbivory among four species of *Ficus* (Moraceae). **Annals of Botany**, v. 94, p. 377-384, 2004.

ANEXO

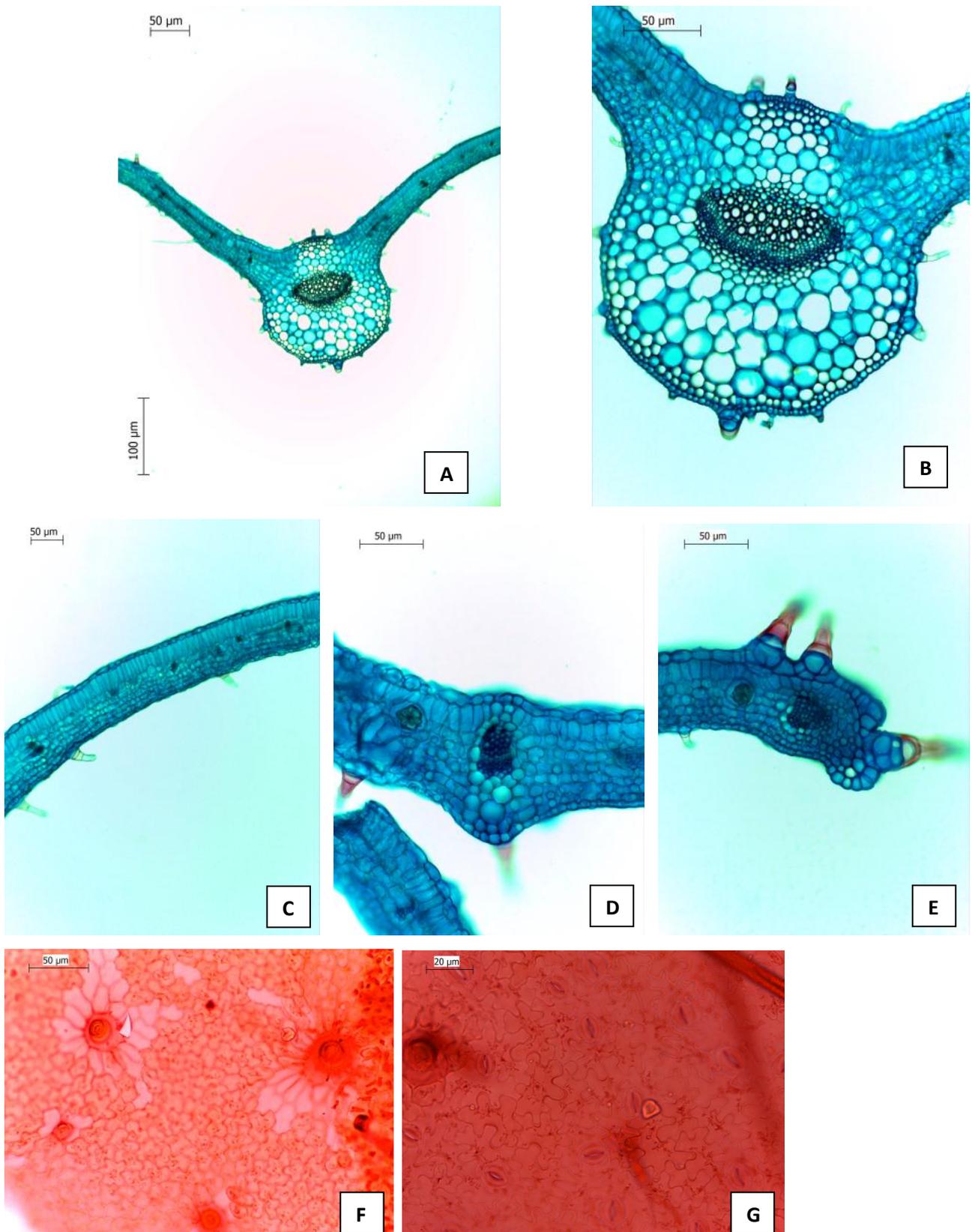


Figura 1: Genótipo 86. A) Lâmina plano convexa. B) Nervura central com feixe vascular envolto por parênquima de preenchimento; camadas de colênquima adaxial e abaxial. C) Lâmina foliar evidenciando parênquima paliçádico e lacunoso. D) Feixes vascular da nervura secundária. E) Região do bordo com tendência a formar epiderme bisseriada. F e G) Epidermes adaxial (células com paredes poligonais) e abaxial (células com paredes sinuosas).

