



**UFSM**

**Tese de Doutorado**

**NUTRIÇÃO MINERAL E TOXIDEZ DE CÁDMIO EM GINSENG  
BRASILEIRO**

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

---

**Etiane Caldeira Skrebsky**

**PPGA**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**NUTRIÇÃO MINERAL E TOXIDEZ DE CÁDMIO EM GINSENG  
BRASILEIRO**

*(Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen)*

---

**por**

**Etiane Caldeira Skrebsky**

Defesa do Curso de Doutorado do  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
Área de Concentração em Produção Vegetal, da  
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),  
como requisito para obtenção do grau de  
**Doutor em Agronomia**

**Orientador: Dr. Fernando Teixeira Nicoloso**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

Skrebsky, Etiane Caldeira, 1977-

S629n

Nutrição mineral e toxidez de cádmio em ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) / por Etiane Caldeira Skrebsky ; orientador Fernando Teixeira Nicoloso. – Santa Maria, 2007

209 f. ; il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2008.

1. Agronomia 2. Ginseng brasileiro 3. Nutrição mineral 4. Cádmio 5. Destoxificação I. Nicoloso, Fernando Teixeira, orient. II. Título

CDU: 631.81

Ficha catalográfica elaborada por  
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado

**NUTRIÇÃO MINERAL E TOXIDEZ DE CÁDMIO EM GINSENG  
BRASILEIRO (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen)**

elaborada por

**Etiane Caldeira Skrebsky**

Como requisito para obtenção do grau de

**Doutor em Agronomia**

**BANCA EXAMINADORA:**

**Dr. Fernando Teixeira Nicoloso – UFSM**

---

**Dr. Arthur Germano Fett Neto – UFRGS**

---

**Dr. Pedro Alexandre Varella Escosteguy – UPF**

---

**Dr. João Kaminski – UFSM**

---

**Dr. Maria Rosa Chitolina Schetinger – UFSM**

---

Santa Maria, 28 de dezembro de 2007.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado em Agronomia.

Ao Professor Fernando Teixeira Nicoloso pela orientação, paciência, amizade e principalmente às contribuições à minha formação profissional.

À minha família: meus pais (Teco e Fátima), minhas avós (Teia e Deda), minha irmã (Nicole), Tia Fabi, Werninho e Theo, pelo apoio e carinho em todos os momentos.

Ao meu marido (Homero) pelo constante apoio e amor.

Aos funcionários, João da Fitotecnia, Alberi do Jardim Botânico e Finamor do Departamento de Solos.

Aos professores e colegas do programa de pós-graduação pelo convívio e contribuição na elaboração da tese.

Aos colegas de Laboratório: Joseila Maldaner, Renata Rauber, Luciane Tabaldi, Gabriel Y Castro, Denise Cargnelutti, Jamile Gonçalves e Gládis Jucoski, pelo companheirismo, amizade e ajuda na elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos e a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

À Deus por ter me dado a vida e pela saúde na concretização de mais esta etapa

## SUMÁRIO

	Página
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	
<b>RESUMO</b> .....	
<b>ABSTRACT</b> .....	
INTRODUÇÃO GERAL .....	23
REVISÃO DE LITERATURA .....	26
2.1 <i>Pfaffia glomerata</i> .....	26
2.2 Nutrição mineral .....	31
2.3 Cádmiio .....	34
<b>CAPÍTULO 1: Nutrição mineral da <i>Pfaffia glomerata</i></b> .....	38
<b>Capítulo 1, Experimento 1</b> .....	39
<b>Capítulo 1, Experimento 1, Artigo nº1: Caracterização das exigências nutricionais de mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante.....</b>	40
RESUMO .....	41
ABSTRACT .....	42
INTRODUÇÃO .....	43
MATERIAIS E MÉTODOS .....	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
CONCLUSÕES .....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55

<b>Capítulo 1, Experimento 1, Artigo n°2: Teor de nutrientes em tecidos de <i>Pfaffia glomerata</i></b> (Spreng.) Pedersen cultivada em Argissolo Vermelho distrófico arênico.....	58
RESUMO .....	59
INTRODUÇÃO .....	60
MATERIAIS E MÉTODOS .....	61
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
CONCLUSÕES .....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72
<b>Capítulo 1, Experimento 2 .....</b>	<b>75</b>
<b>Capítulo 1, Experimento 2, Artigo n°1: Crescimento de mudas de ginseng brasileiro cultivadas</b> <b>em Argissolo Vermelho distrófico arênico sob diferentes níveis de adubação NPK</b> .....	<b>76</b>
RESUMO .....	77
INTRODUÇÃO .....	78
MATERIAIS E MÉTODOS .....	80
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	82
CONCLUSÕES .....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	93
<b>Capítulo 1, Experimento2, Artigo n°2: Teor de nutrientes em folhas de mudas de ginseng</b> <b>brasileiro cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico sob diferentes níveis de adubação</b> <b>NPK .....</b>	<b>97</b>
RESUMO .....	98
INTRODUÇÃO .....	99
MATERIAIS E MÉTODOS .....	101
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	103

CONCLUSÕES .....	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	117
<b>Capítulo 1, Experimento 3</b> .....	121
<b>Capítulo 1, Experimento 3, Artigo n° 1:</b> Efeito da adubação N-P-K no crescimento e teor de nutrientes minerais de plantas de <i>Pfaffia glomerata</i> cultivadas a campo .....	122
RESUMO.....	123
INTRODUÇÃO .....	124
MATERIAL E MÉTODOS .....	126
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	129
CONCLUSÕES .....	142
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	143
<b>Capítulo 2: Efeito do cádmio no crescimento e metabolismo da <i>Pfaffia glomerata</i></b> .....	147
<b>Capítulo 2, Experimento 4</b> .....	148
<b>Capítulo 2, Experimento 4, Artigo n°1:</b> Effect of cadmium on growth, micronutrient balance, and delta-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of <i>Pfaffia glomera</i> .....	149
ABSTRACT .....	150
INTRODUCTION .....	151
MATERIAL AND METHODS.....	153
RESULTS .....	156
DISCUSSION .....	162
REFERENCES .....	166
<b>Capítulo 2, Experimento 4, Artigo n°2:</b> Cadmium detoxification in <i>Pfaffia glomerata</i> plants: relationship between toxicity levels, catalase, ascorbate peroxidase, ascorbic acid, and non-protein thiol alterations .....	172



ABSTRACT .....	173
INTRODUCTION .....	174
MATERIAL AND METHODS.....	175
RESULTS .....	179
DISCUSSION .....	183
REFERENCES .....	186
CONCLUSÕES FINAIS .....	190
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	192
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS – INTRODUÇÃO .....	193
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS – REVISÃO DE LITERATURA .....	195
ANEXOS .....	202

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1, Experimento 1, Artigo n°1:

TABELA 1 - Resultados das análises químicas e físicas de uma amostra composta (15 repetições) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico do horizonte A, em condições de solo natural e após aplicação dos tratamentos de adubação aos 60 dias de cultivo com mudas de *Pfaffia glomerata*. UFSM, Santa Maria, 2006  
.....47

TABELA 2 - Número de folhas (n° fol), altura da maior brotação (alt), matéria seca de folhas (msF), matéria seca de caule (msC), matéria seca da parte aérea (msPA), matéria seca de raízes (msR) e matéria seca total da planta (msT) de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.....49

### Capítulo 1, Experimento 1, Artigo n°2:

TABELA 1 - Teores médios de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas no horizonte A de um Argissolo Vermelho distrófico arênico e submetidas a diferentes adubações. UFSM, Santa Maria, 2007.....65

TABELA 2 - Acumulação de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas no horizonte A de um Argissolo Vermelho distrófico arênico e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007.....67

## Capítulo 1, Experimento 2, Artigo n°1

TABELA 1 - Resultados das análises químicas e físicas de uma amostra composta (5 repetições) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico, horizonte A, em condições de solo natural e após aplicação dos tratamentos de adubação aos 60 dias de cultivo com mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> . UFSM, Santa Maria, 2006 .....	92
---	----

## Capítulo 1, Experimento 2, Artigo n°2

TABELA 1 - Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120 mg kg <sup>-1</sup> ) na concentração e acumulação de N, P, K, Ca e Mg, bem como na concentração e acumulação de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas da <i>Pfaffia glomerata</i> aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, RS.....	116
--	-----

## Capítulo 1, Experimento 3, Artigo n°1

TABELA 1 - Resultados das análises químicas e físicas de uma amostra simples de Argissolo Vermelho alítico típico da localidade do Jardim Botânico, horizonte A, cultivado com mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> , UFSM, Santa Maria, 2007.....	128
---	-----

TABELA 2 - Matéria seca de folhas (msF), matéria seca de caule (msC), matéria seca de raízes (msR), matéria seca da parte aérea (msPA), matéria seca total da planta (msT) e relação de matéria seca raiz/parte aérea (R/PA) de <i>Pfaffia glomerata</i> aos 16 meses de cultivo a campo .....	129
--	-----

TABELA 3 - Matéria seca de folhas (msF), matéria seca de caule (msC), matéria seca de raízes (msR), matéria seca da parte aérea (msPA), matéria seca total da planta (msT) e relação de matéria seca raiz/parte aérea (R/PA) de <i>Pfaffia glomerata</i> aos 6 meses de cultivo a campo .....	131
---	-----

TABELA 4 - Teores médios de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 16 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007 .....136

TABELA 5 - Teores médios de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 6 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007 .....138

TABELA 6 - Acumulação de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 16 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007 .....140

TABELA 7 - Acumulação de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 6 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007 .....142

## **Capítulo 2, Experimento 4, Artigo n°1:**

TABELA 1 - Zn, Mn, Fe and Cu contents in shoot and roots of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Means in columns for each plant tissue followed by the same letter are no significantly different ( $P < 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test .....159

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1, Experimento 1, Artigo n°1:

FIGURA 1 - (A) Crescimento relativo em matéria seca da parte aérea (msPA) e do sistema radicular (msR) de mudas de *Pfaffia glomerata* submetidas a diferentes tratamentos de adubação, como segue: Comp (adubação completa); -N (omissão de N); -P (omissão de P); -K (omissão de K); -Ca (omissão de Ca); -Mg (omissão de Mg); -S (omissão de S); -Micro (omissão de micronutrientes); e Controle (sem adubação). Tratamentos com médias não seguidas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro. Letras maiúsculas referem-se a msR e minúsculas a msPA. (B) Relação entre a matéria seca de raízes e da parte aérea de mudas de *Pfaffia glomerata*, submetidas a diferentes tratamentos de adubação aos 60 dias de cultivo .....52

### Capítulo 1, Experimento 2, Artigo n°1

FIGURA 1 - Efeito da adubação conjunta de NPK no número de folhas (a, b, c) e da adubação isolada de NPK na altura de plantas (d) aos 45 dias após o transplante (DAT) de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico .....83

FIGURA 2 - Efeito da adubação conjunta de NPK no número de folhas (a, b, c) e na altura de plantas (d, e, f) aos 60 dias após o transplante (DAT) de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico .....85

FIGURA 3 - Efeito da adubação conjunta de NPK na massa seca de raízes (a, b, c) e na massa seca de caule (d, e, f) aos 60 dias após o transplante (DAT) de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico .....86

FIGURA 4 - Efeito da adubação conjunta de NPK na massa seca de folhas (a, b, c) e na massa seca da parte aérea (d, e, f) aos 60 dias após o transplante (DAT) de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.....88

FIGURA 5 - Efeito da adubação conjunta de NPK na massa seca total (a, b, c) e no efeito da adubação isolada de N (d), bem como da adubação conjunta de PK (e) na relação de biomassa entre raiz e parte aérea aos 60 dias após o transplante (DAT) de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico .....89

### Capítulo 1, Experimento 2, Artigo n°2

FIGURA 1 - Efeito da adubação isolada de N e K no teor de N (a), da adubação de N na acumulação de N (b) e da adubação de N no teor de P (c), bem como da adubação conjunta de P e K no teor de P (d), na acumulação de P (e), e da interação da adubação N e K na acumulação de P (f) em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação.....104

FIGURA 2 - Efeito da adubação conjunta de N e K no teor de K (a) e na acumulação de K (b), bem como da adubação isolada de N e P no teor de Ca (c) e na acumulação de Ca (d) em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação .....105

FIGURA 3 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Mg (a, b, c), bem como da acumulação de Mg (d, e), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação .....106

FIGURA 4 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Zn (a, b, c), bem como da acumulação de Zn (d, e, f), em folhas de mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação .....	108
FIGURA 5 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Cu (a, b, c), bem como da acumulação de Cu (d, e, f), em folhas de mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação .....	110
FIGURA 6 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Mn (a, b, c), bem como da acumulação de Mn (d, e, f), em folhas de mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação .....	113
FIGURA 7 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Fe (a, b, c), bem como da acumulação de Fe (d, e, f), em folhas de mudas de <i>Pfaffia glomerata</i> aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação .....	115

## **Capítulo 2, Experimento 4, Artigo nº1:**

FIGURA 1 - Cadmium content in shoot (A) and roots (B) of <i>Pfaffia glomerata</i> plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test .....	156
FIGURA 2 - Number of leaves (A), length of sprouts (B), length of whole root system (C), root length/sprout length ratio (D) of <i>Pfaffia glomerata</i> plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test .....	157

FIGURA 3 - Shoot fresh weight (A), shoot dry weight (B), root dry weight (C), and whole plant dry weight (D) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test ..... 158

FIGURA 4 - Acid phosphatase activities in shoot and roots (A) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.....160

FIGURA 5 - ALA-D activity (A), chlorophyll content (B) and carotenoids content (C) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test. ....161

**Capítulo 2, Experimento 4, Artículo n°2:**

FIGURA 1 - Changes in shoot and root dry weight (A) and contents of hydrogen peroxide (B) and malondialdehyde (C) in the tissues of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test. ....180



FIGURA 2 - Changes in catalase activity in shoot and roots (A), and ascorbate peroxidase activity in shoot (B) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test. ....181

FIGURA 3 - Changes in content of non-protein thiol (A), and ascorbic acid (B) in shoot and roots of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.....182

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\mu\text{M}$	Micromolar
$\Delta E$	Delta de extinção
$\mu\text{mol}$	Micromol
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
ALA-D	Ácido delta aminolevulínico desidratase
alt	Altura da maior brotação
AP	Fosfatase ácida
APX	Ascorbato peroxidase
AsA	Ácido ascórbico
B	Boro
Ca	Cálcio
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Cloreto de Cálcio
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fosfato de cálcio dibásico
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT	Catalase
Cd	Cádmio
$\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Cloreto de Cádmio
$\text{CdHPO}_4$	Fosfato de cádmio
$\text{cmol}_c\text{L}^{-1}$	Centimol de carga por litro
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CQFS-RS/SC	Comissão de Química e de Fertilidade do Solo dos estados do RS e SC
Cr	Cromo
CR	Crescimento relativo
CTC	Capacidade de troca de cátions
Cu	Cobre
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de Cobre
CV	Coeficiente de variação
DAT	Dias após transplante
DMET	Dose de máxima eficiência técnica
DMSO	Dimethylsulfoxide
DNPH	Dinitrophenylhydrazine
DTT	Ditiotreitol
dw	Dry weight

EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
FAPERGS	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul
Fe	Ferro
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O-EDTA	Sulfato de Ferro
g Kg <sup>-1</sup>	Gramas por kilo
g planta <sup>-1</sup>	Gramas por planta
GSH	Glutathiona reduzida
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	Ácido molibídico
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Ácido bórico
HCl	Ácido clorídrico
HClO <sub>4</sub>	Ácido perclórico
Hg	Mercúrio
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Ácido fosfórico
K	Potássio
K <sub>2</sub> O	Óxido de potássio
KCl	Cloreto de potássio
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de potássio monobásico
KI	Iodeto de potássio
KNO <sub>3</sub>	Nitrato de potássio
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	Nitrato de cálcio
KPO <sub>4</sub>	Fosfato de potássio
M	Mol ou molar
MDA	Malondialdeído
Mg	Magnésio
mg kg <sup>-1</sup>	Miligramas por kilo
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Cloreto de magnésio
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de magnésio
Mn	Manganês
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	Cloreto de manganês
Mo	Molibdênio
MO	Matéria orgânica
MS	Murashige-Skoog

msC	Matéria seca de caule
msF	Matéria seca de folhas
msPA	Matéria seca da parte aérea
msR	Matéria seca de raízes
msT	Matéria seca total da planta
N	Nitrogênio
n° fol	Número de folhas
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de sódio monobásico
NaNO <sub>3</sub>	Nitrato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
NaSO <sub>4</sub>	Sulfato de sódio
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Íon amônio
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de amônio monobásico
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Nitrato de amônio
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrato
NPSH	Grupo tióis não protêicos
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
OH <sup>·</sup>	Radical hidroxil
P	Fósforo
Pb	Chumbo
PBG	Porfobilinogênio
PVP	Polivinilpirrolidona
R/PA	Quociente de matéria seca raiz/parte aérea
ROS	Espécies reativas de oxigênio
S	Enxofre
SD	Desvio padrão
SH	Grupos tióis
t ha <sup>-1</sup>	Tonelada por hectare
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Tricloroacetic acid
w/v	weight/volume
Zn	Zinco
ZnCl <sub>2</sub>	Cloreto de zinco
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de zinco

## RESUMO

Tese de Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Universidade Federal de Santa Maria

### NUTRIÇÃO MINERAL E TOXIDEZ DE CÁDMIO EM GINSENG BRASILEIRO

(*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen)

Autora: Etiane Caldeira Skrebsky

Orientador: Fernando Teixeira Nicoloso

A *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen, conhecida como ginseng brasileiro, tem sido utilizada na medicina popular em função de suas importantes qualidades medicinais. O estudo teve por objetivo caracterizar as necessidades nutricionais da *P. glomerata* (Capítulo 1), bem como avaliar a tolerância dessa planta a altos níveis de cádmio no substrato (Capítulo 2). Plantas de *P. glomerata* produzidas *in vitro* e aclimatizadas *ex vitro* foram usadas como material inicial. No estudo referente ao Capítulo 1, três experimentos foram realizados. No primeiro experimento, sob condições de casa de vegetação, plantas jovens de *P. glomerata* foram cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico com diferentes tratamentos de adubação: controle (sem adubação), adubação completa (com macro e micronutrientes) e as omissões individuais de N, P, K, Ca, Mg, S e dos micronutrientes (Zn, B, Cu, Fe, Mn e Mo). No segundo experimento, ainda em casa de vegetação, plantas foram submetidas a 27 tratamentos de adubação, em esquema trifatorial completo (3x3x3), representados pela combinação de três níveis (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação, utilizando o mesmo solo como substrato. No terceiro experimento, sob condições de cultivo a campo foram avaliados seis tratamentos constituídos da combinação de dois níveis (50 e 100 kg ha<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação, em duas épocas de cultivo, 16 e 6 meses, respectivamente. No experimento com a técnica do nutriente faltante, verificou-se que plantas jovens de *P. glomerata* apresentaram maior redução em biomassa, bem como nos teores de macro e micronutrientes, pela omissão de N, K, S e P. No segundo experimento, ainda em casa de vegetação, a produção de biomassa pelos diferentes órgãos da planta respondeu distintamente à interação tripla das adubações NPK, onde as doses de máxima eficiência técnica estimada com as adubações de N, P e K e a produção de biomassa total da planta, foram de, respectivamente, 60, 120 e 80 mg kg<sup>-1</sup>. No cultivo a campo, a adubação NPK afetou distintamente a produção de biomassa dos órgãos das plantas com 16 meses de cultivo.

Para uma maior acumulação de nutrientes minerais nos tecidos de *P. glomerata* e uma possível relação com o acúmulo de princípios ativos de interesse medicinal, as plantas devem ser coletadas após os 6 meses de cultivo a campo. No estudo referente ao Capítulo 2, um experimento foi realizado com plântulas de *Pfaffia glomerata* cultivadas sob sistema hidropônico, com cinco níveis de cádmio (Cd) (0, 20, 40, 60 e 80  $\mu\text{M}$ ), durante 7 dias. Essas plantas apresentaram aumento no conteúdo de Cd nas raízes e parte aérea. A biomassa total foi apenas reduzida significativamente a 80 $\mu\text{M}$  de Cd. A atividade da ALA-D (Ácido delta aminolevulínico desidratase) e da AP (fosfatase ácida) foram reduzidas com os níveis de Cd. A redução na atividade da ALA-D foi acompanhada pelo conteúdo de clorofila. Os antioxidantes enzimáticos, como a catalase e a ascorbato peroxidase, bem como antioxidantes não enzimáticos, como o ácido ascórbico e os grupos tióis não protéicos, tiveram um papel chave na destoxificação de efeitos induzidos pelo Cd nas raízes e parte aérea das plântulas de *P. glomerata*.

Palavras-chave: ginseng brasileiro, nutrição mineral, cádmio, destoxificação.

## ABSTRACT

Tese de Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Universidade Federal de Santa Maria

### MINERAL NUTRITION AND CADMIUM TOXICITY IN BRAZILIAN GINSENG

(*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen)

Autora: Etiane Caldeira Skrebsky

Orientador: Fernando Teixeira Nicoloso

*Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen, also known as Brazilian ginseng, has been used in popular medicine due to its important medicinal qualities. This study aims to characterize the nutrient needs of *P. glomerata*, (Chapter 1) as well as to assess the tolerance of this plant to high levels of cadmium in the substrate (Chapter 2). *P. glomerata* plants produced *in vitro* and acclimatized *ex vitro* were used as initial material. In Chapter 1, three (3) experiments are described. In the first experiment, under greenhouse conditions, young plants of *P. glomerata* were cultivated in Paleudalf soil with different treatments for fertilization: control (without fertilization), complete fertilization (with macro and micronutrients) and the individual omissions of N, P, K, Ca, Mg, S and micronutrients (Zn, B, Cu, Fe, Mn and Mo). In the second experiment, in greenhouse, the plants were submitted to twenty-seven (27) treatments of fertilization in complete trifactorial system (3x3x3), represented by a combination of three levels (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) of N, P and K in the fertilization, using the same soil as substrate. In the third experiment, under open field conditions, six (6) treatments involving the combination of two levels (50 e 100 kg ha<sup>-1</sup>) of N, P and K in the fertilization in two periods of cultivation, sixteen (16) and six (6) months, were evaluated respectively. It was observed in the fertilization in the experiment with the missing nutrient technique that the young plants of *P. glomerata* showed great decrease in biomass growth as well as in the macro and micronutrients by the omission of the nutrients N, K, S and P. In the second experiment, in greenhouse, the production of biomass by different organs of the plant responded differently to the triple interaction of NPK fertilizations, in which the dosages of maximum technical efficiency estimated (DMET) to the fertilizations of N, P and K in the production of total biomass of the plant were 60, 120 and 80 mg kg<sup>-1</sup> respectively. In the open field, the NPK fertilization affected the production of biomass of the organs of the plants in different ways in 16 months of cultivation. In order to have a greater accumulation of mineral

nutrients in the tissues of *P. glomerata* and a possible relation to the accumulation of active principles of medicinal interests, the plants should be collected after six (6) months of field cultivation. In the study described in Chapter 2, an experiment with seedlings of *Pfaffia glomerata* cultivated under the hydroponic system with five levels of cadmium (Cd) (0, 20, 40, 60 e 80  $\mu\text{m}$ ) was carried out during seven days. Those plants demonstrated an increase in the content of Cd in the roots and shoots. The total biomass was reduced significantly in 80  $\mu\text{M}$  of Cd. The activity of the ALA-D (delta-aminolevulinic acid dehydratase) and AP (acid phosphatase) was reduced with the levels of Cd. The reduction in the activity of ALA-D was accompanied by the content of chlorophyll. Enzymatic antioxidants, such as catalase and ascorbate peroxidase, as well as non-enzymatic antioxidants like ascorbic acid and non-protein thiol groups had an important role in the detoxification of effects induced by Cd in the roots and shoot of the seedlings of *P. glomerata*.

**Keywords:** Brazilian ginseng; mineral nutrition; cadmium; detoxification.



## INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo de plantas medicinais na América latina, particularmente no Brasil, atrai cada vez mais atenção do agronegócio. O atual interesse pela domesticação das espécies medicinais, a pressão sobre suas populações naturais ameaçadas por práticas extrativistas e a preocupação em manter o constante fornecimento da matéria-prima para a produção de fármacos, faz com que se torne necessário gerar conhecimentos, a fim de que se tornem um produto agrícola de qualidade (MONTANARI JR., 1999; POCA, 2005).

Uma das espécies promissoras na indústria de fitoterápicos é a *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. Suas raízes são de grande interesse comercial na forma de fitomedicamentos e suplementos alimentares, em razão de seu uso popular como antitumoral, antidiabético e às suas propriedades tônicas e estimulantes (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000; VIGO et al., 2004).

Muitas vezes a ocorrência espontânea de plantas nativas em condições ambientais precárias não se dá por preferência a estes lugares, mas porque são poucas as espécies que conseguem se adaptar a estas características (MONTANARI JR, 1999). Mesmo assim, elas precisam disponibilidades específicas de nutrientes, as quais estão condicionadas a velocidade de crescimento e a eficiência com que são convertidos em biomassa nas diferentes fases de crescimento (BARROS et al., 2000).

A produção de biomassa é considerada um parâmetro que melhor retrata o potencial de crescimento das plantas. Neste contexto, a adubação, através da complementação de nutrientes, poderá suprir as demandas de crescimento de uma planta. (ROBSOM & PITMANN, 1983). No caso das plantas medicinais, durante o processo de formação e acúmulo de biomassa, a avaliação dos elementos minerais requeridos pela planta é uma ferramenta que viabiliza conhecer as necessidades nutricionais e as possíveis relações com a biossíntese de metabólitos secundários (MARTINS et al., 1995; ABREU et al., 2002; POCA, 2005).

Como são escassos na literatura trabalhos sobre a nutrição mineral da *Pfaffia glomerata*, é de fundamental importância verificar a influência da adubação na produção de biomassa e na necessidade de nutrientes da planta, fornecida pelo solo e controlada pela adubação, para que se possam gerar ferramentas para futuras recomendações no programa de fertilização desta espécie, e conseqüentemente, avaliar o seu perfil fitoquímico em função das adubações.

A ciclagem biogeoquímica de metais pesados e o fluxo natural desses elementos na biosfera têm sido alterados, em função da crescente atividade de mineração e produção de resíduos industriais ricos em metais que contaminam o solo e demais componentes dos ecossistemas (ALLOWAY, 1993), com um óbvio impacto na saúde humana através da cadeia alimentar (HADJILIADIS, 1997). O cádmio é um dos mais importantes metais em termos de contaminação de alimentos por causa de sua mobilidade, sendo um elemento rapidamente capturado pelas raízes de diferentes espécies de plantas (JACKSON & ALLOWAY, 1990; LI et al., 1995).

Grandes esforços têm sido feitos visando à recuperação de solos contaminados com metais pesados, sendo uma das alternativas para isso o emprego de plantas acumuladoras, processo conhecido por fitoremediação (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). A fitoremediação apresenta grande potencial em relação aos métodos físico-químicos, oferecendo menor impacto ambiental e custos de implementação (SALT et al., 1998, SINGH et al., 2003). Para se obter sucesso com esse processo é necessário conhecer o potencial fitotóxico de elementos contaminantes, para as espécies vegetais com potencial para introdução em áreas contaminadas (SANITÀ di TOPPI & GABBRIELLI, 1999).

Existem evidências de que as plantas herbáceas possuem maior tolerância ao excesso de metais no solo do que as arbóreas (BAKER, 1987; ELTROP et al., 1991). Uma espécie do gênero *Pfaffia* apresentou um promissor potencial para emprego em programas de recuperação de áreas degradadas pela deposição de metais pesados no solo (CARNEIRO et al., 2002). De acordo com estes autores, as plantas exibiram alta tolerância a solos contaminados, mostrando um conteúdo de Cd superior ao valor mínimo de 100 mg kg<sup>-1</sup> para definir espécies hiperacumuladoras (BAKER, 1981), sendo este o primeiro relato de

espécie tropical considerada hiperacumuladora.

Na literatura há uma série de trabalhos sobre o estudo de plantas com potencial fitorremediador, porém a especificação de quais espécies realmente podem ser indicadas em programas de fitorremediação ainda são restritos.

## 1.1 OBJETIVOS

Capítulo 1:

- caracterizar as exigências nutricionais da *Pfaffia glomerata*, inicialmente pela técnica do nutriente faltante em Argissolo Vermelho distrófico arênico em condições de casa de vegetação;
- estabelecer os melhores níveis de adubação mineral com N, P e K para a produção de biomassa de *Pfaffia glomerata*, em casa de vegetação e a campo.

Capítulo 2:

- avaliar a tolerância de plantas de *Pfaffia glomerata* a doses crescentes de cádmio;
- caracterizar o efeito do Cd no metabolismo do estresse oxidativo de plantas de *Pfaffia glomerata*.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Pfaffia glomerata*

Nas últimas décadas o uso de plantas medicinais tem crescido de forma significativa no Brasil. Em 2003 o mercado de fitoterápicos no Brasil movimentou cerca de US\$ 400 milhões por ano. Estima-se que em 2007 os gastos mundiais com fitoterápicos tenham alcançado US\$ 47 bilhões (HERBARIUM, 2002; MEDICAMENTOS, 2005). Apesar de o Brasil ser rico em Biodiversidade, a conversão de plantas medicinais em fármacos está limitada pela dificuldade de se obter matéria-prima de qualidade para suprir a demanda requerida pela indústria farmacêutica. Além disso, a exploração predatória (extrativismo) e o desconhecimento das práticas de cultivo têm levado a reduções drásticas das populações naturais, culminando na perda de muitos metabólitos secundários ainda não estudados pela química e farmacologia. Aliado a isto, a grande maioria dos fármacos é importado ou produzido por empresas multinacionais (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000).

Uma das espécies bastante empregadas na indústria de fitoterápicos é a *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, pertencente à família Amaranthaceae. É conhecida como ginseng brasileiro devido ao formato de suas raízes, as quais são muito semelhantes às do ginseng coreano (*Panax ginseng* C.A. Meyer). As raízes de *P. glomerata* são de grande interesse comercial na forma de fitomedicamentos e suplementos alimentares, em razão de seu uso popular como antitumoral, antidiabético e às suas propriedades tônicas e estimulantes (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000; VIGO et al., 2004).

Em extratos de raízes de *P. glomerata*, vários metabólitos secundários foram identificados, tais como: ácido glomérico e ácido famérico, ecdisterona, rubrosterona, ácido oleanólico e oleanotato  $\beta$ -glicopiranosil (SHIOBARA et al., 1993; MONTANARI JR. et al., 1999). MICHIIHIRO et al. (1998), demonstraram que o extrato de raízes de *P. glomerata*, ministrado em hamsters machos, aumenta a taxa

de natalidade e espermatogênese, indicando com esses resultados a presença de atividade estênica nesta planta. NINANGI & MARUYAMA (1996) relatam que a maior parte das espécies de *Pfaffia* fornecem quantidades relativas de ecdisterona e seus análogos (ecdisteróides). A ecdisterona é um hormônio esteroidal precursor da ecdisona, hormônio indutor das mudas nos insetos (ecdises). Em *Pfaffia*, o ecdisteróide mais freqüente é a  $\beta$ -ecdisona (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>7</sub>) (NISHIMOTO et al., 1990), hoje caracterizada como o principal marcador químico da qualidade das raízes de *P. glomerata*. Há fortes evidências de que estes compostos, devido as suas características químicas, sejam os principais responsáveis pelas propriedades medicinais desta planta (SHIOBARA et al., 1993; MAGALHÃES, 2000), sendo encontrados predominantemente nas raízes. Entretanto, FLORES (2006), constatou em seus estudos que as partes aéreas das plantas de *P. glomerata* e *P. tuberosa* acumularam maior teor de  $\beta$ -ecdisona (cerca de 2x mais) do que as raízes.

A família Amaranthaceae possui cerca de 60 gêneros e 900 espécies distribuídas pelos trópicos, subtropicos e regiões temperadas da América, sendo que no Brasil os principais gêneros encontrados da família Amaranthaceae são: *Gomphrena*, *Hebanthe* e *Pfaffia* (SIQUEIRA, 1987).

O gênero *Pfaffia* possui cerca de 90 espécies distribuídas na América do Sul e Central (SMITH & DOWNS, 1972), e no Brasil tem como principal habitat às matas ciliares da região centro-oeste e a bacia do rio Paraná (MAGALHÃES, 2000), onde 27 espécies tem sido descritas (TANIGUCHI et al., 1997). As espécies conhecidas como ginseng brasileiro são *Pfaffia paniculata*, hoje classificada como *Hebanthe paniculata* (VIGO et al., 2006) e a *Pfaffia glomerata*, sinônimo de *Pfaffia iresinoides*. A espécie de ginseng brasileiro de maior importância é a *Pfaffia glomerata*, já que apresenta distribuição mais ampla em relação a *Hebanthe paniculata* e, conseqüentemente, maior predomínio de oferta (GUERREIRO, 2006).

Além de ginseng brasileiro, a *P. glomerata* é conhecida como corango-sempre-viva, corrente, ginseng do pantanal e paratudo (MAGALHÃES, 2000; HERBARIUM, 2002). É um arbusto perene que atinge 2 m de altura, possui caules eretos, roliços, estriado (VASCONCELOS, 1982), glabos e ocos quando adulto

(VIGO et al., 2004), com nós engrossados e entrenós com até 23 cm de comprimento. As folhas possuem pecíolos com até 2 cm de comprimento; lâmina com forma e tamanho variáveis. As inflorescências são muito ramificadas (VIGO et al., 2004), capitulares, paleáceas, branca amareladas. No inverno perdem as suas folhas (MONTANARI JR., 1999; CORRÊA JR et al., 2002). Os pedúnculos medem de 3 a 20 cm de comprimento, são pubescentes, simples, di ou tricotômicos, cimosos, com capítulos globosos menores que 8 mm de diâmetro e passando a espiciformes com flores inferiores, raque lanosa. As flores são perfeitas: hermafroditas. As sementes apresentam formato cordiforme, são verde-claras quando imaturas e marrom-acastanhado quando maduras, medem 1mm de diâmetro (VASCONCELOS, 1982). Os órgãos subterrâneos são de consistência tuberosa, na sua maior parte radical, ocorrendo uma parte caulinar de tamanhos variáveis (VASCONCELOS, 1982).

