

Variação de caracteres morfológicos e fisiológicos de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e correlação com a produção de β -ecdisona

KAMADA, T.¹; PICOLI, E.A.T.²; VIEIRA, R.F.³; BARBOSA, L.C.A.⁴; CRUZ, C.D.⁵; OTONI, W.C.^{2,*}

¹Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Verde, FESURV, 75909-970, Rio Verde, GO. takeshi.kamada@bol.com.br; ²Departamento de Biologia Vegetal/Bioagro, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, MG. epicoli@ufv.br; * wotoni@ufv.br; ³EMBRAPA-Recursos Genéticos e Biotecnologia, SAIN Parque Rural Final W3 Norte, 70770-900 Brasília, DF. rfvieira@cenargen.embrapa.br; ⁴Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. E-mail: lcab@ufv.br; ⁵Departamento de Biologia Geral/Bioagro, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. cdcruz@ufv.br

RESUMO: No presente estudo, objetivou-se avaliar a divergência genética de indivíduos de quatro populações de fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] coletadas na região do rio Paraná por meio de estudos de caracteres morfológicos associados à produção de β -ecdisona. A divergência foi avaliada entre 64 indivíduos utilizando 14 caracteres morfológicos quantitativos, incluindo o teor de β -ecdisona. Os dados foram interpretados pelas médias dos caracteres, índice de dissimilaridade de Mahalanobis, agrupamento pelo método UPGMA e correlação simples de Pearson. Os resultados demonstraram maiores valores de divergência entre indivíduos pertencentes a diferentes populações e menores, entre indivíduos da mesma população. Os indivíduos pertencentes à população 1, coletados à margem do rio Ivaí, destacaram-se pelos altos valores de β -ecdisona, predominando o seguinte perfil: matéria seca da raiz abaixo da média geral (135,1 g planta⁻¹); antese precoce em relação a média geral (135,8 dias); dias para ocorrer a senescência de 90% das folhas abaixo da média geral (201,4 dias); e intervalo entre antese e senescência acima da média (65,6 dias). Os caracteres avaliados demonstraram significativa variação entre os indivíduos, no entanto, não foi possível observar dados que evidenciam a correlação entre a produção de β -ecdisona e caracteres morfológicos avaliados no presente estudo.

Palavras-chave: *Pfaffia glomerata*, germoplasma, plantas medicinais, β -ecdisona

ABSTRACT: Variation of morphological and physiological characters in natural populations of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen and their correlation with β -ecdysone production. The present study aimed to evaluate the genetic divergence among individuals from four *Pfaffia glomerata* populations collected in the region of Paraná River, Brazil, based on the study of morphological characters associated with β -ecdysone production. The divergence among 64 individuals was estimated using 14 quantitative morphological characters, including β -ecdysone content. Data were evaluated considering general mean of the characters, Mahalanobis dissimilarity index, UPGMA grouping method, and Pearson correlation. Results indicated higher divergence among individuals from different populations and lower divergence among those from the same population. Individuals from population 1, collected at the shore of Ivaí River, had high β -ecdysone content, with predominance of the following profile, compared to the general mean: lower root dry matter (135.1 g plant⁻¹); earlier anthesis (135.8 days); smaller number of days to senescence of 90% of the leaves (201.4 days); and longer interval between anthesis and senescence (65.6 days). The evaluated characters significantly varied among individuals; nevertheless, the correlation between β -ecdysone production and the evaluated morphological characters could not be evidenced.

Key words: *Pfaffia glomerata*, germplasm, medicinal plants, β -ecdysone

INTRODUÇÃO

A fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen-Amaranthaceae] é nativa da América do Sul e de ocorrência comum em vegetações naturais nos Estados do Paraná, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Goiás (Siqueira, 1988; Corrêa Júnior, 2003; Alves et al., 2006). A espécie propaga-se por estacas e sementes, produz flores hermafroditas e seu sistema reprodutivo não está claramente definido como planta alógama ou autógama (Montanari Júnior, 2005). Na medicina popular atribui-se propriedades medicinais semelhantes ao ginseng-coreano (*Panax ginseng*), devido à atividade adaptógena contra estresses físico e mental (Vigo et al., 2003) e ao uso afrodisíaco atribuído à planta (Lorenzi & Matos, 2002). O estudo da diversidade da *Pfaffia glomerata*, assim como o cultivo comercial, vem se tornando indispensável entre as espécies medicinais, em decorrência do crescente interesse da população pelos medicamentos fitoterápicos e da atividade extrativista. Instituições de pesquisa vêm realizando freqüentes coletas de germoplasma, uma vez que os riscos de perda da variabilidade são acentuados pelo extrativismo desordenado e comercialização de suas raízes.

Os principais compostos isolados das espécies de fáfia (*Pfaffia* spp.) foram as saponinas triterpênicas, fitoecdisteróides e demais esteróides e triterpenos (Shiobara et al., 1993; De-Paris et al., 2000; Vigo et al., 2003; Corrêa Júnior et al., 2006). Entre os constituintes presentes na *P. glomerata*, destacam-se os compostos 20-hidroxiecdisona (20E) e β -ecdisona, que são análogos dos hormônios de insetos envolvidos na ecdise (Dinan, 2001; Festucci-Buselli et al., 2008). A 20E é encontrada em concentrações variáveis em diversas espécies vegetais, dentre elas milho, espinafre, samambaia e Ajuga (Grebenok & Adler, 1991; Ohyama et al., 1999; Devaranne et al., 1995; Dinan, 2001; Fillipova et al., 2003).

Na obtenção de espécies vegetais adaptadas ao cultivo é fundamental a etapa de caracterização da variabilidade genética dos acessos disponíveis em bancos de germoplasma. Essa etapa basicamente descreve e quantifica os caracteres com as variações peculiares aos genótipos. Os caracteres amplamente utilizados são aqueles relacionados à morfologia da planta. No entanto, em estudos de melhoramento de plantas medicinais é necessária a inclusão do caráter bioquímico relacionado à produção de compostos químicos de ação terapêutica.

Diversos estudos avaliaram a variabilidade por meio da divergência genética, para caracterização e obtenção de materiais geneticamente distintos (Martinello et al., 2001; Araújo et al., 2002). O estudo e a caracterização da diversidade genética também foram realizados para plantas medicinais visando à estimativa desta diversidade e distribuição entre

populações (Hoareau & Silva, 1999; Ming & Corrêa Júnior, 2002; Fu et al., 2003; Cruse-Sanders & Hamrick, 2004; Viccini et al., 2004). Nestes estudos foram descritos e quantificados caracteres morfológicos, moleculares ou isoenzimáticos, com suas variações peculiares aos genótipos.