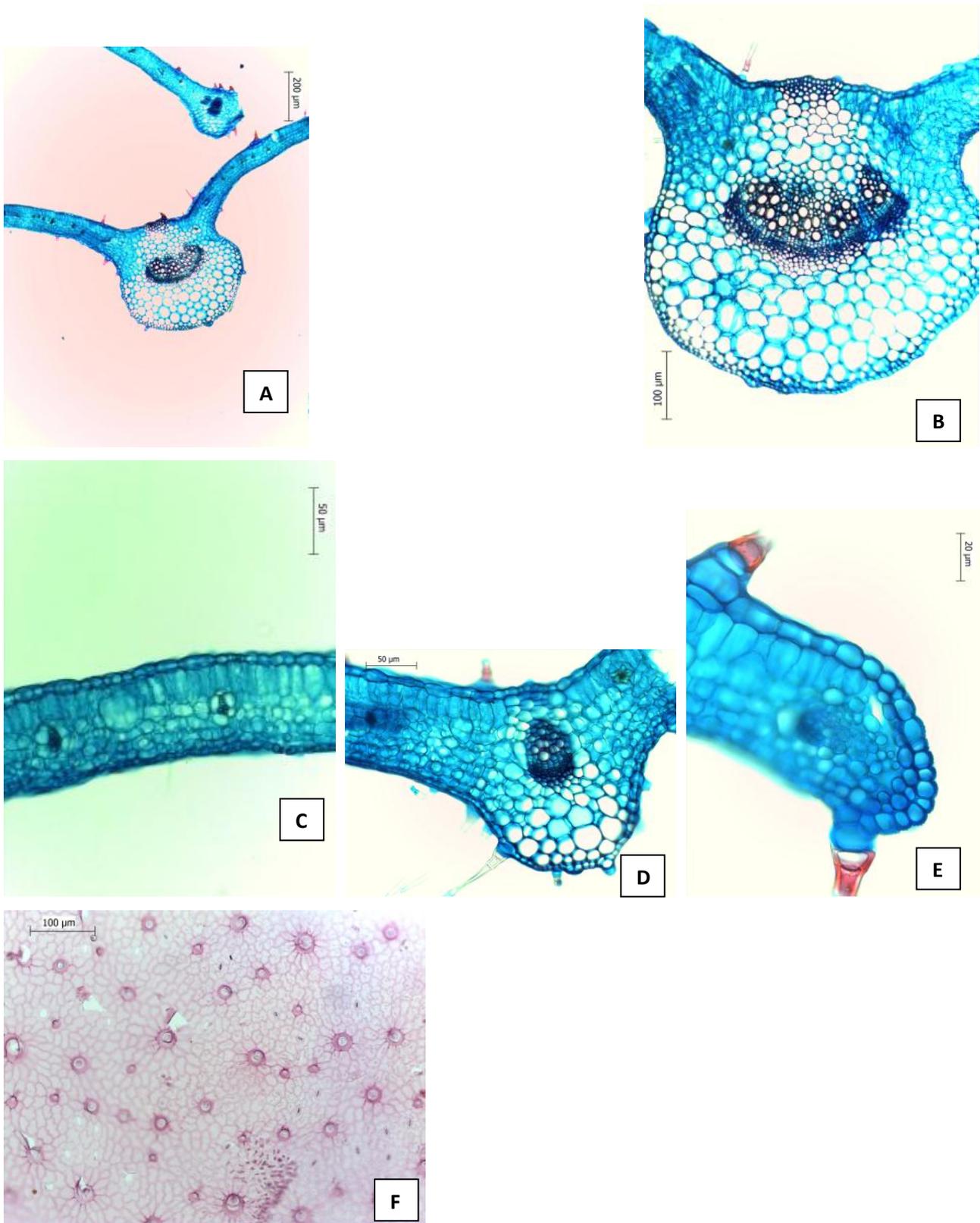


Figura 2: Genótipo 07. A) Formato plano convexo da lâmina foliar. B) Células epidérmicas da região da nervura central de formato isodiamétrico. C) Secção transversal da lâmina foliar com feixes vasculares de terceira ordem. D) Convexidade da nervura secundária. E) Região do bordo com células epidérmicas de formato isodiamétrico. F) Cicatrizes do tricomas tectores com células subsidiárias dispostas radialmente.