Toneladas de raízes dessa espécie são mensalmente destinadas ao mercado nacional e internacional. Em 1993, 30 toneladas de raízes de *Pfaffia glomerata* foram exportadas mensalmente para o Japão, provenientes da bacia do rio Paraná (PR) e do município de Mogi das Cruzes (SP). Estima-se que em 2002 foram extraídas 720 toneladas de raiz, resultando em 190 toneladas beneficiadas em pó (CORREA JR., 2003). Em 2005, o preço de raízes secas de *P. glomerata* pago pelo mercado atacadista de São Paulo situava-se entre R\$ 8,00 e 10,00/kg (MONTANARI JR., 2005). Já o preço do mercado internacional da  $\beta$ -ecdisona é US\$ 80,00/g (CORRÊA JR., 2003).

No Japão, esta espécie foi amplamente estudada sob o ponto de vista fitoquímico e farmacológico, porém toda a produção da biomassa de interesse provém do Brasil, por exigência das condições ecológicas à planta (MAGALHÃES, 2000).

A *P. glomerata* é uma espécie hidrófita, desenvolve-se parcial ou completamente sob a água, ou em solos úmidos; e heliófita, cresce melhor em plena luz solar, ocorrendo com frequência em mata ciliar, campos inundáveis à beira de rios e nas orlas das matas de galeria onde pode receber bastante luz (SMITH & DOWNS, 1972).

De acordo com MONTANARI JR. (1999), pode-se proceder ao plantio da *P. glomerata* no campo em

qualquer época do ano, mas procura-se evitar o final do outono e inverno para que as plantas ainda pequenas não fiquem expostas ao risco de geadas. De acordo com MAGALHÃES (2000) esta planta apresenta melhor desenvolvimento em regiões com temperaturas elevadas, sendo típica de clima tropical e subtropical úmido. As recomendações sobre a fertilização do solo para o cultivo da *P. glomerata* são escassas. Recentemente, GUERREIRO (2006) relatou que produção de fitomassa de plantas dessa espécie, cultivadas a campo, respondeu à adubação (30 a 45t ha<sup>-1</sup>) de esterco de galinha curtido, porém, o teor de β-ecdisona não sofreu influência da adubação e épocas de colheita. Esse mesmo autor observou que a acumulação de N, P e K em todas as partes da planta seguiu a mesma tendência da distribuição de fitomassa seca, sendo que esta se apresentou na seguinte ordem K>N>P; além disso, o menor acúmulo ocorreu nas raízes.

A ocorrência da *P. glomerata* é maior em solo arenoso e rico em matéria orgânica, apesar de desenvolver-se bem em solos argilosos (MAGALHÃES, 2000). Em caso de solos arenosos, uma aração e uma gradagem são suficientes para o plantio desta planta. MAGALHÃES (2000) recomenda que o plantio seja feito em cristas de leiras com o objetivo de facilitar a colheita, pois as raízes ficarão próximas à superfície. RIBEIRO & PEREIRA (1994), MONTANARI JR. et al. (1999; 2002) e CORRÊA JR. et al. (2002) recomendam o espaçamento de 1,0 m x 0,5 m para solos arenosos e de baixa fertilidade. Já em solos argilosos ou de boa fertilidade os espaçamentos de 1,5 m x 0,5 m ou 1,0 m x 1,0 m são mais recomendados (RIBEIRO & PEREIRA, 1999; CORRÊA JR. et al., 2002). A capina é recomendada, apesar do bom desenvolvimento em áreas onde há ocorrência de outras espécies; assim como a irrigação nos períodos muito secos (MONTANARI JR., 1999; CORRÊA JR. et al., 2002). Há indício de espécies de ferrugem encontrada no gênero *Pfaffia* (MATTOS, 1998), nematóides, principalmente em condições de sequeiro (MAGALHÃES, 2000), além do vírus do mosaico (MOTA, 2004).

Estudos sobre os teores de β-ecdisona em *P. glomerata*, demonstraram que a porcentagem deste princípio ativo não foi afetada pelo ciclo de cultivo nem pela densidade de plantio. Também se verificou, por meio de ensaios a campo, que o teor de β-ecdisona apresentou-se constante em plantas de um ano de

idade e manteve-se constante em plantas com dois e três anos de idade (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999). Em trabalhos realizados por FIGUEIREDO et al. (2004) e MAGALHÃES (2000), verificou-se que o teor de  $\beta$ -ecdisona foi variável entre as plantas. Segundo estes autores a variação deste princípio ativo se deve ao fato das plantas terem sido obtidas por populações próximas do estado selvagem, ou seja, em função da variabilidade genética.

Em condições de viveiro e sob ambiente controlado, foi verificado que a propagação de *Pfaffia glomerata* via estaquia é viável. Contudo o número de mudas obtido foi bastante reduzido em função da pequena disponibilidade de estacas (média de 30) de ramos/planta de dois anos de idade (NICOLOSO et al., 2001). Estes mesmos autores desenvolveram um protocolo para a micropropagação da espécie onde, a partir de um segmento nodal, obtiveram 15.000 plantas em seis meses. Portanto a micropropagação parece ser uma alternativa viável, pois permite a obtenção de um grande número de plantas com autenticidade varietal em qualquer época do ano (NAGAO et al., 1994). Além disso, a padronização da matéria prima viabiliza a obtenção dos medicamentos permitindo a utilização dos benefícios terapêuticos de forma mais ampla (MAGALHÃES, 2000). Estudos realizados com aclimatização da *Pfaffia glomerta* cultivada *in vitro*, indicaram que esta planta obteve um excelente índice de aclimatização, encontrando-se estabelecida em condições de campo em um período de apenas cinco semanas (SKREBSKY et al., 2004).

Várias pesquisas já foram realizadas no intuito de desenvolver protocolos eficientes de micropropagação para essa espécie (NICOLOSO et al., 2001; NICOLOSO et al., 2003; SKREBSKY et al., 2004; SKREBSKY et al., 2006; MALDANER et al., 2007). Além da propagação vegetativa por estacas ou cultura de tecidos, a *P. glomerata* produz sementes férteis, com poder germinativo entre 50 e 77%, desenvolvendo raízes pivotantes e mais grossas, comparadas com raízes propagadas vegetativamente, onde o sistema radicular é fasciculado. A melhor aceitação comercial é para as raízes grossas, porém plantas propagadas por sementes promovem certa variabilidade genética. De acordo com MOTA et al. (2004), a propagação por sementes é uma maneira de evitar a transmissão do vírus do mosaico da *Pfaffia*, um recente vírus estudado por este autor.



O cultivo de plantas medicinais em nível comercial pode proporcionar a diversificação de renda a pequenos produtores. Entretanto, para a inclusão da *P. glomerata* como mais uma opção do agro-negócio é importante estudar os fatores que afetam o desempenho dessa espécie nos distintos sistemas de cultivo a serem empregados.

## 2.1 Nutrição Mineral

De acordo com EPSTEIM & BLOOM (2006), os nutrientes minerais considerados essenciais às plantas são classificados em:

- Nutrientes que são elementos integrais de compostos carbônicos, como o nitrogênio (N) e o enxofre (S), constituintes de aminoácidos, formadores de proteínas;
- Nutriente essencial para a aquisição e utilização de energia e para o genoma, o fósforo (P), constituinte da molécula do ATP;
- Nutrientes estruturalmente associados com a parede celular, como o cálcio (Ca), boro (B) e silício (Si), elementos que dão estabilidade e rigidez a parede celular, além do cálcio ser um importante mensageiro secundário;
- Nutrientes que são constituintes integrais de enzimas ou outros compostos essenciais ao metabolismo, como o magnésio (Mg) constituinte da molécula da clorofila, o ferro (Fe) constituinte de importantes proteínas como a leghemoglobina, catalase e ferredoxina, o cobre (Cu) que juntamente com o zinco (Zn), fazem parte da enzima superóxido dismutase, o manganês (Mn), responsável pela quebra da molécula de água, juntamente com o cloro (Cl), o níquel (Ni), constituinte da enzima urease e o molibdênio (Mo), que faz parte das enzimas nitrato redutase e nitrogenase;
- Nutrientes que ativam/controlam a atividade enzimática, como o potássio (K), que estabelece o turgor das células, além de estar envolvido na abertura e fechamento dos estômatos junto com o Cl, o

sódio (Na), particularmente importante para espécies do metabolismo  $C_4$  e CAM, além dos elementos citados anteriormente como Mg, Ca, Mn, Fe, Zn e Cu.

Levando-se em conta que o objetivo principal do cultivo das plantas medicinais é a obtenção de metabólitos secundários em quantidade desejada, faz-se necessário estudar os fatores que influenciam os mecanismos de biossíntese desses compostos. Dentre os fatores que podem interferir na composição química da planta, a nutrição merece destaque, pois a deficiência ou o excesso de nutrientes pode interferir na produção de biomassa, bem como na quantidade de princípio ativo (ABREU et al., 2002; MAPELI et al., 2005).

O conhecimento de limitações do solo e das exigências nutricionais das espécies vegetais a serem cultivadas é essencial ao agro-negócio. O uso da técnica do nutriente faltante - diagnose por subtração é uma alternativa adequada à iniciação do estudo da resposta das culturas aos nutrientes e pode ser conduzida em condições de casa de vegetação com diferentes substratos e formas de reposição dos nutrientes (MALAVOLTA, 1980; RENO et al., 1997; NICOLOSO et al., 1999; VENTURIN et al., 1999; MOREIRA et al.; 2000; ASSIS et al., 2001; BATISTA et al., 2003; MARQUES et al., 2004; VIÉGAS et al., 2004a, b). De acordo com VIÉGAS et al. (2004a), através dessa técnica de diagnose é possível determinar quais são os nutrientes limitantes ao crescimento e ao estado nutricional das plantas em qualquer tipo de solo. Segundo MALAVOLTA (1980), o método serve para avaliar a fertilidade do solo e, ao mesmo tempo, pode fornecer uma idéia semiquantitativa da necessidade de adubos.

As diferentes características do crescimento das espécies vegetais, bem como de suas exigências nutricionais, são fatores que podem explicar os diferentes comportamentos das plantas quanto à utilização de recomendações de calcário e fertilizantes, baseadas em resultados experimentais médios obtidos em distintas condições de solo e ambientais. A necessidade da determinação de níveis críticos de um nutriente para cada espécie vegetal ou grupos de espécies afins, fundamenta-se não apenas em suas exigências nutricionais variáveis, mas também nas suas diferentes capacidades de absorção e/ou utilização do nutriente (BARROS & NOVAIS, 1990; MARSCHNER, 2002).

O suprimento inadequado de nutrientes seja por falta ou excesso, pode provocar restrições ao crescimento das plantas e alterar relações entre biomassa aérea e radicular, bem como promover alterações entre estádios vegetativos e reprodutivos (BALIGAR & FAGERIA, 1997; BOVI et al., 2002; MARSCHNER, 2002). De maneira geral, a fertilização dos substratos de cultivo não são prejudiciais à síntese e acumulação dos princípios ativos das plantas, quando usados dentro dos limites técnicos. Os aumentos de biomassa podem compensar uma redução do teor de fitofármacos, mas dependem da análise econômica, que deve ser feita em cada situação (CORRÊA JR. et al., 1991; BLANK et al., 2006).

Em razão do crescente requerimento da quantidade de plantas medicinais pelo mercado, a complementação da adubação para se obter uma melhor concentração de princípios ativos vem tornando-se uma necessidade (CORRÊA JR., 1994; MENDONÇA, 1999). De um modo geral, o N tem maior utilização por sua relação estreita com a produção de biomassa, devido a sua função como componente essencial do protoplasma e das enzimas vitais da planta. O P pode influenciar no teor de alcalóides e demais princípios ativos da planta (MARSCHNER, 2002; TAIZ & ZEIGER, 2004). O K exerce influência no rendimento de óleos essenciais e no aumento de biomassa das plantas (RAMOS et al., 2005). De um modo geral a adubação NPK aumenta a biomassa dos órgãos da planta, tendendo a produzir maior teor de princípios ativos (MING, 1994), entretanto, nem sempre a adubação altera o princípio ativo das plantas.

Em plantas de insulina (*Cissus sicyoides*), a produção de mucilagem respondeu positivamente ao aumento da concentração de N e P (ABREU et al., 2002), enquanto as concentrações de P influenciaram de forma positiva a produção de óleo essencial em menta (*Mentha piperita* L.) (RODRIGUES et al., 2004). Já RAMOS et al. (2005) não verificaram influência da adubação no teor de óleo essencial em plantas de menta. Ainda, a adubação com N e P não influenciou na produção de óleo essencial nos capítulos florais de camomila (*Chamomilla recutita*) (MAPELI, 2005).

O efeito da aplicação de adubos orgânicos sobre a produção de plantas medicinais é amplamente discutido na literatura (PRAKASA RAO et al., 1989; MARTINS et al., 1994; CORRÊA JR, 1994;

SARTÓRIO et al., 2000; CHAVES et al., 2002), sendo que, praticamente, todos os autores têm sido unânimes quanto aos benefícios do seu emprego. Com relação à adubação mineral, essa situação não é diferente, principalmente para os macronutrientes N, P e K (YADAV et al., 1984; SINGH et al., 1992; RODRIGUES et al., 2004; OLIVEIRA JR et al., 2005). CORRÊA JR (1994) sugere que se faça a complementação da adubação orgânica com fertilizantes minerais, já que a demanda de plantas medicinais pelo mercado é crescente. Entretanto, o conhecimento sobre a nutrição mineral e recomendação de adubações para plantas medicinais, têm se apoiado, geralmente, no empirismo ou em recomendações de outras espécies de plantas (CAMARGO, 2004), resultando na aplicação de quantidade insuficiente ou excessiva de adubos e, portanto, numa nutrição desbalanceada. Aliado a este fator, as espécies vegetais apresentam diferenças em relação à demanda e época de maiores exigências por nutrientes. Portanto, a quantidade e a proporcionalidade de macro e micronutrientes requeridos representam um importante componente no estudo da fertilização dos solos para o cultivo de plantas medicinais (GRANGEIRO & CECÍLIO FILHO, 2004).

### **2.3 Cádmi**

A poluição ambiental por metais pesados tem aumentado no ambiente nas duas últimas décadas (ALLOWAY, 1993), principalmente, devido às ações antropogênicas, como a mineração, atividades industriais e uso de fertilizantes (CASTILLO, 1992), sendo que as rochas fosfatadas são as maiores contaminação com cádmio (Cd) em solos agrícolas (ALLOWAY & STEINNES, 1999; ZHU et al., 1999; MANN et al., 2002).

O Cd é um dos mais importantes metais em termos de contaminação de alimentos por causa de sua mobilidade, sendo um elemento rapidamente absorvido pelas raízes (JACKSON E ALLOWAY, 1990; LI et al., 1995) e translocado para diferentes partes das plantas, com óbvio impacto na saúde humana através da cadeia alimentar (HADJILIADIS, 1997).

Esse metal pesado não essencial às plantas, pode ser fitotóxico em altas concentrações. A concentração de Cd em solos não contaminados é usualmente abaixo de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ , mas pode alcançar acima de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  dependendo da constituição do solo (WANG et al., 2007). Fatores como o pH do solo e o conteúdo de matéria orgânica influenciam fortemente na disponibilidade de Cd (SAUVE et al., 2000).

A elevada presença de Cd nas plantas pode diminuir o crescimento; reduzir a fotossíntese, respiração e transpiração; provocar alterações enzimáticas e metabólicas, bem como, interferir na nutrição das plantas, dificultando a absorção e translocação de elementos essenciais (GALLEGO et al., 1996; KUMAR e DUBEY, 1999; QUARITI et al., 1997; BOUSSAMA et al., 1999; VERMA & DUBEY, 2001; JIANG et al., 2004; DONG et al., 2006).

A principal causa de toxidez por Cd parece ser por causa da sua combinação com grupos tiólicos (-SH) e carboxilas de enzimas e proteínas, modificando sua estrutura e funções, provocando desarranjos no metabolismo vegetal. Eles competem com outros cátions divalentes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  substituindo estes em seus papéis fisiológicos (PAUZA et al., 2005; TABALDI et al., 2007).

Sabe-se que a exposição das plantas a metais induz estresse oxidativo (SHAH et al., 2001; SCHÜTZENDÜBEL et al., 2002). Os metais estão envolvidos em vários tipos de mecanismos que geram espécies reativas de oxigênio (ERO). ERO são formas parcialmente reduzidas de oxigênio atmosférico. Ocorrem naturalmente nos organismos aeróbicos, são gerados durante processos metabólicos normais, como a respiração e a fotossíntese, mas tornam-se extremamente tóxicos quando ocorre um desequilíbrio entre o sistema antioxidante e a produção destas espécies.

Em contraste a metais pesados como o Fe e o Cu que podem ser tóxicos por sua participação em ciclos redox, o Cd é um metal não redox, incapaz de participar de reações do tipo Fenton e Haber-Weiss (CLIJSTERS et al., 1999; SANITÁ DI TÓPI & GABBRIELLI, 1999). Embora Cd não gere diretamente ERO, como o ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ), ele gera estresse pela interferência com o sistema de defesa antioxidante (MILONE et al., 2003), disruptura da cadeia de transporte de elétrons e peroxidação de lipídeos de membrana (MILONE et al., 2003; MISHRA et al., 2006).

Os mecanismos de destoxificação de Cd nas plantas incluem a imobilização do elemento à nível de parede celular; exclusão e/ou diminuição do transporte através da membrana; a compartimentalização em estruturas sub-celulares e a formação de peptídeos quelantes, ricos em cisteínas, como as fitoquelatinas e as metalotioneínas, que auxiliam direta ou indiretamente na acumulação de metais pelas plantas. Ainda as plantas contam com a produção de um sistema antioxidante (GADAPATI & MACFIE, 2006). O sistema antioxidativo é composto por enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidases (APX), bem como por antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular como ácido ascórbico (AsA), glutathione (GSH) e carotenóides, os quais removem diferentes tipos de ERO (HEGEDÜS, 2001).

A SOD (E.C.1.15.1.1) esta localizada em vários compartimentos celulares e converte radicais superóxido gerados nas plantas em peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio por ser menos reativo, pode ser degradado por várias enzimas do sistema antioxidante como a catalase ou pelo ciclo da ascorbato glutathione (SALIN, 1987; DIXIT, 2001). Catalases (E.C.1.11.1.6) estão localizadas no peroxissomo/glioxissomo e removem o  $H_2O_2$  gerados durante a fotorrespiração e oxidação de ácidos graxos (SALIN, 1987; ASADA, 1992; WILLENKS et al., 1997). Peroxidases (E.C.1.11.1.7) participam da biossíntese da lignina e convertem  $H_2O_2$  em  $H_2O$ . Ascorbato peroxidase (APX) (E.C.1.11.1.11) é primariamente localizada no cloroplasto e citosol, e é a enzima chave do ciclo ascorbato, eliminando peróxido pela conversão de ácido acórbico em deidroascorbato (SALIN, 1987; ASADA, 1992).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos, o ácido ascórbico consegue remover o ânion superóxido, oxigênio singleto e o radical hidroxila, enquanto que os carotenóides eliminam o oxigênio singleto. A glutathione reduzida é precursora das fitoquelatinas, além de regenerar outro poderoso antioxidante, o ácido ascórbico no ciclo da ascorbato-glutathione (NOCTOR & FOYER, 1998; POTTERS et al., 2002; GADAPATI & MACFIE, 2006).

Os metais pesados podem também alterar a atividade de metaloenzimas como as fosfatases ácidas e o ácido  $\delta$ -aminolevulínico desidratase (ALA-D). Fosfatases ácidas catalizam, de forma não específica, a hidrólise de uma variedade de ésteres de fosfato em um ambiente ácido (DE-KUNDU & BANERJEE, 1990). A hidrólise de ésteres de fosfato é um importante processo no metabolismo de energia, regulação

metabólica e de uma ampla variedade de caminhos de transdução de sinal em plantas (VINCENT et al., 1992). Essas enzimas são responsáveis pela manutenção do nível de fósforo nas plantas (DUFF et al., 1994).

A ALA-D é sensível aos metais devido sua natureza sulfidrídica (ROCHA et al., 1995; PEREIRA et al., 2006) e cataliza a condensação assimétrica de 2 moléculas de ácido  $\delta$ -aminolevulínico para porfobilinogênio. A síntese de porfobilinogênio promove a formação de porfirina, hemes e clorofilas, as quais são essenciais para um adequado metabolismo aeróbico e para a fotossíntese (WARREN et al., 1998; JAFFE et al., 2000). Além disso, alteração da atividade da ALA-D concomitante com a redução do conteúdo de clorofila tem sido reportado em muitas plantas terrestres expostas a vários metais (STOBART et al., 1985; PEREIRA et al., 2006).

Dentre as várias formas de contaminação do meio ambiente resultante das diversas atividades industriais e agrícolas, a contaminação com metais pesados tem sido uma das que tem trazido mais preocupação. Ambientes contaminados com metais pesados necessitam ser recuperados e/ou utilizados de alguma forma, sendo, portanto, necessário conhecer quais espécies vegetais são capazes de desenvolverem-se em tais ambientes (SANITÁ DI TOPPI & GABBRIELLI, 1999). Neste contexto, a fitoremediação é, entre os métodos de recuperação de solos contaminados por metais pesados, a forma mais prática e barata de promovê-la.

Há, portanto, grande interesse em encontrar plantas com potencial para a fitoremediação. Uma espécie do gênero *Pfaffia* apresentou um promissor potencial para emprego em programas de recuperação de áreas degradadas pela deposição de metais pesados no solo (CARNEIRO et al., 2002). De acordo com estes autores, as plantas exibiram alta tolerância a solos contaminados, mostrando um conteúdo de Cd superior ao valor mínimo de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  para definir espécies hiperacumuladoras (BAKER, 1981), sendo este o primeiro relato de espécie tropical considerada hiperacumuladora.

# Capítulo 1

Nutrição mineral da *Pfaffia glomerata*



# Capítulo 1

## Experimento 1

Uma nutrição considerada adequada permite a planta mostrar todo seu potencial produtivo, sem sintomas de deficiências nutricionais, de modo que ela consegue completar normalmente todos os estádios fenológicos, bem como apresentar nos seus tecidos os teores de macro e micronutrientes em quantidades adequadas.

A *Pfaffia glomerata* é uma planta de grande interesse econômico por apresentar uma série de compostos ativos medicinais em sua constituição, entretanto, as limitações de dados de literatura sobre suas exigências nutricionais são evidentes. Por este motivo, o estudo teve por objetivo caracterizar a resposta dessa espécie à adubação mineral, inicialmente pelo emprego da técnica do nutriente faltante, utilizando o Argissolo Vermelho distrófico arênico como substrato. Este estudo foi conduzido em casa de vegetação, em condições climáticas parcialmente controladas e por um período de tempo determinado.

O emprego da técnica do nutriente faltante aliada a condições de casa de vegetação possibilita que condições climáticas adversas sejam minimizadas no estudo da resposta das culturas aos nutrientes. Nestas condições, há um melhor controle dos fatores de produção, particularmente, a administração de água e nutrientes, fatores considerados determinantes no estudo das necessidades nutricionais.

Os resultados deste estudo inicial foram divididos em dois artigos, onde o primeiro apresenta o efeito da adubação mineral no crescimento das plantas e o segundo, relaciona o efeito da adubação mineral na absorção e acumulação de nutrientes nos diferentes órgãos da planta de *Pfaffia glomerata*.

## **Capítulo 1, Experimento 1, Artigo n°1**

Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante.

**Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho  
distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante**

(Aceito para publicação na Revista Ciência Rural, v.34, n.4, 2008).

**Characterization of the nutritional demands of young plants of *Pfaffia glomerata* in a Paleudalf soil  
by means of the missing nutrient technique**

**Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1</sup> Fernando Teixeira Nicoloso<sup>2,1</sup> Joseila Maldaner<sup>1</sup> Renata Rauber<sup>3</sup>  
Gabriel Y Castro<sup>4</sup> Gládis de Oliveira Jucoski<sup>1</sup> Danilo Rhenheimer dos Santos<sup>5</sup>**

**RESUMO**

Este trabalho teve por objetivo caracterizar as exigências nutricionais de mudas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. Plantas de *P. glomerata* produzidas *in vitro* e aclimatizadas *ex vitro* foram usadas como material inicial para o experimento em casa de vegetação. Aos 10 dias após o transplante para o solo, através de soluções nutritivas, foram realizadas as adubações correspondentes a nove tratamentos: controle (sem adubação), adubação completa (com macro e micronutrientes) e as omissões individuais de N, P, K, Ca, Mg, S e dos micronutrientes (Zn, B, Cu, Fe, Mn e Mo). Aos 60 dias de cultivo, avaliaram-se os parâmetros de crescimento das plantas. O número de folhas por planta foi o parâmetro de crescimento mais afetado pela ausência dos nutrientes N, K, S e P na adubação. O efeito da omissão dos nutrientes na adubação foi diferenciado quanto à partição de biomassa entre os órgãos da planta. A biomassa acumulada pela parte aérea obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente:

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, UFSM, Campus Universitário, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: [fnicoloso@yahoo.com](mailto:fnicoloso@yahoo.com). Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Curso de Engenharia Florestal, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>4</sup> Curso de Agronomia, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>5</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo, Departamento de Solos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

Mg  $\cong$  micronutrientes > Ca  $\cong$  adubação completa > P > S > K > N  $\cong$  controle. Já a biomassa radicular, obedeceu à seguinte ordem decrescente: Mg  $\cong$  adubação completa  $\geq$  P  $\geq$  micronutrientes  $\geq$  S  $\geq$  Ca > N > K  $\cong$  controle. Plantas jovens de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico apresentaram grande redução no crescimento pela ausência de N, K, S e P na adubação. As omissões de Mg e dos micronutrientes na adubação não foram limitantes para o crescimento das plantas jovens.

**Palavras-chave:** ginseng brasileiro, nutrição mineral, omissão de nutrientes, adubação mineral, Amaranthaceae.

## ABSTRACT

This study aimed at characterizing the nutritional demands of the young plants of Brazilian ginseng (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) in a Paleudalf soil by means of the missing nutrient technique. Plantlets of *P. glomerata* produced *in vitro* and acclimatized *ex vitro* were used as start material for the glasshouse experiment. Ten days after plant transfer to soil, fertilizations (by means of nutritive solutions) were done corresponding to nine treatments: control (without fertilization), complete fertilization (with macro and micronutrients), and with the omissions of N, P, K, Ca, Mg, S and micronutrients (Zn, B, Cu, Fe, Mn and Mo). At 60 days of cultivation, several growth parameters were evaluated. The number of leaves per plant was the growth parameter most affected by omission of N, K, S and P in the fertilization. The effects of nutrient omission on biomass partitioning between plant organs were differentiated. Accumulated shoot biomass obeyed the following decreasing order, in relation to nutrient omission: Mg  $\cong$  micronutrients > Ca  $\cong$  complete fertilization > P > S > K > N  $\cong$  control. Root biomass obeyed the following decreasing order: Mg  $\cong$  complete fertilization  $\geq$  P  $\geq$  micronutrients  $\geq$  S  $\geq$  Ca > N > K  $\cong$  control. Young plants of *P. glomerata* grow in a Paleudalf soil showed greater reduction in growth by omission of N, K, S and P in the fertilization. The omission of Mg and micronutrients in the fertilization were not limiting to the growth of young plants.

**Key words:** Brazilian ginseng, mineral nutrition, nutrient subtraction, mineral fertilization, Amaranthaceae.

## INTRODUÇÃO

*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, conhecida como uma das espécies de ginseng brasileiro, é considerada uma planta medicinal por possuir características adaptógenas e antiestresse (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000). No Brasil, a *P. glomerata* tem como principal habitat as matas ciliares da região centro-oeste e a bacia do Rio Paraná (MAGALHÃES, 2000).

Toneladas de raízes dessa espécie são mensalmente destinadas ao mercado nacional e internacional. Contudo, a conversão dessas plantas em fármacos está limitada pela dificuldade de se obter matéria-prima para suprir a demanda requerida pela indústria farmacêutica. Atualmente, grande parte das plantas é coletada por extrativismo severo e descontrolado (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000). Portanto, o cultivo dessa espécie é muito necessária, podendo ser, inclusive uma interessante alternativa de atividade agrícola (MAGALHÃES, 2000).

As exigências nutricionais da *P. glomerata* são pouco conhecidas, mas dados de ensaios preliminares sugerem que poderá haver respostas a aplicação de nutrientes, uma vez que a produtividade foi maior quando cultivada sobre solos argilosos em comparação a solos arenosos (MAGALHÃES, 2000). O conhecimento de limitações físicas e químicas dos solos e das exigências nutricionais e fisiológicas dessa espécie é fundamental à viabilidade econômica-ambiental da inclusão dessa planta no sistema de produção agrícola.

O uso da técnica do nutriente faltante - diagnose por subtração é uma alternativa adequada à iniciação do estudo da resposta das culturas aos nutrientes e pode ser conduzida em condições de casa de vegetação com diferentes substratos e formas de reposição dos nutrientes (MALAVOLTA, 1980; RENO et al.,

1997; NICOLOSO et al., 1999; VENTURIN et al., 1999; MOREIRA et al., 2000; ASSIS et al., 2001; BATISTA et al., 2003; MARQUES et al., 2004; VIÉGAS et al., 2004a, b). De acordo com VIÉGAS et al. (2004a), através dessa técnica de diagnose é possível determinar quais são os nutrientes limitantes ao crescimento e ao estado nutricional das plantas, em qualquer tipo de solo. Segundo MALAVOLTA (1980), o método serve para avaliar a fertilidade do solo e, ao mesmo tempo, pode fornecer uma idéia semiquantitativa da necessidade de adubos. Utilizando-se dessa técnica de estudo, NICOLOSO et al. (1999) constatou que um Argissolo Vermelho distrófico arênico se mostrou deficiente em N, P, S e K para o máximo crescimento da grávia (*Apuleia leiocarpa*), assim demonstrando que esse solo apresenta características químicas, que facilitam os estudos que visam identificar os efeitos das omissões de nutrientes na adubação.

As diferentes características do crescimento das espécies vegetais, bem como de suas exigências nutricionais, são fatores que podem explicar os diferentes comportamentos das plantas, quanto à utilização de recomendações de calcário e de fertilizantes baseadas em resultados experimentais médios obtidos em distintas condições de solo e ambiente. A necessidade da determinação de níveis críticos de um nutriente para cada espécie vegetal ou grupos de espécies afins fundamenta-se não apenas em suas exigências nutricionais variáveis, mas também nas suas diferentes capacidades de absorção e/ou utilização do nutriente (BARROS & NOVAIS, 1990; MARSCHNER, 2002).

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar as exigências nutricionais de mudas de *P. glomerata*, em Argissolo Vermelho distrófico arênico, pela técnica do nutriente faltante.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas de *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen, multiplicadas *in vitro*, de acordo com NICOLOSO et al. (2001a) e aclimatizadas segundo a metodologia de SKREBSKY et al. (2006), foram usadas no ensaio. Segmentos nodais de 1cm de comprimento foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE &

SKOOG, 1962), suplementado de  $30\text{g L}^{-1}$  de sacarose,  $100\text{mg L}^{-1}$  de mio-inositol e  $6\text{g L}^{-1}$  de agar. Após a inoculação, os explantes foram cultivados em sala de crescimento com temperatura controlada de  $25\pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de  $35\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  através de lâmpadas fluorescentes brancas-frias. Aos 25 dias após a inoculação, procedeu-se o início da aclimatização através da abertura dos tubos de cultivo em sala de crescimento, por período de três dias (1ª etapa); após fez-se a transferência das plantas para recipientes de plástico ( $350\text{cm}^3$ ) contendo  $250\text{cm}^3$  de substrato Plantmax® Hortaliças, as quais ficaram 15 dias em sala de crescimento (2ª etapa). Na sequência, as plantas foram transferidas para um telado de sombrite (malha 50% de extinção de luz), onde ficaram mais 15 dias (3ª etapa). Essas plantas aclimatizadas foram transplantadas para solo em ambiente de casa de vegetação, localizada no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

O solo utilizado foi coletado do horizonte A (zero a  $0,65\text{cm}$  de profundidade) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico, sob condições de campo nativo, ocorrente no município de Santa Maria, RS. Os dados das análises físicas e químicas de uma amostra composta (15 repetições) desse solo, após a coleta, destorroamento e peneiramento, bem como na presença dos tratamentos de adubação, no momento da finalização do experimento, são apresentados na tabela 1.

A unidade experimental foi constituída de um vaso, forrado internamente com saco plástico para evitar a perda de água e nutrientes pela drenagem, contendo  $3\text{kg}$  de terra fina seca ao ar (malha  $0,5\text{cm}$ ) e uma planta. Os vasos foram submetidos a rodízio periódico para evitar o efeito de localização na casa de vegetação. O delineamento experimental usado foi de tratamentos inteiramente casualizados, com 15 repetições.

Aos 10 dias após o transplante, foram realizadas as adubações, constituindo os nove tratamentos, como segue: controle (sem adubação), adubação completa (com macro e micronutrientes) e as omissões individuais de N, P, K, Ca, Mg, S e dos micronutrientes (Zn, B, Cu, Fe, Mn e Mo). A adubação completa ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) consistiu em: N = 100; P = 100; K = 80; Ca = 40; Mg = 20; S = 15; Zn = 1; B = 0,25; Cu = 0,1; Fe = 5,0; Mn = 0,1 e Mo = 0,05. Os tratamentos de adubação com omissão foram fornecidos em

concentrações iguais exceto o nutriente subtraído. As fontes de nutrientes foram:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{KCl}$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnCl}_2$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -EDTA;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . As adubações foram adicionadas no solo na forma de soluções nutritivas em doses únicas. As doses utilizadas neste trabalho são semelhantes às utilizadas por NICOLOSO et al. (1999).

Irrigações foram efetuadas com água destilada, procurando-se manter a umidade do solo entre 50 e 60% da capacidade de campo, por meio de aferições diárias de pesagem.

No final do experimento, aos 60 dias de cultivo, avaliaram-se a altura da maior brotação, o número de folhas, a matéria seca de folhas, do caule, da parte aérea, de raízes e do total da planta, a relação de matéria seca de raízes e da parte aérea, bem como o crescimento relativo em matéria seca das raízes e da parte aérea. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ).