A análise de várias características inerentes aos genótipos pode ser realizada pelo estudo de divergência genética, utilizando técnicas que permitem a quantificação da distância genética pelo índice de dissimilaridade, assim como análises de agrupamentos (Cruz & Regazzi, 1994). A medida de dissimilaridade analisa as informações múltiplas do conjunto de caracteres de cada indivíduo, as quais indicam os pares de indivíduos com maior ou menor magnitude de divergência genética. Esses dados indicam as distâncias entre cada par de indivíduos e, também são utilizados na elaboração das matrizes de dissimilaridade para agrupamento dos indivíduos que apresentam baixa dissimilaridade.

A exploração adequada das plantas medicinais em nível comercial, referente à otimização na produção e qualidade de princípios ativos, demanda prévio conhecimento e caracterização do germoplasma. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a diversidade genética de quatro populações oriundas da bacia Rio Paraná, Brasil, visando à caracterização morfológica dos acessos correlacionada à produção de β -ecdisona, de modo a subsidiar informações para o cultivo e para a proteção desta espécie.

MATERIAL E MÉTODO

Foram avaliados 64 acessos (Tabela 1) oriundos de quatro populações coletadas na região do rio Paraná (Tabela 2), os quais integram a coleção de plantas medicinais da Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia (Alves et al., 2006). Os acessos foram multiplicados vegetativamente pela propagação *in vitro* em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), na ausência de reguladores de crescimento, assegurando a isenção de doenças e obtenção de homogeneidade das mudas. As mudas, após aclimação, foram transplantadas em vasos com capacidade de 18 L, contendo mistura de terra e esterco de curral na proporção de 3:1. A análise química do solo apresentou os seguinte níveis de nutrientes: P = 173,5 mg dm⁻³, K = 831,0 mg dm⁻³, Ca = 2,11 cmolc dm⁻³, Mg = 1,03 cmolc dm⁻³, Zn = 4,52 mg dm⁻³, Fe = 13,2 mg dm⁻³, Mn = 37,6 mg dm⁻³, Cu = 0,52 mg dm⁻³; pH = 6,95 e MO = 3,93%. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições durante o período de junho/2004 e fevereiro/2005, em Viçosa, MG.

Avaliaram-se quatorze caracteres morfológicos quantitativos durante o desenvolvimento e após colheita das plantas: 1) matéria fresca do caule (MFC), em

gramas; 2) matéria seca do caule (MSC); 3) matéria fresca da raiz (MFR); 4) matéria seca da raiz (MFR); 5) altura máxima da planta (ALT), medida tomada em centímetros desde o coleto até o último nó do caule principal, excluindo-se o comprimento da inflorescência; 6) tempo para a abertura das flores (AF), média de dias em que iniciou a abertura das flores dos dois principais caules da planta; 7) senescência de 90% das folhas (S90), número de dias que atingiu a queda espontânea de 90% das folhas nos três ramos principais de cada planta; 8) intervalo de dias entre início da abertura da flor e senescência de 90% das folhas (IAS); 9) diâmetro do caule (DC), mensurada a

10 cm acima da região do coleto dos três principais caules; 10) número de caules (NC), contagem de caules verticais lançados na região basal da planta até altura de 10 cm acima do coleto; 11) distância de entrenós (DE), medida avaliada entre o 3º e 4º entrenós aos 116 dias; 12) índice de colheita (IC), valor obtido entre a relação da produção de raízes e o peso total da planta no momento da colheita: $MSR/(MSR + MSC)$ e 13) relação comprimento/largura do limbo (RL) das folhas entre 4º e 6º nós acima do coleto; 14) teor de β -ecdisona (20E).

O teor de 20E foi analisado nas raízes colhidas aos 271 dias e secas, em extrato metanólico

TABELA 1. Indivíduos avaliados no estudo da diversidade genética da fáfia (*Pfaffia glomerata*).

Indivíduo	BG*	População	Localização	Indivíduo	BG*	População	Localização
1	2202-01	1	Rio Ivaí	33	2209-09	3	Baitaporã
2	2202-02	1	Rio Ivaí	34	2209-10	3	Baitaporã
3	2202-04	1	Rio Ivaí	35	2209-11	3	Baitaporã
4	2202-05	1	Rio Ivaí	36	2209-12	3	Baitaporã
5	2202-07	1	Rio Ivaí	37	2209-13	3	Baitaporã
6	2202-09	1	Rio Ivaí	38	2209-14	3	Baitaporã
7	2202-10	1	Rio Ivaí	39	2209-15	3	Baitaporã
8	2202-11	1	Rio Ivaí	40	2209-16	3	Baitaporã
9	2202-12	1	Rio Ivaí	41	2202-06	1	Rio Ivaí
10	2202-13	1	Rio Ivaí	42	2202-08	1	Rio Ivaí
11	2202-14	1	Rio Ivaí	43	2205-01	2	Ilha do Mineiro
12	2202-15	1	Rio Ivaí	44	2205-06	2	Ilha do Mineiro
13	2202-16	1	Rio Ivaí	45	2205-07	2	Ilha do Mineiro
14	2202-17	1	Rio Ivaí	46	2205-08	2	Ilha do Mineiro
15	2202-18	1	Rio Ivaí	47	2205-10	2	Ilha do Mineiro
16	2202-21	1	Rio Ivaí	48	2205-11	2	Ilha do Mineiro
17	2202-22	1	Rio Ivaí	49	2209-04	3	Baitaporã
18	2205-02	2	Ilha do Mineiro	50	2209-08	3	Baitaporã
19	2205-03	2	Ilha do Mineiro	51	2209-20	3	Baitaporã
20	2205-11	2	Ilha do Mineiro	52	2209-23	3	Baitaporã
21	2205-12	2	Ilha do Mineiro	53	2209-26	3	Baitaporã
22	2205-17	2	Ilha do Mineiro	54	2216-06	4	Vila Alta
23	2205-18	2	Ilha do Mineiro	55	2216-07	4	Vila Alta
24	2205-19	2	Ilha do Mineiro	56	2216-08	4	Vila Alta
25	2205-20	2	Ilha do Mineiro	57	2216-10	4	Vila Alta
26	2205-21	2	Ilha do Mineiro	58	2216-12	4	Vila Alta
27	2205-22	2	Ilha do Mineiro	59	2216-14	4	Vila Alta
28	2205-23	2	Ilha do Mineiro	60	2216-15	4	Vila Alta
29	2205-24	2	Ilha do Mineiro	61	2216-17	4	Vila Alta
30	2209-01	3	Baitaporã	62	2216-18	4	Vila Alta
31	2209-02	3	Baitaporã	63	2216-19	4	Vila Alta
32	2209-06	3	Baitaporã	64	2216-20	4	Vila Alta

BG*: Banco de Germoplasma. Os números indicam as identificações do germoplasma da coleção de plantas medicinais da EMBRAPA-Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia.