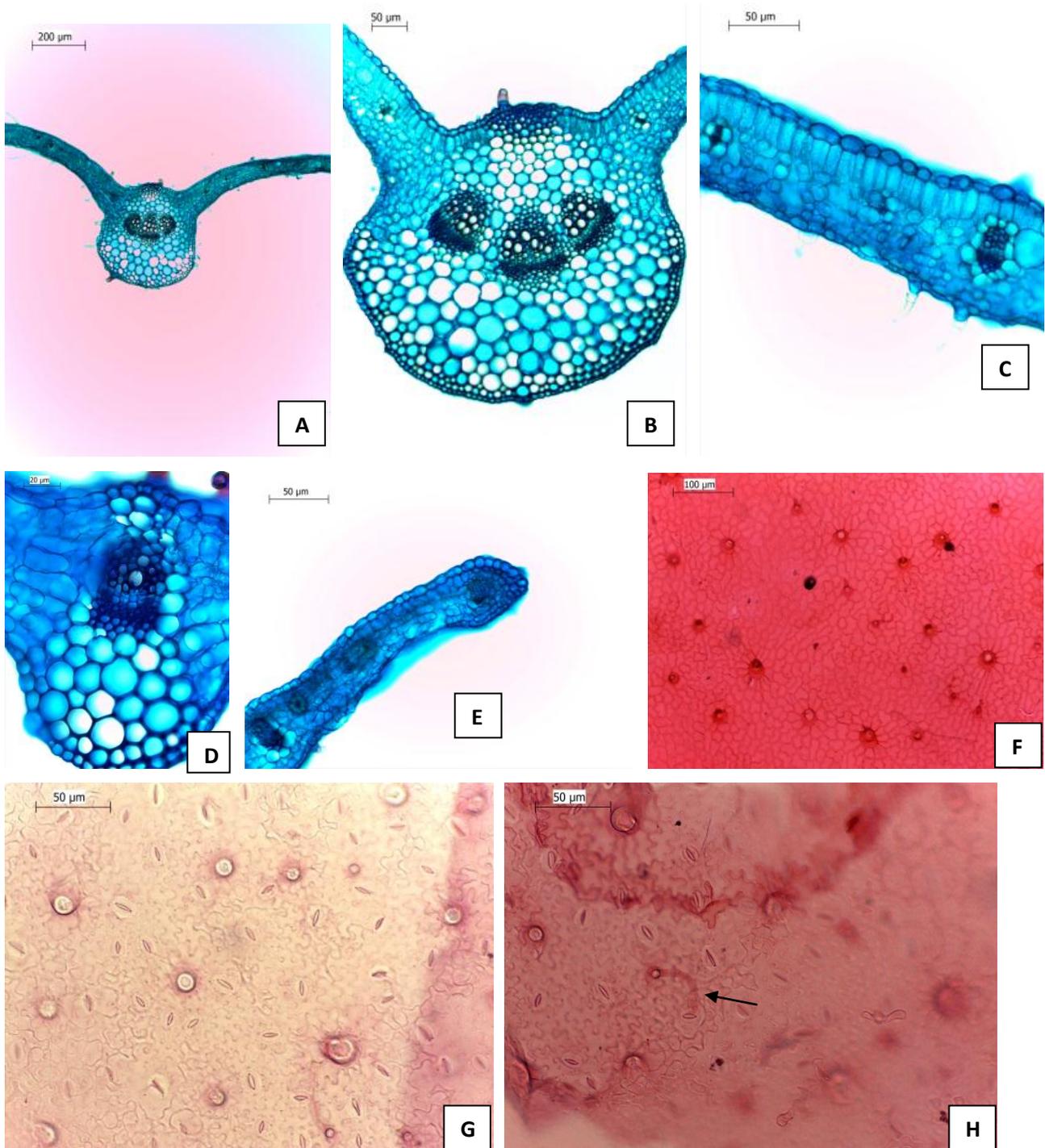


Figura 3: Genótipo 11. A) Lâmina plano convexe. B) Tecido paliçádico interrompido pelas células de colênquima na região da nervura central. C) Feixes vasculares com bainha parenquimática completa localizados entre as células do tecido paliçádico e lacunoso. D) Nervura secundária com células colenquimáticas abaixo das epidermes adaxial e abacial. E) Parênquima paliçádico interrompido na altura do feixe vascular mais próximo da margem foliar. F) Epiderme adaxial com células de formato poligonal. G) Estômatos na epiderme abaxial. H) Tricoma glandular (seta) em secção paradérmica abaxial.

