

Resistência de Acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita* Raça 1*

ANA CRISTINA M.M. GOMES¹, JEAN KLEBER MATTOS², PEDRO A.S. CIROTO¹ &
REGINA M.D. GOMES CARNEIRO¹

* Parte da Dissertação do primeiro autor, para o título de Mestre em Agronomia da UNB

¹EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P. 02372, 70849-979 Brasília, DF, Brazil, ²Universidade de Brasília, Dep. Agronomia, C.P. 04364, 79919-970 Brasília, DF.

E-mail: anagomes@cenargen.embrapa.br

Recebido para publicação em 12/03/2006. Aceito em 22/08/2006

Resumo – GOMES, A.C.M.M.; J.C. MATTOS; P.A.S. CIROTO & R.M.D.G. CARNEIRO. 2006. Resistência de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita*.

Pfaffia glomerata, comumente denominada “ginseng brasileiro”, é planta da família Amaranthaceae que ocorre nas Américas e África, sendo que o Brasil é o mais importante centro de coleta dessa espécie para fins medicinais, alimentícios e cosméticos. Os nematóides de galhas, *Meloidogyne* spp, podem causar sérios sintomas de galhas no sistema radicular, onde estão armazenados os princípios ativos fito-químicos. Acessos de *P. glomerata* foram selecionados, a partir de uma coleção de plantas mantidas na Universidade de Brasília (UNB) e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) para serem testados quanto a resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1. Plântulas foram obtidas por mini- estaquia a partir da planta mãe e inoculadas com 5000 ovos quando tinham aproximadamente 15 cm de comprimento. Noventa dias após a inoculação foram avaliados os sistemas radiculares quanto aos índices de galhas e de massas de ovos e os fatores de reprodução (FR). Os acessos São Luiz (MA), UFV (MG), Cenargen 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) e Cenargen 2213-6 foram considerados altamente resistentes (FR<1); IAPAR (PR), Cenargen 2216-10 e Cenargen 2216-16, medianamente resistentes (FR= de 1,9 a 2,3); Cenargen 2217-10 e UFC (CE), suscetíveis (FR=10,0) e os demais acessos (Farmacotécnica, DF e Cenargen 2217-9) altamente suscetíveis (FR >80,0). De acordo com esses resultados, a utilização de acessos resistentes é uma medida bastante promissora para o controle de *M. incognita*, em cultivos comerciais de *P. glomerata*.

Palavras-chave: resistência, nematóide de galhas, ginseng brasileiro.

Summary – GOMES, A.C.M.M.; J.C. MATTOS; P.A.S. CIROTO & R.M.D.G. CARNEIRO. 2006. Resistance of *Pfaffia Glomerata* accessions to *Meloidogyne incognita*.

Pfaffia glomerata, commonly denominated “Brazilian ginseng”, is a plant of the Amaranthaceae family that occurs in America and Africa. Brazil is the most important center of assessment of this species for medicinal, nutritional and cosmetic use. Some disease problems can damage this plant, among them, the root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., cause serious gall symptoms on the roots, where the phyto-chemical compounds are stored. Accessions of *P. glomerata* were selected from a collection maintained in the University of Brasília (UNB) and Embrapa Genetic Resources and Biotecnology (Cenargen). Plants were obtained by cuttings from the plant mother and were inoculated with 5000 eggs when they were approximately 15 cm in length. Ninety days after egg inoculation the roots were evaluated using gall index and the reproduction factor (RF). The accessions São Luiz (MA), UFV (MG), Cenargen 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) and Cenargen 2213-6 were considered highly resistant (RF<1); IAPAR (PR), Cenargen 2216-10 and Cenargen 2216-16, moderately resistant (RF= from 1.9 to 2.3); Cenargen 2217-10 and UFC (CE), susceptible (FR=10) and the other accessions (Farmacotécnica, DF and Cenargen

2217-9) highly susceptible (RF >80). Considering these results, the use of resistant accessions is a promising control method for commercial crops of *P. glomerata*.

Keywords: resistance, root-knot nematodes, Brazilian ginseng.