(200 mg de raiz em 20 mL metanol). A 20E foi quantificada na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando as seguintes condições: equipamento da Shimadzu modelo LC 10AD equipado com detector SPD 10AV, CBM 10A; coluna Bomdesil C 18 (5,0 μm x 4,6 mm x 250 mm); fase móvel metanol (100%) com fluxo de 1 mL min^{-1} ; volume de amostra injetada de 20 μL ; leitura em $\lambda = 245 \text{ nm}$; e tempo médio de corrida da amostra de 12 minutos. A curva de calibração foi obtida com padrão de 99% de pureza de β -ecdisona (Sigma Chem. Co., EUA), em concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 e 120 mg L^{-1} metanol, injetados (20 μL) em triplicatas; obtendo-se a equação: Teor de β -ecdisona = $2,6382 + 2.10 \cdot 10^{-5} \times \text{área do pico}$ ($r^2 = 0,9963$).

Os dados foram analisados pelo teste de média de Scott-Knott, coeficiente de dissimilaridade de Mahalanobis, agrupamento pelo método UPGMA e, correlação simples de Pearson. Todas as análises foram processadas no Programa Genes - versão Windows 2005.6.1 (Cruz, 2001).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Dissimilaridade entre os 64 indivíduos

Os 64 acessos originaram 4.096 dados de dissimilaridade, sendo que foram destacados e analisados 20 valores das maiores e menores distâncias (Tabela 3). As maiores distâncias foram estabelecidas entre indivíduos de diferentes populações e as menores, entre indivíduos da mesma população. Assim, os indivíduos mais divergentes foram encontrados em populações distintas e aqueles mais semelhantes, na mesma população. Os pares formados pelos indivíduos 42x22 e 54x64 apresentaram a maior e menor distâncias, respectivamente.

Os indivíduos 22 e 24 foram freqüentes na formação dos pares de maior dissimilaridade (Tabela 3), os quais apresentaram menores médias dos caracteres teor de β -ecdisona (20E) e matéria seca da raiz (MSR) (Tabela 4). Tal evidência deve ser analisada com ressalvas, pois, apesar de aumentar a variabilidade, não representa necessariamente vantagem para uma coleção ativa do banco de germoplasma. Os indivíduos 42 e 41 também predominaram na classificação de maior dissimilaridade, apresentando aspecto favorável devido alto teor de 20E, porém apresentou baixo valor de MSR (Tabela 4). As menores distâncias foram observadas entre indivíduos da mesma população, nas quatro populações (Tabela 3), sendo predominante nos pares formados pelos indivíduos da população 4. A maioria desses indivíduos apresentou valores médios e baixos nos caracteres 20E e MSR.

Agrupamento dos indivíduos pelo método UPGMA

O método de agrupamento UPGMA distribui os indivíduos em seis grupos de dissimilaridade, em que foi considerada uma dissimilaridade relativa de 37% como critério de delimitação dos grupos (Figura 1). Os dois maiores grupos incluíram 44 indivíduos, representando 75% do total de indivíduos. No primeiro grupo foi constituído por 24 indivíduos e houve predomínio da população 1 (16 indivíduos), sendo incluídos representantes das demais populações com exceção da população 4. O segundo grupo foi constituído por 24 indivíduos pertencentes a todas as populações, predominando a população 3 (09 indivíduos). Os grupos 3, 4, 5 e 6 foram formados por 9, 4, 2 e 1 indivíduos, respectivamente. O grupo 3 foi constituído basicamente pelos indivíduos das populações 2 e 4, sendo excluídos os indivíduos da população 1. No grupo 4 foi incluído apenas indivíduos

TABELA 2. Descrição das populações de fáfia (*Pfaffia glomerata*) avaliadas no estudo da diversidade genética

População	Nº de indivíduos	Local de coleta	Coordenadas geográficas e altitude	Vegetação predominante
1 (Rio Ivaí)	19	Rio Ivaí (Querência do Norte, PR)	Lat. 23° 13' 09,2" Long 53° 34' 07,6" Alt. 233 m	Área degradada com pastagem
2 (Ilha do Mineiro)	18	Ilha do Mineiro (Querência do Norte, PR)	Lat. 23° 07' 27" Long. 53° 38' 49,9" Alt. 239 m	Área com capinzal a beira do rio
3 (Baitaporã)	16	Entre Porto Primavera e São José, beira de estrada (Baitaporã, MS)	Lat. 22° 33' 24,1" Long. 53° 06' 13,9" Alt. 239 m	Área de cultivo em descanso
4 (Ilha Grande)	11	Ilha do Marçal, Prainha - Parque Nacional de Ilha Grande (Vila Alta, PR)	Lat. 23° 23' 09,7" Long. 53° 50' 02,1" Alt. 232 m	Sub-bosque de vegetação secundária com presença de embaúbas (<i>Cecropia</i> sp.) em área de conservação

TABELA 3. Pares de indivíduos que obtiveram valores extremos de maior e menor medida de dissimilaridade (D^2), calculados com base na distância de Mahalanobis

Ordem	Maiores distâncias			Menores distâncias		
	Indivíduos	Populações	D^2	Indivíduos	Populações	D^2
1	42 x 22	1 x 2	1036,62	64 x 54	4 x 4	4,42
2	41 x 22	1 x 2	957,58	4 x 16	1 x 1	6,69
3	2 x 22	1 x 2	919,65	50 x 49	3 x 3	8,00
4	42 x 24	1 x 2	896,23	59 x 60	4 x 4	9,41
5	48 x 22	2 x 2	859,07	34 x 35	3 x 3	9,56
6	7 x 22	1 x 2	847,95	30 x 32	3 x 3	9,65
7	41 x 24	1 x 2	847,06	2 x 15	1 x 1	9,91
8	42 x 37	1 x 3	833,72	47 x 48	2 x 2	10,84
9	17 x 22	1 x 2	822,32	4 x 11	1 x 1	11,36
10	3 x 22	1 x 2	819,58	31 x 37	3 x 3	13,20
11	47 x 22	2 x 2	815,62	54 x 55	4 x 4	13,41
12	8 x 22	1 x 1	814,78	9 x 40	1 x 3	14,72
13	42 x 33	1 x 3	791,81	55 x 64	4 x 4	15,39
14	3 x 24	1 x 2	788,61	28 x 56	2 x 4	15,39
15	51 x 22	3 x 2	781,00	56 x 58	4 x 4	15,70
16	41 x 37	1 x 3	766,61	18 x 38	2 x 3	16,20
17	5 x 22	1 x 2	758,57	22 x 24	2 x 2	16,69
18	45 x 22	2 x 2	752,90	13 x 14	1 x 1	16,91
19	11 x 22	1 x 2	750,31	4 x 1	1 x 1	17,71
20	11 x 21	1 x 2	750,31	60 x 63	4 x 4	18,57

Populações: 1 - Rio Ivaí; 2 - Ilha do Mineiro; 3 - Baitaporã; 4 - Vila Alta.

das populações 2 e 3. Os grupos 5 e 6 foram exclusivos dos indivíduos da população 3.