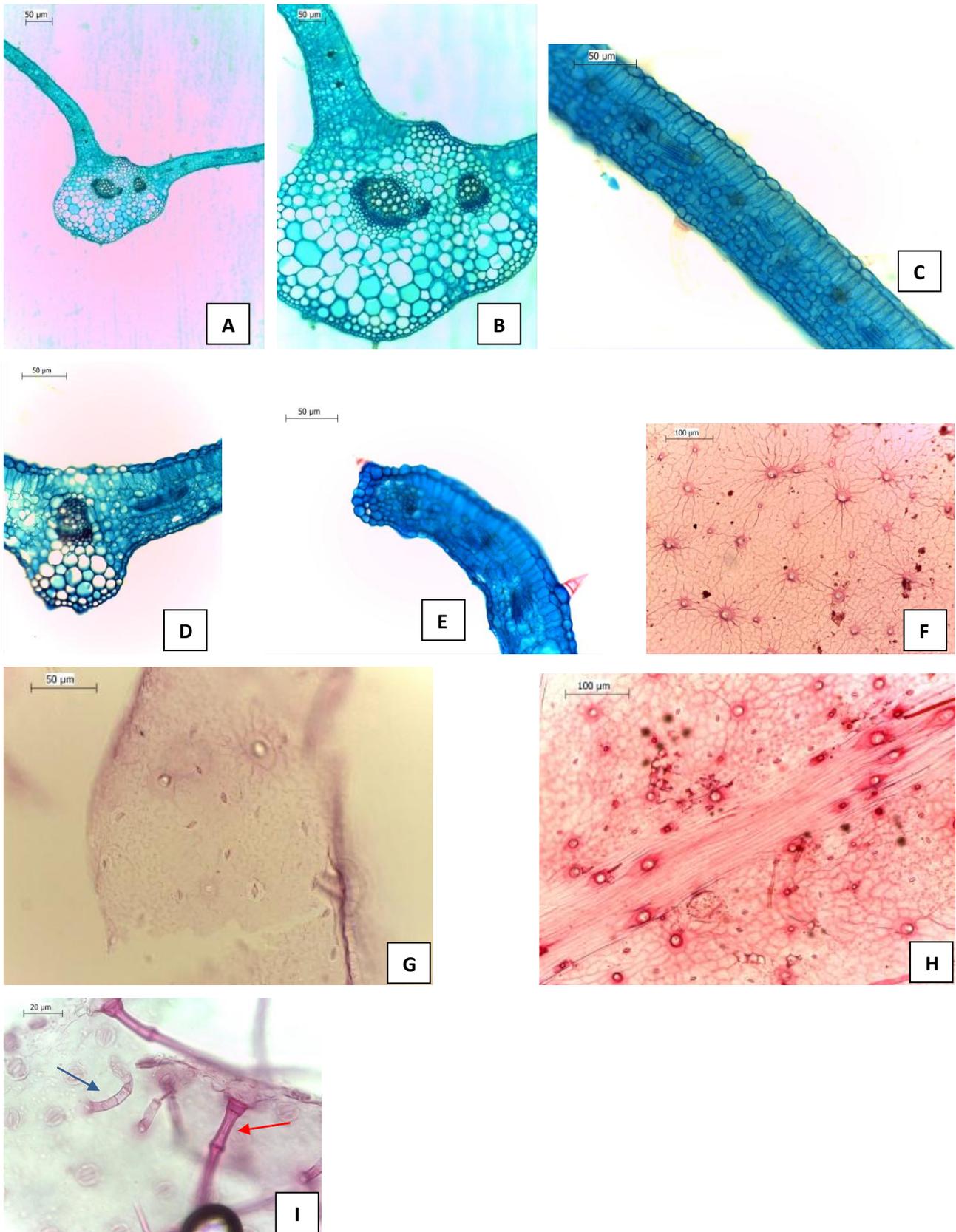


Figura 4: Genótipo 65. A) Lâmina plano convexa. B) Parênquima de preenchimento e feixes vasculares na nervura principal. C) Tricoma glandular na superfície abaxial da lâmina foliar. D) Colênquima na região abaxial da nervura secundária. E) Células subepidérmicas espessadas na região do bordo foliar. F) Cicatrizes dos tricomas em secção paradérmica. G) Estômatos em secção paradérmica abaxial. H) Células de formato alongado da região costal da lâmina foliar em secção paradérmica. I) Tricomas glandulares (seta azul) e tectores (seta vermelha).