Introdução

Pfaffia glomerata (Spreng) Pedersen, 1967 (Amaranthaceae) é uma espécie nativa de amplo uso popular, submetida a uma alta pressão antrópica devido ao extrativismo (Vieira *et al.*, 2002). O gênero possui cerca de 33 espécies distribuídas nas Américas Central e do Sul. No Brasil ocorrem 21 espécies em formações florestais e campestres, mais precisamente em orlas de matas, beira de rios, capoeiras úmidas e campos rupestres (Siqueira, 1988). Utilizada há séculos pelos índios brasileiros na cura e prevenção de doenças, *P. glomerata* teve suas propriedades medicinais comprovadas cientificamente no Japão, apresentando propriedades terapêuticas no tratamento de diabetes, hemorróidas, além de mostrar efeito bioenergético, tônico, afrodisíaco e antidiarréico (Mashio, 1993).

O interesse pela *P. glomerata* teve origem no uso popular de suas raízes, recebendo o nome comum de "Ginseng brasileiro". Após a identificação de substâncias hormonais (Nishimoto *et al.* 1987 e Shiobara *et al.*, 1992), com características de efeito adaptógeno, verificou-se uma grande demanda mundial pelas raízes desta planta, principalmente pelo Japão, onde a espécie foi bastante estudada sob o ponto de vista fitoquímico e farmacológico (Nishimoto *et al.*, 1987; Nishimoto 1990; Nishimoto, 1992 e Shiobara *et al.*, 1992). O Brasil tem sido o maior fornecedor mundial de raízes dessa planta. Aproximadamente 30 toneladas de raízes de *Pfaffia* sp. são oriundas de extrativismo, e exportadas mensalmente para o Japão. O procedimento extrativista, intensificado a partir da validação científica de suas propriedades terapêuticas, tem reduzido a variabilidade das populações e conseqüentemente o fornecimento de matéria-prima, além de causar prejuízos ao meio ambiente (Alcântara, 1994). Dessa forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento de técnicas de cultivo como alternativa de produção agrícola, para reduzir o processo de extrativismo. Em levantamentos fitossanitários realizados em coleções brasileiras, localizadas em diferentes regiões foi registrada a ocorrência de diversas pragas que limitaram a produção de *Pfaffia*. Entre essas pragas destacam-se os nematóides do gênero *Meloidogyne*, causando galhas e apodrecimento nas raízes

(Araújo *et al.*, 1994). Recentemente, *M. javanica*, *M. incognita* e *Meloidogyne* sp. foram detectadas no Distrito Federal, causando danos a essas plantas (Mesquita *et al.*, 2005).

Tendo em vista que os nematóides parasitam as raízes de *P. glomerata*, que são a sede da extração de substâncias utilizadas na produção de fármacos, há necessidade de serem avaliados acessos dessa planta quanto à resistência ao nematóide de galhas, de forma a embasar uma estratégia de produção sustentável de *P. glomerata*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar 13 acessos de *P. glomerata* quanto à resistência ou suscetibilidade ao nematóide de galhas, *Meloidogyne incognita* raça 1.

Material e Métodos

Foram utilizados, nos experimentos, 13 acessos de *P. glomerata*, oriundos de várias regiões do Brasil (Tabela 1), procedentes da Coleção de Plantas Medicinais da UnB e da Coleção do Cenargen.

A população de *M. incognita* raça 1 foi isolada, identificada e purificada a partir de plantas de *Pfaffia* cultivadas em Brasília - DF. A identificação da espécie foi feita através do perfil de esterase (Carneiro & Almeida, 2001; Carneiro *et al.*, 2000) e teste com hospedeiros diferenciadores (Hartman & Sasser, 1985). Para obtenção do inoculo, essa população foi multiplicada em tomateiros cv Santa Cruz. Os ovos foram extraídos pelo método de Hussey & Barker (1973) e a concentração determinada em lâminas de Peters ao microscópio óptico.

Para multiplicação unidonal de *P. glomerata*, nós, contando duas gemas, foram selecionados de estacas da parte aérea das plantas mãe, e em condições de telado sombreado, foram postos para brotar em mini estufas construídas em vasos plásticos de 2,5 litros, contendo substrato esterilizado com 50% húmus e 50% argila. Cada vaso foi coberto com um saco plástico transparente de 4 litros, constituindo uma mini estufa. As extremidades do saco plástico foram cortadas para permitir aeração. Os vasos não receberam irrigação por aproximadamente 10 dias. À medida em que

Tabela 1. Descrição dos acessos de *Pfaffia glomerata*, utilizados nos experimentos de seleção, quanto à resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1.