No agrupamento das populações foi possível observar que os indivíduos da população 3 apresentam considerável divergência em relação aos 64 indivíduos, pois se observou a formação de grupos formados exclusivamente por indivíduos dessa população. As populações 1 e 4 também apresentaram considerável divergência entre seus indivíduos devido à exclusão dos indivíduos da população 4, no grupo predominante da população 1. Contudo vale ressaltar que o dendrograma obtido a partir das distâncias (Figura 1) resultou em grupos contendo representantes de diferentes populações.

Cruse-Sanders e Hamrick (2004) estimaram a heterozigosidade em populações de *Panax quinquefolius* e verificaram que esta variável foi significativamente maior em populações protegidas do que em populações não protegidas. Segundo os autores as diferenças nos níveis e distribuição da diversidade genética podem ter implicações importantes na evolução de *P. quinquefolius*.

A diversidade genética de *Changium myrnioides* foi estimada para cinco populações ao longo do rio Yangzi, com base em marcadores RAPD (Fu et al., 2003). Apesar de não mencionar se a espécie comporta-se como autógama ou alógama, as estimativas indicaram que 51,2% da diversidade foram encontrados entre e 48,4% dentro das populações, estimativas que foram maiores do que o observado para outras espécies ameaçadas. Segundo os autores, valores de diversidade semelhantes

também foram relatados com o uso de isoenzimas.

Caracterização morfológica dos indivíduos e produção de β -ecdisona

Entre os materiais avaliados observou-se maiores médias de 20E nos indivíduos 03, 12, 42 e 05 (população 1), porém a produção média de matéria seca da raiz (MSR) apresentou, predominantemente, valores abaixo da média geral nesses indivíduos (Tabela 4). Os indivíduos 33, 39 e 40 (população 3), em geral apresentaram maiores médias de MSR e teor de 20E superior às populações 2 e 4 (Tabela 4), o que sugere relativa superioridade e potencial para o melhoramento vegetal da população 3.

Os indivíduos 03, 12, 42, 05, 17, 41, 1, 7, 11 e 06 destacaram-se pelos altos valores de 20E em relação aos 64 indivíduos avaliados no presente estudo (Tabela 4) e apresentaram o seguinte perfil: MSR abaixo da média geral (135,1 g planta⁻¹), exceto os indivíduos 06 (230,8 g planta⁻¹) e 12 (141,3 g planta⁻¹); antese precoce em relação à média geral (135,8 dias), exceto o indivíduo 06 (138,3 dias); dias para ocorrer a senescência de 90% das folhas abaixo da média geral (201,4 dias), exceto os indivíduos 12 (212,3 dias) e 06 (214,0 dias); intervalo entre antese e senescência acima da média (65,5 dias), exceto o indivíduo 42 (61,3 dias). O indivíduo 06 se destacou, apresentando elevado teor de 20E e MSR (Tabela 4), resultando em maiores níveis de produção total de 20E. Tal indivíduo possui potencial que permitem iniciar a seleção e submeter às avaliações com o intuito de originar variedades no curto prazo, pois a fáfia possui

TABELA 4. Médias dos caracteres quantitativos matéria fresca do caule (MFC), matéria seca do caule (MSC), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca da raiz (MSR), altura da planta (ALT), dias para abertura da flor (AF), dias para senescência de 90% das folhas (S90), intervalo entre abertura da flor e senescência de 90% das folhas (IAS), número de caules verticais (NC), diâmetro do caule (DC), distância dos entrenós (DE), índice de colheita (IC), teor de â-ecdisona (20E), e relação comprimento/largura do limbo (RL); média geral (Md) e, coeficiente de variação (CV) calculados em 64 indivíduos de *Pfaffia glomerata*