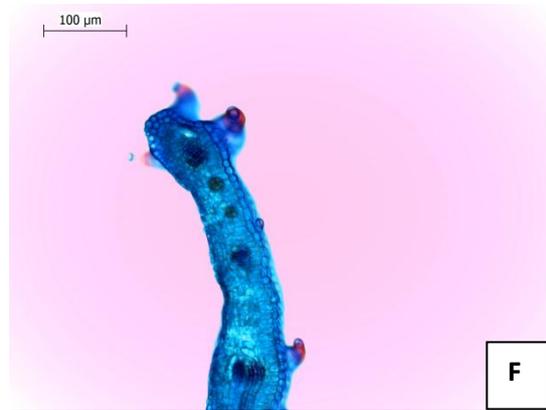
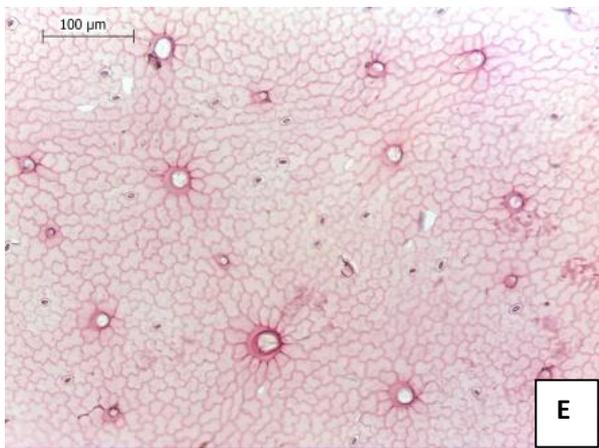
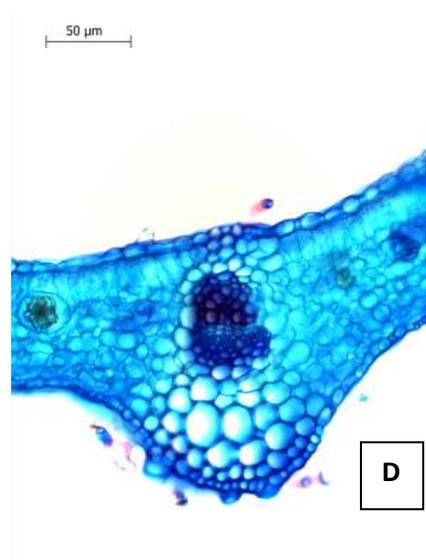
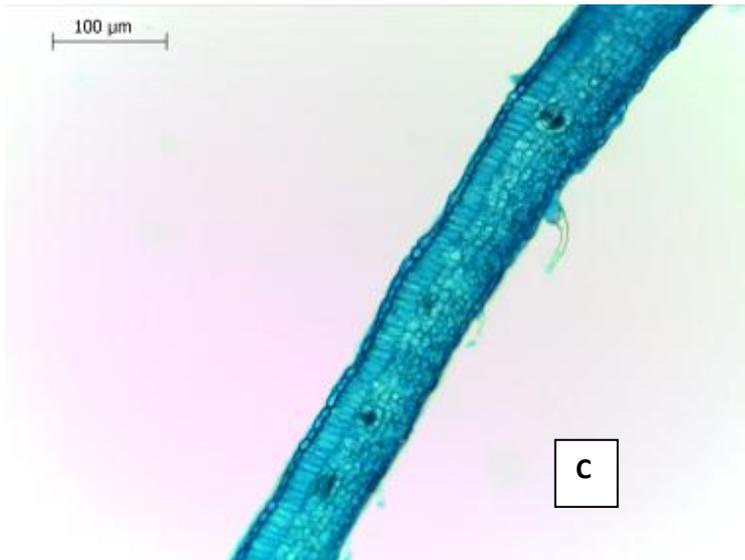
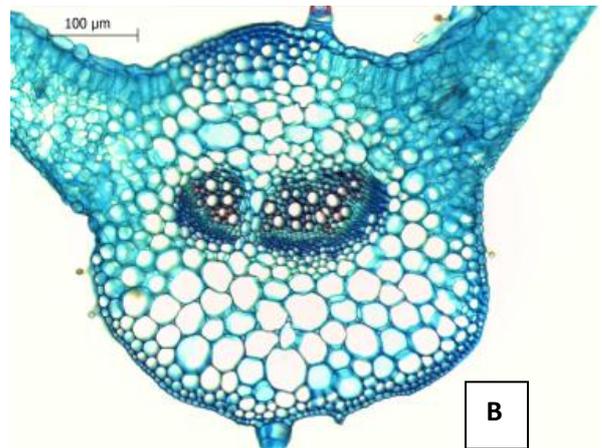
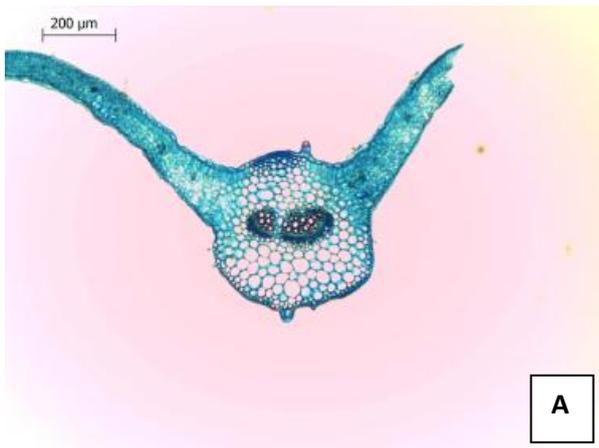


Figura 5: Genótipo 93. A) Lâmina plano convexa. B) Células epidérmicas comuns adaxial da região costal menores que as demais células epidérmicas C) Parênquima lacunoso ocupando mais da metade do mesófilo. D) Nervura secundária: idioblasto com drusa. E) Epiderme adaxial com células epidérmicas poligonais, estômatos e células subsidiárias dos tricomas tectores dispostas radialmente. F) Formato do bordo truncado para baixo.