TABELA 1. Resultados das análises químicas e físicas de uma amostra composta (15 repetições) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico do horizonte A, em condições de solo natural e após aplicação dos tratamentos de adubação aos 60 dias de cultivo com mudas de *Pfaffia glomerata*. UFSM, Santa Maria, 2006.

Parâmetros	Tratamentos									Solo natural
	Adubação		Omissão de:						Controle	
	Completa	N	P	K	Ca	Mg	S	Micro		
Argila (%) <sup>(1)</sup>	17	19	19	20	18	19	18	19	17	18
pH-H <sub>2</sub> O <sup>(2)</sup>	5,0	4,3	4,2	4,9	5,2	5,1	4,5	5,0	4,6	4,7
SMP	6,2	6,2	6,2	6,3	6,2	6,3	6,4	6,3	6,1	6,2
% M.O. <sup>(3)</sup>	1,8	1,6	1,5	1,5	1,4	1,4	1,5	1,5	1,9	1,4
P (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(4)</sup>	69	69	4,8	69	69	69	69	69	3,5	2,5
K (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(4)</sup>	48	58	42	20	46	50	56	46	22	22
Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(5)</sup>	0,5	0,6	1,0	0,5	0,5	0,7	0,5	0,6	1,1	1,4
Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(5)</sup>	2,0	1,9	1,6	2,1	1,6	1,8	2,0	1,9	1,7	1,4
Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(5)</sup>	0,6	0,9	0,6	0,6	0,6	0,3	0,7	0,6	0,5	0,4
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(6)</sup>	3,0	3,0	3,0	2,7	3,0	2,7	2,5	2,7	3,3	3,0
CTC ef. (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	3,2	3,8	3,3	3,3	2,8	2,8	3,4	3,0	3,4	3,3
CTC pH 7 (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	5,6	6,2	5,3	5,5	5,2	4,8	5,4	5,1	5,5	4,9
Sat. Al (%)	16	16	30	15	18	25	15	20	33	43
Sat. Bases (%)	47	52	44	50	43	43	54	47	41	39
Cu (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(7)</sup>	1,2	1,2	1,1	1,2	1,4	1,2	1,2	1,1	1,1	1,1
Zn (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(7)</sup>	6,3	6,4	5,6	5,8	7,2	5,7	4,1	4,6	2,5	1,6
Fe (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(7)</sup>	70	73	50	71	75	74	72	48	45	49
Mn (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(8)</sup>	20	21	23	17	22	23	22	18	22	21
S (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(9)</sup>	19	31	18	24	23	24	8,9	23	9,8	13
B (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(10)</sup>	1,3	1,2	0,5	1,3	1,5	0,9	1,4	1,1	0,9	0,9

(1) método do densímetro; (2) relação 1:1; (3) oxidação em solução sulfocrômica a quente e determinação por espectrofotometria com Cr<sup>+3</sup>; (4) P e K, extrator HCl 0,05N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025N; (5) Ca, Mg e Al, extrator KCl 1M; (6) H + Al, extrator CaOAc 1N a pH = 7; (7) Cu, Zn e Fe, extrator HCl 0,1M; (8) Mn, extrator KCl 1M; (9) S, extrator Ca (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).H<sub>2</sub>O 2,02g L<sup>-1</sup>; (10) B, extrator água destilada a quente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de folhas por planta obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente: adubação completa  $\cong$  micronutrientes  $\cong$  Mg  $\cong$  Ca  $>$  P  $>$  S  $\cong$  K  $>$  N  $\cong$  controle (Tabela 2). A diferença de crescimento obtida pelos tratamentos de adubação completa em relação ao controle foi aproximadamente de 1000%.

A altura da maior brotação seguiu a mesma ordem decrescente em relação aos tratamentos de adubação observada para o número de folhas, com exceção do tratamento de omissão de P, que proporcionou crescimento igual aos tratamentos de adubação completa e omissão de micronutrientes, Ca e Mg (Tabela 2). A diferença de crescimento em altura foi de aproximadamente 67% entre os tratamentos de maior e menor resposta. Levando em consideração o padrão de desenvolvimento da *P. glomerata*, com respeito à emissão de muitas brotações durante a fase vegetativa juvenil, fica caracterizado que o efeito das deficiências nutricionais observadas no presente trabalho foi mais pronunciado sobre o número de folhas do que na altura da maior brotação.

Avaliando o desempenho de uma espécie florestal (*Apuleia leiocarpa*) utilizando o mesmo solo, NICOLOSO et al. (1999) observaram que as omissões de P, N e S foram as mais depressivas no número de folhas e altura de plantas. Na deficiência de P, os efeitos mais marcantes relatados em outros trabalhos são a diminuição da área foliar (FREDEEN et al., 1989) e do número de folhas (LYNCH et al., 1991). Portanto, os dados obtidos para o crescimento da *P. glomerata* estão de acordo com a baixa disponibilidade de N e S, decorrentes dos baixos teores de matéria orgânica e da baixa disponibilidade natural de K e P dos solos arenosos ocorrentes no Rio Grande do Sul. Por outro lado, a disponibilidade natural de micronutrientes, Ca e Mg foram suficientes para atender a demanda nutricional dessa planta (Tabela 2), como já tem sido observado inclusive para culturas de grãos, como a soja e o milho. Resultados semelhantes a estes foram encontrados para a grápia (*Apuleia leiocarpa*), em que diversos parâmetros do crescimento das plantas não foram alterados significativamente pela omissão de Ca, Mg e micronutrientes na adubação em Argissolo Vermelho distrófico arênico (NICOLOSO et al., 1999).

TABELA 2 - Número de folhas (n° fol), altura da maior brotação (alt), matéria seca de folhas (msF), matéria seca de caule (msC), matéria seca da parte aérea (msPA), matéria seca de raízes (msR) e matéria seca total da planta (msT) de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.

Tratamentos de Adubação	Parâmetros de crescimento						
	N°fol (un)	Alt (cm)	msF ..... g planta <sup>-1</sup> .....	msC	msPA	msR	msT
Completa	334,1 a*	85,9 a	11,9 a	24,1 b	36,0 b	9,7 ab	45,7 bc
Omissão de N	35,7 d	56,1 c	5,5 e	7,9 f	13,4 f	7,0 f	20,4 g
Omissão de P	267,2 b	91,1 a	11,2 b	21,1 c	32,4 c	9,1 bc	41,6 d
Omissão de K	137,1 c	74,1 b	6,7 d	10,2 e	16,9 e	6,2 g	23,1 f
Omissão de Ca	328,7 a	94,1 a	11,9 a	24,3 b	36,2 b	7,7 ef	43,9 c
Omissão de Mg	331,6 a	90,6 a	11,5 ab	26,7 a	38,3 a	10,1 a	48,4 a
Omissão de S	140,1 c	71,6 b	9,5 c	14,4 d	23,9 d	8,3 de	32,2 e
Omissão de	334,5 a	91,5 a	11,9 a	26,7 a	38,6 a	8,5 cd	47,1 ab
Micronutrientes							
Controle	29,8 d	52,3 c	5,1 e	7,6 f	12,9 f	5,8 g	18,6 g
CV (%)	11,7	14,3	5,4	10,1	6,9	11,2	6,7

\* Tratamentos com médias não seguidas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

A biomassa de folhas seguiu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente: adubação completa  $\cong$  micronutrientes  $\cong$  Ca  $\geq$  Mg  $\geq$  P  $>$  S  $>$  K  $>$  N  $\cong$  controle (Tabela 2). Para a biomassa do caule, a omissão de Ca e a adubação completa mostraram menor produção do que aqueles de omissão de Mg e micronutrientes. Este fato se refletiu na biomassa acumulada pela parte aérea (Tabela 2), que obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente: Mg  $\cong$  micronutrientes  $>$  Ca  $\cong$  adubação completa  $>$  P  $>$  S  $>$  K  $>$  N  $\cong$  controle. Considerando que a *P. glomerata* apresenta alta taxa de

crescimento durante a fase vegetativa juvenil, é justificado o fato da ausência do nitrogênio na adubação ser aquela que mais drasticamente reduziu a biomassa da parte aérea.

A produção de biomassa radicular obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente:  $Mg \cong \text{adubação completa} \geq P \geq \text{micronutrientes} \geq S \geq Ca > N > K \cong \text{controle}$  (Tabela 2). Esse resultado caracteriza que a partição de fotoassimilados entre a parte aérea e raízes foram diferenciadas na omissão de P, micronutrientes, S, Ca, N e K. Nesse contexto, a omissão de P foi aquela que menos reduziu a biomassa radicular, demonstrando que, na deficiência desse nutriente, a planta redireciona a distribuição de fotoassimilados para as raízes, fato relatado para outras espécies vegetais por FÖHSE et al. (1988); e/ou a *P. glomerata*, no início de seu desenvolvimento vegetativo, é pouco exigente nesse nutriente. Contrariamente, as omissões de Ca, N e K diminuíram consideravelmente a acumulação de matéria seca radicular. Além disso, a omissão de micronutrientes, que não apresentou efeito depressivo sobre a biomassa da parte aérea, reduziu a biomassa radicular. Levando-se em consideração que as raízes são os órgãos de interesse para uso na indústria farmacêutica, sugere-se a realização de estudos de longo prazo, em nível de plantio a campo, no teor do fitofármacos alvos. Estes estudos devem ter como base os resultados obtidos no presente trabalho (diminuição de produtividade de biomassa com a omissão de Ca, N, P, K e S) e na experiência com outras culturas, como é caso da necessidade de correção da acidez do solo, por se tratar de uma espécie cujo produto comercial ser a raiz (SHIOBARA et al., 1993; MONTANARI JR. et al., 1999).

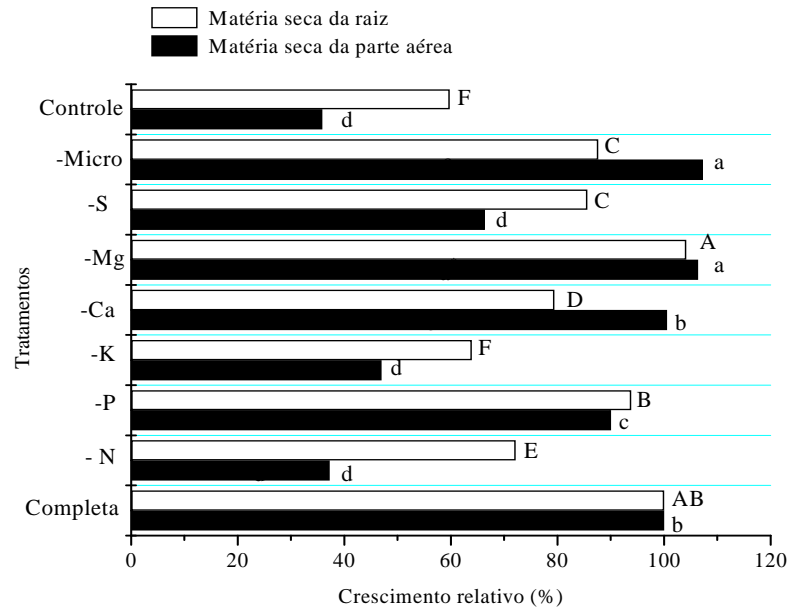
A produção de biomassa total da planta obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente:  $Mg \cong \text{micronutrientes} \geq \text{adubação completa} \geq Ca > P > S > K > N \cong \text{controle}$  (Tabela 2). A diferença de crescimento obtida pelos tratamentos de omissão de Mg e micronutrientes, em relação ao controle e omissão de N foi de aproximadamente 69%. A limitação do crescimento da *P. glomerata* resultante da omissão de N, observada no presente trabalho e de outras espécies vegetais, é justificado em razão desse nutriente ser o elemento mineral mais requerido pelas plantas (MARSCHNER, 2002) e pela insuficiente taxa de reposição do N mineral da solução via mineralização dos resíduos

orgânicos e da matéria orgânica do solo. Para culturas que não formam associações com organismos fixadores de N, elas dependem do N armazenado na matéria orgânica do solo, a qual é a fonte principal também de S e B. De acordo com os dados da tabela 1, observa-se que a porcentagem de matéria orgânica no Argissolo Vermelho distrófico arênico utilizado nesse trabalho é baixa (CQFS-RS/SC, 2004). O teor de sulfato no solo original é classificado como adequado às plantas em geral. No entanto, a omissão de enxofre provocou diminuição da sua biomassa, evidenciando que, ou, o método de extração desse íon não é eficaz para o diagnóstico da sua real disponibilidade, ou esta espécie é muito exigente em enxofre.

O tratamento de adubação com omissão de K também afetou drasticamente o crescimento da *P. glomerata* (Tabela 2), pois o teor disponível está abaixo do nível de suficiência estipulado para várias espécies pela CQFS-RS/SC (2004). Deste modo, a técnica do elemento faltante possibilitou comprovar que o Argissolo em estudo naturalmente não tem capacidade de fornecer K em taxas adequadas a *P. glomerata*. Por outro lado, essa técnica também permitiu, partindo-se de um valor de disponibilidade de K, verificar que esta espécie tem comportamento similar as demais plantas já estudadas, isto é, não produz adequadamente quando a classe de disponibilidade de K for média, baixa ou muito baixa. Tem-se observado que o nível de suficiência de K para culturas de grãos para esse solo é de aproximadamente  $40\text{mg dm}^{-3}$  e que a aplicação de baixas doses ( $< 60\text{kg K}_2\text{O ha}^{-1}\text{ ano}^{-1}$ ) já é suficiente para manter altas produtividades e o nível adequado de disponibilidade no solo (BRUNETTO et al., 2005). O mesmo comportamento foi observado para o P, onde a sua disponibilidade natural é muito baixa (Tabela 1) (CQFS-RS/SC, 2004) e a probabilidade de respostas da ampla maioria das culturas é alta, como foi observada para a *P. glomerata*. Como o solo é arenoso e pobre em óxidos, a capacidade de adsorção de P é baixa e, conseqüentemente, os teores de P disponíveis são facilmente elevados a valor muito altos com a adubação fosfatada (Tabela 1).

As respostas positivas no crescimento da *P. glomerata* às adubações contendo N, K, S e P são justificadas e, também, sugerem que esta espécie apresenta alto requerimento desses nutrientes para obter seu máximo crescimento e/ou, ainda, possui baixa eficiência de absorção desses nutrientes.

A



B

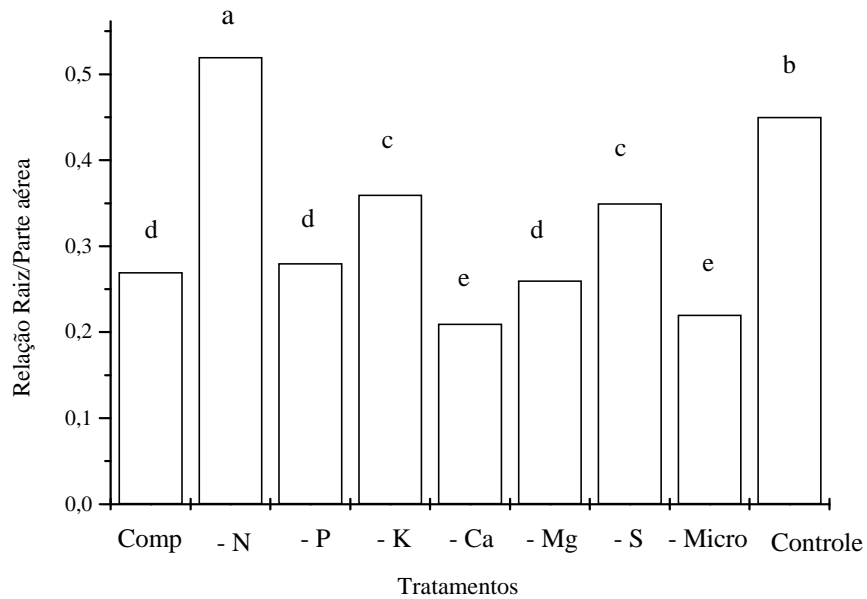


FIGURA 1 - (A) Crescimento relativo em matéria seca da parte aérea (msPA) e do sistema radicular (msR) de mudas de *Pfaffia glomerata* submetidas a diferentes tratamentos de adubação, como segue: Comp (adubação completa); -N (omissão de N); -P (omissão de P); -K (omissão de K); -Ca (omissão de Ca); -Mg (omissão de Mg); -S (omissão de S); -Micro (omissão de micronutrientes); e Controle (sem adubação). Tratamentos com médias não seguidas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro. Letras maiúsculas referem-se a msR e minúsculas a msPA. (B) Relação entre a matéria seca de raízes e da parte aérea de mudas de *Pfaffia glomerata*, submetidas a diferentes tratamentos de adubação aos 60 dias de cultivo.

A classificação dos valores de Ca, Mg e micronutrientes pela CQFS-RS/SC (2004) não têm a mesma fundamentação experimental do que para os nutrientes N, P e K ou para a acidez do solo. A classificação é muito mais uma tentativa de organização dos resultados das análises de solo do que baseado na probabilidade de respostas das culturas (CQFS-RS/SC, 2004). Desse modo, mesmo que os teores de Mg e Ca encontrados no solo natural sejam enquadrados na classe média ou baixa, as plantas de *P. glomerata* já obtiveram o crescimento máximo, comportamento esse corriqueiramente observado para outras espécies. Adicionalmente, as interpretações referentes ao Ca devem ser vistas com cautela, pois sua disponibilidade efetiva depende da atividade de alumínio na solução do solo, que no presente solo deve ser alta.

Quanto aos micronutrientes no solo, independente dos tratamentos de adubação utilizados, os teores de Cu, Zn, Fe, Mn e B são considerados altos (Tabela 1), segundo CQFS-RS/SC (2004). Portanto, esses dados sugerem que as disponibilidades desses elementos não são limitantes ao crescimento inicial das plantas de *P. glomerata*, cultivadas no Argissolo Vermelho distrófico arênico. Apenas em casos específicos, dependentes do tipo de solo e espécie vegetal, têm se observado respostas positivas à aplicação de micronutrientes (LOPES & ABREU, 2000).

O crescimento relativo (CR) em produção de matéria seca da planta é mostrado na Figura 1A. Considerou-se o tratamento de adubação completa com CR igual a 100. Verifica-se que a maior alteração no crescimento relativo da parte aérea foi promovida pela omissão dos nutrientes N, K, S e P. De modo geral, a omissão de nutrientes da adubação afetou em menor proporção o crescimento em biomassa do sistema radicular do que o da parte aérea (Figura 1A). Os tratamentos com omissão de K, N, Ca, S, P e micronutrientes apresentaram alteração no CR da raiz em relação ao tratamento com adubação completa e de omissão de Mg. Em plantas de angico-amarelo (*Peltophorium dubium*), as omissões de nutrientes da adubação que mais afetaram a produção de matéria seca da parte aérea foram de P, N, S e Ca (VENTURIN et al., 1999). VIÉGAS et al. (2004b), estudando a omissão de macronutrientes em camucamuzeiro (*Myrciaria dubia*) pela técnica do nutriente faltante em solução nutritiva, observaram que

o crescimento relativo de toda planta não foi afetado pela omissão de P, foi menos afetado pela omissão de Ca, com redução de 55% da matéria seca, e mais afetado pela omissão de N, com redução de 84% da matéria seca.

A partição de biomassa entre os órgãos da planta, analisada através da relação entre matéria seca das raízes e da parte aérea de mudas de *P. glomerata*, foi principalmente afetada pelo tratamento de adubação com omissão de N, seguido do controle e da omissão de K e S (Figura 1B). É conhecido o fato que o status nutricional da planta afeta o fracionamento de fotoassimilados, com reflexos na relação raiz/parte aérea (MARSCHNER, 2002; NICOLOSO et al., 2001b). Para o angico-amarelo (*Peltophorium dubium*), esta relação foi mais afetada no tratamento controle e naqueles com omissão de P, N e S (VENTURIN et al., 1999). De acordo com estes autores, a relação raiz/parte aérea é um bom parâmetro para avaliação da sobrevivência das mudas no campo. No entanto, esta relação é variável para cada espécie e condição ambiental utilizada no cultivo.

As caracterizações dos teores de macro e micronutrientes, bem como de  $\beta$ -ecdisona (principal substância utilizada como marcadora química em *P. glomerata*) na matéria seca de raízes e parte aérea das plantas, obtidas no presente trabalho, estão sendo realizadas. Isto permitirá uma primeira aproximação dos valores adequados de nutrientes para essa espécie e, possibilitará traçar correlações relevantes entre as condições nutricionais e a acumulação de substâncias de interesse farmacológico.

## CONCLUSÕES

Plantas jovens de *P. glomerata* cultivadas em amostras de solo do horizonte superficial arenoso (Argissolo Vermelho distrófico arênico) com baixos teores de matéria orgânica e de pH e teores de fósforo e potássio disponíveis abaixo do teor crítico apresentaram grande diminuição no crescimento na ausência de nitrogênio, potássio, enxofre e fósforo. Naturalmente, o solo forneceu adequadamente magnésio, boro, molibdênio, zinco, cobre, manganês e ferro às plantas de *P. glomerata*.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, M.P. et al. Limitações nutricionais para a cultura do arroz em solos orgânicos sob inundação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.299-310, 2001.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. **Relação solo-eucalipto**. Viçosa: Folha de Viçosa, 1990. 330p.
- BATISTA, M.M.F. et al. Efeito da omissão de macronutrientes no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral em gravioleiras (*Annona muricata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.315-318, 2003.
- BRUNETTO, G. et al. Nível crítico e resposta das culturas ao potássio em solo um solo de textura arenosa sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.4, p.565-571, 2005.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS-NRS, 2004. 394p.
- FÖHSE, D. et al. Phosphorus efficiency of plants: I – external and internal P requirement and P uptake efficiency of different plant species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.110, p.101-109, 1988.
- FREDEEN, A.L. et al. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. **Plant Physiology**, Baltimore, v.89, p.225-230, 1989.
- LOPES, A.S.; ABREU, C.A. Micronutrientes na agricultura brasileira: evolução histórica e futura. In: NOVAIS, R.F. et al. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. Vol.1, p.265-298.
- LYNCH, J. et al. Vegetative growth of the common bean in response to phosphorus nutrition. **Crop Science**, Madison, v.31, p.380-387, 1991.
- MAGALHAES, P.M. de. Agrotecnología 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, 2000. p.323-332.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 1980. 251p.

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, 2002. 889p.
- MARQUES, T.C.L.L.S. de. et al. Exigências nutricionais do Paricá (*Schizolobium amazonicum*, Herb.) na fase de muda. **Revista Cerne**, Lavras, v.10, n.2, p.167-183, 2004.
- MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen)**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).
- MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdysone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.
- MOREIRA, A. et al. Disponibilidade de nutrientes em vertissolo calcário. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.10, p.2107-2113, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen. v.15, p.473-497, 1962.
- NICOLOSO, F.T. et al. Exigências nutricionais da grábia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride) em solo podzólico vermelho amarelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.225-231, 1999.
- NICOLOSO, F.T. et al. Micropropagação do ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.3, n.2, p. 11-18, 2001a.
- NICOLOSO, F.T. et al. Nutrição mineral de mudas de grábia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride) em Argissolo Vermelho distrófico arênico: (I) Efeito da adubação NPK no crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p.991-998, 2001b.
- RENO, N.B. et al. Limitações nutricionais ao crescimento inicial de quatro espécies arbóreas nativas em latossolo vermelho-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.2071-2081, 1997.
- SHIOBARA, Y. et al. A notriterpenoid, triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, Oxford, v.32, n.6, p.1527-1530, 1993.
- SKREBSKY, E. C. et al. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1416-1423, 2006.

VIÉGAS, I.J.M. et al. Limitações nutricionais para o cultivo de açaizeiro em latossolo amarelo textura média, Estado do Pará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.382-384, 2004a.

VIÉGAS, I.J.M. et al. Efeito da omissão de macronutrientes e boro no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral de plantas de camucamuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.315-319, 2004b.

VENTURIN, N. et al. Adubação mineral do Angico-amarelo (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.3, p.441-448, 1999.

## Capítulo 1, Experimento 1, Artigo n°2

Teor de nutrientes em tecidos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivada em Argissolo Vermelho distrófico arênico.

**Teor de nutrientes em mudas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivada em Argissolo Vermelho distrófico arênico**

**Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1</sup> Fernando Teixeira Nicoloso<sup>2,1</sup> Joseila Maldaner<sup>1</sup> Renata Rauber<sup>3</sup>  
Gabriel Y Castro<sup>1</sup> Gládis de Oliveira Jucoski<sup>1</sup> Danilo Rhenrheimer dos Santos<sup>4</sup>**

**RESUMO**

O ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen) tem chamado a atenção por sua ação como tônico e estimulante. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da omissão de nutrientes na adubação sobre o teor de nutrientes em mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, ocorrente sob campo nativo. Plantas de *P. glomerata* produzidas *in vitro* e aclimatizadas *ex vitro* foram usadas como material inicial para o experimento em casa de vegetação. Aos 10 dias após o transplante para o solo, através de soluções nutritivas, foram realizadas as adubações correspondentes aos nove tratamentos: controle (sem adubação), adubação completa (com macro e micronutrientes) e as omissões individuais de N, P, K, Ca, Mg, S e dos micronutrientes (Zn, B, Cu, Fe, Mn e Mo). Aos 60 dias de cultivo, avaliaram-se os teores de nutrientes minerais nos tecidos da planta. Levando-se em consideração que a produção de biomassa total da planta obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente:  $Mg \cong \text{micronutrientes} \geq \text{adubação completa} \geq Ca > P > S > K > N \cong \text{controle}$ , e que a redução em biomassa entre o tratamento de omissão de Mg e o de Ca foi de 10%, os dados do presente trabalho sugerem que os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas de *P. glomerata*, para se obter de 90 a 100% da matéria seca, sejam: N = 3,2 a 3,5%; P = 0,7 a 0,8%, K =

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, UFSM, Campus Universitário, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: [fnicoloso@yahoo.com](mailto:fnicoloso@yahoo.com). Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Curso de Engenharia Florestal, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo, Departamento de Solos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

1,8 a 2,1%, Ca = 0,3 a 0,5%, Mg = 0,6 a 0,9%; Cu = 10 a 15mg kg<sup>-1</sup>, Zn = 70 a 85mg kg<sup>-1</sup>, Fe = 380 a 510mg kg<sup>-1</sup> e Mn = 1500 a 2300mg kg<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** Ginseng brasileiro, macronutrientes, micronutrientes, nutrição mineral.

## INTRODUÇÃO

A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen é uma espécie que vem sendo extensivamente usada na medicina popular devido a suas raízes possuírem substâncias como: ácido triterpênico glomérico, ácido notriterpênico famérico,  $\beta$ -ecdisona, rubrosterona, ácido oleanólico e  $\beta$ -glucopiranosil oleanolato. Há fortes evidências de que estes compostos, devido a suas características químicas, sejam os principais responsáveis pelas propriedades medicinais dessa espécie (SHIOBARA et al., 1993; MONTANARI JR et al., 1999).

O conhecimento de limitações do solo e das exigências nutricionais das espécies vegetais a serem cultivadas é essencial ao agro-negócio. Culturas agrícolas que não recebem fertilizantes dependem dos nutrientes residuais do solo ou de nutrientes obtidos de outras fontes, como a deposição atmosférica ou a água de irrigação. Sob tais condições, os rendimentos culturais são moderados (EPSTEIN & BLOOM, 2005). Na atualidade, as adubações e correções de fertilidade do solo visando o cultivo de espécies medicinais são realizadas em caráter empírico, sendo muitas vezes, baseadas nas informações existentes para outras espécies, as quais podem ou não, ter um comportamento similar (CAMARGO, 2004).

Um dos objetivos da adubação em cultivos de espécies medicinais é o rendimento do princípio ativo. Para o estabelecimento da adubação de plantas medicinais deve-se levar em consideração a parte da planta a ser utilizada, o tipo de composto ativo e o rendimento do princípio ativo. De um modo geral, a adubação nitrogenada aumenta a biomassa dos órgãos da planta, tendendo a produzir maior teor de princípios ativos (MING, 1994). O fósforo também auxilia na definição da quantidade de biomassa produzida, podendo contribuir no teor de alcalóides e demais princípios ativos (MARTINS et al., 1998;

TAIZ & ZEIGER, 2004). Para BORGES et al. (2003), uma adubação desbalanceada, principalmente em nitrogênio e potássio, nutrientes mais absorvidos pelas plantas, pode afetar negativamente a produtividade e a qualidade das plantas. Os resultados encontrados para a grábia (*Apuleia leiocarpa*) demonstraram que a omissão dos nutrientes N, S, K e P, em um Argissolo Vermelho distrófico arênico, limitaram consideravelmente o crescimento das plantas (NICOLOSO et al., 1999).

A análise química da planta fornece o valor integrado de todos os fatores que influenciam a sua composição no momento da amostragem. Comparando-se a concentração de um dado nutriente com níveis críticos previamente estabelecidos, pode-se determinar o estado nutricional dessa planta. O nível crítico não é um ponto, mas uma faixa de concentração, a qual varia com a idade da planta, cultivar, interação entre nutrientes e, também, com as condições experimentais (ASSIS et al., 2001).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da omissão de nutrientes na adubação sobre o teor de nutrientes minerais de mudas de *P. glomerata* cultivadas em amostras de um Argissolo Vermelho distrófico arênico coletadas sob campo nativo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas de *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen multiplicadas *in vitro*, de acordo com NICOLOSO et al. (2001), e aclimatizadas segundo a metodologia de SKREBSKY et al. (2006), foram usadas no ensaio. Resumidamente, segmentos nodais de 1cm de comprimento foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 6g L<sup>-1</sup> de agar. Após a inoculação, os explantes foram cultivados em sala de crescimento com temperatura controlada de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 35μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, com lâmpadas fluorescentes brancas-frias. Aos 25 dias após a inoculação, procedeu-se ao início da aclimatização através da abertura dos tubos de cultivo em sala de crescimento, por período de três dias (1ª etapa); após fez-se a transferência das plantas para recipientes de plástico (350cm<sup>3</sup>) contendo 250cm<sup>3</sup> de substrato Plantmax® Hortaliças, as quais ficaram 15 dias em sala de crescimento (2ª etapa). Na seqüência, as plantas foram

transferidas para um telado de sombrite (malha 50% de extinção de luz), onde ficaram mais 15 dias (3ª etapa). Essas plantas aclimatizadas foram transplantadas para solo em ambiente de casa de vegetação, localizada no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, latitude de 29°41'S, longitude de 58°48'W e altitude de 95m. Segundo a classificação climática de Köeppen, o clima da região é do tipo "cfa", caracterizado como subtropical úmido (MORENO, 1961).

Aos 10 dias após o transplante, foram realizadas as adubações, constituindo os nove tratamentos, como segue: controle (sem adubação), adubação completa (com macro e micronutrientes) e as omissões individuais de N, P, K, Ca, Mg, S e dos micronutrientes (Zn, B, Cu, Fe, Mn e Mo). A adubação completa ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) consistiu em: N = 100; P = 100; K = 80; Ca = 40; Mg = 20; S = 15; Zn = 1; B = 0,25; Cu = 0,1; Fe = 5,0; Mn = 0,1; Mo = 0,05. Os tratamentos de adubação com omissão foram fornecidos em concentrações idênticas exceto o nutriente subtraído. As fontes de nutrientes foram:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ; KCl;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{NaSO}_4$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnCl}_2$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -EDTA;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . As adubações foram adicionadas no solo na forma de soluções nutritivas em doses únicas.

O delineamento experimental usado foi de tratamentos inteiramente casualizados, com 15 repetições. A unidade experimental foi constituída de um vaso, forrado internamente com saco plástico para evitar a perda de água e de nutrientes pela drenagem, contendo 3kg de terra fina seca ao ar e uma planta. Os vasos foram submetidos a rodízio periódico para evitar o efeito de localização na casa de vegetação. O solo utilizado foi coletado do horizonte A (zero a 65cm de profundidade) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico ocorrente no município de Santa Maria, RS. Os dados das análises físicas e químicas desse solo após a coleta, destorroamento e peneiramento (0,5cm de malha), bem como na presença dos tratamentos de adubação no momento da finalização do experimento, foram apresentados no trabalho precedente (SKREBSKY et al., 2008).

As irrigações foram efetuadas com água destilada, procurando-se manter a umidade do solo entre 50 e 60% da capacidade de campo, por meio de aferições diárias de pesagem.



No final do experimento, aos 60 dias de cultivo, avaliaram-se os teores de nutrientes minerais nos tecidos da planta, utilizando-se três repetições por tratamento. Os macronutrientes N, P, K, Ca e Mg foram extraídos com digestão por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e os micronutrientes Zn, Cu, Mn e Fe foram extraídos com digestão por HNO<sub>3</sub> e HClO<sub>4</sub>. A determinação de N (destilador de arraste de vapor micro-Kjeldahl), K (fotômetro de chama), Ca e Mg (espectrofotômetro de absorção atômica) e micronutrientes (espectrofotômetro de absorção atômica) foram realizados de acordo com TEDESCO et al. (1995), e a de P (espectrofotômetro) de acordo com MURPHY & RILEY (1962).

A partir dos teores de nutrientes nos tecidos e dos valores de matéria seca avaliou-se a acumulação dos nutrientes na biomassa das plantas. A análise estatística dos resultados observados baseou-se na comparação de médias, utilizando o teste de Duncan, ao nível de probabilidade de erro de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em trabalho anterior, SKREBSKY et al. (2008) observaram que o número de folhas, a altura de plantas e a biomassa dos órgãos das plantas de *Pfaffia glomerata*, apresentaram drástica redução quando houve omissão dos nutrientes N, K S e P na adubação. Quanto ao efeito dos tratamentos de adubação na produção da matéria seca total da planta, verificou-se que essa obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente: Mg  $\cong$  micronutrientes  $\geq$  adubação completa  $\geq$  Ca > P > S > K > N  $\cong$  controle. No presente trabalho, são apresentados os teores de macro e micronutrientes nos tecidos da *P. glomerata* nas mesmas condições experimentais do trabalho de SKREBSKY et al. (2008).