Nome do acesso	Local de Depósito	Origem
Cenargen 2217-10	Coleção Cenargen	Ilha Grande, Sto Antônio (PR)
São Luis (MA)	Coleção UnB	São Luis (MA)
Cenargen 2216-10	Coleção Cenargen	Ilha do Estreito (PR)
UFV (MG)	Coleção UnB	Campus da Univ. Fed. de Viçosa-(MG)
Itabaiana (SE)	Coleção UnB	Ribeirópolis (SE)
Cenargen 2213-6	Coleção Cenargen	Ilha do Denzel (PR)
Pedra de Guaratiba (RJ)	Coleção UnB	Horto Florestal da Pedra de Guaratiba-(RJ)
Farmacotécnica (DF)	Coleção UnB	Vargem Bonita (DF) Propriedade da Farmacotécnica
Cenargen 2217-9	Coleção Cenargen	Ilha Grande (PR)
Cenargen 1	Coleção UnB	Brasília (DF)
Cenargen 2216-16	Coleção Cenargen	Ilha Marçal (PR)
IAPAR (PA)	Coleção UnB	IAPAR (PR)
UFC (CE)	Coleção Unb	Campus da Universidade Federal do Ceará (CE)

surgiam brotações, aproximadamente aos 5 dias, os sacos eram retirados, e as mudinhas receberam irrigação. Depois desse período, as plântulas foram removidas para estufas de crescimento individual, em vasos de 5 litros, visando o enraizamento e crescimento para posterior inoculação.

Oito plantas de cada acesso (Tabela 1), cultivadas individualmente em vasos de 5 litros foram inoculada com de *M. incognita* raça 1 com 5000 ovos, cada uma, em 10 ml de suspensão aquosa, quando apresentavam aproximadamente 15 cm de altura. O inóculo foi distribuído na região da rizosfera, a aproximadamente 1 a 2 cm de distância do caule. O ensaio foi conduzido em delineamento experimental, inteiramente casualizado, e mantido em casa de vegetação sob condições controladas de temperatura (25 a 30 ° C).

Cento e vinte dias após a inoculação, a parte aérea foi cortada e descartada, as raízes lavadas e coradas com Phloxina-B por 30 minutos numa concentração de 0,015mg por ml. Em seguida, foram estimados os parâmetros: índices de galhas e massa de ovos, segundo a escala de 0 a 5 proposta por Hartman & Sasser (1985): em que 0 = nenhuma galha ou massa de ovos; 1 = 1-2 galhas ou massas de ovos, 2 = 3-10; 3 = 11-30; 4 = 31-100; 5 e" 100 galhas ou massas de ovos. O número total de ovos/planta/repetição foi avaliado como descrito anteriormente por Hussey & Barker (1973)

com NaOCl a 1%. O Fator de Reprodução (FR) foi calculado, dividindo-se o número total de ovos/planta pelo número de ovos inoculados (5000). O número total de ovos foi transformado em $\log(x+1)$ para a análise de variância e os dados analisados pelo teste de Tukey- Kramer..

Resultados e Discussão

Na Tabela 2, encontram-se os resultados da reação dos diferentes acessos à inoculação com *M. incognita* raça 1. Os acessos São Luis (MA), UFV (MG), Cenargen 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) e Cenargen 2213-6 foram considerados altamente resistentes por apresentarem Fator de Reprodução menor que 1 (FR<1); IAPAR (PR), Cenargen 2216-10 e Cenargen 2216-16, medianamente resistentes (FR=1,9 a 2,3); Cenargen 2217-10 e UFC (CE), suscetíveis (FR=10). Os demais acessos Farmacotécnica (DF) e Cenargen 2217-9 foram altamente suscetíveis (FR>80,0). De uma maneira geral, ocorreu grande diferença no FR (variando de 0,007 a 110,0), entre os acessos resistentes e os suscetíveis, mostrando com evidência a presença de genes de resistência altamente efetivos em alguns acessos (Figura 1) (Tabela 2). Isso pode ser explicado devido à grande

Tabela 2. Respostas dos diferentes acessos de *Pfaffia glomerata* ao nematóide das galhas *Meloidogyne incognita* raça 1.