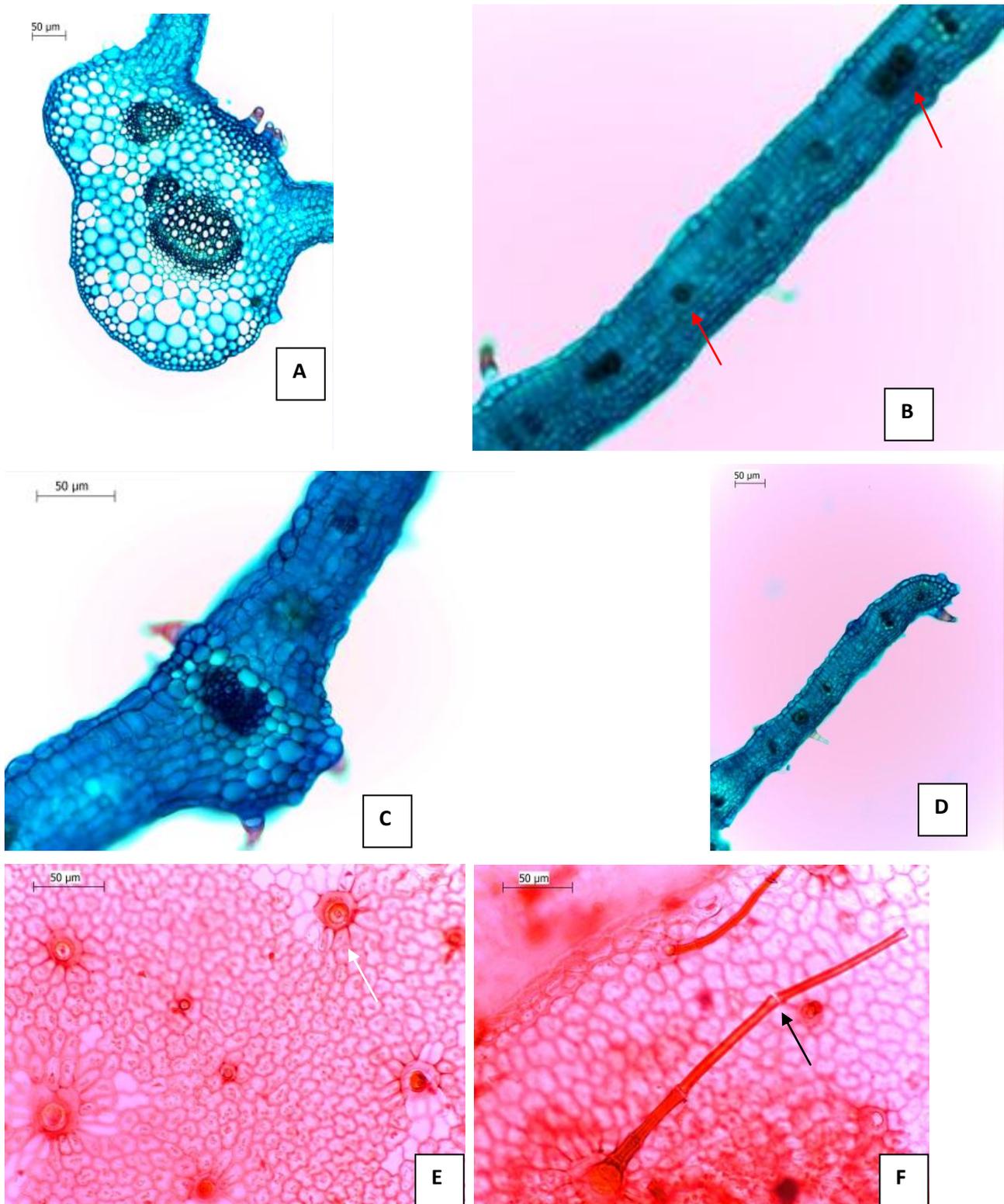


Figura 6: Genótipo 101. A) Nervura central com parênquima de preenchimento e colênquima. B) Lâmina foliar com ocorrência de idioblastos com drusas (setas vermelhas). C) Tricomas tectores nas epidermes adaxial e abaxial na região da nervura secundária. D) Bordo com tendência a se formar duas camadas epidérmicas. E-F) Secções epidérmicas evidenciando células envolta da base dos tricomas tectores em disposição radial (seta branca) e tricoma tector com articulações em forma de dentes (seta preta).