Na tabela 1 são apresentados os teores de N nos órgãos das mudas de *P. glomerata*. Em comparação à adubação completa, a omissão individual de N na adubação reduziu o teor de N em todos os órgãos da planta, cujos valores são semelhantes àqueles do tratamento controle. A omissão de N na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa, aumentou o teor de K e, por outro lado, diminuiu os teores de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas. Para o caule, a omissão de N aumentou os teores de K e Ca. Já nas raízes, observou-se aumento nos teores de P e K. O aumento no teor de K induzido pela

omissão de N na adubação também foi registrado em folhas e caule de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), por VELOSO et al. (1993); em plantas de paricá (*Schizolobium amazonicum*), por MARQUES et al. (2004); e em plantas de arroz (*Oryza sativa*), por ASSIS et al. (2001). De acordo com ASSIS et al. (2001), os altos valores de K nos tecidos de plantas submetidas à adubação com omissão de N são devido a uma possível competição interiônica, na qual a presença de  $N-NH_4^+$  pode limitar a absorção de  $K^+$  e vice-versa. Além disso, a adubação conjunta de N e de K mostraram que os altos níveis de N fornecidos resultaram em altos teores de N na folha e baixos teores de K, porém o aumento nos níveis de K resultaram em aumento dos teores de K na folha, mas não interferiram nos teores de N (BERNARDI et al., 2000). Estes resultados indicam que o N parece ter maior influência em relação ao K.

Quanto à acumulação de N nos órgãos da planta, verificou-se redução drástica pela omissão de N na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa (Tabela 2). Tanto nas folhas, como no caule e raízes constata-se que a acumulação de N obtida no tratamento de omissão de N equivale-se àquela do tratamento controle. Além disso, a omissão de N na adubação provocou diminuição na acumulação de P, Ca, Mg, Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas. No caule, houve redução da acumulação de P, K, Ca, Mg, Mn e Zn. Já nas raízes verificou-se redução na acumulação de K, Ca, Mg e Fe. Observa-se que a omissão de N reduziu a acumulação de Mg nas folhas, caule e raízes. De acordo com BERNARDI et al. (2000), o N e o Mg na folha correlacionam-se positivamente, pois existe relação sinérgica entre eles.

A limitação do crescimento da *P. glomerata* resultantes da omissão de N é justificado em razão dos baixos teores de matéria orgânica do Argissolo Vermelho distrófico arênico (CQFS-RS/SC, 2004) e porque esse nutriente é requerido em maior quantidade pelas plantas (MARSCHNER, 2002).

Na tabela 1 são apresentados os teores de P nos órgãos das mudas de *P. glomerata*. A omissão de P na adubação não afetou o teor desse nutriente nas folhas, em comparação àqueles obtidos pelos demais tratamentos de adubação. Já no caule e nas raízes, houve uma drástica redução no teor de P, sendo essa mais acentuada do que aquela obtida pelo tratamento sem adubação (controle). Em relação à adubação completa, a omissão de P diminuiu o teor de Fe nas folhas e, por outro lado, aumentou os teores de K e

Ca no caule.

TABELA 1 – Teores médios de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas no horizonte A de um Argissolo Vermelho distrófico arênico e submetidas a diferentes adubações. UFSM, Santa Maria, 2007.

Tratamentos*	Média do teor de nutrientes nos tecidos								
	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu
	%			mg kg <sup>-1</sup>					
<b>Folha</b>									
Completa	3,23c**	0,75ab	1,94b	0,38bc	0,78bc	1727b	83,6bc	503,8a	12b
-N	1,79d	0,65ab	4,77a	0,43bc	0,70cd	1188cde	37,4d	147,4c	6,2c
-P	3,40bc	0,54b	2,29b	0,50b	0,69cd	1298bcde	103,4b	272,8bc	11,8b
-K	4,29a	0,89a	1,06c	0,29c	0,96ab	1130,8de	61,6c	409,2ab	19,0a
-Ca	3,19c	0,81ab	2,05b	0,31c	0,87abc	1680,8bc	74,8c	387,2ab	14,2b
-Mg	3,54bc	0,81ab	1,94b	0,37bc	0,58d	1586bcd	72,6c	455,4a	12,4b
-S	4,01ab	0,70ab	1,81b	0,64a	0,99a	2437,6a	136,4a	420,2a	19,4a
-Micro	3,33c	0,77ab	1,86b	0,48b	0,82abc	2292,4a	74,8c	470,8a	11,6b
Controle	1,53d	0,59ab	2,18b	0,64a	0,92ab	825e	66c	158,4c	5,4c
Média	3,14	0,72	2,21	0,45	0,81	1575,2	79,2	352,0	12,44
CV(%)	11,6	24,1	12,6	17,2	12,8	17,7	15,9	21,2	17,2
<b>Caule</b>									
Completa	0,97bc	0,70b	1,60cd	0,04de	0,16b	297abc	28,6abc	103,4ab	10,2a
-N	0,51de	0,73b	2,85ab	0,09a	0,13b	420,2a	28,6abc	143ab	19,2a
-P	1,17bc	0,49d	2,29b	0,08ab	0,11b	195,8c	33abc	50,6b	8,0a
-K	1,33b	0,92a	0,98d	0,05de	0,51a	277,2bc	35,2ab	132ab	10,4a
-Ca	0,74cde	0,72b	1,65c	0,03e	0,13b	325,6ab	24,2bc	114,4ab	8,6a
-Mg	0,92bcd	0,72b	1,46cd	0,05cd	0,09b	327,8ab	41,8a	169,4ab	15,4a
-S	2,11a	0,90a	3,22a	0,07b	0,16b	363ab	17,6c	198a	11,0a
-Micro	0,81cde	0,72b	1,49cd	0,05de	0,12b	334,4ab	30,8abc	167,2ab	9,8a
Controle	0,40e	0,63c	1,44cd	0,06bc	0,89b	299,2abc	41,8a	191,4a	16,6a
Média	0,99	0,72	1,89	0,06	0,15	314,6	30,8	140,8	12,13
CV(%)	23,1	4,7	17,8	14,7	25,5	20,8	27,4	46,1	50,2
<b>Raiz</b>									
Completa	1,46ab	0,09bc	0,36cd	0,33ab	0,60a	739,2ab	90,2ab	5330,6a	17a
-N	0,95c	0,13a	1,23a	0,33ab	0,43a	809,6ab	107,8ab	3625,6abc	18,2a
-P	1,67a	0,04d	0,51c	0,34ab	0,48a	633,6b	129,8ab	4512,2ab	20,4a
-K	1,41ab	0,12a	0,11d	0,25c	0,48a	220c	66b	3088,8bc	10,4b
-Ca	1,29b	0,09bc	0,31cd	0,23c	0,51a	800,8ab	187ab	5148a	20a
-Mg	1,40ab	0,09bc	0,25cd	0,28abc	0,57a	660ab	211,2a	5117,2a	24,2a
-S	1,56ab	0,11ab	0,47c	0,35a	0,46a	847ab	101,2ab	4881,8ab	20,8a
-Micro	1,45ab	0,09bc	0,36cd	0,26bc	0,39a	882,2a	96,8ab	4373,6abc	18,4a
Controle	0,85c	0,08c	0,84b	0,22c	0,38a	244,2c	55b	2580,6c	8,2b
Média	1,33	0,09	0,49	0,29	0,48	646,8	114,4	4536,4	17,51
CV(%)	10,9	16,9	36,6	14,2	25,9	19,6	59,7	27,6	22,1

\* Os tratamentos de adubação foram: Completa (adubação completa); -N (omissão de N); -P (omissão de P); -K (omissão de K); -Ca (omissão de Ca); -Mg (omissão de Mg); -S (omissão de S); -Micro (omissão de micronutrientes); e Controle (sem adubação)

\*\* Tratamentos com médias compartilhando uma mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Quanto à acumulação de P nos órgãos de planta (Tabela 2), verificou-se redução drástica pela omissão de P na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa. Em relação ao tratamento sem adubação (controle), a omissão de P na adubação proporcionou maior acúmulo de P nas folhas e caule. Já nas raízes esses dois tratamentos se igualaram na acumulação de P. Além disso, a omissão de P na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa, reduziu a acumulação de Fe nas folhas. No caule houve aumento na acumulação de K e Ca, bem como diminuição do Mn. Quanto às raízes, não foi verificada alteração sobre a acumulação de qualquer outro nutriente, exceto daquela do P.

Na tabela 1, são apresentados os teores de K nos órgãos das mudas de *P. glomerata*. A omissão de K na adubação reduziu o teor de K nas folhas, entretanto, não alterou no caule e raízes em relação a adubação completa. Em relação à adubação completa, a omissão de K aumentou os teores de N e Cu nas folhas, porém diminuiu o teor de Mn. Resultados semelhantes quanto ao teor de K foram registrados em folhas de eucalipto (*E. grandis* x *E. urophylla*) por SGARBI et al. (1999) e no caule de paricá (*Schizolobium amazonicum*) por MARQUES et al. (2004). Quanto ao caule de *P. glomerata*, a omissão de K na adubação aumentou os teores de P e Mg. Já nas raízes houve aumento no teor de P e diminuição nos teores de Ca, Mn, Fe e Cu. Na parte aérea de plantas de angico amarelo (*Peltophorium dubium*), bem como nas folhas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) e em todos os órgãos da planta de paricá (*Schizolobium amazonicum*), a omissão de K promoveu altos teores de Mg (VENTURIN et al., 1999; VELOSO et al., 1993; MARQUES et al., 2004). Segundo MARQUES et al. (2004), esse resultado se deve a uma competição entre estes elementos. MALAVOLTA (1997) relata que existe antagonismo entre Ca, Mg e K, no qual o aumento na concentração de um destes elementos no substrato de cultivo implica na diminuição da absorção dos outros. De acordo com BERNARDI et al. (2000), o K e o Ca competem fortemente pelos mesmos sítios de absorção, e o excesso de um leva à redução na absorção do outro, mostrando efeito de inibição competitiva. Além disso, altos teores de K também induzem à deficiência de Mg, devido a inibição competitiva entre eles.

Quanto à acumulação de K em *P. glomerata* (Tabela 2), verificou-se a diminuição nas folhas e

caule pela omissão de K na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa, sendo essa equivalente ao observado para o tratamento controle. Além disso, a omissão de K na adubação reduziu a acumulação de N, P, Ca, Mg, Mn, Zn e Fe nas folhas. No caule houve redução na acumulação de N, P, Ca, Mn e Zn, mas aumentou a acumulação de Mg. Já nas raízes observou-se redução na acumulação de N, Ca, Mg, Mn, Fe e Cu.

TABELA 2 - Acumulação de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas no horizonte A de um Argissolo Vermelho distrófico arênico e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007.

Tratamentos*	Acumulação de nutrientes na folha (g planta <sup>-1</sup> )								
	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu
Completa	38,5a**	8,9a	23,2a	4,5bc	9,2ab	20,51bc	1,002bc	10,52a	0,142bc
-N	9,8c	3,6c	26,3a	2,4ef	3,8e	6,55e	0,209d	0,82b	0,034d
-P	38,4a	6,1b	25,9a	5,6ab	7,8bc	14,77c	1,170ab	3,07b	0,133bc
-K	28,7b	6,0b	7,1c	1,9f	6,4cd	7,53e	0,409d	2,74b	0,127c
-Ca	38,2a	9,7a	24,5a	3,8cd	10,4a	20,08bc	0,909c	4,64b	0,169ab
-Mg	41,0a	9,4a	22,4ab	4,3cd	6,6cd	18,32cd	0,838c	5,24b	0,143bc
-S	38,3a	9,9a	17,3b	6,1a	9,4ab	23,24b	1,295a	4,0b	0,185a
-Micro	39,8a	9,2a	22,3ab	5,7ab	9,8ab	27,41a	0,893c	5,64b	0,139bc
Controle	7,9c	3,0c	11,3c	3,3de	4,7de	4,25e	0,345d	0,81b	0,027d
CV(%)	12,7	9,9	15,2	15,5	14,9	14,8	14,2	65,2	17,01
	Acumulação de nutrientes no caule (g planta <sup>-1</sup> )								
Completa	22,7b	16,8b	38,4b	1,1cd	3,9b	8,91a	0,67bc	2,48ab	0,242ab
-N	4,06d	5,8e	22,6c	0,7ef	1,0de	3,32cd	0,23e	1,12b	0,153ab
-P	25,3b	10,8d	49,7a	1,7a	2,5bc	4,27bc	0,71ab	1,09b	0,178ab
-K	13,6c	9,4d	10,1d	0,5f	5,2a	2,85cd	0,36d	1,35b	0,107b
-Ca	23,2b	17,4b	39,5ab	0,8de	3,0bc	7,79a	0,59c	2,76ab	0,210ab
-Mg	24,7b	19,2a	39,2ab	1,4ab	2,6bc	8,80a	0,77ab	4,58a	0,409a
-S	30,5a	13,0c	46,7ab	1,0cde	2,3cd	5,25b	0,25de	2,86ab	0,157ab
-Micro	21,7b	19,2a	39,8ab	1,3bc	3,2bc	8,96a	0,81a	4,45a	0,266ab
Controle	3,08d	4,7e	10,9d	0,5f	0,7e	2,27d	0,31de	1,45b	0,126b
CV(%)	14,6	6,8	17,0	18,8	28,2	15,0	12,0	47,9	66,1
	Acumulação de nutrientes na raiz (g planta <sup>-1</sup> )								
Completa	14,2ab	0,89ab	3,5bc	3,3a	5,8a	7,21a	0,86bc	51,68ab	0,165bc
-N	6,6de	0,95a	8,7a	2,3cd	3,0b	5,62a	0,73c	25,04cd	0,126c
-P	15,9a	0,44c	4,9b	3,2ab	4,6ab	6,13a	1,21abc	42,76bc	0,194b
-K	8,7cd	0,78ab	0,7c	1,5de	3,0b	1,34b	0,41c	14,20d	0,063d
-Ca	9,7c	0,64bc	2,3bc	1,8de	3,9ab	5,93a	2,30a	38,27bc	0,152bc
-Mg	14,1ab	0,92a	2,6bc	2,8abc	5,9a	6,66a	2,13ab	69,75a	0,245a
-S	13b	0,94a	3,9b	3,2ab	3,8ab	7,03a	0,84bc	40,42bc	0,172bc
-Micro	12,2b	0,78ab	3,1bc	2,2cde	3,3b	7,46a	0,81bc	37,24bc	0,157bc
Controle	5,0e	0,47c	4,9b	1,2e	2,2b	1,43b	0,32c	15,10d	0,048d
CV (%)	12,3	18,9	40,6	21,6	32,3	19,1	66,8	30,3	19,1

\* Os tratamentos de adubação foram: Completa (adubação completa); -N (omissão de N); -P (omissão de P); -K (omissão de K); -Ca (omissão de Ca); -Mg (omissão de Mg); -S (omissão de S); -Micro (omissão de micronutrientes); e Controle (sem adubação)

\*\* Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

A disponibilidade natural de P e K no Argissolo Vermelho distrófico arênico é, respectivamente, muito baixa e baixa (CQFS-RS/SC, 2004). A baixa disponibilidade de K e de P em solos arenosos, juntamente com a importância destes nutrientes ao crescimento e desenvolvimento das plantas foram fatores decisivos na limitação do crescimento das plantas de *P. glomerata*.

Na tabela 1 são apresentados os teores de Ca nos órgãos das mudas de *P. glomerata*. Em comparação ao tratamento de adubação completa, a omissão de Ca na adubação não alterou o teor de nenhum nutriente analisado, tanto nas folhas como no caule, porém, em relação ao tratamento controle, verificou-se que o teor de Ca nas folhas e caule diminuiu pela omissão desse nutriente na adubação. Somente nas raízes houve menor teor de Ca pela omissão desse nutriente na adubação.

Quanto à acumulação de Ca nas folhas verificou-se, dentre os vários nutrientes analisados, apenas diminuição na acumulação de Fe nas folhas pela omissão isolada de Ca na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa (Tabela 2). No caule não houve alteração na acumulação de nenhum nutriente. Por outro lado, nas raízes verificou-se a diminuição na acumulação de N e Ca, e por outro lado, um aumento na acumulação de Zn.

Na tabela 1 são apresentados os teores de Mg nos órgãos das mudas de *P. glomerata*. A omissão de Mg na adubação reduziu o teor desse nutriente apenas na folha, em comparação aos tratamentos de adubação completa e controle. Além disso, os teores de todos os outros nutrientes analisados, nos três órgãos da planta, não se alteraram pela omissão de Mg na adubação, se comparados com aqueles obtidos pela adubação completa.

Quanto à acumulação de Mg, verificou-se apenas redução nas folhas, provocada pela omissão isolada de Mg na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa, a qual se assemelhou àquela obtida no tratamento controle (Tabela 2). Quanto aos demais nutrientes, a omissão de Mg na adubação provocou diminuição na acumulação de Fe nas folhas, aumento na acumulação de P e Ca no caule, bem como aumento na acumulação de Cu nas raízes.

Os teores de Ca e de Mg, respectivamente, 1,7 e 0,5  $\text{cmol}_c\text{L}^{-1}$ , no Argissolo Vermelho distrófico

arênico sob condições naturais, embora abaixo dos teores mínimos críticos recomendados para os solos do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004), aparentemente não afetaram o crescimento da *P. glomerata*, a qual apresentou como teores médios nas folhas 0,49% e 0,81%, respectivamente para o Ca e Mg. Em mudas de grápia (*Apuleia leiocarpa*) cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, NICOLOSO et al. (1999) e NICOLOSO et al. (2007) constataram ausência de resposta à adubação de Ca e Mg. Portanto, nas condições de solo ácido (pH=4,7) em que foi desenvolvido o presente estudo, a *P. glomerata* foi eficiente na absorção e na utilização de Ca e Mg.

A omissão de S na adubação induziu um aumento nos teores de N, Ca, Mg, Mn e Zn das folhas, em comparação ao tratamento de adubação completa (Tabela 1). Esse mesmo comportamento foi observado para os teores de N, P, K e Ca no caule. Já nas raízes não houve alteração nos teores de nenhum nutriente. Resultados semelhantes foram encontrados na parte aérea de mudas de teca (*Tectona grandis*) por BARROSO et al. (2005), onde a omissão de S na adubação proporcionou aumento nos teores de Ca e Mg. Na parte aérea de plantas de angico-amarelo (*Peltophorium dubium*) a absorção de N e Ca foram favorecidas pela omissão de S na adubação (VENTURIN et al., 1999). Já em de plantas de paricá (*Schizolobium amazonicum*), os maiores teores de Zn nas raízes foram encontrados pela omissão de N e S, no caule pela omissão de S e nas folhas pela omissão de N na adubação (MARQUES et al., 2004). Em plantas de grápia (*Apuleia leiocarpa*), cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, NICOLOSO et al. (1999) verificaram que a omissão de S resultou em maiores teores de N nos diferentes órgãos da planta, demonstrando a estreita relação entre N e S no metabolismo das plantas. A deficiência de N e S não somente limita a habilidade da planta em sintetizar cisteína, mas também reduz a síntese protéica e a taxa com a qual todos os aminoácidos são incorporados em proteína (LEUSTEK, 2002).

Na omissão de S na adubação, comparando ao tratamento de adubação completa, se observou aumento na acumulação de Ca, Zn e Cu, e, por outro lado, a diminuição na acumulação de K e Fe nas folhas. No caule, houve aumento na acumulação de N e, por outro lado, diminuição da acumulação de P, Mg, Mn e Zn. Já nas raízes não houve alteração na acumulação de qualquer nutriente analisado (Tabela

2).

Na tabela 1, são apresentados os teores de Mn, Cu, Fe e Zn nos órgãos das mudas de *P. glomerata*. A omissão de micronutrientes na adubação provocou aumento no teor de Mn nas folhas e, por outro lado, diminuição do teor de N no caule, em comparação ao tratamento de adubação completa. Em plantas de paricá (*Schizolobium amazonicum*), os maiores teores de Mn nas folhas foram encontrados pela omissão de Ca, no caule, com a omissão de K e Mg e nas raízes pela omissão de S na adubação (MARQUES et al., 2004). Já em plantas de arroz (*Oryza sativa*), a omissão de Zn na adubação proporcionou valores relativamente altos de Mg (SGARBI et al., 1999).

Os teores médios dos micronutrientes Cu, Zn e Fe foram maiores nas raízes, sendo, respectivamente, 40%, 44% e 1188% superiores àqueles encontrados nas folhas. Por outro lado, o maior teor de Mn foi encontrado nas folhas, sendo 142% maior ao encontrado nas raízes. Estes resultados são semelhantes àqueles registrados por NICOLOSO et al. (1999), em relação a grápia (*Apuleia leiocarpa*), também cultivada em Argissolo Vermelho distrófico arênico. Estes autores concluíram que a omissão dos micronutrientes Cu, Zn, Fe e Mn na adubação não afetou o crescimento da grápia, bem como a concentração desses nutrientes nos tecidos da planta, demonstrando que os teores naturais desses elementos no solo são adequados.

Quanto à acumulação dos micronutrientes nas folhas (Tabela 2), verificou-se que a omissão conjunta dos micronutrientes na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa, provocou redução na acumulação de Fe e aumento no Mn nas folhas. Além disso, nenhum dos macronutrientes analisados sofreu alteração quanto à acumulação nas folhas pela omissão de micronutrientes na adubação. No entanto, no caule, houve aumento na acumulação de P e Zn pela omissão dos micronutrientes na adubação. Já nas raízes verificou-se redução na acumulação de Ca e Mg.

Considerando-se que a omissão dos micronutrientes na adubação não alterou a produção de biomassa das mudas de *P. glomerata* (SKREBSKY et al., 2008), os dados do presente trabalho sugerem que os teores médios de Cu, Zn, Fe e Mn nos diferentes órgãos das plantas parecem refletir uma condição



de suficiência sob condição natural do solo, fato também sugerido pela CQFS-RS/SC (2004). Em pH baixo (4,7), condição natural do Argissolo Vermelho distrófico arênico, a disponibilidade desses micronutrientes catiônicos é a mais alta, facilitando a absorção pelas plantas. Além disso, a acumulação de macro e micronutrientes nos diferentes órgãos da planta, verificadas no tratamento com omissão conjunta dos micronutrientes, foi maior do que aquela do tratamento sem adubação (controle), portanto, conclui-se que o solo usado nesse experimento apresenta teores satisfatórios dos micronutrientes testados (B, Mo, Zn, Mn, Cu e Fe) na adubação.

Levando-se em consideração que a produção de biomassa total da planta obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente:  $Mg \cong \text{micronutrientes} \geq \text{adubação completa} \geq Ca > P > S > K > N \cong \text{controle}$ , e que a redução em biomassa entre o tratamento de omissão de Mg e o de Ca foi de 10% (SKREBSKY et al., 2008), os dados do presente trabalho sugerem que os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas de *P. glomerata*, para se obter de 90 a 100% da matéria seca, sejam: N = 3,2 a 3,5%; P = 0,7 a 0,8%, K = 1,8 a 2,1%, Ca = 0,3 a 0,5%, Mg = 0,6 a 0,9%; Cu = 10 a 15mg kg<sup>-1</sup>, Zn = 70 a 85mg kg<sup>-1</sup>, Fe = 380 a 510mg kg<sup>-1</sup> e Mn = 1500 a 2300mg kg<sup>-1</sup>.

Entretanto, como a raiz da *P. glomerata* é o órgão de interesse medicinal e a resposta em produção de biomassa radicular aos tratamentos de adubação foi diferente àquela da biomassa total da planta (SKREBSKY et al., 2008), os dados sobre os teores adequados indicados por este trabalho, para uma boa nutrição dessa espécie, devem ser considerados apenas como uma recomendação para o estabelecimento das mudas. Além disso, como o desenvolvimento das raízes visando uma expressiva acumulação dos princípios ativos de interesse medicinal deve ocorrer na fase adulta da planta (MONTANARI JR., 1999) é recomendado que outras pesquisas sejam feitas, principalmente em cultivos a campo.

## CONCLUSÕES

A omissão de N, P, K e S na adubação induziu alterações expressivas nos teores de macro e micronutrientes dos tecidos de mudas de *P. glomerata*, cultivadas em amostras de solo do horizonte

superficial arenoso (Argissolo Vermelho distrófico arênico).

Os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas de *P. glomerata*, para se obter de 90 a 100% da matéria seca, aos 60 dias de cultivo, foram: N=3,2 a 3,5%; P=0,7 a 0,8%, K=1,8 a 2,1%, Ca=0,3 a 0,5%, Mg=0,6 a 0,9%; Cu=10 a 15mg kg<sup>-1</sup>, Zn=70 a 85mg kg<sup>-1</sup>, Fe=380 a 510mg kg<sup>-1</sup> e Mn=1500 a 2300mg kg<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, M.P. et al. Limitações nutricionais para a cultura do arroz em solos orgânicos sob inundação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.299-310, 2001.
- BARROSO, D.G. et al. Diagnóstico de deficiências de macronutrientes em mudas de teca. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.5, p.671-679, 2005.
- BERNARDI, A.C de C. et al. macronutrientes em mudas de citros cultivadas em vasos em resposta à adubação NPK. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.4, p.761-767, 2000.
- BORGES, A.L. et al. Produtividade e qualidade de maracujá-amarelo irrigado adubado com nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.259-262, 2003.
- CAMARGO, M.S. et al. Crescimento e absorção de nutrientes pelo Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 143-146, 2004.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS-NRS, 2004. 400 p.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 400p.
- LEUSTEK, T. Sulfate metabolism. **The Arabidopsis Book**, p. 1-16, 2002.
- MALAVOLTA, E. et al. **Avaliação do estado nutricional das plantas, princípios e aplicações**. Piracicaba-SP. 319p. 1997.
- MARQUES, T.C.L.L.S. de. et al. Exigências nutricionais do Paricá (*Schizolobium amazonicum*, Herb.)

na fase de muda. **Revista Cerne**, Lavras, v. 10, n. 2, p. 167-183, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, 2002. 890p.

MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais**, 2ed. Viçosa: UFV-Imprensa Universitária, 1998. 220p.

MING, L.C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, n.1, p.3-9, 1994.

MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen)**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).

MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdysone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.

MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Secretaria da Agricultura, Diretoria de Terras e Colonização, Seção de geografia. Porto Alegre, 1961. 46p.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.

MURPHY, J. & RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chemica Acta**, Amsterdam, v.27, p.31-36, 1962.

NICOLOSO, F.T. et al. Exigências nutricionais da Grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride) em solo podzólico vermelho amarelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.225-231, 1999.

NICOLOSO, F.T. et al. Micropropagação do ginseng brasileiro. [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.3, n.2, p. 11-18, 2001.

NICOLOSO, F.T. et al. Exigências nutricionais da grápia em Argissolo Vermelho distrófico arênico: (II) Efeito da adubação NPK no teor de nutrientes nos tecidos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.2, p.372-380, 2007.

SGARBI, F. et al. Crescimento e produção de biomassa de clone de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* em condições de deficiência de macronutrientes, B e Zn. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.56,

p.69-82, 1999.

SHIOBARA, Y. et al. A notriterpenoid, triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, Oxford, v.32, n.6, p.1527-1530, 1993.

SKREBSKY, E. C. et al. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida in vitro sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1416-1423, 2006.

SKREBSKY, E.C. et al. Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, no prelo, 2008.

TEDESCO, M.S. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2 ed. 174p. 1995.

VELOSO, C.A.C. et al. Diagnose de deficiências de macronutrientes em pimenta-do-reino. **Ciência Agrícola**, Piracicaba, v.50, n.2, p.232-236, 1993.

VENTURIN, N. et al. Adubação mineral do Angico-amarelo (*Peltophorium dubium* (Spreng.) Taub. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.3, p.441-448, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre:Artmed, 2004, 719p.

# Capítulo 1

## Experimento 2

Através dos resultados obtidos no 1º experimento, verificou-se que as plantas jovens de *Pfaffia glomerata*, cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, apresentaram grande redução no crescimento pela deficiência de N, P, K e S na adubação.

Diante destes resultados, o 2º experimento teve por objetivo estabelecer os melhores níveis de adubação mineral N-P-K, para a produção de biomassa de *P. glomerata*, ainda em condições de casa de vegetação, utilizando o mesmo solo como substrato.

Os resultados deste estudo também foram divididos em dois artigos. O primeiro abordou o efeito da adubação mineral no crescimento das plantas. O segundo relacionou o efeito da adubação mineral na absorção e acumulação de nutrientes nos diferentes órgãos de mudas de *P. glomerata*.

O suprimento inadequado de nutrientes pode provocar restrições ao crescimento das plantas e modificar as relações entre a biomassa aérea e a radicular, bem como promover alterações entre os estádios vegetativos e os reprodutivos. Portanto, o estudo da concentração e do acúmulo de nutrientes nas plantas permite quantificar as necessidades nutricionais e apontar os momentos mais adequados para a adubação, evitando a falta ou excesso de algum elemento essencial durante o desenvolvimento da cultura.

## **Capítulo 1, Experimento 2, Artigo n°1**

Crescimento de mudas de ginseng brasileiro, cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, sob diferentes níveis de adubação NPK.

**Crescimento de mudas de ginseng brasileiro cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico  
sob diferentes níveis de adubação NPK**

**Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1,5</sup> Fernando Teixeira Nicoloso<sup>1,2</sup> Joseila Maldaner<sup>1</sup> Renata Rauber<sup>3</sup>  
Gabriel Y Castro<sup>1</sup> Gládis de Oliveira Jucoski<sup>1</sup> Danilo Rhenheimer dos Santos<sup>4</sup> Sidinei José Lopes<sup>1</sup>**

**RESUMO**

O ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) é uma espécie nativa de ampla utilidade na indústria de fitomedicamentos e suplementos alimentares. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da adubação NPK no crescimento de mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, sob condições de casa de vegetação. Plantas de *P. glomerata* produzidas *in vitro* e aclimatizadas *ex vitro* foram usadas como material inicial para o experimento, em casa de vegetação. Foram avaliados 27 tratamentos, em esquema trifatorial completo (3x3x3), representados pela combinação de três níveis (40, 80 e 120mg kg<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação. Aos 15 e 30 dias após o transplante para o solo, foram realizadas as adubações pela adição de soluções nutritivas (parceladas em 50%). Aos 45 e 60 dias após o transplante, avaliaram-se o número de folhas e a altura de plantas. No final do experimento, 60 dias após transplante, avaliaram-se as matérias secas de folhas, do caule, da parte aérea, de raízes e do total da planta, bem como a relação de matéria seca de raízes e da parte aérea. As respostas à adubação NPK sobre o número de folhas por planta e altura de planta variaram com a idade

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, UFSM, Campus Universitário, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: [ftnicoloso@yahoo.com](mailto:ftnicoloso@yahoo.com). Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Curso de Engenharia Florestal, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Departamento de Solos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>5</sup> Prof<sup>ª</sup>. Assistente, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Bagé-RS, Brasil.

das mudas. A produção de biomassa pelos diferentes órgãos da planta respondeu distintamente à interação tripla das adubações NPK. As doses de máxima eficiência técnica estimada (DMET) às adubações de N, P e K na produção de biomassa radicular foram de, respectivamente, 80, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>. Para a biomassa foliar, as DMET foram correspondentes a 40mg kg<sup>-1</sup> para o N e acima de 120mg kg<sup>-1</sup> para o P e K. As DMET à adubação de NPK na biomassa total da planta foram de, respectivamente, 60, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>. Mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico são altamente exigentes em fósforo e moderadamente exigentes em nitrogênio e potássio.

**Palavras-chave:** *Pfaffia glomerata*, nutrição mineral, macronutrientes, micronutrientes.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o uso de plantas medicinais tem crescido de forma significativa no Brasil. As raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen são de grande interesse comercial na forma de fitomedicamentos e suplementos alimentares, em razão de seu uso popular como agente antitumoral, antidiabético e às suas propriedades tônicas e estimulantes (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000; VIGO et al., 2004). A *P. glomerata* é conhecida como ginseng brasileiro devido ao formato de suas raízes, as quais são muito semelhantes às do ginseng coreano (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Em extratos de raízes desta planta, vários metabólitos secundários foram identificados, tais como: ácido glomérico e ácido famérico, ecdisterona, rubrosterona, ácido oleanólico e oleanotato β-glicopiranosil (SHIOBARA et al., 1993; MONTANARI JR. et al., 1999).

Levando-se em conta que o objetivo principal do cultivo das plantas medicinais é a obtenção de metabólitos secundários em quantidade desejada, faz-se necessário estudar os fatores que influenciam os mecanismos de biossíntese desses compostos, bem como aqueles que influenciam a produção de biomassa de interesse. Dentre os fatores que podem interferir na composição química da planta, a nutrição mineral merece destaque, pois a deficiência ou o excesso de nutrientes pode interferir na produção e na



quantidade de princípio ativo (ABREU et al., 2002; MAPELINI et al., 2005), além de provocar restrições ao crescimento das plantas e alterar relações entre biomassa aérea e radicular, bem como promover alterações na duração das fases de desenvolvimento (BALIGAR & FAGERIA, 1997; MARSCHNER, 2002; BOVI et al., 2002).

A adubação desbalanceada, principalmente em nitrogênio e potássio, nutrientes mais absorvidos pelas plantas, pode afetar negativamente a produtividade e a qualidade das plantas (BORGES et al., 2003). De um modo geral, a adubação nitrogenada, fosfatada e potássica aumentam a biomassa dos órgãos da planta, tendendo a produzir maior teor de princípios ativos (MING, 1994). Em alguns casos, a complementação da adubação orgânica com fertilizantes minerais é capaz de garantir uma melhor concentração de princípios ativos nas plantas (CORRÊA JR., 1994).

No sistema de cultivo em casa de vegetação, geralmente, o crescimento das plantas é rápido em um período de tempo curto, mesmo na presença de um reduzido espaço para o desenvolvimento do sistema radicular. Portanto, o fornecimento de nutrientes em doses adequadas é necessário para estimular o crescimento máximo e tornar a produção economicamente viável, pois os desbalanços nutricionais podem acarretar prejuízos à muda, alterando sua morfologia (BERNARDI et al., 2000). No entanto, a magnitude das respostas à aplicação de fertilizantes depende de uma série de fatores relacionados à absorção, ao transporte e a utilização dos nutrientes disponíveis e aplicados ao solo, bem como a fatores relacionados à genética das plantas e as condições do solo utilizado (MARSCHNER, 2002).