Nome do acesso	Massa fresca das raízes (g)	Índice de Galhas *	Número Total de Ovos	Fator de Reprodução**	Erro Padrão da Média	Reação final ***
Cenargen 2217-10	139,0g	5	554.835	110,967 d	±0,1044	AS
São Luiz (MA)	42,5	3	35	0,007 a	±0,1044	AR
Cenargen 2216-10	114,5	4	10.175	2,035 ab	±0,2993	MR
UFV (MG)	88,0	3	635	0,127 a	±0,1044	AR
Itabaiana (SE)	232,0	3	2.815	0,563 a	±0,2993	AR
Cenargen 2213-6	114,2	3	4.230	0,846 a	±0,2993	AR
Pedra de Guaratiba(RJ)	69,0	3	1.795	0,359 a	±0,1044	AR
Farmacotécnica-DF	176,0g	5	411.395	82,279 d	±0,1205	AS
Cenargen 2217-9	60,0g	5	53.520	10,704 bc	±0,2993	S
Cenargen 1	72,5	3	1.410	0,282 a	±0,1044	AR
Cenaregen 2216-16	118,0g	4	11.390	2,278 b	±0,3457	MR
IAPAR (PA)	131,0g	5	9.305	1,861 ab	±0,2993	MR
UFC (CE)	131,0	5	54.600	10,920 bc	±0,1044	S

(*) Índice de galhas ou massas de ovos: 0 = nenhuma galha ou massa de ovos; 1 = 1-2 galhas ou massas de ovos, 2 = 3-10; 3 = 11-30; 4 = 31-100; 5 = 100 galhas ou massas de ovos (Hartman&Sasser, 1985).

(**) Os valores foram transformados em $\log(x+1)$ e tratamentos com letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey-Kramer a de 5 % de probabilidade.

(***) S = suscetível, MR = moderadamente resistente, AR = altamente resistente, S= susceptível AS = altamente susceptível

variabilidade existente entre diferentes acessos dessa planta, como foi demonstrado previamente por Corrêa Júnior (2003). Esse mesmo autor descreveu diferenças fenotípicas entre os acessos tanto na cor, tamanho e forma das folhas. Essa variabilidade genética pôde ser observada nas folhas

de dois acessos selecionados neste trabalho, como suscetível, Farmacotécnica (folha lanceolada) e, resistente, UFC (folha ovalada).

Pôde-se observar através dos índices de galhas (IG) que os acessos altamente resistentes apresentaram valores