Indivíduos	MFC (g)	MSC (g)	MFR (g)	MSR (g)	ALT (cm)	AF (dias)	S90 (dias)	IAS (dias)	NC	DC (mm)	DE (mm)	IC	20E (%)	RL
1	750,8 d	262,8 d	403,2 d	126,5 d	242,7 d	113,0 j	188,7 g	75,7 c	5,7 c	13,3 a	21,9 c	0,32 d	0,65 b	2,92 c
2	754,0 d	209,6 d	448,7 d	113,6 d	255,0 d	112,8 j	185,7 g	72,8 c	5,0 c	12,9 b	23,0 c	0,35 c	0,55 c	2,88 c
3	1114,6 c	357,8 c	227,2 e	68,6 e	271,2 c	112,2 j	186,0 g	73,8 c	7,3 c	12,9 b	30,3 b	0,16 f	0,75 a	2,54 d
4	1111,1 c	357,5 c	447,7 d	129,4 d	247,2 d	118,5 i	191,3 g	72,8 c	7,0 c	14,4 a	18,8 d	0,26 e	0,61 c	2,88 c
5	1094,0 c	339,1 c	463,4 d	131,3 d	274,8 c	116,7 i	184,3 g	67,7 d	5,3 c	15,4 a	21,7 c	0,28 e	0,73 a	1,87 e
6	1024,0 c	385,6 c	758,2 b	230,8 b	284,2 c	138,3 g	214,0 c	75,7 c	5,7 c	12,0 b	12,7 e	0,37 b	0,64 b	2,87 c
7	883,3 d	330,4 c	364,2 d	104,5 e	274,2 c	108,3 k	188,7 g	80,3 b	5,7 c	13,5 a	30,0 b	0,24 e	0,64 b	3,68 b
8	739,7 d	246,1 d	431,1 d	134,2 d	194,0 e	110,2 k	181,7 h	71,5 c	9,0 b	11,6 b	20,5 c	0,35 c	0,57 c	2,22 e
9	880,6 d	326,2 c	569,7 c	177,4 c	293,0 c	127,8 h	195,7 f	67,8 d	4,3 c	14,5 a	22,8 c	0,35 c	0,48 d	2,32 d
10	837,5 d	295,3 d	632,3 c	160,2 c	208,3 e	117,5 i	187,0 g	69,5 c	9,0 b	13,0 b	14,5 e	0,36 c	0,53 c	2,39 d
11	1102,7 c	403,9 b	378,8 d	110,8 d	252,8 d	112,7 j	188,7 g	76,0 c	8,0 c	13,1 b	17,7 d	0,22 f	0,64 b	2,73 d
12	1321,2 b	425,6 b	473,6 d	141,3 d	268,8 d	135,0 g	212,3 c	77,3 c	8,3 b	13,3 a	13,2 e	0,25 e	0,75 a	2,70 d
13	868,8 d	288,2 d	568,6 c	165,8 c	233,8 d	110,0 k	189,7 g	79,7 b	7,3 c	11,3 c	18,7 d	0,36 c	0,42 e	2,43 d
14	791,1 d	237,0 d	511,5 c	144,6 d	235,3 d	110,0 k	185,7 g	75,7 c	7,3 c	13,6 a	17,5 d	0,38 b	0,46 d	2,32 d
15	646,6 d	198,4 d	414,4 d	117,4 d	221,5 e	111,8 j	186,3 g	74,5 c	6,0 c	12,4 b	19,2 d	0,37 b	0,54 c	3,33 b
16	1221,2 b	353,5 c	390,5 d	121,8 d	246,3 d	119,5 i	195,0 f	75,5 c	5,3 c	15,2 a	18,0 d	0,26 e	0,61 c	3,06 c
17	628,4 d	246,9 d	313,6 e	93,0 e	257,0 d	113,5 j	188,3 g	74,8 c	4,3 c	13,6 a	33,8 a	0,28 e	0,69 b	2,86 c
18	1355,2 b	413,6 b	426,7 d	118,8 d	241,3 d	165,0 c	218,7 c	53,7 e	13,3 a	12,5 b	11,7 e	0,22 e	0,46 d	1,88 e
19	706,1 d	382,5 c	355,3 d	109,4 d	260,0 d	137,7 g	202,3 e	64,7 d	6,0 c	14,3 a	14,7 e	0,22 e	0,52 d	1,94 e
20	1055,0 c	390,1 c	432,3 d	132,1 d	255,0 d	117,5 i	193,3 f	75,8 c	6,7 c	14,3 a	17,8 d	0,25 e	0,36 e	2,46 d
21	1392,1 b	535,5 a	323,1 e	103,9 e	256,3 d	144,3 f	215,0 c	70,7 c	8,7 b	14,3 a	13,5 e	0,16 f	0,48 d	2,43 d
22	1708,4 a	601,1 a	441,6 d	129,8 d	331,0 a	197,5 a	217,7 c	20,2 h	8,7 b	13,4 a	14,2 e	0,18 f	0,38 e	2,36 d
23	1069,8 c	387,6 c	509,2 c	152,0 c	280,8 c	124,7 h	221,0 c	96,3 a	9,3 b	12,7 b	14,2 e	0,28 e	0,48 d	2,81 c
24	1523,5 a	530,0 a	294,4 e	95,4 e	310,0 b	193,7 a	217,7 c	24,0 h	10,3 b	13,0 b	14,7 e	0,15 f	0,37 e	2,43 d
25	1214,9 b	429,8 b	517,8 c	145,6 d	275,0 c	120,7 i	187,0 g	66,3 d	7,3 c	13,9 a	23,6 c	0,25 e	0,44 d	2,01 e
26	1242,1 b	451,0 b	465,9 d	136,1 d	239,2 d	122,2 h	197,7 f	74,2 c	7,0 c	13,9 a	24,7 c	0,23 e	0,39 e	2,03 e
27	1589,6 a	621,2 a	289,3 e	90,1 e	283,8 c	163,5 c	217,7 c	54,2 e	6,7 c	15,1 a	15,0 e	0,13 f	0,60 c	2,39 d
28	941,5 c	343,8 c	255,4 e	81,3 e	260,5 d	128,7 h	190,0 g	61,3 d	7,3 c	12,6 b	15,3 e	0,19 f	0,50 d	2,93 c
29	1647,9 a	479,6 b	603,1 c	172,2 c	299,7 b	160,5 d	215,0 c	54,5 e	9,0 b	14,4 a	13,5 e	0,26 e	0,44 d	1,95 e
30	1473,0 a	497,8 b	381,2 d	108,6 d	330,2 a	153,8 e	216,0 c	62,2 d	9,7 b	14,7 a	19,0 d	0,18 f	0,58 c	3,10 c
31	1325,0 b	445,0 b	590,0 c	169,4 c	269,2 d	182,2 b	219,0 c	36,8 g	8,7 b	13,8 a	13,5 e	0,28 e	0,53 c	1,98 e
32	1357,3 b	452,6 b	430,2 d	118,6 d	327,0 a	149,7 e	214,7 c	65,0 d	13,0 a	13,1 b	19,5 d	0,21 f	0,60 c	3,16 c