Excetuando-se os trabalhos apresentados anteriormente no capítulo 1 desta tese, não existem na literatura relatos sobre a nutrição mineral da *P. glomerata*. No entanto, experimentos em condições controladas com outras espécies vegetais medicinais têm mostrado que a correção de acidez do solo e a adição de fertilizantes podem influenciar a qualidade e a produção dos princípios ativos (CQFS-RS/SC, 2004). Dados de ensaios preliminares com *P. glomerata* sugerem que poderá haver respostas à aplicação de nutrientes (SKREBSKY et al., 2008). Esses autores verificaram que plantas jovens de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico apresentaram grande redução no crescimento pela

ausência de N, K, S e P na adubação.

O conhecimento de limitações físicas e químicas dos solos e das exigências nutricionais e fisiológicas da *P. glomerata* são fatores fundamentais à viabilização econômica-ambiental dessa espécie no sistema de produção agrícola. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da adubação NPK no crescimento de mudas de *P. glomerata*, cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, sob condições de casa de vegetação.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, multiplicadas *in vitro* de acordo com NICOLOSO et al. (2001) e aclimatizadas segundo a metodologia de SKREBSKY et al. (2006), foram usadas no ensaio. Segmentos nodais de 1cm de comprimento foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 6g L<sup>-1</sup> de agar. Após a inoculação, os explantes foram cultivados em sala de crescimento com temperatura controlada de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 35µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> fornecida através de lâmpadas fluorescentes brancas-frias. Aos 25 dias após a inoculação, procedeu-se o início da aclimatização através da abertura dos tubos de cultivo em sala de crescimento, por período de três dias (1ª etapa); após fez-se a transferência das plantas para recipientes de plástico (350cm<sup>3</sup>) contendo 250cm<sup>3</sup> de substrato Plantmax® Hortaliças, as quais ficaram 15 dias em sala de crescimento (2ª etapa). Na seqüência, as plantas foram transferidas para um telado de sombrite (malha 50% de extinção de luz), onde ficaram mais 15 dias (3ª etapa). Essas plantas aclimatizadas foram transplantadas para solo, em ambiente de casa de vegetação, localizada no Departamento de Solos, da Universidade Federal de Santa Maria, latitude de 29°41'S, longitude de 58°48'W e altitude de 95m. Segundo a classificação climática de Köeppen, o clima da região é do tipo “cfa”, caracterizado como subtropical úmido (MORENO, 1961).

A unidade experimental foi constituída de um vaso, forrado internamente com saco plástico para

evitar a perda de água e nutrientes pela drenagem, contendo 4kg de terra fina seca ao ar (malha 0,5cm) e uma planta. Os vasos foram submetidos a rodízio periódico para evitar o efeito de localização na casa de vegetação. O delineamento experimental usado foi de tratamentos inteiramente casualizados, com 5 repetições. O solo utilizado foi coletado do horizonte A (zero a 65cm de profundidade) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico sob campo nativo, ocorrente no município de Santa Maria, RS. Os dados das análises físicas e químicas desse solo sob condições de campo nativo e com os tratamentos de adubação, após 60 dias de cultivo das mudas de *P. glomerata* são apresentados na tabela 1.

Foram avaliados 27 tratamentos em esquema trifatorial completo (3x3x3), em que os fatores consistiram da combinação de três níveis (40, 80 e 120mg kg<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação. A adubação foi feita através da aplicação de soluções nutritivas preparadas para atingir as concentrações de N, P e K estipuladas para cada tratamento. As fontes de nutrientes foram NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e KCl. As adubações foram adicionadas no solo na forma de soluções nutritivas em duas doses, 50% aos 15 dias e a outra metade aos 30 dias após o transplante.

Irrigações foram efetuadas com água destilada, procurando-se manter a umidade do solo entre 50 e 60% da capacidade de campo, por meio de aferições diárias de pesagem.

Aos 30 e 45 dias após a primeira aplicação dos tratamentos de adubação, avaliaram-se o número de folhas e a altura de plantas. No final do experimento, 45 dias após a primeira aplicação dos tratamentos de adubação, avaliaram-se as matérias secas de folhas, do caule, da parte aérea, de raízes e do total da planta, bem como a relação de matéria seca de raízes e da parte aérea.

Foi realizada a análise de variância e após, quando a interação tripla foi significativa, em nível de 5% de probabilidade de erro, ajustou-se superfícies de resposta para as combinações de dois fatores. Para as interações duplas significativas, procedeu-se ao ajuste de superfície de resposta. Já para os efeitos principais, desdobrou-se a soma dos quadrados dos tratamentos em polinômios de 1º e 2º grau, ajustando o polinômio de maior grau significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de folhas por plantas, avaliado aos 45 dias após transplante (DAT), apresentou resposta de interação tripla à adubação de N, P e K, sendo que as doses de máxima eficiência técnica estimada (DMET) foram de  $40\text{mg kg}^{-1}$  para o N, e acima da maior dose utilizada, para o P e K (Figura 1a, b, c). Já a altura das plantas aos 45 DAT, apresentou somente resposta isolada às adubações NPK, onde o incremento da adubação fosfatada causou aumento linear (Figura 1d), enquanto que o incremento das adubações de N e K provocaram decréscimo linear (Figura 1d). Resultados semelhantes foram relatados por MISSIO et al. (2004) em plantas jovens de grápia (*Apuleia leiocarpa*), cultivadas no mesmo Argissolo Vermelho distrófico arênico, onde o número de folhas por planta e a altura das plantas aumentaram com a adubação fosfatada. Esses resultados sugerem que o fósforo é o elemento mineral mais limitante ao crescimento inicial das mudas de algumas espécies vegetais quando cultivadas nesse solo.

As respostas à adubação não dependeram somente do solo usado, mas também das espécies vegetais. BOVI et al. (2002) verificaram que o crescimento da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth.), em solo arenoso e de baixa fertilidade, apresentou resposta linear positiva às adubações de N e K, bem como ausência de resposta ao P.



crescimento em altura das mudas de *P. glomerata*, apesar do solo utilizado, sob condições naturais, apresentar teores baixos de K e de matéria orgânica (CQFS-RS/SC, 2004) (Tabela 1). Uma possível explicação para este comportamento é a formação de um estresse osmótico provocado pela adubação às plantas jovens recém transplantadas. A evapotranspiração elevada pode reduzir a umidade disponível às raízes, de modo a concentrar a solução nutritiva em torno das raízes levando a planta ao estresse (BARBOSA et al., 1999). Em crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) foram registrados efeitos prejudiciais da adubação de N e K, quando associada às altas temperaturas de verão no interior da casa de vegetação (BARBOSA et al., 1999). CAMARGO et al. (2001) também observaram redução no crescimento inicial de Aster (*Aster ericoides*) pelo incremento das adubações de N e K.

Na avaliação realizada aos 60 DAT, tanto o número de folhas por planta, como a altura de planta, apresentou resposta de interação tripla à adubação de N, P e K. Para o número de folhas, as DMET foram de 120, acima de 120 e 118mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente para o N, P e K (Figura 2a, b, c). Já para a altura das plantas, as DMET às adubações de N, P e K foram de, respectivamente, 40, 120 e 40mg kg<sup>-1</sup> (Figura 2d, e, f).

Aos 60 DAT, a produção de matéria seca de raízes apresentou resposta de interação tripla à adubação de N, P e K, com as DMET correspondentes em média a, respectivamente, 80, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup> (Figura 3a, b, c). Alterações na morfologia do sistema radicular podem alterar a eficiência de absorção de água e nutrientes do solo (MARSCHNER, 2002). As mudas com um sistema radicular mais desenvolvido, provavelmente, terão melhores condições de estabelecimento, quando levadas ao campo (BERNARDI et al., 2000). Em trabalho recente, SKREBSKY et al. (2008) observaram que a omissão de P na adubação, do mesmo Argissolo Vermelho distrófico arênico utilizado no presente trabalho, foi entre os tratamentos testados de omissão de macronutrientes, o que menos reduziu a biomassa radicular em plantas de *P. glomerata*, demonstrando que na deficiência desse nutriente a planta redireciona a distribuição de fotoassimilados para as raízes (FÖHSE et al., 1988).

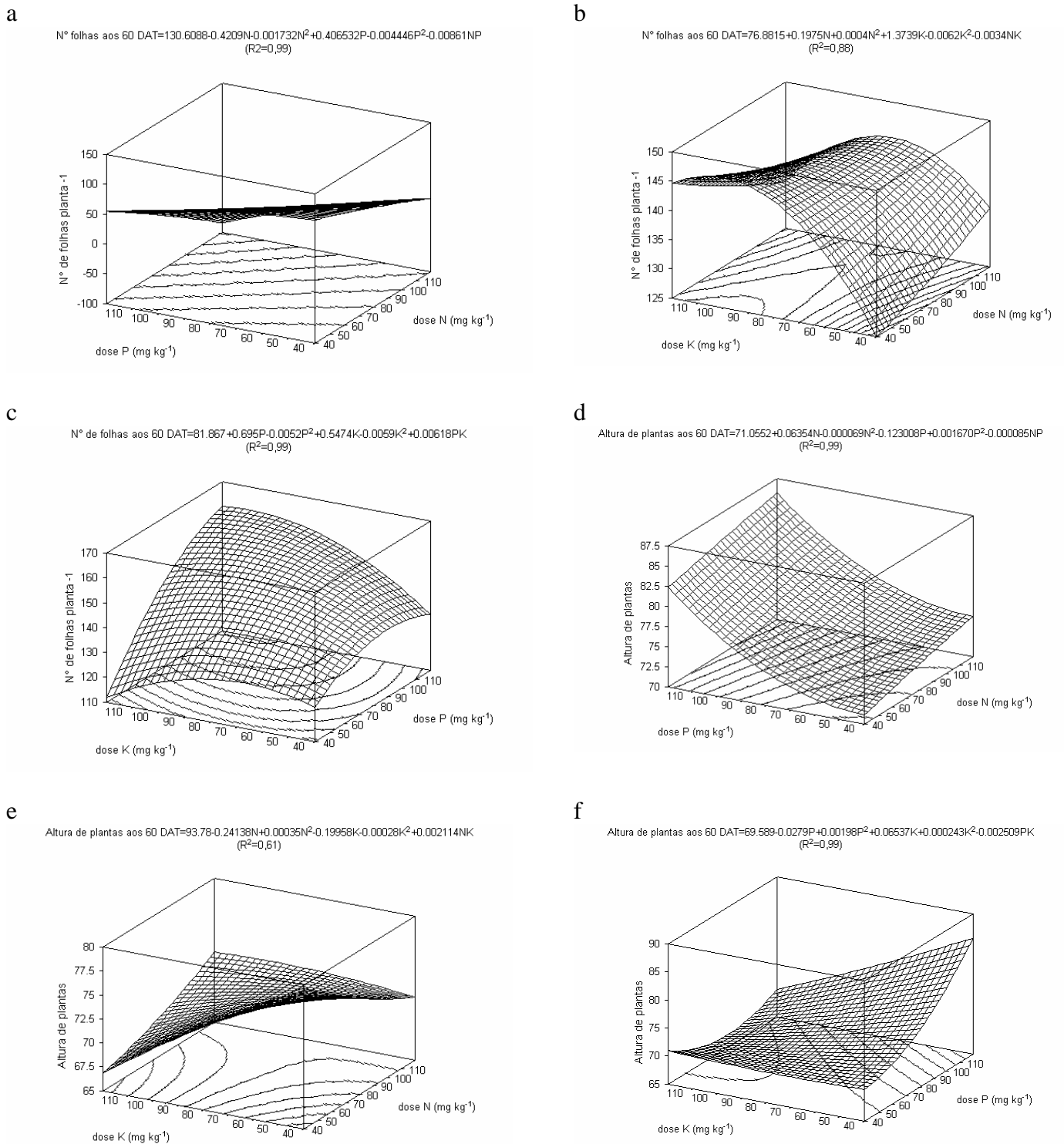


FIGURA 2 - Efeito da adubação conjunta de NPK no número de folhas (a, b, c) e na altura de plantas (d, e, f), aos 60 dias após o transplante (DAT), de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.

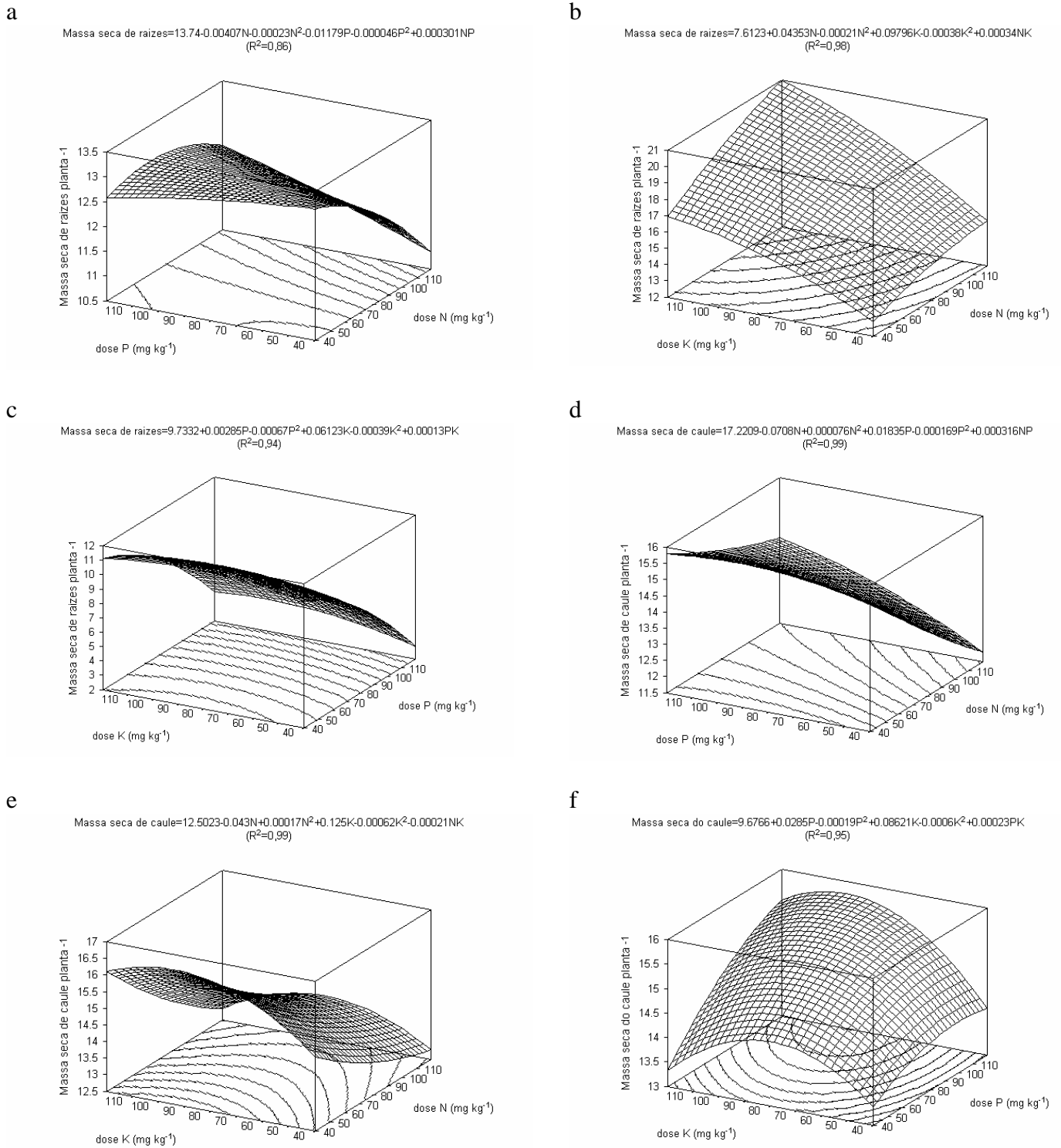


FIGURA 3 - Efeito da adubação conjunta de NPK na massa seca de raízes (a, b, c) e na massa seca de caule (d, e, f), aos 60 dias após o transplante (DAT), de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.



A produção de matéria seca de caule, aos 60 DAT, também apresentou resposta de interação à adubação NPK, com DMET correspondentes a, respectivamente, 40, acima de 120 e 80mg kg<sup>-1</sup> (Figura 3d, e, f). Quanto à produção de biomassa foliar, observou-se também resposta de interação tripla à adubação de N, P e K, com DMET correspondentes de, 40mg kg<sup>-1</sup> para o N e acima de 120mg kg<sup>-1</sup> para o P e K (Figura 4a, b, c). Esses resultados sugerem que doses mais elevadas de P e K poderiam aumentar os ganhos em biomassa foliar da *P. glomerata*. Várias espécies medicinais têm apresentado aumento de biomassa pela adubação. Respostas de interação à adubação de N e P na produção de matéria seca foliar de insulina (*Cissus sicyoides*) também foram observadas por ABREU et al. (2002), sendo que os maiores ganhos em biomassa ocorreram pela aplicação de 150mg de P kg<sup>-1</sup> solo. RODRIGUES et al. (2004) mostraram que o incremento da dose de P na adubação (6 a 30mg L<sup>-1</sup>) aumentou linearmente a matéria seca foliar de *Mentha piperita* L., porém a maior concentração de P utilizada não foi suficiente para atingir a máxima produção de massa seca de folha. De acordo com estes mesmos autores, em fases mais avançadas de desenvolvimento, as plantas necessitam de maiores quantidades de P.

As matérias secas da parte aérea e do total de plantas também apresentaram resposta de interação tripla à adubação de N, P e K. Para a matéria seca da parte aérea, as DMET às adubações de N, P e K foram em média, respectivamente de 40, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup> (Figura 4d, e, f). Quanto à produção de biomassa total da planta, as DMET às adubações de N, P e K foram em média de, respectivamente, 60, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup> (Figura 5a, b, c).

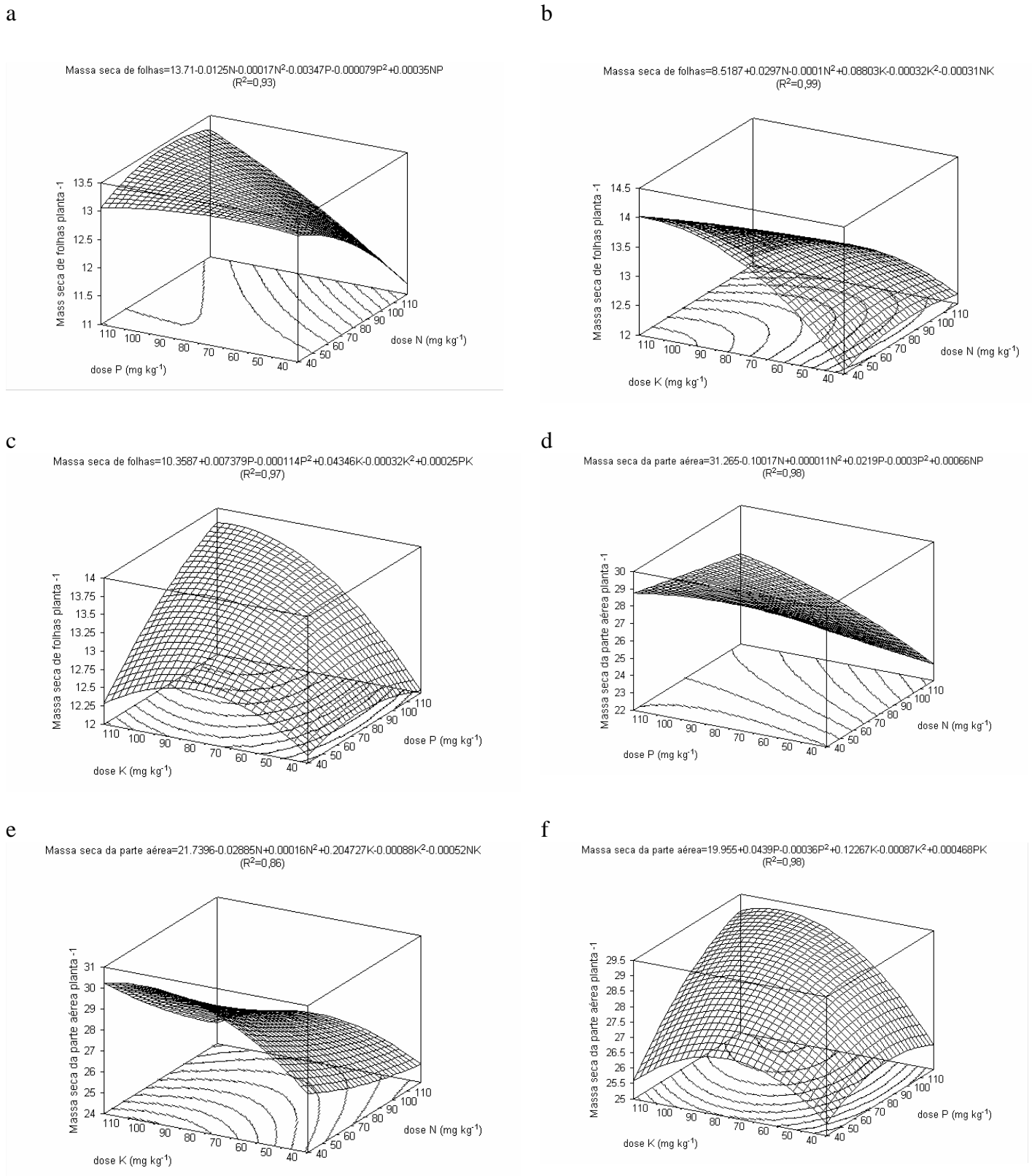
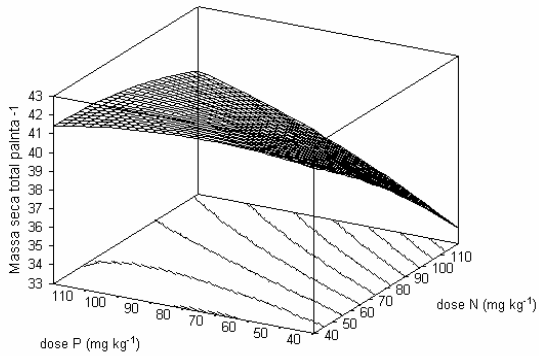


FIGURA 4 - Efeito da adubação conjunta de NPK na massa seca de folhas (a, b, c) e na massa seca da parte aérea (d, e, f), aos 60 dias após o transplante (DAT), de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.

a

$$\text{Massa seca total} = 44.4202 - 0.09172N - 0.00029N^2 + 0.014142P - 0.00036P^2 + 0.00096NP$$

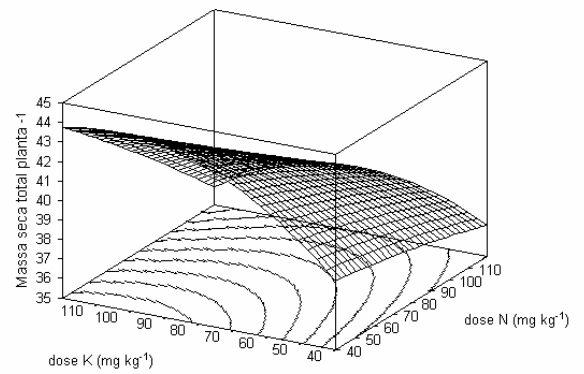
$$(R^2 = 0,94)$$



b

$$\text{Massa seca total} = 28.7074 + 0.03023N - 0.00011N^2 + 0.30824K - 0.00129K^2 - 0.00092NK$$

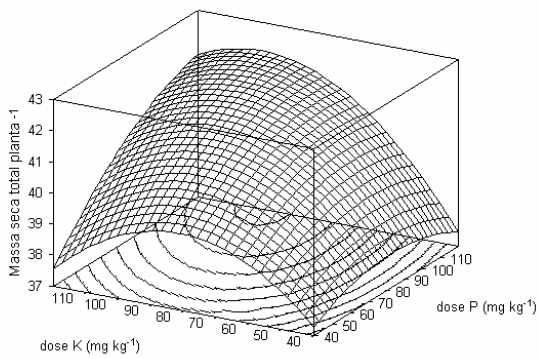
$$(R^2 = 0,99)$$



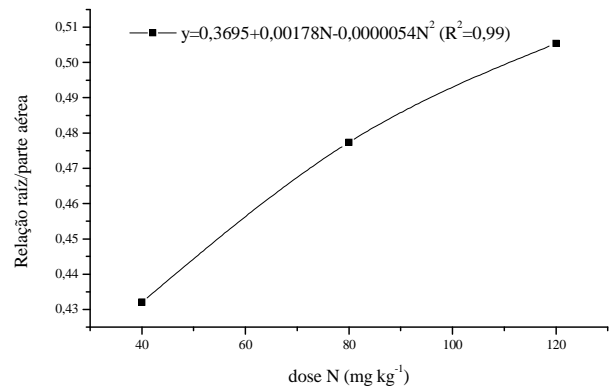
c

$$\text{Massa seca total} = 29.68 + 0.0505P - 0.00045P^2 + 0.1843K - 0.00128K^2 + 0.0006PK$$

$$(R^2 = 0,97)$$



d



e

$$\text{Relação raiz/parte aérea} = 0.4787 - 0.00051P + 0.0000027P^2 + 0.000097K + 0.00000089K^2 - 0.0000029PK$$

$$(R^2 = 0,83)$$

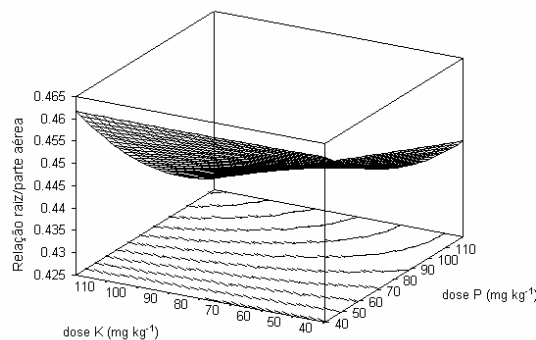


FIGURA 5 - Efeito da adubação conjunta de NPK na massa seca total (a, b, c) e no efeito da adubação isolada de N (d), bem como da adubação conjunta de PK (e) na relação de biomassa entre raiz e parte aérea aos 60 dias após o transplante (DAT), de mudas de *Pfaffia glomerata* em um Argissolo Vermelho distrófico arênico.

A disponibilidade natural de P e K em solos arenosos do Rio Grande do Sul são muito baixas e baixas, respectivamente (CQFS-RS/SC, 2004), assim, teores disponíveis destes elementos, via adubação, são facilmente elevados a valores muito altos. No presente estudo, aos 60 DAT, na presença da adubação fosfatada ( $120\text{mg kg}^{-1}$ ) o teor de P no solo aumentou na ordem de 30 vezes, enquanto que a adubação potássica ( $120\text{mg kg}^{-1}$ ) aumentou o teor de K no solo na ordem de 9 vezes (Tabela 1). Portanto, fica demonstrada a limitação do Argissolo Vermelho distrófico arênico quanto à sua fertilidade natural, fato já relatado em outros trabalhos por NICOLOSO et al. (1999) e SKREBSKY et al. (2008), justificando o motivo pelo qual a adubação conjunta de P e K proporcionou aumento expressivo na produção de biomassa das mudas de *P. glomerata*.

De acordo com NOVAIS et al. (1979), para a maioria das culturas anuais, o nível considerado satisfatório de K no solo encontra-se na faixa de 40 a  $60\text{mg kg}^{-1}$ . Para a *P. glomerata*, em função desse nutriente se apresentar com teor muito baixo no solo, sob condições naturais (Tabela 1), observou-se efeito positivo da adubação potássica até a dose de  $80\text{mg kg}^{-1}$  de solo para a maioria dos parâmetros de crescimento avaliados, com exceção da matéria seca foliar que respondeu a doses mais elevadas do que aquelas utilizadas. Avaliando os efeitos da adubação potássica, na presença de uma dose fixa de N ( $300\text{mg kg}^{-1}$ ), PRADO et al. (2004) verificaram que a dose de  $225\text{mg kg}^{-1}$  de K resultou em maior desenvolvimento das mudas de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis*), além de ter proporcionado uma melhor nutrição e produção de matéria seca total da planta. Já ALMEIDA et al. (2006) observaram que o maior crescimento das mudas de maracujazeiro-amarelo cultivadas em Latossolo Vermelho, quanto à altura de planta, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar, matéria seca da parte aérea e de raízes, ocorreu pela adubação de N e K, respectivamente, nas doses 150 e  $300\text{mg dm}^{-3}$ . Durante a fase de formação de mudas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Starf.), BRASIL (1996) constatou que as melhores produções de matéria seca foram obtidas pela aplicação conjunta de N e P, respectivamente, nas doses de 180 e  $120\text{mg kg}^{-1}$ , utilizando-se como substrato uma mistura de terra preta, serragem curtida e esterco de curral, na proporção de 3:1:1. Portanto, as respostas das culturas à adubação podem ser mais

dependentes da interação entre vários nutrientes do que de um nutriente isolado. Assim, na literatura, são relatados vários trabalhos apresentando respostas de interação entre as adubações de N, P e K (MALAVOLTA, 1997). Desse modo, trabalhos visando os estudos dos efeitos das adubações de vários nutrientes, em sistemas experimentais fatoriais, no crescimento e desenvolvimento das plantas são importantes porque proporcionam uma recomendação mais racional da adubação.

A partição de biomassa entre os órgãos da planta de *P. glomerata*, analisadas através da relação entre a matéria seca das raízes e da parte aérea (R/PA), apresentou resposta isolada à adubação nitrogenada, aumentando-a com o incremento da disponibilidade de N (Figura 5d). Portanto, a adubação nitrogenada favoreceu o crescimento das raízes em detrimento da parte aérea. Este parece ser um mecanismo importante para as plantas, já que o nitrogênio apresenta-se em baixa concentração natural neste solo (Tabela 1), e por isso, um maior crescimento do sistema radicular em relação a parte aérea permite uma melhor absorção do N. O nitrogênio é um dos nutrientes que mais interfere diretamente na partição da biomassa entre os órgãos da planta (MARSCHNER, 2002). Também se verificou resposta de interação à adubação de P e K, sendo que o aumento das doses desses nutrientes diminuiu a relação R/PA, desse modo favorecendo a produção de biomassa da parte aérea (Figura 5e). Apesar desses resultados, os valores observados para essa relação enquadram-se dentro da faixa ideal para a produção de mudas a serem levadas a campo (DANIEL et al., 1997; NICOLOSO et al., 1999).

TABELA 1: Resultados das análises químicas de uma amostra composta (5 repetições) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico, horizonte A, em condições de solo natural e após aplicação dos tratamentos de adubação, aos 60 dias de cultivo com mudas de *Pfaffia glomerata*. UFSM, Santa Maria, 2006.

Tratamentos N-P-K (mg kg <sup>-1</sup> )	textura	% argila (1)	pH- H <sub>2</sub> O (2)	SMP	% MO (3)	P (mg kg <sup>-1</sup> ) (4)	K (mg kg <sup>-1</sup> ) (4)	Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) (5)	Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) (5)	Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) (5)	H + Al (cmol <sub>c</sub> / L) (6)	CTC efetiva (cmol <sub>c</sub> / L)	CTC pH 7 (cmol <sub>c</sub> / L)	Sat Al % (7)	Sat Bases % (7)	Cu (mg dm <sup>-3</sup> ) (7)	Zn (mg dm <sup>-3</sup> ) (7)	S (mg dm <sup>-3</sup> ) (8)	B (mg dm <sup>-3</sup> ) (9)
Solo natural	4	18	4,7	6,2	1,4	2,5	22	1,4	1,4	0,4	3	3,3	4,9	43	39	1,1	1,6	13	0,9
40-40-40	4	17	4,8	5,7	0,7	62,8	36	0,8	1,4	0,3	6,2	2,6	8	31	22	1,2	4	12,3	0,4
80-80-80	4	17	4,7	6	0,5	76	116	0,5	1,5	0,3	4,4	2,6	6,5	19	32	0,9	3	14	0,6
120-120-120	4	17	4,6	5,9	0,7	76	200	0,2	1,2	0,3	4,9	2,2	6,9	9	29	1	3	14	1,2
40-40-80	4	17	4,7	5,5	0,7	66,3	100	1	1,5	0,2	7,7	3	9,7	33	20	0,9	3,8	14	0,3
40-40-120	4	18	4,5	5,8	0,7	54,7	200	0,9	1,2	0,2	5,5	2,8	7,4	32	26	1,1	3,2	17,5	0,3
40-80-80	4	17	5,3	5,7	0,8	76	112	0,5	1,3	0,2	6,2	2,3	8	22	22	1	1	17,5	0,4
40-120-120	4	19	5,3	5,6	0,9	76	200	0,5	1,4	0,2	6,9	2,6	9	19	23	1	2,4	17,5	0,3
40-80-40	4	19	5,3	5,9	1	76	44	0,4	1,5	0,2	4,9	2,2	6,7	18	27	1,1	3,5	8,8	0,4
40-120-40	4	19	5,6	5,7	0,7	76	22	0,4	1,2	0,2	6,2	1,9	7,7	21	19	1,1	8,2	12,3	0,3
80-40-40	4	17	4,7	5,7	0,8	62,8	30	1	1,5	0,3	6,2	2,9	8,1	34	23	1,7	6,8	10,5	0,4
120-40-40	4	16	4,3	5,7	0,5	61,1	42	0,7	1,5	0,3	6,2	2,6	8,1	27	24	0,8	7,7	12,3	1,1
40-120-80	4	16	5,4	5,9	0,5	76	106	0,6	1,4	0,2	4,9	2,5	6,8	24	28	0,8	4,4	14	0,3
40-80-120	4	16	5,1	5,7	0,7	76	200	0,7	1,2	0,2	6,2	2,6	8,1	27	24	0,7	1,7	7	0,2
80-80-40	4	17	4,6	5,6	0,5	76	40	0,3	1,5	0,3	6,9	2,2	8,8	14	22	0,6	2,7	8,8	0,7
80-80-120	4	17	4,7	5,8	1,1	76	200	0,3	1,4	0,3	5,5	2,5	7,7	12	29	0,6	3,3	8,8	0,7
80-40-80	4	17	4,5	5,7	0,8	62,8	44	0,7	1,5	0,3	6,2	2,5	8,1	27	24	0,7	4,3	8,8	0,9
80-120-120	4	17	4,7	5,5	0,8	76	200	0,2	1,4	0,3	7,7	2,4	9,9	8	22	0,7	5,4	10,5	0,7
80-40-80	4	18	4,6	5,8	1	59,4	154	0,8	1,5	0,3	5,5	3	7,7	27	28	0,8	4,9	7	1
80-120-80	4	18	4,7	5,7	0,8	76	104	0,3	1,6	0,2	6,2	2,4	8,3	12	25	0,6	8,1	10,5	0,7
120-80-80	4	19	4,4	5,9	0,7	76	162	0,5	1,3	0,3	4,9	2,5	6,9	20	29	0,9	6,6	14	0,8
80-40-120	4	19	4,5	5,8	0,7	66,3	200	0,7	1,4	0,3	5,5	2,9	7,7	24	29	0,5	5,6	14	0,6
120-120-40	4	16	4,9	5,9	0,7	76	46	0,4	1,3	0,3	4,9	2,1	6,6	19	26	0,6	5	12,3	1
120-120-80	4	19	4,6	5,8	0,5	76	130	0,3	1,2	0,3	5,5	2,1	7,3	14	25	0,5	29	14	1
120-40-80	4	20	4,2	5,8	0,8	76	194	0,6	1,2	0,3	5,5	2,6	7,5	23	27	0,6	11,1	12,3	0,9
120-80-40	4	18	4,7	5,8	0,9	76	48	0,5	1,5	0,3	5,5	2,4	7,4	21	26	0,7	5,2	10,5	1,1
120-40-120	4	19	4	5,7	0,7	71,1	188	0,9	1,3	0,3	6,2	3	8,3	30	25	0,6	7,6	10,5	1
120-80-120	4	19	4,5	5,7	0,8	76	200	0,6	1,4	0,3	6,2	2,8	8,4	21	26	0,6	2,4	8,8	1,2

(1) método do densímetro; (2) relação 1:1; (3) oxidação em solução sulfocrômica a quente e determinação por espectrofotometria com Cr<sup>+3</sup>; (4) P e K, extrator HCl 0,05N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025N; (5) Ca, Mg e Al, extrator KCl 1N; (6) H + Al, extrator CaOAc 1N a pH = 7; (7) Cu, Zn e Fe, extrator HCl 0,1N; (8) S, extrator Ca (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).H<sub>2</sub>O 2,02g L<sup>-1</sup>; (9) B, extrator água destilada a quente.