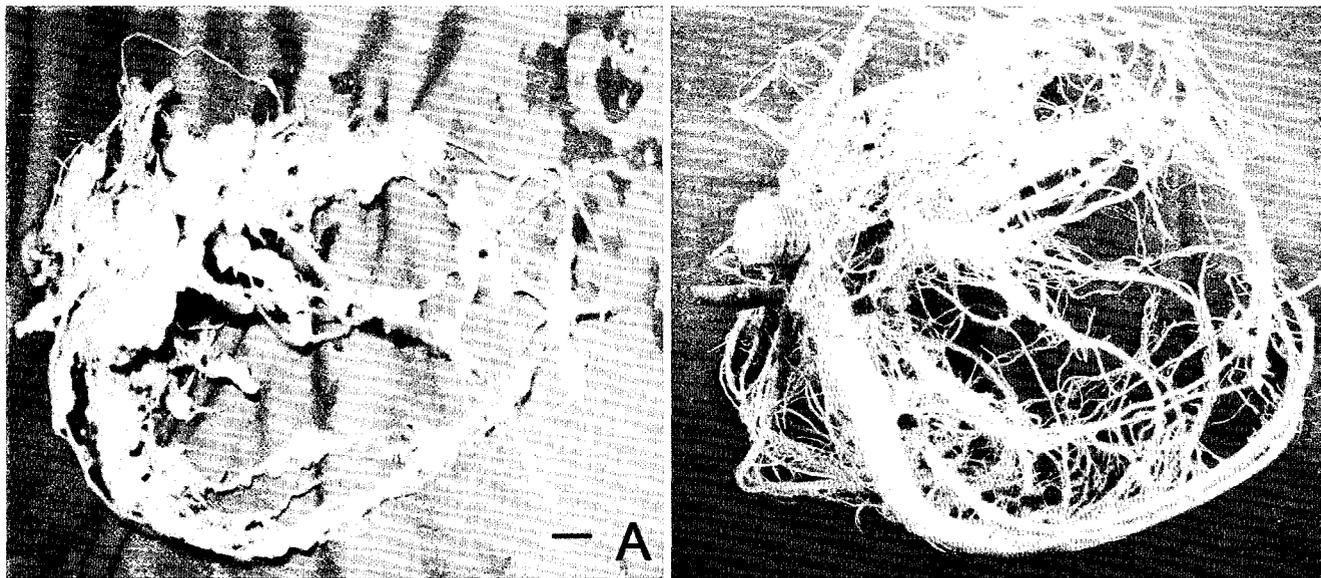


Figura 1. Sintomas das raízes de *Pfaffia glomerata* infestadas com *Meloidogyne incognita* raça 1. A: acesso Farmacotécnica (suscetível); B: acesso UFV (resistente).

em torno de 3, mostrando que ocorreu desenvolvimento de alguns nematóides, embora eles não tenham atingido o estágio adulto, o que fica evidente através do $FR < 1$. Os valores avaliados para o índice de massas de ovos não foram considerados neste trabalho, pois muitas massas de ovos foram internas e difíceis de serem observadas e quantificadas corretamente.

A resistência genética de *P. glomerata* já foi testada para *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e vários acessos foram descritos como resistentes (Araújo *et al.*, 1994). Dessa maneira, pôde-se verificar que os acessos São Luis, Itabaiana e Pedra de Guaratiba foram altamente resistentes às duas espécies (*M. javanica* e *M. incognita*) e o acesso Farmacotécnica, altamente suscetível a ambas. Ocorreu variabilidade quanto à resistência do acesso IAPAR, que foi altamente resistente a *M. javanica* e moderadamente resistente a *M. incognita*. Apenas o acesso UFC, diferiu acentuadamente quanto a sua resistência genética, sendo suscetível a *M. incognita* e altamente resistente a *M. javanica*, de acordo com o que foi relatado por Araújo *et al.* (1994). Os autores desse trabalho utilizaram como parâmetros de resistência, o índice de galhas e de massas de ovos, que de acordo com os resultados do presente estudo, não foram bons índices para medir a resistência genética, uma vez que as massas de ovos foram muitas vezes internas e as galhas, algumas vezes, foram formadas por juvenis (J3/J4),

que não conseguiram completar o ciclo biológico (dados não incluídos). Muitos trabalhos realizados em algodoeiro entre 1900 e 1975 nos EUA utilizaram como método para selecionar resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3, o índice de galhas, em experimentos realizados a campo. Shepherd (1979) demonstrou que os resultados desses testes foram muito variáveis e colocou em evidência que o índice de galhas era independente da reprodução do nematóide. Alguns genótipos apresentaram alto índice de galhas e baixo número de ovos, outros, baixo número de galhas e alto número de ovos. Dessa maneira, a quantidade de ovos produzidos foi escolhida como o principal critério de resistência em substituição ao índice de galhas.

Mais estudos são necessários para compreender os mecanismos de resistência de acessos de *P. glomerata* a *Meloidogyne* spp. e a influência do parasitismo do nematóide na redução dos princípios ativos medicinais presentes nas raízes.

Conclusões

Os acessos de *Pfaffia glomerata* demonstraram diferentes níveis quanto à resistência e suscetibilidade ao nematóide de galhas, *Meloidogyne incognita* raça 1, demonstrando haver acentuada variabilidade para a resistência.

Os acessos São Luís (MA), UFV (MG), Cenargen 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) e Cenargen 2213-6 foram considerados altamente resistentes (FR<1), demonstrando alto potencial para uso em programas de melhoramento genético.