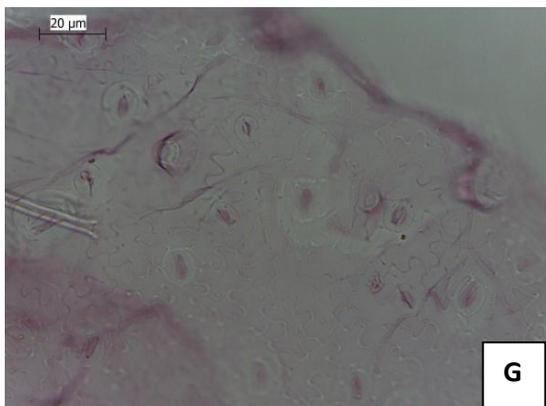
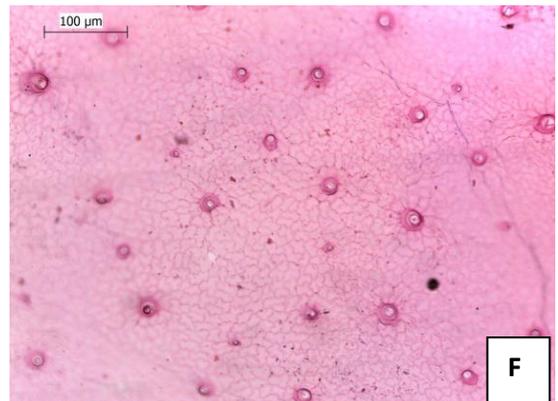
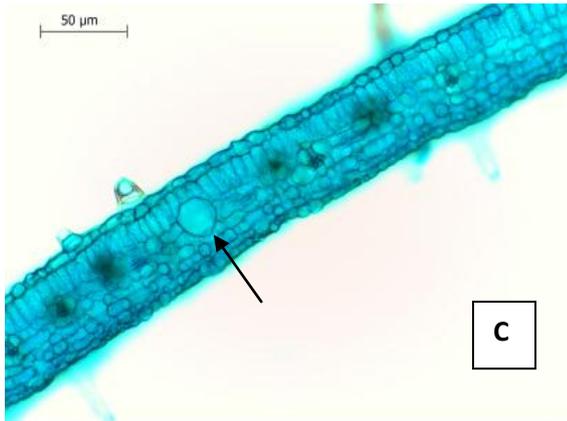
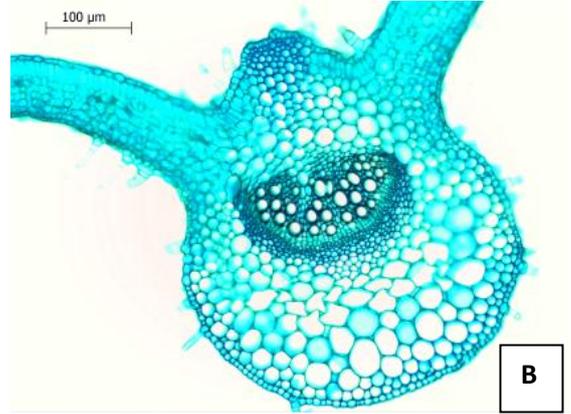
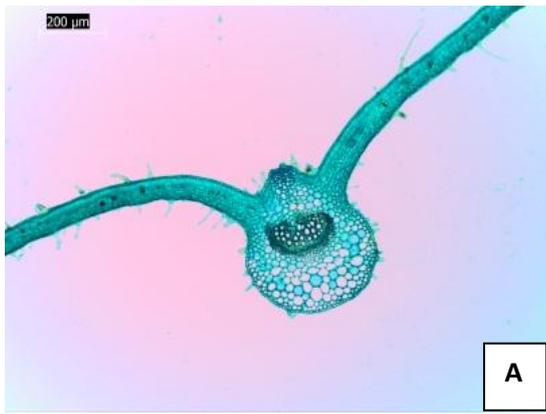


Figura 7: Genótipo 102. A) Lâmina foliar plano convexa com grande quantidade de tricomas. B) Células do protoxilema, câmbio vascular e floema. C) Lâmina foliar com idioblasto (seta). D) Ocorrência de tricomas na nervura secundária. E) Grande quantidade de tricomas no bordo. F-G) Epidermes adaxial (células com paredes de formato poligonal) e abaxial (células com paredes sinuosas).