## CONCLUSÕES

As respostas à adubação NPK sobre o número de folhas por planta e altura de planta variaram com a idade das mudas de *P. glomerata*.

A produção de biomassa pelos diferentes órgãos da planta respondeu distintamente à interação tripla das adubações NPK. As doses de máxima eficiência técnica estimada (DMET) às adubações de N, P e K na produção de biomassa radicular foram de, respectivamente, 80, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>. Para a biomassa foliar, as DMET foram correspondentes a 40mg kg<sup>-1</sup> para o N e acima de 120mg kg<sup>-1</sup> para o P e K. As DMET à adubação de NPK na biomassa total da planta foram de, respectivamente, 60, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>.

Mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico são altamente exigentes em fósforo e moderadamente exigentes em nitrogênio e potássio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, I. N. et al. Nitrogênio e fósforo na produção vegetal e na indução de mucilagem em plantas de insulina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 536-540, 2002.

ALMEIDA, E.V. et al. Adubação nitrogenada e potássica no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p.1136-1142, 2006.

BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K. Nutrient use efficiency in acid soils: nutrient management and plant use efficiency. In: MONIZ, A.C. (Ed.) **Plant-soil interactions at low pH**. Campinas: SBCS, 1997, p.79-95.

BARBOSA, J.G.; et al. Acúmulo de macronutrientes em plantas de crisântemo sob cultivo hidropônico em argila expandida para flor-de-corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.4, p.593-

601, 1999.

BERNARDI, A.C. de C. et al. Desenvolvimento de mudas de citros cultivadas em vaso em resposta à adubação NPK. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.4, p.733-738, 2000.

BORGES, A.L. et al. Produtividade e qualidade de maracujá-amarelo irrigado adubado com nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.259-262, 2003.

BOVI, M.A. et al. Respostas de crescimento da pupunheira à adubação NPK. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.161-166, 2002.

BRASIL EC. Níveis de nitrogênio, fósforo e potássio na produção de mudas de jaborandi. Reunião Brasileira de fertilidade de solo e nutrição de plantas, 22. **Anais ...** Manaus: SBCS. p. 666-667. 1996.

CAMARGO, M.S. **Nutrição e adubação de *Áster ericoides* (White Máster) influenciando produção, qualidade e longevidade**. 2001. 100p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba, SP.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS-NRS, 2004. 394p.

CORRÊA JÚNIOR, C. Influência das adubações orgânica e química na produção de camomila (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) e do seu óleo essencial. 1994. 96 f. Dissertação (**Mestrado em Agronomia**) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

DANIEL, O. et al. Aplicação de fósforo em mudas de *Acacia mangiwn* WILL. **Revista Árvore**, Viçosa, v.21, n.2, p.163-168, 1997.

FÖHSE, D. et al. Phosphorus efficiency of plants: I – external and internal P requirement and P uptake efficiency of different plant species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.110, p.101-109, 1988.

MAGALHAES, P.M. de. Agrotecnología 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, 2000. p.323-332.



- MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFOS, 1997, 319p.
- MAPELINI, N.C. et al. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.32-37, 2005.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 2002. 889p
- MING, L.C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, n.1, p.3-9, 1994.
- MISSIO, E.V. et al. Exigências nutricionais da grábia ao fósforo e enxofre em Argissolo Vermelho distrófico arênico: Efeito da adubação no crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1051-1057, 2004.
- MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen)**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).
- MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdisonone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.
- MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Secretaria da Agricultura, Diretoria de Terras e Colonização, Seção de geografia. Porto Alegre, 1961. 46p.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen. v.15, p.473-497, 1962.
- NICOLOSO, F.T. et al. Exigências nutricionais da grábia (*Apuleia leiocarpa* Vo. Macbuidé) em solo Podzólico vermelho amarelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.225-231, 1999.
- NICOLOSO, F.T. et al. Micropropagação do ginseng brasileiro. [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.3, n.2, p. 11-18, 2001.
- NOVAIS, R.F. et al. Calagem e adubação mineral na produção de mudas de eucalipto (*Eucalyptus trandit* W.Hill ex Maiden): 1-efeito da calagem e dos nutrientes N, P e K. **Revista Árvore**, Viçosa, v.3, p.121-

134, 1979.

PRADO, R.M. et al. Aplicação de potássio no estado nutricional e na aplicação de matéria seca de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.295-299, 2004.

RODRIGUES C.R. et al. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, p.573-578, 2004.

SHIOBARA, Y. et al. A nortriterpenoid, triterpenoid and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, Oxford, v.32, n.6, p.1527-1530, 1993.

SKREBSKY, E.C. et al. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1416-1423, 2006.

SKREBSKY, E.C. et al. Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, no prelo, 2008.

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

## **Capítulo 1, Experimento 2, Artigo nº2**

Teor de nutrientes em folhas de mudas de ginseng brasileiro cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico sob diferentes níveis de adubação NPK

# Teor de nutrientes em folhas de mudas de ginseng brasileiro cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico sob diferentes níveis de adubação NPK

Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1,5</sup>, Fernando Teixeira Nicoloso<sup>2,1</sup>, Joseila Maldaner<sup>1</sup>, Renata Rauber<sup>3</sup>

Gabriel Y Castro<sup>1</sup>, Gládis de Oliveira Jucoski<sup>1</sup>, Danilo Rhenheimer dos Santos<sup>4</sup>, Sidinei José Lopes<sup>1</sup>

## RESUMO

A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen é uma planta medicinal conhecida como ginseng brasileiro. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adubação NPK no teor e acumulação de nutrientes em folhas de mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, sob condições de casa de vegetação. Plantas de *P. glomerata* produzidas *in vitro* e aclimatizadas *ex vitro* foram usadas como material inicial para o experimento em casa de vegetação. Foram avaliados 27 tratamentos, em esquema trifatorial completo (3x3x3), representados pela combinação de três níveis (40, 80 e 120mg kg<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação. Aos 15 e 30 dias após o transplântio para o solo foram realizadas as adubações pela adição de soluções nutritivas parceladas em 50%. Ao final do experimento, aos 60 dias após o transplântio, avaliaram-se os teores de nutrientes minerais nos tecidos da folha da planta. A variação da concentração da adubação NPK induziu alterações expressivas nos teores de macro e micronutrientes das folhas de mudas de *P. glomerata*, na seguinte ordem de magnitude: N = 49%; P = 293%; K = 505%; Ca = 115%; Mg = 66%; Mn = 251%; Zn = 137%; Fe = 192%; e Cu = 210%. Os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas de *P. glomerata*, para se obter de 95 a 100% da matéria seca total, foram: N = 3,4 a 4,2%; P = 0,65 a 1,05 %; K = 3,0 a 5,25 %; Ca = 0,28 a 0,45%; Mg = 0,48 a 0,57 %; Cu = 19 a 43mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 65 a 99mg kg<sup>-1</sup>; Fe = 315 a 390mg kg<sup>-1</sup>; e Mn = 700 a 1550mg kg<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** *Pfaffia glomerata*, nutrição mineral, macronutrientes, micronutrientes.

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, UFSM, Campus Universitário, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: [fnicoloso@yahoo.com](mailto:fnicoloso@yahoo.com). Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Curso de Engenharia Florestal, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo, Departamento de Solos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>5</sup> Prof<sup>a</sup>. Assistente, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Bagé-RS, Brasil.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Pfaffia* possui cerca de 90 espécies distribuídas na América do Sul e Central (SMITH & DOWNS, 1972), e no Brasil, 27 espécies têm sido descritas (TANIGUCHI et al., 1997). A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, conhecida popularmente como ginseng brasileiro, é uma planta perene com o porte herbáceo a subarborescente podendo atingir até 2m de altura e tem como principal habitat as matas ciliares da região centro-oeste e a bacia do rio Paraná (MAGALHÃES, 2000). As raízes de *P. glomerata* são de grande importância, em função da presença de vários metabólitos secundários de interesse medicinal (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000; VIGO et al., 2004).

Devido ao seu amplo uso na medicina popular, a *P. glomerata*, junto às outras espécies do gênero, sofre grande pressão de extrativismo, o que justifica a elaboração de planos de manejo ou projetos de cultivo para a *P. glomerata* (MONTANARI JR., 1999). Neste sentido, várias pesquisas já foram realizadas no intuito de desenvolver protocolos eficientes de micropropagação para essa espécie (NICOLOSO et al., 2001; NICOLOSO et al., 2003; SKREBSKY et al., 2004; SKREBSKY et al., 2006; MALDANER et al., 2007).

O cultivo de plantas medicinais em nível comercial pode proporcionar a diversificação de renda a pequenos produtores. Entretanto, para a inclusão da *P. glomerata* como mais uma opção do agro-negócio é importante estudar os fatores que afetam o desempenho dessa espécie nos distintos sistemas de cultivo a serem empregados.

O efeito da aplicação de adubos orgânicos sobre a produção de plantas medicinais é amplamente discutido na literatura (PRAKASA RAO et al., 1989; MARTINS et al., 1994; CORRÊA JR, 1994; SARTÓRIO et al., 2000; CHAVES et al., 2002), sendo que, praticamente, todos os autores têm sido unânimes quanto aos benefícios do seu emprego. Com relação à adubação mineral, essa situação não é diferente, principalmente para os macronutrientes N, P e K (YADAV et al., 1984; SINGH et al., 1992; RODRIGUES et al., 2004; OLIVEIRA JR et al., 2005). CORRÊA JR (1994) sugere que se faça a

complementação da adubação orgânica com fertilizantes minerais, já que a demanda de plantas medicinais pelo mercado é crescente. Entretanto, o conhecimento sobre a nutrição mineral e de recomendação de adubações para plantas medicinais, têm se apoiado, geralmente, no empirismo ou em recomendações de outras espécies de plantas (CAMARGO, 2004), resultando na aplicação de quantidade insuficiente ou excessiva de adubos e, portanto, numa nutrição desbalanceada. Aliado a este fator, as espécies vegetais apresentam diferenças em relação à demanda e época de maiores exigências por nutrientes. Portanto, a quantidade e a proporcionalidade de macro e micronutrientes requeridos representam um importante componente no estudo da fertilização dos solos para o cultivo de plantas medicinais (GRANGEIRO & CECÍLIO FILHO, 2004).

Utilizando-se da técnica do nutriente faltante para prospecção das necessidades nutricionais da *P. glomerata*, SKREBSKY et al. (2008) sugeriram que e levando em consideração que a produção de biomassa total da planta obedeceu a seguinte ordem decrescente, em relação à omissão do nutriente:  $Mg \cong \text{micronutrientes} \geq \text{adubação completa} \geq Ca > P > S > K > N \cong \text{controle}$ , e que a redução em biomassa entre o tratamento de omissão de Mg e o de Ca foi de 10%, os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas dessa espécie, para se obter de 90 a 100% da matéria seca, são:  $N = 3,2 \text{ a } 3,5\%$ ;  $P = 0,7 \text{ a } 0,8\%$ ,  $K = 1,8 \text{ a } 2,1\%$ ,  $Ca = 0,3 \text{ a } 0,5\%$ ,  $Mg = 0,6 \text{ a } 0,9\%$ ;  $Cu = 10 \text{ a } 15\text{mg kg}^{-1}$ ,  $Zn = 70 \text{ a } 85\text{mg kg}^{-1}$ ,  $Fe = 380 \text{ a } 510\text{mg kg}^{-1}$  e  $Mn = 1500 \text{ a } 2300\text{mg kg}^{-1}$ . Usando o mesmo solo deste trabalho, porém com adubações combinadas de N, P e K, SKREBSKY et al. (artigo 1 do experimento 2) observaram que a produção de biomassa pelos diferentes órgãos da planta respondeu distintamente à interação tripla das adubações NPK; as doses de máxima eficiência técnica estimada (DMET) às adubações de N, P e K na produção de biomassa radicular foram de, respectivamente, 80, 120 e 80  $\text{mg kg}^{-1}$ ; para a biomassa foliar, as DMET foram correspondentes a 40  $\text{mg kg}^{-1}$  para o N e acima de 120  $\text{mg kg}^{-1}$  para o P e K; as DMET à adubação de NPK na biomassa total da planta foram de, respectivamente, 60, 120 e 80  $\text{mg kg}^{-1}$ . Esses autores concluíram que mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico são altamente exigentes em fósforo e moderadamente exigentes em nitrogênio e potássio.

Considerando-se os escassos dados na literatura, com exceção daqueles publicados por SKREBSKY et al. (2008), é evidente a necessidade da caracterização dos níveis adequados de nutrientes em plantas de *P. glomerata*. O presente trabalho teve por objetivo caracterizar os efeitos da adubação NPK no teor e acumulação de nutrientes em folhas de mudas de *P. glomerata*, cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, em casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, multiplicadas *in vitro* de acordo com NICOLOSO et al. (2001) e aclimatizadas segundo a metodologia de SKREBSKY et al. (2006), foram usadas no ensaio. Segmentos nodais de 1cm de comprimento foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 6g L<sup>-1</sup> de agar. Após a inoculação, os explantes foram cultivados em sala de crescimento com temperatura controlada de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 35µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> através de lâmpadas fluorescentes brancas-frias. Aos 25 dias após a inoculação, procedeu-se o início da aclimatização através da abertura dos tubos de cultivo em sala de crescimento, por período de três dias (1ª etapa); após fez-se a transferência das plantas para recipientes de plástico (350cm<sup>3</sup>) contendo 250cm<sup>3</sup> de substrato Plantmax® Hortaliças, as quais ficaram 15 dias em sala de crescimento (2ª etapa). Na seqüência, as plantas foram transferidas para um telado de sombrite (malha 50% de extinção de luz), onde ficaram mais 15 dias (3ª etapa). Essas plantas aclimatizadas foram transplantadas para solo em ambiente de casa de vegetação, localizada no Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, latitude de 29°41'S, longitude de 58°48'W e altitude de 95m. Segundo a classificação climática de Köppen, o clima da região é do tipo “cfa”, caracterizado como subtropical úmido (MORENO, 1961).

A unidade experimental foi constituída de um vaso, forrado internamente com saco plástico para evitar a perda de água e nutrientes pela drenagem, contendo 4kg de terra fina seca ao ar (malha0,5 cm) e uma planta. Os vasos foram submetidos a rodízio periódico para evitar o efeito de localização na casa de

vegetação. O delineamento experimental usado foi de tratamentos inteiramente casualizados, com 5 repetições. O solo utilizado foi coletado do horizonte A (zero a 65cm de profundidade) de um Argissolo Vermelho distrófico arênico sob campo nativo, ocorrente no município de Santa Maria, RS. Os dados das análises físicas e químicas desse solo sob condições de campo nativo e com os tratamentos de adubação, foram apresentados no trabalho precedente (artigo 1 do experimento 2).

Foram avaliados 27 tratamentos em esquema trifatorial completo (3x3x3), em que os fatores consistiram da combinação de três níveis (40, 80 e 120mg kg<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação. A adubação foi feita através da aplicação de soluções nutritivas preparadas para atingir as concentrações de N, P e K estipuladas para cada tratamento. As fontes de nutrientes foram NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e KCl. As adubações foram adicionadas no solo na forma de soluções nutritivas em duas doses, 50% aos 15 dias e a outra metade aos 30 dias após o transplante.

Irrigações foram efetuadas com água destilada, procurando-se manter a umidade do solo entre 50 e 60% da capacidade de campo, por meio de aferições diárias de pesagem.

No final do experimento, aos 30 dias após a aplicação da segunda parcela de adubação, correspondendo aos 60 dias após o transplante, avaliaram-se os teores de nutrientes minerais em folhas, utilizando-se três repetições por tratamento. Os macronutrientes N, P, K, Ca e Mg foram extraídos com digestão por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e os micronutrientes Zn, Cu, Mn e Fe foram extraídos com digestão por HNO<sub>3</sub> e HClO<sub>4</sub>. A determinação de N (destilador de arraste de vapor micro-Kjeldahl), K (fotômetro de chama), Ca e Mg (espectrofotômetro de absorção atômica) e micronutrientes (espectrofotômetro de absorção atômica) foram realizados de acordo com TEDESCO et al. (1995), e P (espectrofotômetro) de acordo com MURPHY & RILEY (1962). A partir dos teores de nutrientes nos tecidos e dos valores de matéria seca de folhas, avaliou-se a acumulação dos nutrientes na biomassa foliar.

Foi realizada a análise de variância e após, quando a interação tripla foi significativa, em nível de 5% de probabilidade de erro, ajustou-se superfícies de resposta para as combinações de dois fatores. Para as interações duplas significativas, procedeu-se o ajuste de superfície de resposta. Já para os efeitos



principais, quando as interações não foram significativas, desdobrou-se a soma dos quadrados dos tratamentos em polinômios de 1º e 2º graus, ajustando o polinômio de maior grau significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo do teor, bem como do acúmulo de nutrientes nas plantas, permite quantificar as necessidades nutricionais e apontar os momentos mais adequados para a adubação, evitando a falta ou excesso de algum elemento durante o desenvolvimento da cultura (MARSCHNER, 2002).

O teor e a acumulação de N nas folhas de *P. glomerata* apresentaram resposta quadrática à adubação nitrogenada, com dose de máxima eficiência técnica estimada (DMET) de, respectivamente, 112 e 113mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1a, b). O teor de N nas folhas também respondeu ao efeito isolado da adubação potássica, a qual induziu decréscimo linear (Figura 1a). Alguns estudos utilizando adubações conjuntas de N e K mostraram que a alta disponibilidade de N resultou em altos teores foliares de N e, por outro lado, baixos teores de K. BERNARDI et al. (2000), estudando o crescimento de mudas de citros, constataram que o aumento da disponibilidade de K resultou em aumento dos teores de K na folha, mas não interferiram nos teores de N. Estes mesmos autores ainda verificaram que os teores de N nos tecidos relacionaram-se diretamente com a adubação nitrogenada e os de P e K inversamente.

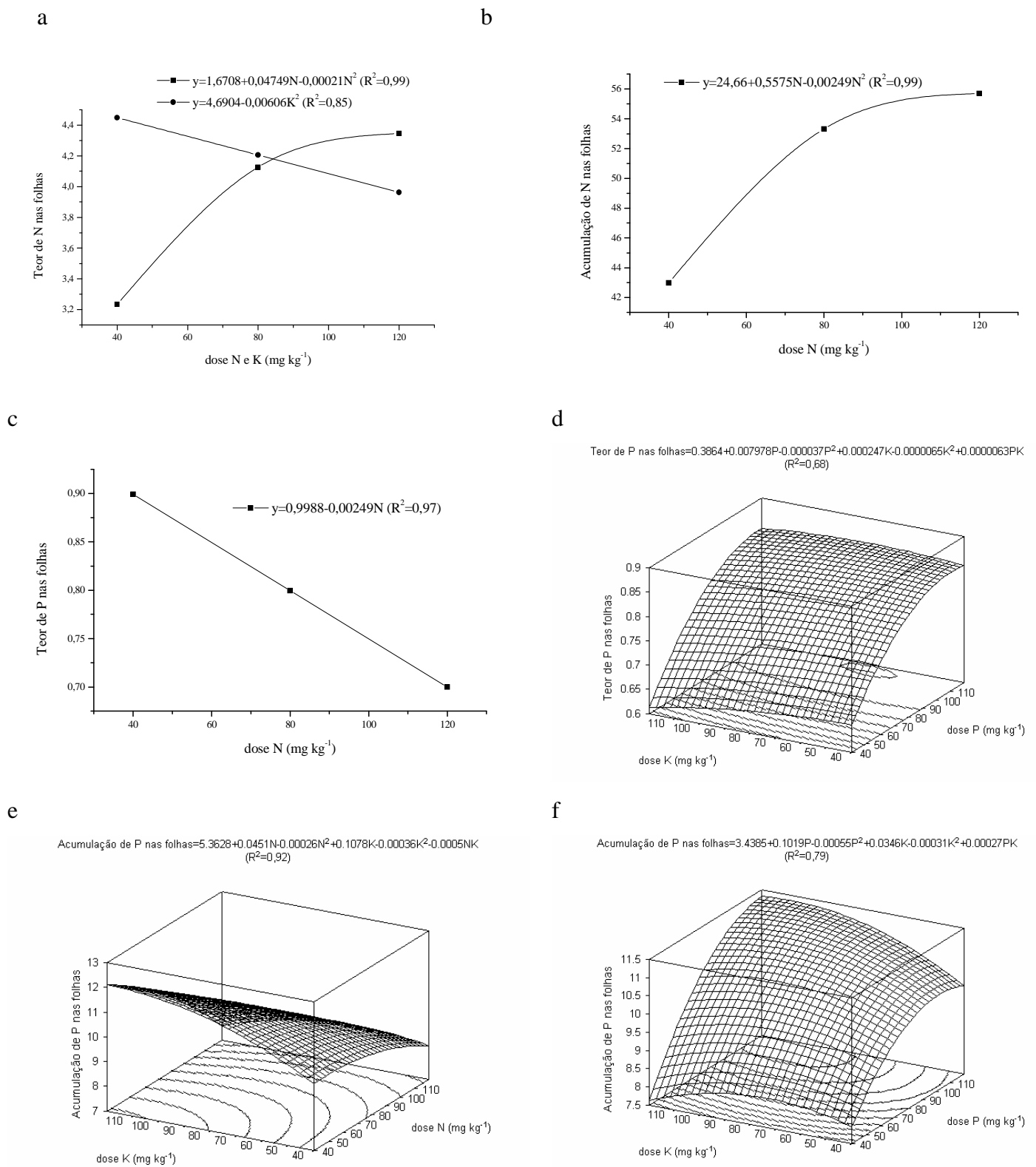
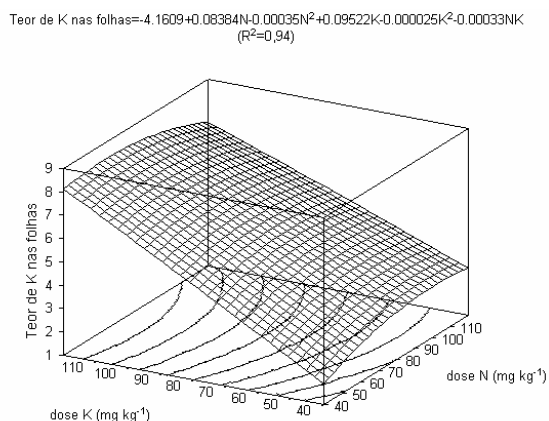


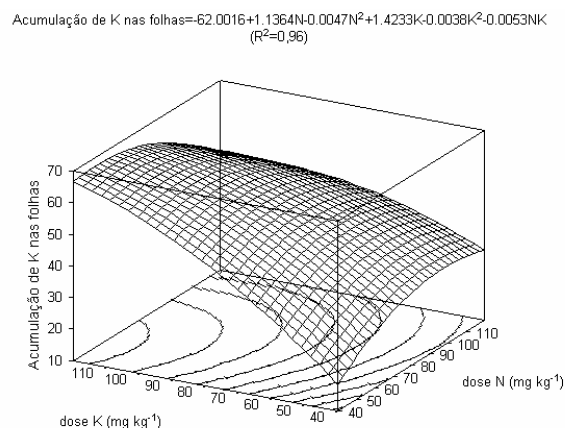
FIGURA 1 - Efeito da adubação isolada de N e K no teor de N (a), da adubação de N na acumulação de N (b) e da adubação de N no teor de P (c), bem como da adubação conjunta de P e K no teor de P (d), na acumulação de P (e), e da interação da adubação N e K na acumulação de P (f) em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação.

O menor teor de N nas folhas (3,38%) foi observado no tratamento com a menor dose de adubação nitrogenada (40mg kg<sup>-1</sup>) aliada às maiores doses de adubação fosfatada e potássica (120mg kg<sup>-1</sup>), enquanto que o maior teor (5,04%) foi obtido na presença do tratamento com as menores doses de P e K (40mg kg<sup>-1</sup>) em conjunto a 80mg de N kg<sup>-1</sup> de solo (Tabela 1). Estes dados sugerem que o aumento da disponibilidade de P e K causaram efeito de diluição no teor de N das folhas devido ao maior crescimento das plantas. A omissão de N na adubação do mesmo Argissolo Vermelho distrófico arênico, usado no presente trabalho, induziu redução no teor de N nas folhas de plantas jovens de grábia e de *P. glomerata*, respectivamente, na ordem de 24% e de 55% (NICOLOSO et al., 1999; SKREBSKY et al., 2008). Estes resultados comprovam a deficiência deste solo (1,4% de matéria orgânica) em suprir N para o máximo crescimento de mudas de grábia e de *P. glomerata*.

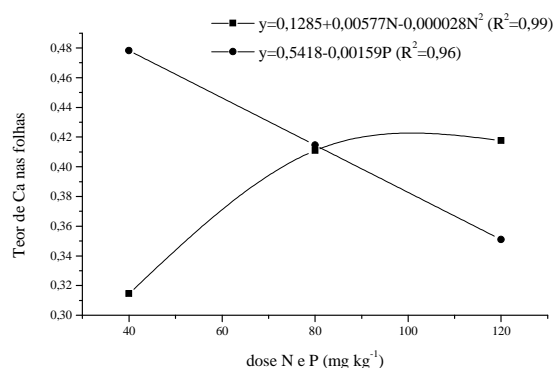
a



b



c



d

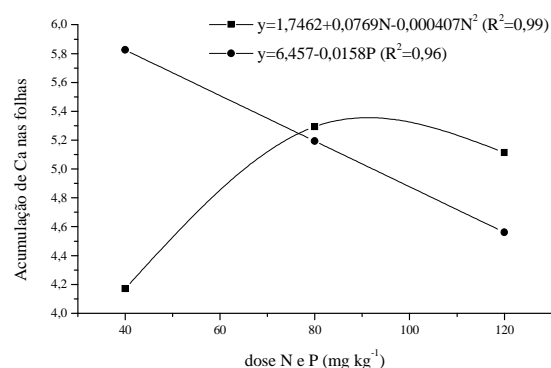
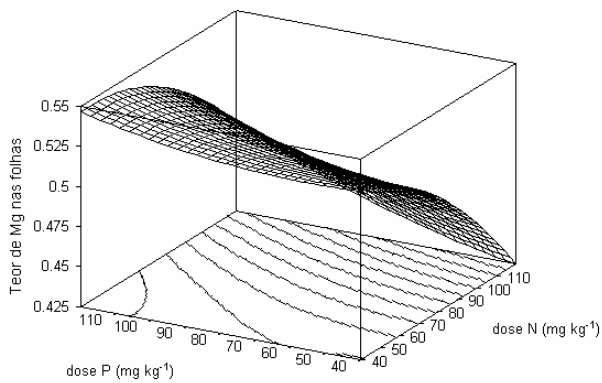


FIGURA 2 - Efeito da adubação conjunta de N e K no teor (a) e na acumulação de K (b), bem como da adubação isolada de N e P no teor de Ca (c) e na acumulação de Ca (d), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata*, aos 60 dias de cultivo, em casa de vegetação.

a

$$\text{Teor de Mg nas folhas} = 0.5457 + 0.00037N - 0.000012N^2 - 0.00069P + 0.0000041P^2 + 0.000006NP$$

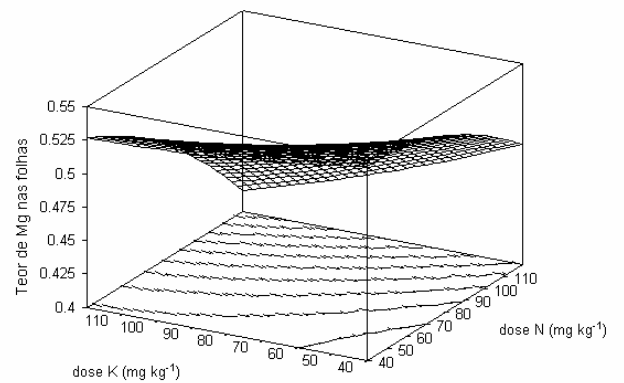
(R<sup>2</sup>=0,91)



b

$$\text{Teor de Mg nas folhas} = 0.5364 + 0.0011N - 0.000009N^2 - 0.00028K + 0.0000025K^2 - 0.0000087NK$$

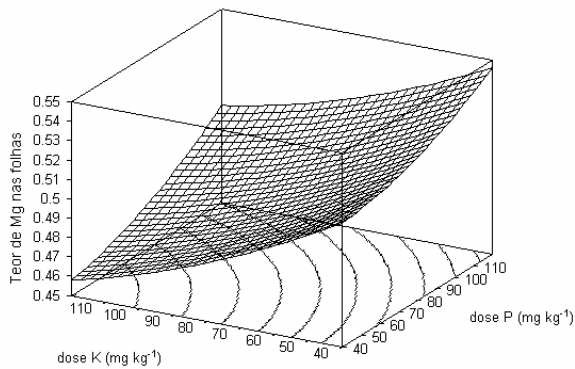
(R<sup>2</sup>=0,99)



c

$$\text{Teor de Mg nas folhas} = 0.5647 - 0.0003P + 0.000004P^2 - 0.00134K + 0.0000036K^2 + 0.0000016PK$$

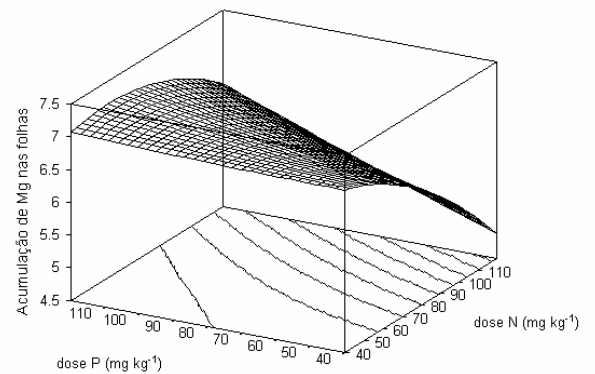
(R<sup>2</sup>=0,92)



d

$$\text{Acumulação de Mg nas folhas} = 7.3983 - 0.0014N - 0.00021N^2 - 0.01004P + 0.000015P^2 + 0.00022NP$$

(R<sup>2</sup>=0,95)



e

$$\text{Acumulação de Mg nas folhas} = 4.6605 + 0.0292N - 0.00016N^2 + 0.0417K - 0.00013K^2 - 0.00027NK$$

(R<sup>2</sup>=0,96)

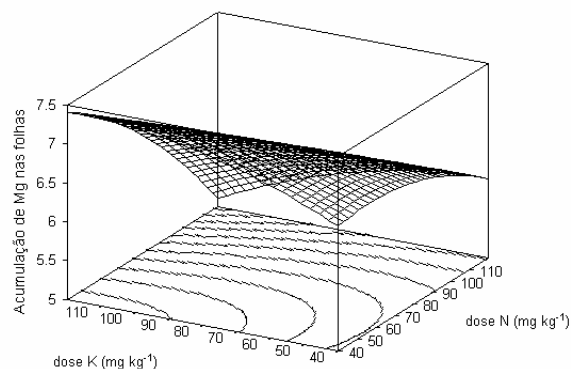


FIGURA 3 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Mg (a, b, c), bem como na acumulação de Mg (d, e), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata*, aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação.

Efeito de diluição no teor de N nos tecidos de grávia (*Apuleia leiocarpa*), em função dos tratamentos de adubação NPK, não foram observados por NICOLOSO et al. (2007). Para MAIA et al. (2005), a diminuição nos teores de N e K em função do tempo de cultivo é devida ao efeito de diluição desses nutrientes na planta. Este efeito é caracterizado quando a taxa de crescimento relativo de matéria seca é superior à taxa de absorção relativa do nutriente. Outro efeito que contribui para a diminuição dos teores de alguns nutrientes na planta é a retranslocação do nutriente das folhas mais velhas para o órgão que passa a se comportar como dreno, fato que é observado para elementos móveis na planta, como o nitrogênio e o potássio (MAIA et al., 2005).