Os acessos IAPAR (PR), Cenargen 2216-10 e Cenargen 2216-16 foram medianamente resistentes (FR de 1,9 a 2,3); Cenargen 2217-10 e UFC (CE), suscetíveis (FR=10,0) e os demais acessos, Farmacotécnica, (DF) e Cenargen 2217-9, altamente suscetíveis (FR>80,0).

Literatura Citada

- ALCÂNTARA M. F. A. 1994. Atividade antimicrobiana de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen XIII. Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Fortaleza – CE. p. 072.
- ARAÚJO, W. P.; J. K. A. MATTOS & R. M. SOUZA. 1994. Fontes de resistência a *Meloidogyne javanica* entre procedências de *Pfaffia glomerata*. Fitopatologia Brasileira, 19 (Supl.): 322-323.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; M.R.A. ALMEIDA & P. QUÉNÉHÉRVÉ. 2000. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. isolates. Nematology (2): 645 – 654.
- CARNEIRO, R.M.D.G. & M.R.A. ALMEIDA. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. Nematologia Brasileira 25: 35-44.
- CORRÊA JÚNIOR, C. 2003. Estudo agrônômico de fáfia [*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, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Tese de Doutorado, 69p.
- HARTMAN, K.M & J.N. SASSER. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. In: BARKER, K.R., C.C. CARTER AND J.N. SASSER (eds). Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol.II, Methodology. North Carolina State University, Raleigh, p. 69 -77.
- HUSSEY, R.S & K.R. BARKER. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter (57): 1025 - 1028.
- MARQUES, L.C. 1998. Avaliação da ação adaptógena das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen - Amaranthaceae. Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Tese de Doutorado, 145p.
- MASHIO, J. 1993. Japão provoca corrida da *Pfaffia* no Paraná. Folha de São Paulo. Agrofólia, Caderno 5, 21 de fevereiro de 1993.
- MESQUITA, L.F.G.; M.R.A. ALMEIDA; D.B. SILVA; P.A.S. CIROTTO & R.M.D.G. CARNEIRO. 2005. Patogenicidade de *M. javanica* em *Pfaffia glomerata* e *P. paniculata*. Nematologia Brasileira 29 (1): 118.
- NISHIMOTO, N. 1992. The constituents of Brazilian Ginsengs Ann. XII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil – Univ. do Paraná. Curitiba – PR. Abril de 1992. p 167.
- NISHIMOTO, N.; Y. SHIOBARA; S. INOUE; T. TAKEMOTO; G. AKISUE; F. OLIVEIRA, M.K. AKISUE; G. HASHIMOTO. 1990. Ecdisteroides de *Pfaffia glomerata*. Anais do XI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Univ. Fed. Paraíba – João Pessoa, PB.
- NISHIMOTO, N.; Y. SHIOBARA; M. FUGINO; S. INOUE; T. TAKEMOTO; F.
- OLIVEIRA; G. AKISUE; F. OLIVEIRA; M.K. AKISUE; G. HASHIMOTO; R. TANAKA; H. KASAI; H. MATSUURA. 1987. Ecdsteriods from *Pfaffia iresinoids* and reassignment of some ^{13}C NMR chemical shifts. Phytochemistry (26): 2505 - 2507.
- SHEPHERD, R.L. 1979. A quantitative Technique for Evaluating Cotton for Root-Knot Nematode Resistance. Phytopatology 69 (4): 427-430.
- SHIOBARA, Y.; S. INOUE; Y. NISHIGUCHI; T. TAKEMOTO; N. NISHIMOTO; F. OLIVEIRA & G. AKISUE. 1992. Iresinoide, a yellow pigment from *Pfaffia iresinoides*. Phytochemistry (31): 953-956.
- SIQUEIRA, J.C. 1998. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae). Acta Biológica Leopoldinense, São Leopoldo (10): 269 – 278.
- VIEIRA, R. F.; SILVA, S. R.; NEVES R.B.; SILVA; D.B., DIAS, T. A. B.,
- UDRY, M.C.F.V., WETZEL, M., MARTINS, R.C. 2002 I Reunião Técnica sobre Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas: Estratégias para Conservação e Manejo Sustentável. Brasília, DF: Embrapa / Ibama / CNPq., v. 1, 200 p.