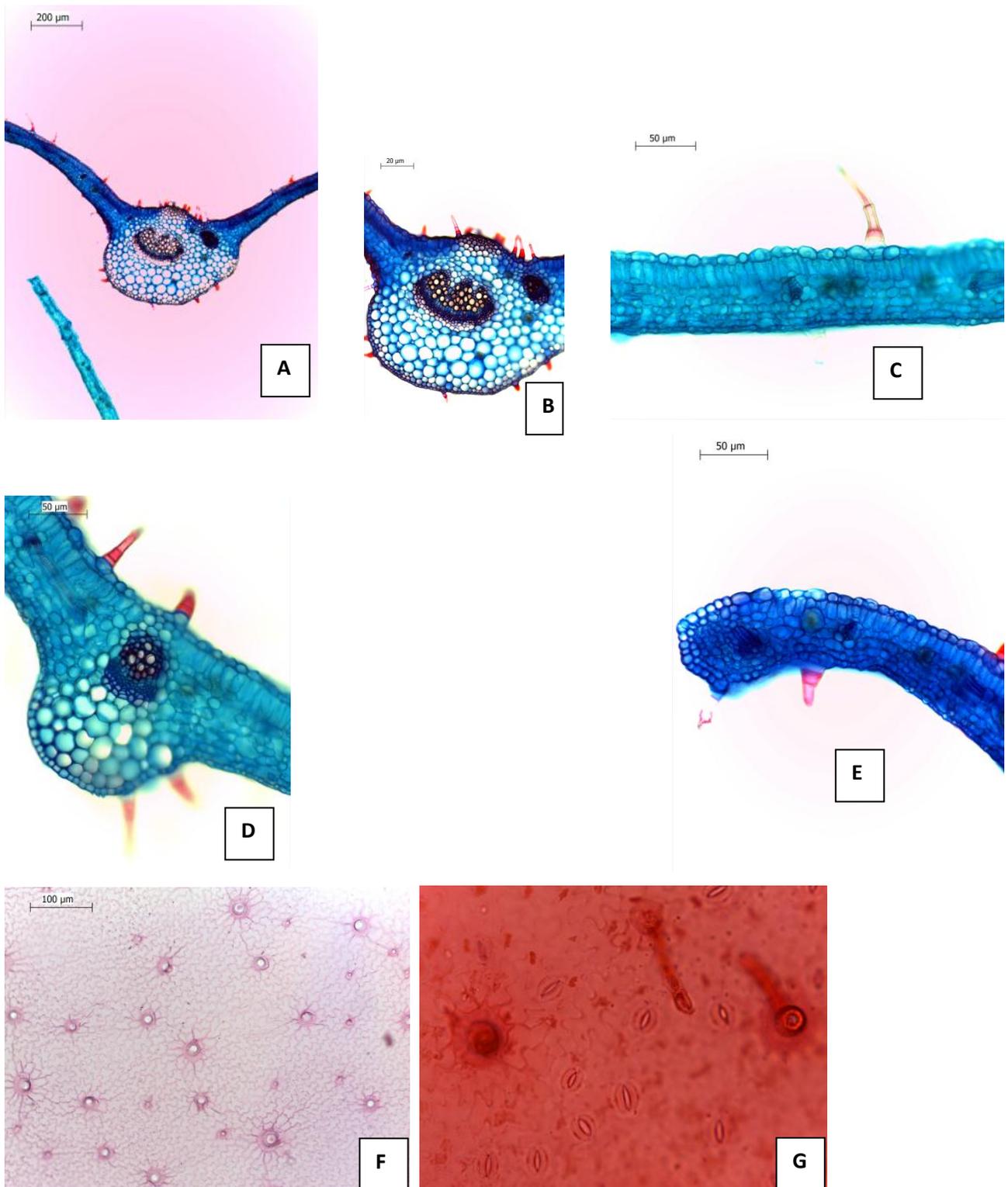


Figura 8: Genótipo 110. A) Lâmina plano convexa. B) Região da nervura principal com drusas e colênquima adaxial de paredes espessadas. C) Tricoma tector e células epidérmicas adaxiais maiores do que as células da epiderme abaxial. D) Parênquima paliçádico interrompido pelo parênquima de preenchimento na nervura secundária. E) Região do bordo com células epidérmicas de formato isodiamétrico. F) Epiderme adaxial mostrando cicatrizes dos tricomas tectores circundadas por células subsidiárias radiais. G) Epiderme abaxial com células epidérmicas comuns de sinuosas e estômatos reniformes.