33	1154,7 b	414,6 b	1114,7 a	326,2 a	242,8 d	159,0 d	238,3 a	79,3 b	8,3 b	12,0 b	12,2 e	0,44 a	0,35 e	2,14 e
34	1505,1 a	618,9 a	524,9 c	162,2 c	300,5 b	127,5 h	221,7 c	94,2 a	10,7 b	14,0 a	20,2 c	0,21 f	0,55 c	2,62 d
35	1319,8 b	551,0 a	614,4 c	194,2 c	306,2 b	125,7 h	218,7 c	93,0 a	8,7 b	14,5 a	22,2 c	0,26 e	0,51 d	2,21 e
36	1202,2 b	410,5 b	598,1 c	177,6 c	247,2 d	147,0 f	232,3 a	85,3 b	14,7 a	10,3 c	13,5 e	0,30 d	0,54 c	4,30 a
37	1386,9 b	456,5 b	516,8 c	158,7 c	272,0 c	190,0 a	227,0 b	37,0 g	8,0 c	13,4 a	14,3 e	0,26 e	0,55 c	2,34 d
38	1288,0 b	413,2 b	576,1 c	174,9 c	249,5 d	155,7 d	213,7 c	58,0 e	12,0 a	12,9 b	12,3 e	0,30 d	0,45 d	2,37 d
39	868,9 d	315,4 c	816,6 b	255,8 b	243,2 d	169,7 c	216,3 c	46,7 f	15,3 a	8,9 d	10,8 e	0,45 a	0,47 d	2,57 d
40	899,4 d	317,3 c	672,7 c	219,3 b	282,5 c	128,0 h	203,7 e	75,7 c	5,0 c	13,0 b	22,0 c	0,40 b	0,52 d	2,70 d
41	611,0 d	190,6 d	283,1 e	81,9 e	254,2 d	101,7 l	174,3 i	72,7 c	5,0 c	12,2 b	21,8 c	0,30 d	0,66 b	2,65 d
42	788,7 d	262,5 d	194,3 e	58,2 e	289,0 c	107,0 k	168,3 i	61,3 d	4,3 c	14,7 a	26,3 c	0,18 f	0,75 a	3,05 c
43	1490,1 a	572,5 a	388,3 d	128,4 d	323,3 a	157,2 d	204,0 e	46,8 f	12,7 a	12,0 b	18,0 d	0,18 f	0,57 c	3,07 c
44	827,8 d	264,1 d	409,8 d	123,5 d	204,8 e	115,7 j	178,0 h	62,3 d	9,0 b	12,6 b	12,2 e	0,32 d	0,32 e	2,95 c
45	1148,4 b	412,0 b	484,1 d	152,1 c	262,5 d	108,5 k	187,0 g	78,5 c	9,3 b	13,4 a	16,3 d	0,27 e	0,48 d	2,53 d
46	907,2 d	329,9 c	507,8 c	163,9 c	256,7 d	160,2 d	233,3 a	73,2 c	5,0 c	14,0 a	10,7 e	0,33 d	0,42 e	2,43 d
47	746,7 d	259,4 d	247,5 e	76,4 e	241,2 d	107,3 k	180,7 h	73,3 c	9,3 b	11,3 c	15,7 d	0,23 e	0,33 e	3,13 c
48	687,2 d	258,3 d	248,8 e	78,1 e	231,2 d	102,8 l	186,7 g	83,8 b	6,0 c	12,6 b	16,0 d	0,23 e	0,31 e	3,47 b
49	843,1 d	293,1 d	594,0 c	187,1 c	245,8 d	123,3 h	213,3 c	90,0 a	6,3 c	12,2 b	16,5 d	0,39 b	0,58 c	2,45 d
50	807,8 d	297,0 d	643,6 c	201,0 c	245,3 d	120,3 i	203,7 e	83,3 b	7,0 c	12,9 b	14,5 e	0,40 b	0,61 c	2,57 d
51	1039,8 c	364,6 c	364,0 d	106,9 d	283,3 c	105,2 l	194,0 f	88,8 a	8,7 b	12,0 b	18,5 d	0,23 e	0,42 e	3,50 b
52	984,3 c	347,7 c	570,6 c	164,4 c	281,2 c	135,5 g	194,0 f	58,5 e	9,0 b	11,8 b	15,7 d	0,32 d	0,51 d	2,37 d
53	1165,2 b	372,3 c	403,6 d	117,7 d	313,0 b	152,5 e	202,7 e	50,2 f	10,3 b	12,5 b	15,5 d	0,24 e	0,38 e	2,86 c
54	1180,6 b	394,5 c	459,1 d	130,9 d	300,3 b	167,0 c	206,0 d	39,0 g	4,7 c	13,9 a	13,5 e	0,25 e	0,39 e	3,79 a
55	1013,8 c	360,4 c	447,0 d	124,1 d	301,7 b	178,0 b	206,0 d	28,0 h	4,7 c	13,7 a	15,0 e	0,26 e	0,41 e	3,46 b
56	1102,1 c	394,2 c	269,9 e	80,9 e	287,5 c	134,3 g	199,0 f	64,7 d	8,3 b	13,7 a	14,5 e	0,17 f	0,56 c	2,60 d
57	1429,0 a	527,1 a	437,2 d	127,6 d	298,3 b	146,5 f	196,3 f	49,8 f	7,3 c	14,4 a	13,7 e	0,19 f	0,60 c	1,90 e
58	1250,2 b	434,6 b	296,7 e	93,8 e	317,8 a	141,7 f	202,7 e	61,0 d	6,3 c	15,2 a	17,0 d	0,18 f	0,51 d	2,42 d
59	1188,7 b	431,4 b	302,8 e	95,9 e	295,5 c	143,5 f	197,7 f	54,2 e	7,7 c	13,1 b	13,8 e	0,18 f	0,40 e	2,63 d
60	1069,7 c	416,9 b	351,6 d	109,3 d	301,7 b	137,2 g	190,3 g	53,2 e	7,0 c	13,9 a	16,3 d	0,21 f	0,42 e	2,73 d
61	1002,5 c	358,9 c	277,7 e	85,3 e	256,7 d	158,8 d	203,3 e	44,5 f	5,7 c	12,5 b	12,5 e	0,19 f	0,48 d	3,43 b
62	1001,9 c	381,0 c	433,9 d	135,7 d	282,5 c	138,8 g	197,7 f	58,8 e	8,0 c	12,5 b	15,8 d	0,26 e	0,48 d	3,61 b
63	1028,5 c	384,3 c	311,4 e	91,2 e	307,5 b	127,2 h	198,7 f	71,5 c	7,3 c	12,5 b	17,0 d	0,19 f	0,43 d	3,07 c
64	1022,2 c	352,9 c	452,9 d	131,0 d	292,5 c	166,3 c	206,0 d	39,7 g	6,7 c	12,9 b	13,7 e	0,28 e	0,39 e	3,93 a
Md	1083,0	380,9	451,9	135,1	270,3	135,8	201,4	65,6	7,82	13,2	172,9	0,27	0,51	2,71
CV	15,0	15,16	18,34	18,63	5,93	2,69	2,18	8,14	23,0	8,32	13,02	11,66	9,35	11,41