O teor de P nas folhas de *P. glomerata* respondeu à adubação isolada de N, a qual provocou decréscimo linear (Figura 1c), além de responder à interação das adubações de P e K com DMET de, respectivamente, 114 e 74mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1d). A acumulação de P nas folhas respondeu à interação das adubações de PK com DMET de, respectivamente, 119 e 107mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1e), bem como à interação das adubações NK com DMET correspondentes a menor dose de N e a dose de 100 mg kg<sup>-1</sup> de K (Figura 1f). Para BERNARDI et al. (2000), plantas com teores baixos ou deficientes em N poderão apresentar altos teores de P, porém quando há excesso de N espera-se que haja teores baixos de P, sendo praticamente impossível encontrarem-se folhas com excesso de N e P, na mesma planta. Entretanto, de acordo com ARNON (1975), a aplicação de N aumenta a absorção de P mais rapidamente do que a produção de matéria seca, de tal forma que a concentração de P nas plantas aumenta. Segundo este mesmo autor, a influência do N na disponibilidade do P difere com a forma na qual o N é aplicado e com as condições do solo. Geralmente, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> aumenta a absorção do P mais que o N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sendo esse efeito mais pronunciado, quando a temperatura do solo aumenta (PRIMAVESI et al., 2004).

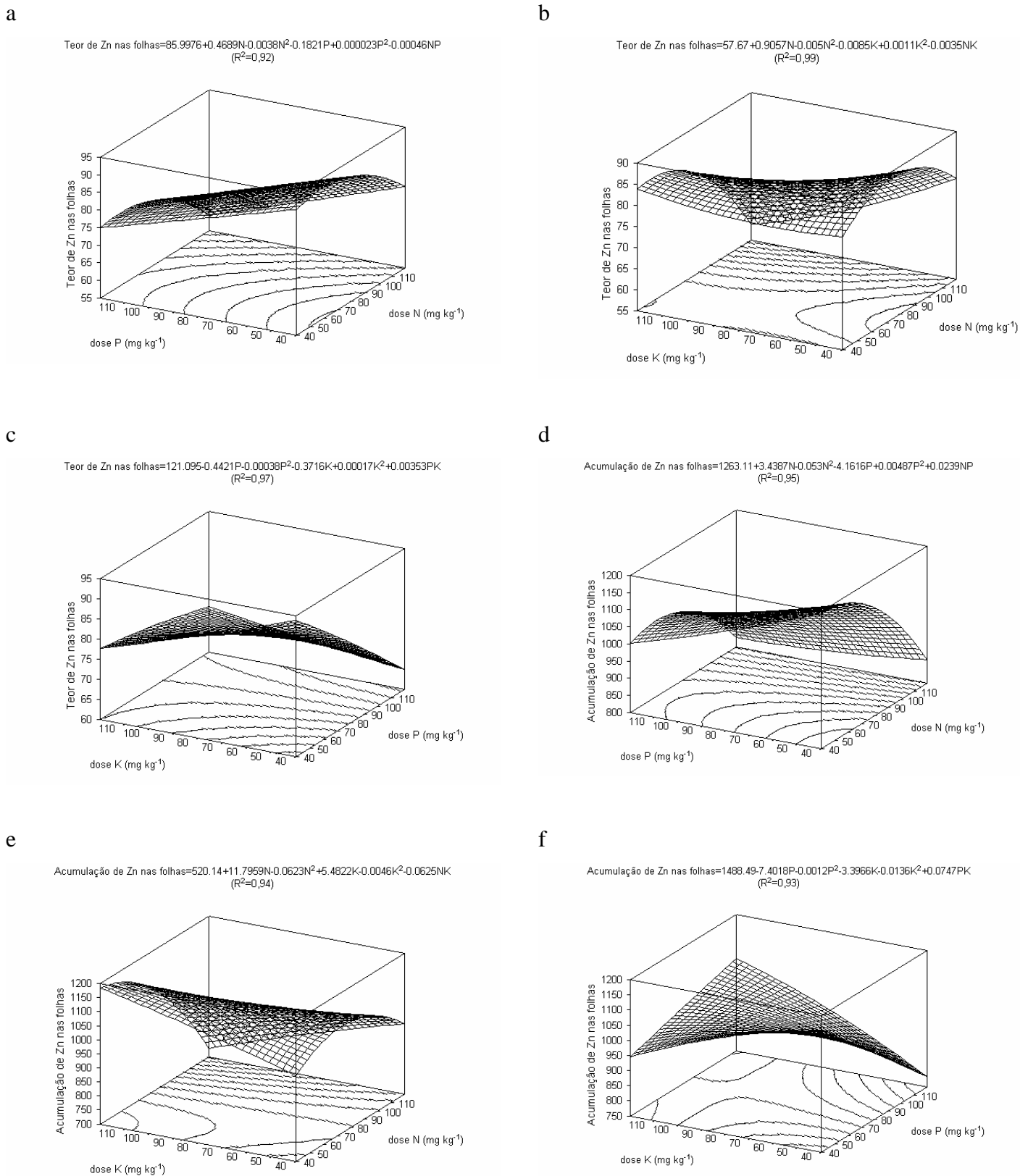


FIGURA 4 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor (a, b, c), bem como da acumulação de Zn (d, e, f), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação.

O menor teor de P (0,27%) nas folhas de *P. glomerata*, bem como sua menor acumulação, foi observada no tratamento com a menor dose de adubação fosfatada ( $40\text{mg kg}^{-1}$ ) aliada à maior dose de adubação nitrogenada e potássica ( $120\text{mg kg}^{-1}$ ). Por outro lado, o maior teor de P (1,06%) nas folhas, bem como a maior acumulação, foram encontradas no tratamento com a maior dose de adubação fosfatada ( $120\text{mg kg}^{-1}$ ) em conjunto às doses de 40 e  $80\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente para N e K (Tabela 1). A omissão de P na adubação do mesmo Argissolo Vermelho distrófico arênico, usado no presente trabalho, induziu redução no teor de P nas folhas de plantas jovens de grábia e de *P. glomerata*, respectivamente, na ordem de 72% e de 78% (NICOLOSO et al., 1999; SKREBSKY et al., 2008).

O teor e a acumulação de K nas folhas de *P. glomerata* responderam à interação das adubações de N e K, com DMET correspondentes a, respectivamente, 42 e acima de  $120\text{mg kg}^{-1}$ , para o teor de K (Figura 2a) e de 25 e acima de  $120\text{mg kg}^{-1}$ , para a acumulação de K (Figura 2b). Nas folhas, o menor teor (0,88%) e acumulação de K foram observadas no tratamento com a maior dose de adubação fosfatada ( $120\text{mg kg}^{-1}$ ) em conjunto com as menores doses de adubação de N e K ( $40\text{mg kg}^{-1}$ ) (Tabela 1). Por outro lado, o maior teor (5,33%) e acúmulo de K nas folhas foram obtidos no tratamento com a maior dose de adubação potássica aliada às doses de 80 e de  $40\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente, para o N e P (Tabela 1). Redução significativa (54%) no crescimento de plantas de *P. glomerata* pela omissão da K na adubação, no mesmo solo usado no presente trabalho, foi observada por SKREBSKY et al. (2008). Esses autores também verificaram que a omissão de N na adubação, em relação ao tratamento de adubação completa, aumentou o teor de K e, por outro lado, diminuiu os teores de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas. Os dados encontrados para a *P. glomerata* indicam que o teor original de K no Argissolo Vermelho distrófico arênico ( $22\text{mg L}^{-1}$ ) é insuficiente para proporcionar um desempenho satisfatório para o crescimento dessa espécie.

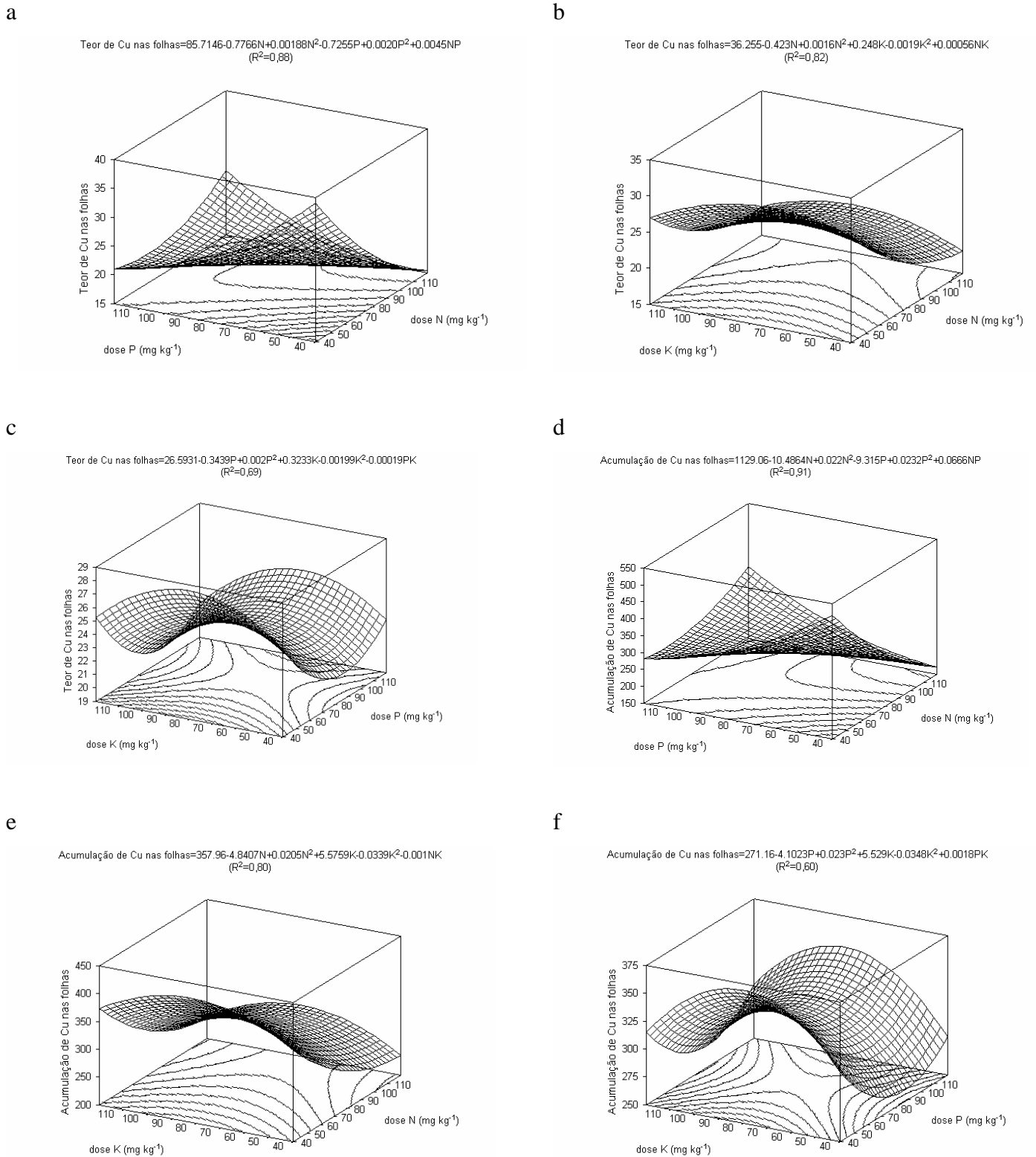


FIGURA 5 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor (a, b, c), bem como da acumulação de Cu (d, e, f), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata*, aos 60 dias de cultivo, em casa de vegetação.



O teor e a acumulação de Ca nas folhas de *P. glomerata* responderam de forma isolada à adubação de N, com DMET de, respectivamente, 103mg kg<sup>-1</sup> e 94mg kg<sup>-1</sup> (Figura 2c). Já a adubação fosfatada causou decréscimo linear no teor e acumulação de Ca nas folhas (Figura 2d).

O teor de Mg nas folhas respondeu à interação tripla das adubações de NPK, com DMET correspondentes em média a, respectivamente, 40, 120 e 60mg kg<sup>-1</sup> (Figura 3a, b, c). Já a acumulação de Mg nas folhas, respondeu às interações das adubações de NP (Figura 3d) e NK (Figura 3e), com DMET correspondentes em média a 40mg de N kg<sup>-1</sup>, 120mg de P kg<sup>-1</sup> e 80mg de K kg<sup>-1</sup> (Tabela 1).

Os teores de Ca e Mg no solo, respectivamente, de 1,4 e 0,4 Cmol<sub>c</sub> L<sup>-1</sup>, embora abaixo dos teores críticos recomendados para os solos do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004), aparentemente não afetaram o crescimento da *P. glomerata*, a qual apresentou como teor médio nas folhas de 0,39% e 0,49%, respectivamente, para Ca e Mg. Estes resultados vão ao encontro àqueles encontrados por NICOLOSO et al. (1999, 2007) para a grápia (*Apuleia leiocarpa*), bem como àqueles encontrados por SKREBSKY et al. (2008) para a *P. glomerata*, quando cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico. Portanto, nas condições de solo ácido (pH = 4,7), em que foi desenvolvido o presente estudo, sugere-se que a *P. glomerata* é uma espécie eficiente na absorção e utilização de Ca e Mg.

Comparando os teores de macronutrientes nas folhas de *P. glomerata* verificou-se a seguinte ordem decrescente: N>K>P>Mg>Ca (Tabela 1). Em outro trabalho com a mesma espécie, SKREBSKY et al. (2008) verificaram que tanto o teor e a acumulação dos macronutrientes nas folhas seguiram a seguinte ordem decrescente: N>K>Mg>P>Ca. Portanto, com exceção do Mg e P, os demais nutrientes se apresentaram de modo semelhante. Além disso, salienta-se que o K foi o segundo elemento mineral mais acumulado nas folhas. Entretanto, a adubação fosfatada foi aquela que mais afetou o crescimento das mudas de *P. glomerata*. De acordo com BORGES (2003), o N e o K, por serem os nutrientes mais absorvidos pelas plantas, podem, em função de uma adubação desbalanceada, afetar negativamente a produtividade e a qualidade das plantas. Embora o K, não faça parte de nenhum composto orgânico, como

o N, ele desempenha importantes funções na planta e, portanto, é fundamental ao crescimento (MARSCHNER, 2002; TAIZ & ZEIGER, 2004).

O teor e a acumulação de Zn nas folhas de *P. glomerata* responderam à interação tripla das adubações de NPK. As DMET às adubações NPK para o teor de Zn foram em média de, respectivamente, 40, 40 e 40mg kg<sup>-1</sup> (Figura 4a, b, c). Para a acumulação de Zn, as DMET foram em média correspondentes a 40mg kg<sup>-1</sup> para o N e 120mg kg<sup>-1</sup> para o P e K (Figura 4d, e, f).

O teor e a acumulação de Cu nas de folhas de *P. glomerata* responderam à interação tripla das adubações de NPK, com DMET correspondentes em média a, respectivamente, 40, 40 e 60mg kg<sup>-1</sup> (Figura 5a, b, c, d, e, f).

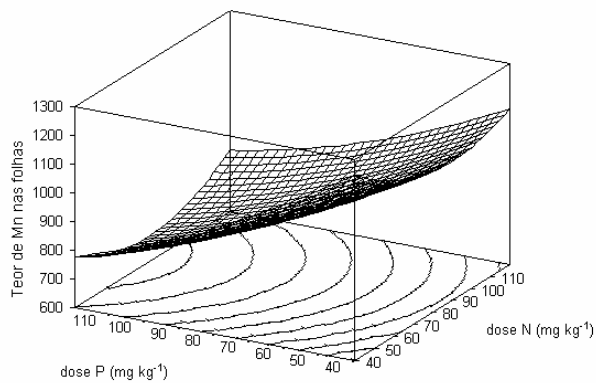
O teor e a acumulação de Mn nas de folhas de *P. glomerata* responderam à interação tripla das adubações de NPK, com DMET correspondentes em média a, respectivamente, 40, 40 e 120mg kg<sup>-1</sup> (Figura 6a, b, c, d, e, f).

O teor e a acumulação de Fe nas folhas de *P. glomerata* responderam à interação tripla das adubações NPK. Interessante que as combinações tanto das menores doses (40mg kg<sup>-1</sup>) como daquelas maiores usadas (120mg kg<sup>-1</sup>) para as adubações NPK aumentou de modo semelhante o teor (Figura 7a, b, c) e a acumulação (Figura 7d, e, f) de Fe nas folhas.

a

$$\text{Teor de Mn nas folhas} = 2015,14 - 12,7756N + 0,0662N^2 - 11,0078P + 0,0265P^2 + 0,0221NP$$

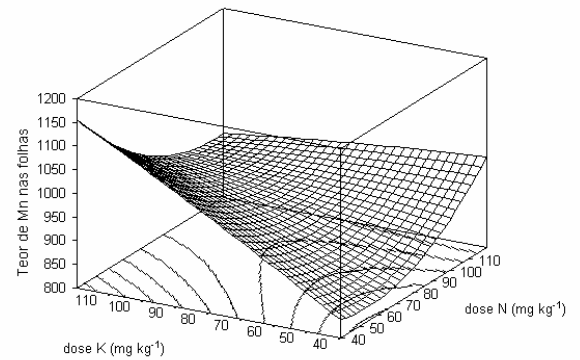
$$(R^2 = 0,89)$$



b

$$\text{Teor de Mn nas folhas} = 679,33 - 1,9078N + 0,0384N^2 + 6,7892K - 0,0031K^2 - 0,0582NK$$

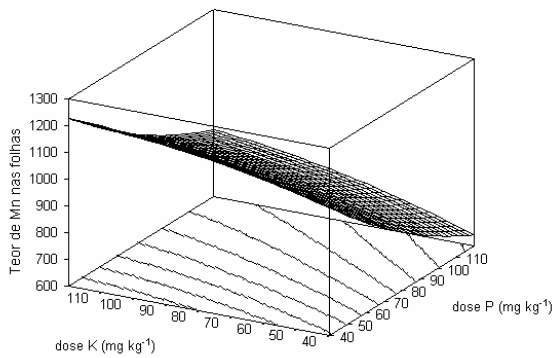
$$(R^2 = 0,51)$$



c

$$\text{Teor de Mn nas folhas} = 1267,93 - 9,85P + 0,0253P^2 + 4,4295K - 0,0182K^2 + 0,0091PK$$

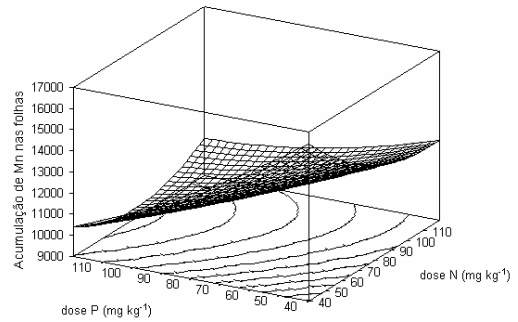
$$(R^2 = 0,89)$$



d

$$\text{Acumulação de Mn nas folhas} = 26876,74 - 181,3345N + 0,6916N^2 - 142,7852P + 0,2623P^2 + 0,6281NP$$

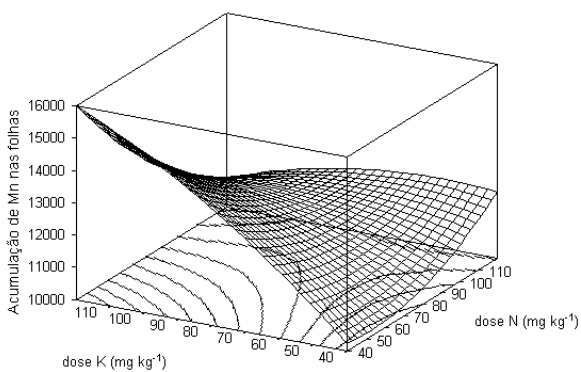
$$(R^2 = 0,91)$$



e

$$\text{Acumulação de Mn nas folhas} = 5205,2 + 0,4744N + 0,4107N^2 + 164,189K - 0,3048K^2 - 1,0826NK$$

$$(R^2 = 0,70)$$



f

$$\text{Acumulação de Mn nas folhas} = 13937,01 - 112,77P + 0,221P^2 + 89,944K - 0,4866K^2 + 0,2997PK$$

$$(R^2 = 0,88)$$

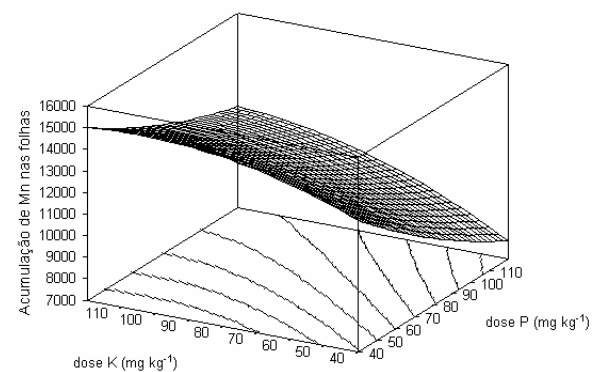


FIGURA 6 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Mn (a, b, c), bem como da acumulação de Mn (d, e, f), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação.

Utilizando-se da técnica do nutriente faltante, em relação ao tratamento de adubação completa de um Argissolo Vermelho distrófico arênico, SKREBSKY et al. (2008) observaram que a omissão de N na adubação diminuiu os teores de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas de *P. glomerata*. Quanto à omissão de P, foi constatada que essa diminuiu o teor de Fe nas folhas. Já a omissão de K aumentou os teores de N e Cu nas folhas, porém diminuiu o teor de Mn. Trabalhando com este mesmo solo no cultivo da grápia (*Apuleia leiocarpa*), uma arbórea de crescimento lento, NICOLOSO et al. (2007) não verificaram influência da adubação NPK nos teores de Zn e Cu nas folhas. Portanto, os resultados encontrados para a *P. glomerata*, provavelmente, sejam devido a essa espécie possuir crescimento rápido.

Apesar dos teores foliares dos micronutrientes avaliados no presente estudo terem sido afetados pela variação da adubação NPK, aparentemente eles também indicam que a disponibilidade destes elementos no solo é suficiente. Esta característica provavelmente está relacionada ao fato do Argissolo Vermelho distrófico arênico, sob condições de campo nativo, apresentar um pH ácido (4,7), onde a disponibilidade desses micronutrientes é mais alta, facilitando a absorção pelas plantas.

Levando-se em consideração a produção de biomassa total da planta (artigo 1 do experimento 2), a qual apresentou resposta de interação à adubação de NPK com DMET correspondentes a, respectivamente, 60, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>, os dados do presente trabalho sugerem que os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas de *P. glomerata*, para se obter de 95 a 100% da matéria seca total, sejam: N = 3,4 a 4,2%; P = 0,65 a 1,05 %; K = 3,0 a 5,25 %; Ca = 0,28 a 0,45%; Mg = 0,48 a 0,57 %; Cu = 19 a 43mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 65 a 99mg kg<sup>-1</sup>; Fe = 315 a 390mg kg<sup>-1</sup>; e Mn = 700 a 1550mg kg<sup>-1</sup>. Estes níveis críticos estimados para os macro e micronutrientes em folhas dessa espécie são muito próximos daqueles relatados por SKREBSKY et al. (2008), com exceção daqueles para K, Cu e Mn, que foram menores para K e Cu e, por outro lado, maiores para o Mn. Essas diferenças podem ser relacionadas aos diferentes concentrações dos nutrientes na adubação, idade das plantas e condições ambientais durante o cultivo.

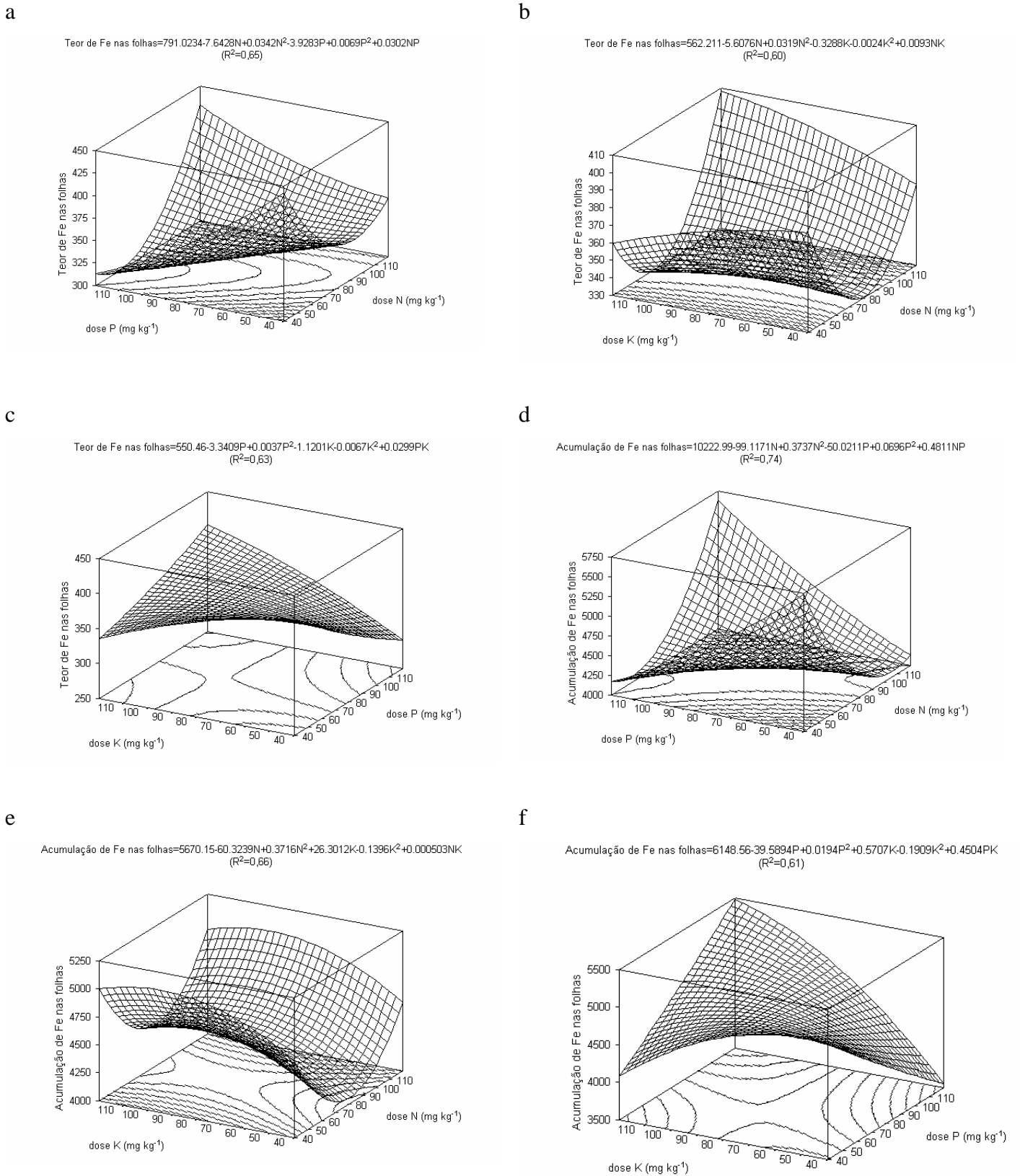


FIGURA 7 - Efeito da adubação conjunta NPK no teor de Fe (a, b, c), bem como da acumulação de Fe (d, e, f), em folhas de mudas de *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo em casa de vegetação.

TABELA 1 - Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120mg kg<sup>-1</sup>) na concentração e na acumulação de N, P, K, Ca e Mg, bem como na concentração e acumulação de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas da *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, RS, 2007.

Tratamentos N-P-K (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração na folhas (%)					Acumulação nas folhas					Concentração nas folhas (%)					Acumulação nas folhas			
	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu	Mn	Zn	Fe	Cu	
40-40-40	3,41	0,61	1,95	0,45	0,52	42,8	7,73	24,5	5,61	6,44	1261,41	109,2	736,71	43,77	15565,5	1347,8	9035,8	542,9	
80-80-80	4,21	0,74	4,11	0,43	0,49	54,2	9,47	52,8	5,47	6,28	936,17	73,77	436,92	34,24	12049,7	947,3	5606,7	441,9	
120-120-120	4,43	0,68	4,03	0,33	0,48	57,3	8,70	51,8	4,27	6,12	789,14	46,05	446,97	31,92	10166,0	746,1	5748,4	409,6	
40-40-80	3,62	0,68	3,68	0,40	0,48	49,3	9,19	50,1	5,49	6,57	1127,43	90,05	338,73	43,15	15316,7	1226,7	4608,6	586,7	
40-40-120	3,79	0,64	4,93	0,47	0,54	51,0	8,58	66,4	6,35	7,32	1548,21	81,33	366,23	36,03	20822,1	1095,0	4927,6	485,5	
40-80-80	3,76	0,81	3,47	0,32	0,54	52,1	11,29	48,1	4,40	7,46	864,60	74,87	347,53	38,77	11969,1	1037,1	4830,1	538,2	
40-120-120	3,38	0,84	3,79	0,28	0,52	48,1	11,90	54,1	3,92	7,39	975,41	99,37	391,31	19,46	13968,2	1423,1	5616,0	276,4	
40-80-40	4,10	0,83	1,65	0,34	0,56	53,7	10,81	21,6	4,42	7,28	711,99	77,00	254,25	18,73	9318,4	1007,4	3333,2	244,8	
40-120-40	4,62	1,00	0,88	0,29	0,58	48,2	10,47	9,2	3,03	6,04	441,17	53,53	251,53	23,21	4599,4	559,3	2624,4	242,1	
80-40-40	4,73	0,67	2,61	0,47	0,57	58,4	8,31	32,2	5,74	6,99	996,23	88,22	301,62	17,24	12309,5	1089,4	3733,8	212,9	
120-40-40	4,49	0,64	2,72	0,41	0,44	52,6	7,51	31,9	4,80	5,09	1000,41	72,01	388,45	14,73	11704,0	842,6	4547,3	172,1	
40-120-80	3,45	1,06	3,97	0,37	0,57	47,1	14,46	54,3	5,07	7,83	832,63	79,93	328,09	22,01	11434,3	1094,5	4523,4	303,1	
40-80-120	3,54	1,05	5,25	0,41	0,51	47,9	14,09	70,8	5,51	6,91	1220,41	79,20	352,37	19,14	16487,3	1070,7	4730,9	259,2	
80-80-40	4,35	0,81	2,13	0,36	0,49	54,1	10,06	26,4	4,47	6,14	914,54	91,67	313,50	20,44	11339,0	1141,4	3836,4	256,5	
80-80-120	4,32	0,95	5,12	0,46	0,53	55,6	12,19	66,0	5,86	6,80	955,97	91,96	372,53	18,06	12256,1	1170,0	4804,3	231,5	
80-40-80	5,04	0,68	2,80	0,50	0,54	61,3	8,25	34,0	6,03	6,50	1051,60	101,57	286,88	26,01	12743,7	1221,6	3456,0	310,6	
80-120-120	4,22	0,89	4,80	0,34	0,50	58,8	12,31	66,7	4,80	6,92	704,22	65,78	323,91	23,40	9774,2	912,9	4493,7	326,8	
80-40-80	4,24	0,81	4,93	0,44	0,50	52,6	10,04	61,1	5,48	6,25	963,75	85,51	340,05	19,61	11961,2	1061,9	4215,8	243,3	
80-120-80	3,69	0,74	3,07	0,35	0,50	51,7	10,43	42,9	4,90	6,97	819,57	74,29	314,53	19,01	11486,6	1040,8	4404,2	266,4	
120-80-80	4,06	0,68	3,60	0,33	0,43	65,1	8,51	45,0	4,19	5,44	856,68	69,15	329,19	15,49	10667,9	863,7	4101,0	192,6	
80-40-120	4,02	0,64	5,33	0,43	0,47	52,4	8,30	69,7	5,61	6,13	937,86	78,54	306,83	23,18	12294,7	1027,6	4030,3	304,2	
120-120-40	3,95	0,75	2,69	0,26	0,51	51,2	9,79	35,0	3,37	6,61	662,05	64,02	347,01	31,05	8580,8	830,2	4501,6	404,3	
120-120-80	4,50	0,73	3,31	0,40	0,50	59,8	9,67	44,0	5,33	6,61	930,16	63,80	459,87	21,45	12384,8	847,9	6118,4	285,0	
120-40-80	4,21	0,62	3,84	0,56	0,46	49,3	7,28	45,0	6,59	5,33	1347,72	80,15	432,45	22,18	15814,3	939,4	5081,3	260,1	
120-80-40	4,84	0,69	2,77	0,39	0,52	59,2	8,37	33,9	4,68	6,35	1006,21	87,71	404,65	18,13	12166,7	1048,8	4972,7	220,0	
120-40-120	3,97	0,27	3,60	0,41	0,35	40,7	2,76	36,8	4,18	3,63	1296,61	78,39	323,33	17,69	13256,1	802,8	3309,4	181,4	
120-80-120	3,49	0,62	3,63	0,30	0,39	55,6	7,84	45,9	3,77	4,91	794,49	51,63	415,65	14,09	10036,9	652,9	5254,3	176,5	
Média	4,15	0,75	3,50	0,39	0,49	52,7	9,67	45,18	4,93	6,38	960,98	78,1	367,07	24,15	12239,7	1004,9	4683,2	310,17	
CV	11,54	16,05	19,61	18,72	9,33	13,2	16,3	19,81	19,18	9,71	15,12	19,08	27,2	22,71	15,23	17,95	27,9	22,92	

## CONCLUSÕES

A variação da concentração da adubação NPK (40 a 120mg kg<sup>-1</sup> de solo) induziu alterações expressivas nos teores de macro e micronutrientes das folhas de mudas de *P. glomerata*, na seguinte ordem de magnitude: N = 49%; P = 293%; K = 505%; Ca = 115%; Mg = 66%; Mn = 251%; Zn = 137%; Fe = 192%; e Cu = 210%.

Os teores adequados de nutrientes nas folhas de mudas de *P. glomerata*, para se obter de 95 a 100% da matéria seca total, foram: N = 3,4 a 4,2%; P = 0,65 a 1,05 %; K = 3,0 a 5,25 %; Ca = 0,28 a 0,45%; Mg = 0,48 a 0,57 %; Cu = 19 a 43mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 65 a 99mg kg<sup>-1</sup>; Fe = 315 a 390mg kg<sup>-1</sup>; e Mn = 700 a 1550mg kg<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNON, I. **Mineral nutrition of maize**. Bern: International Potash Institute, 1975. 452p.
- BERNARDI, A.C. de C. et al. Desenvolvimento de mudas de citros cultivadas em vaso em resposta à adubação NPK. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.4, p.733-738, 2000.
- BORGES, A.L. et al. Produtividade e qualidade de maracujá-amarelo irrigado adubado com nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.259-262, 2003.
- CAMARGO, M.S. et al. Crescimento e absorção de nutrientes pelo Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 143-146, 2004.
- CHAVES, F.M.C. et al. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e teor de eugenol em alfavaca cravo, em função de adubação orgânica e sazonalidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.360, 2002.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS-NRS, 2004. 394p.