Médias seguidas da mesma letra constituem um grupo homogêneo, pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade.

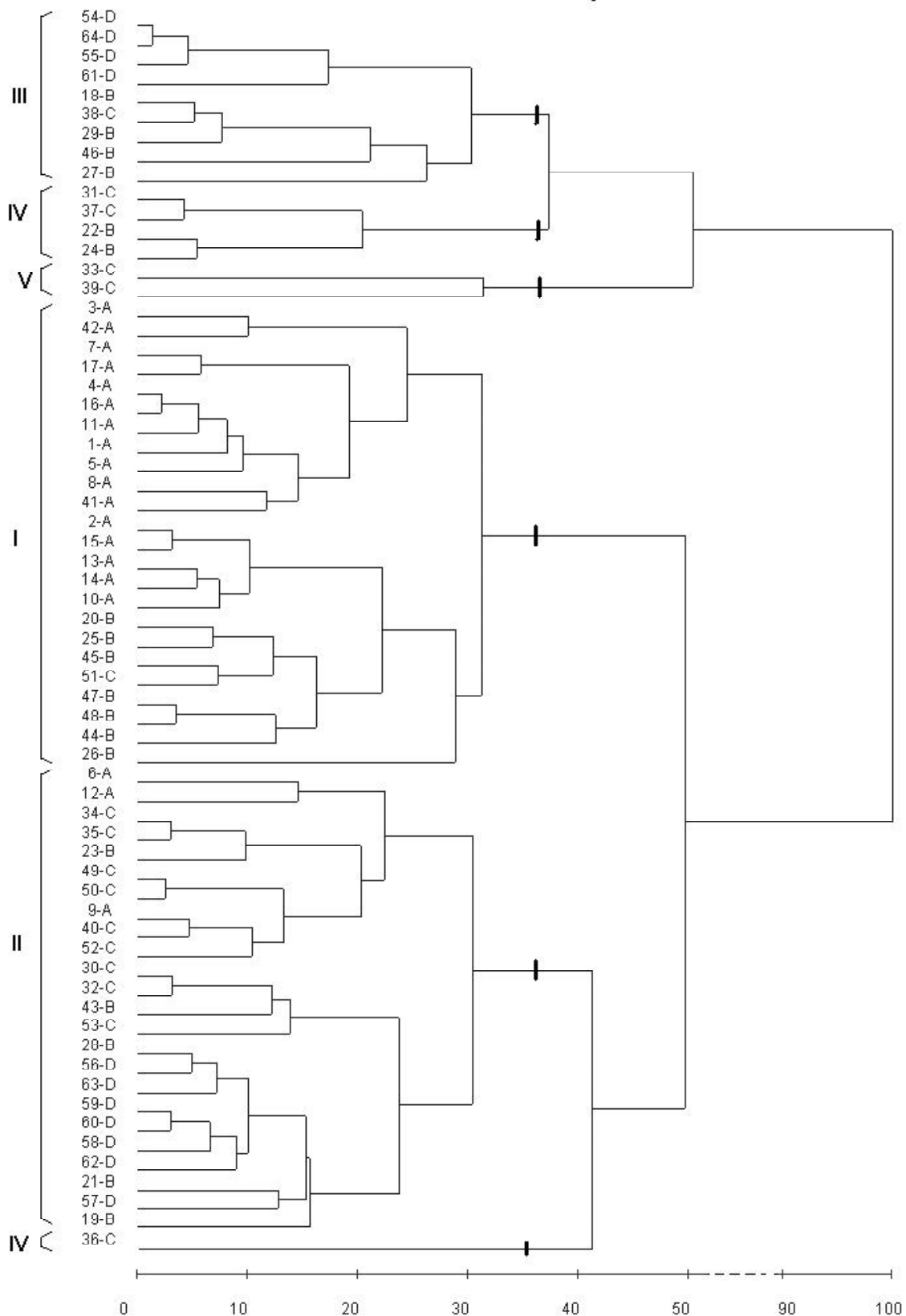


FIGURA 1. Dendrograma da análise de agrupamento pelo método hierárquico UPGMA, com base na matriz de dissimilaridade determinada pelas distâncias de Mahalanobis avaliados em 64 indivíduos de fáfia. Populações: A) população 1, rio Ivaí; B) população 2, Ilha do Mineiro; C) população 3, Baitaporã; e D) população 4, Vila Alta.

mecanismos favoráveis para a reprodução vegetativa.

Os resultados sugerem que a produção total de β -ecdisona pode ser favorecida nos acessos que apresentam longo período de área foliar durante o florescimento, enquanto a produção de raízes parece ser favorável com a redução do período de florescimento. Alguns estudos demonstram que o teor de 20E apresenta freqüentes variações em seus níveis de acúmulo durante seus estágios ou ciclos de crescimento celular. Corrêa Júnior (2003), avaliando o teor de 20E em quatro épocas de colheita (8, 10, 12 e 14 meses) de quatro acessos de fáfia cultivados em condições experimentais de campo, obteve maior média da concentração nas plantas colhidas aos 12 meses, e aos 14 meses houve redução no teor. Fillippova et al. (2003), avaliaram a produção de 20E em suspensão celular de *Serratula coronata* estabelecidas por sete anos e, observaram que num ciclo de crescimento (20 dias) ocorrem picos de aumento e redução na concentração de 20E desde a fase lag até a fase estacionária, sendo que os picos de queda foram menos acentuados na fase estacionária. No entanto, não houve aumento de 20E na fase estacionária, como é típico em metabólitos secundários (Ramachandra Rao & Ravishankar, 2002). Portanto, tais observações podem ser úteis nos estudos de sazonalidade, onde o acúmulo de 20E pode ser influenciado pela disponibilidade de reservas ou capacidade fotossintética dos genótipos com destacado potencial genético para produção do metabólito.

Correlação entre os caracteres morfológicos e produção de β -ecdisona

Valores significativos de correlações para teor 20E foram detectados em quatro caracteres (Tabela 5), no entanto foram de baixas magnitudes havendo poucos acessos que apresentaram correlação. Observaram-se considerável correlação significativa e negativa (-0,2678) entre os caracteres

número de dias para início da abertura da flor (AF) e teor 20E, onde algumas plantas com baixo AF tiveram aumento no acúmulo de 20E até a data da colheita. Também, foi observada correlação significativa e positiva (0,2226) entre 20E e intervalo da antese até a senescência de 90% da folhas (IAS), mostrando que houve pequena correlação no incremento do teor 20E com aumento do período de florescimento na presença de folhas. A correlação de 0,4199, detectada entre 20E x distância do entrenó (Tabela 5), indicou que indivíduos de caules mais alongados entre o 3º e o 4º entrenós, tiveram média correlação no aumento do teor de 20E. Os indivíduos de caules mais longos podem ter influenciado indiretamente com a modificação da arquitetura e distribuição as folhas. De modo geral, esses valores ainda são de pequena importância para recomendação de critérios visando à coleta e seleção de germoplasma para produção de 20E, sendo coerente considerar esses resultados como uma tendência do fenótipo para produção de 20E.

Das correlações significativas, o maior valor foi obtido entre matéria fresca da raiz (MFR) x matéria seca da raiz (MSR) (0,9757). A segunda correlação de maior valor foi observada entre os caracteres matéria fresca do caule (MFC) x matéria seca do caule (MSC) (0,9070). Esses resultados eram esperados uma vez que representam o mesmo órgão da planta, diferindo apenas no teor de umidade. Estes resultados indicam, portanto, que a metodologia foi adequada e as inferências sobre os resultados são específicas para os 64 acessos avaliados.

O caráter que apresentou, em média, maior correlação entre os caracteres avaliados foi o número de dias para atingir a senescência de 90% das folhas (S90). Esse resultado demonstra a importância da área foliar para o desenvolvimento da fáfia, que possivelmente está associada à fotossíntese e ao metabolismo das substâncias de reserva. Técnicas de cultivo que contribuem para ampliar o período de

TABELA 5. Correlação simples entre os caracteres contínuos calculados pelo coeficiente de correlação de Pearson, em 64 indivíduos de fáfia

	MFC	MSC	MFR	MSR	ALT	AF	S90	IAS	NC	DC	DE	IC	20E
MSC	0,907 **												
MFR	0,1071	0,1019											
MSR	0,1043	0,1243	0,9757 **										
ALT	0,5375 **	0,5498 **	-0,1250	-0,1144									
AF	0,5682 **	0,5264 **	0,1819 *	0,1870 **	0,4294 **								
S90	0,5317 **	0,5532 **	0,4417 **	0,4690 **	0,2728 **	0,7145 **							
IAS	-0,3257 **	-0,2468 **	0,1246 *	0,1601 *	-0,3625 **	-0,7723 **	-0,1076						
NC	0,3713 **	0,3450 **	0,1895 **	0,1870 **	-0,0137	0,2889 **	0,3651 **	-0,788					
DC	0,3567 **	0,3196 **	-0,1398	-0,1537 *	0,3228 **	0,0133	-0,0612	-0,751	-0,4708 **				
DE	-0,2230 **	-0,2043 **	-0,2516 **	-0,2652 **	0,0538	-0,5208 **	-0,4604 **	0,3209 **	-0,3394 **	0,2054 **			
IC	-0,4987 **	-0,5406 **	0,7275 **	0,7324 **	-0,4886 **	-0,1964 **	0,0111	0,2899 **	-0,0543	-0,3343 **	-0,0842		
20E	-0,0917	-0,0898	-0,1206	-0,1364	-0,0044	-0,2678 **	-0,1758 *	0,2226 **	-0,1307	0,1369	0,4199 **	-0,395	
RL	-0,2010 **	-0,1923 **	-0,2088 **	-0,2123 **	0,0763	-0,0818	-0,0799	0,0452	-0,0293	-0,2323 **	0,0089	-0,0723	-0,0424

(*) e (**) significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste t.

permanência da área foliar, como época de plantio, irrigação, luminosidade e adubação, dentre outras, podem favorecer os caracteres de maior correlação com S90.

A avaliação entre os 64 indivíduos estudados não demonstrou correlação significativa entre teor de 20E e produção de matéria seca da raiz (MSR) (Tabela 5), apesar de observar baixos valores de MSR nos indivíduos da população 1 (indivíduos 03, 12, 42 e 05) de maior produção de 20E (Tabela 4). A amplitude do teor de 20E oscilou entre 0,31 e 0,75%, sendo a média estimada em 0,51% (Tabela 4). Os indivíduos da população 1 apresentaram os maiores valores de 20E. Na produção de matéria seca da raiz foram encontrados valores entre 58,15 e 326,21 g planta⁻¹ aos 271 dias, sendo a média de 135 g, e os indivíduos mais produtivos foram os da população 3 (Tabela 4).

CONCLUSÃO

Os maiores valores de divergência genética foram encontrados entre indivíduos de diferentes populações, sendo que as populações do rio Ivaí e Vila Alta foram os mais divergentes. Os indivíduos do rio Ivaí, local de intenso extrativismo, demonstraram os maiores teores de β -ecdisona o que evidencia a importância da preservação dessa população. Os caracteres avaliados demonstraram significativa variação entre os indivíduos, no entanto, não foi possível observar dados que evidenciam a correlação entre a produção de β -ecdisona e caracteres morfológicos. Os baixos valores obtidos na análise de correlação de Pearson sugerem que o período de manutenção da área foliar durante a floração influencia no aumento do teor de β -ecdisona.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao CNPq, FAPEMIG, CAPES pelo apoio financeiro a projetos de pesquisa e à FESURV pela concessão de afastamento para realização do estudo.

REFERÊNCIA

ALVES, R.B.N. et al. Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] germplasm conservation. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.esp., p.1-4, 2006.
 ARAÚJO, D.G.; CARVALHO, S.P.; ALVES, R.M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.1, p.13-21, 2002.
 CORRÊA JÚNIOR, C. **Estudo agrônomo da fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen): sazonalidade na produção de raízes e conteúdos de β -ecdisona em diferentes indivíduos de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul**. 2003. 94p. Tese (Doutorado em

Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CORRÊA JÚNIOR, C. et al. **Fáfia - O ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen): aspectos agrônômicos e fitoquímicos**. Curitiba: Clichetec, 2006. 22p.

CRUSE-SANDERS, J.M.; HAMRICK J.L. Genetic diversity in harvested and protected populations of wild American ginseng, *Panax quinquefolius* L. (ARALIACEAE). **American Journal of Botany**, v.91, n.4, p.540-8, 2004.

CRUZ, C.D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 648p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Editora UFV, 1994. 390p.

DE-PARIS, F. et al. Psychopharmacological screening of *Pfaffia glomerata* Spreng (Amaranthaceae) in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, n.1, p.261-9, 2000.

DEVARENNE, T.P.; SEN-MICHAEL, B.; ADLER, J.H. Biosynthesis of ecdysteroids in *Zea mays*. **Phytochemistry**, v.41, n.4, p.1125-31, 1995.

DINAN, L. Phytoecdysteroids: biological aspects. **Phytochemistry**, v.57, n.3, p.325-39, 2001.

FESTUCCI-BUSELLI, R.A. et al. Biosynthesis and potential functions of the ecdysteroid 20-hydroxyecdysone - a review. **Botany**, v.86, p.978-87, 2008.

FILLIPPOVA, V.N.; ZORINYANTS, S.E.; VOLODINA, S.O. et al. Cell cultures of ecdysteroid-containing *Ajuga reptans* and *Serratula coronata* plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.50, n.4, p.501-8, 2003.

FU, C.; QIU, Y.; KONG, H. RAPD analysis for genetic diversity in *Changium smyrnioides* (Apiaceae), an endangered plant. **Botanical Bulletin of the Academia Sinica**, v.44, p.13-8, 2003.

GREBENOK, R.J.; ADLER, J.H. Ecdysteroids distribution during development of spinach. **Phytochemistry**, v.30, p.2905-10, 1991.

HOAREAU, L.; SILVA, E.J. Medicinal plants: a re-emerging health aid. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.2, n.2, p.56-70, 1999.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544p.

MARTINELLO, G.E. et al. Divergência genética em indivíduos de quiabeiro com base em marcadores morfológicos. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p.52-8, 2001.

MING, L.C.; CORRÊA JÚNIOR, C. Collection of Fáfia [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Acta Horticulturae**, v.57, p.259-62, 2002.

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

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-97, 1962.

OHYAMA, K. et al. Biosynthesis of 20-hydroxyecdysone in *Ajuga hairy* roots: fate of 6 α - and 6 β -hydrogens of lathosterol. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.7, n.12, p.2925-30, 1999.

RAMACHANDRA, R.S.; RAVISHANKAR, G.A. Plant cell

cultures: chemical factories of secondary metabolites.

Biotechnology Advances, v.20, n.2, p.101-53, 2002.

SHIOBARA, Y. et al. A nortriterpenoid, triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, v.32, n.6, p.1527-30, 1993.

SIQUEIRA, J.C. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia*. **Acta Biológica Leopoldensia**, v.10, n.2, p.269-78, 1998.

VICCINI, L.F. et al. Genetic diversity among species of *Lippia* (Verbenaceae) based on RAPD markers. **Plant Systematics and Evolution**, v.246, p.1-8, 2004.

VIGO, C.L.S.; NARITA, E.; MARQUES, L.C. Validação metodológica de quantificação espectrofotométrica das saponinas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen - Amaranthaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, supl. 2, p.46-9, 2003.