CORRÊA JÚNIOR, C. **Influência das adubações orgânica e química na produção de camomila [Chamomilla recutita (L.) Rauschert] e do seu óleo essencial.** 1994. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

GRANGEIRO, L.C.; CECÍLIO FILHO, A.B. Acúmulo e exportação de macronutrientes pelo híbrido de melancia Tide. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 93-97, 2004.

MAGALHAES, P.M. de. Agrotecnología 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, 2000. p.323-332.

MAIA, C.E. et al. Teores foliares de nutrientes em meloeiro irrigado com águas de diferentes salinidades **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v.9, (Suplemento), p.292-295, 2005.

MALDANER, J. et al. Crescimento de plântulas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas *in vitro* sob dois níveis de nitrogênio e sacarose, durante seis subculturas sucessivas e aclimatização. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.133-140, 2007.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** London: Academic Press, 2002. 889p

MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais.** Viçosa: UFV, 1994. 220p.

MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen).** São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).

MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdisonone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.

MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul.** Sedretaria da Agricultura, Diretoria de Terras e Colonização, Seção de geografia. Porto Alegre, 1961. 46p.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen. v.15, p.473-497, 1962.



- MURPHY, J. & RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chemica Acta**, Amsterdam, v.27, p.31-36, 1962.
- NICOLOSO, F.T. et al. Exigências nutricionais da grápia (*Apuleia leiocarpa* Vo. Macbuidae) em solo Podzólico vermelho amarelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.225-231, 1999.
- NICOLOSO, F.T. et al. Micropropagação do ginseng brasileiro. [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.3, n.2, p. 11-18, 2001.
- NICOLOSO, F.T. et al. Efeito de concentrações e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.1, p.84-90, 2003.
- NICOLOSO, F.T. et al. Exigências nutricionais da grápia em Argissolo vermelho distrófico arênico: (II) Efeito da adubação NPK no teor de nutrientes nos tecidos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.2, p.372-380, 2007.
- OLIVEIRA JÚNIOR, A.C. et al. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.735-739, 2005.
- PRAKASA RAO, E.V.S. et al. Response of palmarosa (*Cymbopogon martini* (Roxb) Wats. var motia) to farmyard manure and nitrogen. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v.34. n.3, p.376-378, 1989.
- PRIMAVESI, A.C. et al. Adubação Nitrogenada em Capim *Coastcross*: Efeitos na Extração de Nutrientes e Recuperação Aparente do Nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.1, p.68-78, 2004.
- RODRIGUES, C.R. et al. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p. 573-578, 2004.
- SARTÓRIO, M.L. et al. **Cultivo orgânico de plantas mediciniais**. Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 2000. 260p.
- SINGH, R.S. et al. Effect of nitrogen, phosphorus and potash on essencial-oil production of palmarosa

(*Cymbopogon martini* var motia) under rainfed condition. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v.37, n.2, p.305-308, 1992.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Flora Ilustrada Catarinense: amarantáceas**. Itajaí: [s.n.], 1972. 110 p.

SKREBSKY, E.C. et al. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de Ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1471-1477, 2004.

SKREBSKY, E.C. et al. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1416-1423, 2006.

SKREBSKY, E.C. et al. Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, no prelo, 2008.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TANIGUCHI, S.F. et al. Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. **Phytotherapy Research**, London, v.11, p.568-571, 1997.

TEDESCO, M.S. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2 ed. 174p. 1995.

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

YADAV, R.L.; et al. Fertilizer-nitrogen recovery and growth of Java citronella as influenced by row spacing and nitrogen. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v.29, n.3, p.305-308, 1984.

# Capítulo 1

## Experimento 3

Nos trabalhos anteriores (experimento 1 e 2) foram estudados os efeitos das adubações de macro e micronutrientes no crescimento e teor de nutrientes de mudas de *Pfaffia glomerata*, sob condições de cultivo em casa de vegetação. Os dados desses experimentos indicaram que a *P. glomerata* cultivada em Argissolo Vermelho distrófico arênico necessita de suplementação de N, P e K na adubação para permitir o crescimento adequado desta planta.

O solo é um meio complexo onde o teor de nutrientes disponíveis às plantas depende de reações de troca entre a solução do solo e as partículas que o constituem, sendo que o conjunto dessas reações sofre influência do ambiente externo.

Em cultivos em condições de campo, as plantas muitas vezes têm que competir através das partículas dos elementos que compõem o solo ou então colonizar com suas raízes um volume de solo considerável, a fim de satisfazer suas necessidades de nutrientes, investindo mais fotossintatos nesse processo.

Entretanto, no solo, ocorre uma contínua reposição de nutrientes a partir dos processos de decomposição e liberação dos componentes orgânicos e inorgânicos para a solução do solo. Isso não ocorre com soluções nutritivas, onde além da relação de volume de solução e raízes ser muito menor do que em condições de solo, a reposição de nutrientes naturalmente não existe.

Visando uma possível recomendação de adubação desses nutrientes para a produção de *P. glomerata* em cultivo a campo, o presente trabalho objetivou caracterizar o efeito da adubação NPK no crescimento, no teor e na acumulação de nutrientes nos diferentes órgãos dessa espécie em duas épocas de cultivo.

## **Capítulo 1, Experimento 3, Artigo n°1**

Efeito da adubação NPK no crescimento e teor de nutrientes minerais de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas em campo.

**Crescimento e teor de nutrientes em plantas de ginseng brasileiro  
cultivadas a campo sob efeito da adubação NPK**

**Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1,5</sup> Fernando Teixeira Nicoloso<sup>2,1</sup> Joseila Maldaner<sup>1</sup> Renata Rauber<sup>3</sup>  
Gabriel Y Castro<sup>1</sup> Jamile Fabbrin Gonçalves<sup>1</sup> Danilo Rhenheimer dos Santos<sup>4</sup>**

**RESUMO**

A *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen, conhecida como ginseng brasileiro, tem sido utilizada na medicina popular em função de suas importantes qualidades medicinais. Este trabalho teve por objetivo caracterizar o efeito da adubação NPK no crescimento e teor de nutrientes de plantas de *P. glomerata* cultivadas a campo. Plantas de *P. glomerata* produzidas *in vitro* e aclimatizadas *ex vitro* foram usadas como material inicial para o experimento. Plantas aclimatizadas foram levadas a campo em duas épocas de plantio (25/01/2005 e 18/10/2005). No dia do transplante para o solo, foram realizadas as adubações. Foram avaliados seis tratamentos constituídos da combinação de dois níveis (50 e 100 kg ha<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação. Aos 16 e 6 meses, respectivamente para a 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> etapa de cultivo, uma amostra de 6 plantas por tratamento foram coletadas e avaliadas quanto a matéria seca de folhas, do caule, da parte aérea, de raízes e do total da planta, bem como a relação de matéria seca raiz/parte aérea. Além disso, realizou-se a determinação dos teores dos nutrientes nos tecidos da planta. A adubação NPK afetou distintamente a produção de biomassa dos órgãos das plantas com 16 meses de cultivo. O aumento da adubação nitrogenada favoreceu a produção de biomassa radicular. Entretanto, houve tendência da adubação NPK com 100-100-100kg ha<sup>-1</sup> aumentar a biomassa total das plantas, independente da idade

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, UFSM, Campus Universitário, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: [fnicoloso@yahoo.com](mailto:fnicoloso@yahoo.com). Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Curso de Engenharia Florestal, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Departamento de Solos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>5</sup> Prof<sup>a</sup>. Assistente, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Bagé-RS, Brasil.

dessas. Os efeitos da adubação NPK nos teores de macro e micronutrientes nos tecidos dependeram do órgão analisado e da idade das plantas. Os teores médios de nutrientes nas folhas de plantas com 16 meses de cultivo foram: 2,39% de N, 0,22% de P, 5,91% de K, 0,53% de Ca, 0,55% de Mg, 71mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 1690mg kg<sup>-1</sup> de Mn, 321mg kg<sup>-1</sup> de Fe e 9,3mg kg<sup>-1</sup> de Cu. Em plantas com 6 meses de cultivo, os teores médios de nutrientes nas folhas foram de: 2,76% de N, 0,26% de P, 3,79% de K, 0,55% de Ca, 0,55% de Mg, 80mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 1837mg kg<sup>-1</sup> de Mn, 209mg kg<sup>-1</sup> de Fe e 9,0mg kg<sup>-1</sup> de Cu.

**Palavras-chave:** *Pfaffia glomerata*, nutrição mineral, macronutrientes, micronutrientes, cultivo a campo.

## INTRODUÇÃO

A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, conhecida como ginseng brasileiro, é uma espécie vegetal medicinal com propriedades rejuvenescedora, revitalizante, inibidora do crescimento de células cancerígenas, ativadora da circulação sanguínea e estimulante das funções sexuais (MONTANARI JR., 1999; MONTANARI JR. et al., 1999; MAGALHÃES, 2000; VIGO et al., 2004).

No Japão, esta espécie foi amplamente estudada sob o ponto de vista fitoquímico e farmacológico, porém toda a produção da biomassa de interesse é proveniente do Brasil em função das exigências ecológicas à planta. Assim, informações sobre o cultivo dessa espécie são relevantes, podendo ser, inclusive, uma interessante alternativa à atividade agrícola brasileira (MAGALHÃES, 2000).

Estudos sobre os teores de  $\beta$ -ecdisona em *P. glomerata* cultivadas a campo demonstraram que a porcentagem deste princípio ativo não foi afetada pelo ciclo de cultivo nem pela densidade de plantio (MONTANARI JR. et al., 1999). Em trabalhos realizados por MAGALHÃES (2000) e FIGUEIREDO et al. (2004) foi relatado que o teor de  $\beta$ -ecdisona foi variável entre diferentes acessos, fato que caracteriza a existência de uma grande variabilidade genética na espécie.

Na literatura, principalmente a brasileira, existe poucas informações sobre os efeitos da

disponibilidade de nutrientes do solo sobre a produção de plantas medicinais. De maneira geral, a fertilização dos substratos de cultivo não são prejudiciais à síntese e acumulação dos princípios ativos das plantas, quando usados dentro dos limites técnicos. Os aumentos de biomassa podem compensar uma redução no teor de fitofármacos, mas isso depende de uma análise econômica, que deve ser feita em cada situação (CORRÊA JR. et al., 1991; BLANK et al., 2006). Como quantidades crescentes de plantas medicinais são requeridas pelo mercado consumidor, há necessidade de estudar as melhores condições de adubação para se obter não só uma grande produção de fitomassa de interesse, mas também um alto teor dos princípios ativos (CORRÊA JR., 1994; MENDONÇA, 1999).

As recomendações sobre a fertilização do solo para o cultivo da *P. glomerata* são escassas. Recentemente, GUERREIRO (2006) relatou que produção de fitomassa de plantas dessa espécie, cultivadas a campo, respondeu à adubação de esterco de galinha curtido (30 a 45t ha<sup>-1</sup>), porém, o teor de  $\beta$ -ecdisona não sofreu influência da adubação e épocas de colheita. Esse mesmo autor observou que a acumulação de N, P e K em todas as partes da planta seguiu a mesma tendência da distribuição de fitomassa seca, sendo que esta se apresentou na seguinte ordem K>N>P; além disso, o menor acúmulo ocorreu nas raízes.

Em ensaios de cultivo sob condições de casa de vegetação, SKREBSKY et al. (2008) verificaram que a omissão individual dos nutrientes N, P, K e S na adubação de um Argissolo Vermelho distrófico arênico limitou o crescimento inicial das mudas de *P. glomerata*. Ainda em condições similares, SKREBSKY et al. (capítulo1, experimento 2) verificaram que a maior produção de fitomassa das mudas dessa espécie em função da adubação conjunta de NPK, foi obtida com as doses de 60mg kg<sup>-1</sup> de N, 120mg kg<sup>-1</sup> de P e 80mg kg<sup>-1</sup> de K.

Tendo em vista a importância econômica da *P. glomerata* e que as informações sobre as suas exigências nutricionais são escassas, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito da adubação nitrogenada, fosfatada e potássica no crescimento e teores de nutrientes nos tecidos dessa espécie, quando cultivada a campo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen multiplicadas *in vitro* de acordo com NICOLOSO et al. (2001) e aclimatizadas *ex vitro* segundo a metodologia de SKREBSKY et al. (2006) foram usadas no ensaio. Resumidamente, segmentos nodais de 1cm de comprimento foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 6g L<sup>-1</sup> de agar. Após a inoculação, os explantes foram cultivados em sala de crescimento com temperatura controlada de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 35μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, com lâmpadas fluorescentes brancas-frias. Aos 25 dias após a inoculação, procedeu-se o início da aclimatização através da abertura dos tubos de cultivo em sala de crescimento, por período de três dias (1ª etapa); após fez-se a transferência das plantas para recipientes de plástico (350cm<sup>3</sup>) contendo 250cm<sup>3</sup> de substrato Plantmax® Hortaliças, as quais ficaram 15 dias em sala de crescimento (2ª etapa). Na seqüência, as plantas foram transferidas para um telado de sombrite (malha 50% de extinção de luz), onde ficaram mais 15 dias (3ª etapa). Essas plantas aclimatizadas foram levadas a campo em duas épocas: em 25/01/2005 e em 18/10/2005. O plantio foi realizado em uma área de 570m<sup>2</sup> localizada no Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, latitude de 29°41'S, longitude de 58°48'W e altitude de 95m. Segundo a classificação climática de Köeppen, o clima da região é do tipo “cfa”, caracterizado como subtropical úmido (MORENO, 1961). O solo utilizado no experimento foi classificado como Argissolo Vermelho alítico típico (PEDRON et al., 2005). Os dados das análises físicas e químicas desse solo são apresentados na tabela 1.

Anteriormente ao transplântio das mudas, foram realizadas operações de aração e gradagem. As adubações foram realizadas diretamente nas covas, com aproximadamente 15 cm de profundidade, no dia do transplântio para o solo, através do fornecimento de adubos comerciais N-P-K de formulações (5-25-25 e 5-30-15) e de uréia.

Foram avaliados seis tratamentos, em esquema bifatorial completo (3x2), representados pela



combinação de dois níveis (50 e 100 kg ha<sup>-1</sup>) de N, de P e de K na adubação. O delineamento experimental usado foi de blocos ao acaso, com três repetições por tratamento. A unidade experimental para a 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> épocas de plantio consistiu de, respectivamente, 15 e 16 plantas por parcela. As plantas foram espaçadas a uma distância de 0,5m entre plantas na linha de plantio e de 1m entre linhas. As irrigações, inicialmente, foram efetuadas diariamente e, posteriormente, foram sendo reduzidas conforme o estabelecimento das mudas.

As plantas foram coletadas no mês de maio de 2006, quando possuíam 16 e 6 meses de idade, respectivamente, para a 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> etapa de cultivo. Seis plantas por tratamento foram coletadas, através da remoção completa da planta com o auxílio de uma pá, e separadas em raiz, caule e folhas para a análise destrutiva. Em seguida foram avaliadas quanto à matéria seca de folhas, do caule, da parte aérea, de raízes e do total da planta, bem como a relação de matéria seca de raízes e da parte aérea.

Realizou-se a determinação dos teores dos nutrientes nos tecidos da planta. Os macronutrientes N, P, K, Ca e Mg foram extraídos com digestão por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e os micronutrientes Zn, Cu, Mn e Fe foram extraídos com digestão por HNO<sub>3</sub> e HClO<sub>4</sub>. A determinação de N (destilador de arraste de vapor micro-Kjeldahl), de K (fotômetro de chama), de Ca e Mg (espectrofotômetro de absorção atômica) e dos micronutrientes (espectrofotômetro de absorção atômica) foram realizados de acordo com TEDESCO et al. (1995), e o P (espectrofotômetro), de acordo com MURPHY & RILEY (1962).

A partir dos teores de nutrientes nos tecidos e dos valores de matéria seca avaliou-se a acumulação dos nutrientes na biomassa das plantas. A análise estatística dos resultados observados baseou-se na comparação de médias, utilizando o teste de Duncan, ao nível de probabilidade de erro de 5%.

TABELA 1 - Resultados das análises químicas e físicas de uma amostra simples de Argissolo Vermelho alítico típico da localidade do Jardim Botânico, horizonte A, cultivado com mudas de *Pfaffia glomerata*, UFSM, Santa Maria, 2007.

Parâmetros	Solo Natural
Textura	3
Argila (%) <sup>(1)</sup>	31
pH-H <sub>2</sub> O <sup>(2)</sup>	5
SMP	5,8
% M.O. <sup>(3)</sup>	2,5
P (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(4)</sup>	3
K (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(4)</sup>	128
Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(5)</sup>	1,5
Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(5)</sup>	7,8
Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(5)</sup>	2,9
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) <sup>(6)</sup>	5,5
CTC ef. (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	12,5
CTC pH 7 (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	16,5
Sat. Al (%)	12
Sat. Bases (%)	67
Cu (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(7)</sup>	1,1
Zn (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(7)</sup>	1,3
S (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(9)</sup>	15
B (mg dm <sup>-3</sup> ) <sup>(10)</sup>	0,1

(1) método do densímetro; (2) relação 1:1; (3) oxidação em solução sulfocrômica a quente e determinação por espectrofotometria com Cr<sup>+3</sup>; (4) P e K, extrator HCl 0,05N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025N; (5) Ca, Mg e Al, extrator KCl 1M; (6) H + Al, extrator CaOAc 1N a pH = 7; (7) Cu, Zn e Fe, extrator HCl 0,1M; (8) Mn, extrator KCl 1M; (9) S, extrator Ca (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).H<sub>2</sub>O 2,02g L<sup>-1</sup>; (10) B, extrator água destilada a quente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Crescimento em biomassa*

Na 1ª época de cultivo (plantas com 16 meses de idade), o tratamento com as menores doses de adubação NPK (50-50-50kg ha<sup>-1</sup>) proporcionou a menor produção de matéria seca de caule (Tabela 2). Os demais tratamentos não diferiram entre si. Já a matéria seca de raízes aumentou nos tratamentos de adubação NPK nas seguintes combinações: 100-100-100 e 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> em relação ao tratamento 50-100-100kg ha<sup>-1</sup>. Portanto, esses dados indicam que o aumento na adubação nitrogenada proporcionou ganhos mais expressivos na produção da biomassa de raízes do que a adubação potássica. Esse resultado pode ser devido ao elevado teor de K (128mg dm<sup>-3</sup>) encontrado no solo utilizado neste cultivo (Tabela 1). PRADO et al. (2004) verificaram efeitos positivos da adubação nitrogenada e da potássica sobre a matéria seca de raízes de mudas de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis*).

TABELA 2 - Matéria seca de folhas (msF), matéria seca de caule (msC), matéria seca de raízes (msR), matéria seca da parte aérea (msPA), matéria seca total da planta (msT) e relação de matéria seca raiz/parte aérea (R/PA) de *Pfaffia glomerata* aos 16 meses de cultivo a campo.

Tratamento	msF	msC	msR	MsPA	msT	R/PA
NPK (kg ha <sup>-1</sup> )	----- g planta <sup>-1</sup> -----					
50-50-50	16,68 a	125,86 b	158,95 ab	142,55 a	301,5 a	1,11 a
50-50-100	11,05 ab	166,93 a	133,9 ab	179,3 a	313,19 a	0,79 a
50-100-100	13,01 ab	163,71 a	115,61 b	176,73 a	292,34 a	0,76 a
100-100-100	10,49 b	209,84 a	178,12 a	220,34 a	398,47 a	0,81 a
100-50-50	8,92 b	148,62 a	138,41 ab	157,55 a	295,96 a	1,05 a
100-100-50	8,43 b	191,46 a	171,67 a	199,89 a	371,56 a	0,87 a
Média	11,5	167,2	149,4	179,4	328,84	0,9
CV (%)	26,9	32,04	17,2	29,6	22,3	22,9

\* Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a nível de 5% de probabilidade de erro.

Efeitos diferenciais da adubação NPK sobre a biomassa dos órgãos de mudas de *P. glomerata* já foram anteriormente relatados por SKREBSKY et al. (capítulo 1, experimento 2). Estes autores, utilizando um Argissolo Vermelho distrófico arênico, porém em condições de cultivo em casa de vegetação, observaram que as doses de máxima eficiência técnica estimada (DMET) às adubações de N, P e K na produção de biomassa radicular foram de, respectivamente, 80, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>; para a biomassa foliar, as DMET foram correspondentes a 40mg kg<sup>-1</sup> para o N e acima de 120mg kg<sup>-1</sup> para o P e K; e as DMET à adubação de NPK na biomassa total da planta foram de, respectivamente, 60, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>. Portanto, os dados apresentados por esses autores e do presente estudo, sugerem que a partição de biomassa entre os órgãos da planta de *P. glomerata* é dependente da disponibilidade de nutrientes; sendo que a alta disponibilidade de N favorece o acúmulo de biomassa radicular, enquanto a alta disponibilidade de P e K aumentam o crescimento em biomassa da parte aérea. É importante salientar que, atualmente, as raízes representam o único órgão da planta utilizado pela indústria de fitomedicamentos e suplementos alimentares. Desse modo, fica evidenciado que é possível direcionar a produção de biomassa dos órgãos da planta manipulando as disponibilidades dos nutrientes NPK. Entretanto, estudos complementares sobre a acumulação dos princípios ativos em *P. glomerata* sob condições diversas de adubação devem ser realizados. Isso possibilitará recomendar qual é a melhor condição de fertilidade do solo visando a maior produção do biofármaco de interesse.

Na 1ª época de cultivo, a matéria seca de folhas foi maior no tratamento com 50-50-50kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, para N, P e K em relação aos tratamentos com 100-100-100, 100-50-50 e 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 2). É importante mencionar que na época da avaliação do experimento, início de maio, as plantas já apresentavam sinais visíveis de abscisão foliar. No ambiente de cultivo em Santa Maria-RS, essa espécie perde completamente as folhas a partir do final do outono até o inverno. Desse modo, os resultados dos tratamentos de adubação talvez possam ser diferentes se as plantas fossem avaliadas na estação primaveril ou no verão, as quais proporcionariam crescimento constante na ausência de fatores

ambientais limitantes. Apesar dessas considerações, a produção de biomassa dos órgãos e do total daquelas plantas com seis meses de cultivo (segunda época de plantio) não apresentaram variação pelos tratamentos de adubação (Tabela 3). Portanto, aparentemente, as quantidades de adubos NPK próximas daquelas correspondentes a menor dose usada no presente estudo, parecem ser suficientes para se obter a maior produtividade em biomassa total da planta de *P. glomerata*.

TABELA 3 - Matéria seca de folhas (msF), matéria seca de caule (msC), matéria seca de raízes (msR), matéria seca da parte aérea (msPA), matéria seca total da planta (msT) e relação de matéria seca raiz/parte aérea (R/PA) de *Pfaffia glomerata* aos 6 meses de cultivo a campo.

Tratamento	msF	msC	msR	msPA	msT	R/PA
NPK (kg ha <sup>-1</sup> )	----- g planta <sup>-1</sup> -----					
50-50-50	3,36 a	30,9 a	28,15 a	34,3 a	62,47 a	0,89 a
50-50-100	1,67 a	35,8 a	31,01 a	37,5 a	68,5 a	0,89 a
50-100-100	2,53 a	38,6 a	31,35 a	41,15 a	72,5 a	0,77 a
100-100-100	2,68 a	50,9 a	47,98 a	53,6 a	101,61 a	0,91 a
100-50-50	1,93 a	32,2 a	27,6 a	34,1 a	59,6 a	0,98 a
100-100-50	1,53 a	35,9 a	46,51 a	37,58 a	84,38 a	1,38 a
Média	2,28	37,5	35,4	39,78	74,8	0,97
CV (%)	79,5	46,8	49,2	47,9	46,2	40,7

\* Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a nível de 5% de probabilidade de erro.

Diferentemente do constatado para a biomassa de caule e raízes, verificou-se que a matéria seca total das plantas, com 16 meses de cultivo, não foi influenciada pelos tratamentos de adubação testados (Tabela 2). Este resultado é devido, provavelmente, aos efeitos da adubação NPK na produção de biomassa foliar, que se comportou diferente dos outros órgãos da planta.

De acordo com os dados da tabela 1, observa-se que a disponibilidade de matéria orgânica e de fósforo no solo utilizado é, respectivamente, baixa e muito baixa (CQFS-RS/SC, 2004), motivo pelo qual

houve alta resposta à aplicação desses nutrientes. A adubação com nitrogênio e, frequentemente, com fósforo e potássio tem aumentado a produtividade em quase todos os ecossistemas naturais e cultivados (EPSTEIM & BLOOM, 2006). Em estudo realizado por GUERREIRO (2006), utilizando um solo areno argiloso com 1,6% de M.O e  $5\text{ mg dm}^{-3}$  de P, foi verificado que as plantas de *P. glomerata* responderam à adubação ( $30$  a  $45\text{ t ha}^{-1}$ ) de esterco de galinha curtido, porém o teor de  $\beta$ -ecdisona não sofreu influência da adubação e épocas de colheita.

Avaliando o desempenho de árvores de *Eucaliptus grandis* em Latossolo Vermelho Amarelo e Areias Quartzosas, BELLOTE & FERREIRA (1993) também encontraram correlações positivas entre a adubação NPK e o crescimento das plantas, porém, o K foi o nutriente que mais aumentou o crescimento. Plantas de pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth), cultivadas em solo arenoso e de baixa fertilidade, apresentaram resposta positiva às adubações com nitrogênio e potássio, porém ausência de resposta ao fósforo (BOVI et al., 2002). Desse modo, fica também demonstrado que existe uma forte contribuição do genótipo vegetal em relação aos efeitos da fertilidade dos solos.

Apesar da não haver diferenças significativas para os parâmetros de crescimento avaliados naquelas plantas com 6 meses de cultivo (2ª época de plantio), observou-se a mesma tendência de resposta aos tratamentos de adubação sobre o crescimento das plantas da 1ª época de plantio. Entretanto, respostas sobre o crescimento de algumas espécies são dependentes do tempo da aplicação da adubação. Estudando o efeito de adubações NPK sobre o crescimento da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth), BOVI et al. (2002) verificaram que as respostas somente ocorreram aos três meses. Para a *P. glomerata* cultivada a campo, nas condições do presente estudo, é sugerido que os efeitos da adubação NPK se manifestam tardiamente, se comparado com experimentos sob condições de casa de vegetação, como observado por SKREBSKY et al. (capítulo 1, experimento 2). Em estudo feito por CÔRREA JUNIOR (2003) sobre a sazonalidade na produção de raízes (8, 10, 12 e 14 meses de plantio) e conteúdo de  $\beta$ -ecdisona, em diferentes acessos de *P. glomerata*, a maior produtividade de fitomassa seca ocorreu na colheita feita aos 12 meses após o transplante, sendo a média dos acessos de  $60,56\text{ g planta}^{-1}$ . Em relação

ao conteúdo de  $\beta$ -ecdisona, a colheita aos 12 meses após o transplante também foi a maior (0,38%). Segundo BENTES et al. (2001), a melhor época para a colheita de raízes da *P. glomerata* foi a 207 dias do plantio, sendo que após este período ocorreu diminuição da biomassa radicular devido às plantas entrarem no desenvolvimento reprodutivo.

No geral, o crescimento em biomassa total da planta no tratamento com as doses máximas de NPK (100-100-100kg ha<sup>-1</sup>) foi de 3,92 vezes maior nas plantas com 16 meses de cultivo do que naquelas com seis meses (Tabelas 2 e 3). Nesse mesmo tratamento de adubação, a biomassa seca de raízes foi 3,71 vezes maior naquelas plantas com 16 meses de cultivo. Esse resultado é de grande interesse para o agricultor, o qual visa obter a maior produção de biomassa para a comercialização. MONTANARI JR. et al. (1999) verificaram que a densidade de plantio e o ciclo de cultivo tiveram efeito significativo na produção de massa seca de raízes de *P. glomerata*, mas não influenciaram o conteúdo de  $\beta$ -ecdisona. No presente trabalho a produção média de biomassa seca de raízes por planta com 6 e 16 meses após o transplante foi de, respectivamente, 0,71 e 2,99t ha<sup>-1</sup>. MAGALHÃES (2000) obteve produtividade de 1,9, 3,2 e 4,1t ha<sup>-1</sup> de raízes secas, respectivamente após 1, 2 e 3 anos de cultivo. Já GUERREIRO (2006) obteve 0,67t ha<sup>-1</sup>, sendo 2,8 vezes inferior à obtida por MAGALHÃES (2000). As diferenças observadas nesses trabalhos são devidas à influência das condições ambientais de cultivo (solo, clima, época de colheita), bem como pelas diferenças de genótipos (FIGUEIREDO et al., 2004).

### **Teor de nutrientes**

O teor de N nas folhas (2,39%), no caule (0,52%) e nas raízes (0,57%) de plantas de *P. glomerata* com 16 meses de cultivo não foi afetado em relação aos diferentes tratamentos de adubação NPK (Tabela 4). Já nas plantas com 6 meses de cultivo, o maior teor de N nas folhas (3,26%) foi obtido pelo tratamento de adubação NPK com doses de, respectivamente, 100-100-100kg ha<sup>-1</sup>, diferindo significativamente dos tratamentos com as menores doses de N (50-50-50 e 50-100-100kg ha<sup>-1</sup>), os quais apresentaram em média teor de 2,37% (Tabela 5). Por outro lado, não houve diferença significativa quanto aos teores de N no

caule (0,59%) e nas raízes (0,55%) (Tabelas 5). O nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade pelas culturas, refletindo esse fato no consumo mundial do elemento em fertilizantes, que supera consideravelmente àquelas utilizadas em fósforo e potássio (RAIJ, 1991). Uma nutrição nitrogenada adequada, automaticamente melhora os teores foliares deste e de outros elementos, especialmente o P, aumentando, conseqüentemente, o crescimento e a produção (BOVI et al., 2002).

Nas plantas com 16 meses de cultivo, o maior teor de P nas folhas (0,27%) foi obtido com o tratamento de adubação NPK com as doses de, respectivamente, 100-100-100kg ha<sup>-1</sup>, e o menor teor (0,18%) com o tratamento 50-100-100kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). No caule, o maior teor de P (média de 0,13%) foi obtido com os tratamentos de adubação NPK nas seguintes doses, respectivamente, 50-100-100, 100-100-100 e 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4), fato que demonstra que aqueles tratamentos de adubação com a maior dose de P foram determinantes no teor desse nutriente nos tecidos do caule. Já nas raízes o menor teor de P (0,10%) foi encontrado no tratamento de adubação com 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). Nas plantas com 6 meses de cultivo, os tratamentos de adubação não alteraram o teor de P nas folhas (0,26%) e raízes (0,15%) (Tabela 5). Por outro lado, o teor de P no caule aumentou com o tratamento de adubação com 100-50-50, porém não diferindo significativamente do tratamento com 50-100-100kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 5).

Nas plantas com 16 meses de cultivo, o maior teor de K nas folhas (6,63%) foi obtido pelo tratamento de adubação NPK com as doses de, respectivamente, 100-50-50kg ha<sup>-1</sup>, porém outros três tratamentos de adubação (50-50-100, 100-100-100 e 100-100-50kg ha<sup>-1</sup>) não diferiram estatisticamente deste. Além disso, o menor teor de K (5,08%) foi obtido como tratamento de 50-100-100kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). No caule, o maior teor de K (média de 2,47%) foi obtido com o tratamento de adubação NPK de 50-50-100 e 100-100-100kg ha<sup>-1</sup>, os quais não diferiram entre si (Tabela 4). Já nas raízes, não houve efeito dos tratamentos de adubação no teor de K (1,29%) (Tabela 4). O teor médio de K nas folhas (3,79%) de plantas com 6 meses de cultivo (Tabela 5) foi menor do que naquelas com 16 meses (5,91%) (Tabela 4). Além disso, o maior teor de K nas folhas de plantas da 2ª época de cultivo foi obtido no tratamento de adubação NPK com 100-100-100kg ha<sup>-1</sup>, o qual diferiu dos tratamentos com 50-50-50, 50-100-100 e



100-50-50kg ha<sup>-1</sup>. Para o teor de K no caule, houve pequena diferença entre os tratamentos de adubação NPK, sendo que o maior teor (2,55%) foi obtido pelo tratamento com 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> e o menor (1,54%) naquele com 100-100-50kg ha<sup>-1</sup>. Nas raízes não houve diferença significativa quanto ao teor de K (1,55%) em relação aos diferentes tratamentos de adubação.

Tanto na 1<sup>a</sup> como na 2<sup>a</sup> época de cultivo, os teores médios de Ca nas folhas (0,54%) e raízes (0,11%) não diferiram em relação aos tratamentos de adubação NPK (Tabelas 4 e 5). Entretanto, no caule foi observado efeito dos tratamentos de adubação no teor de Ca. Nas plantas com 16 meses de cultivo, o maior teor de Ca (0,11%) foi obtido no tratamento de adubação NPK com 100-100-100kg ha<sup>-1</sup> e o menor teor (0,07%) nos tratamentos com 50-50-50 e 50-100-100kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). Já nas plantas com 6 meses de cultivo houve apenas diferença no teor de Ca nos tratamentos com 100-50-50 e 50-50-100kg ha<sup>-1</sup>, sendo que esse último proporcionou o menor valor (0,08%) (Tabela 5)

O teor de Mg nas folhas (0,55%), caule (0,09%) e raízes (0,08%) das plantas com 16 meses de cultivo não foram influenciados pelos tratamentos de adubação NPK (Tabela 4). Já naquelas com 6 meses de cultivo, houve apenas efeito da adubação NPK no teor de Mg no caule, sendo que o tratamento com 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> proporcionou maior teor (0,16%) do que aquele com 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> (0,08%) (Tabela 5).

Estudando o efeito da omissão individual de nutrientes na adubação em um Argissolo Vermelho distrófico arênico sobre o teor de nutrientes de plantas de *P. glomerata*, (experimento 1 do capítulo 1) verificaram que os teores dos macronutrientes nas folhas seguiram a seguinte ordem decrescente: N > K > Mg > P > Ca. Em outro trabalho desses mesmos autores (experimento 2 do capítulo 1), porém trabalhando apenas com a variação da adubação NPK, foi observado que os teores dos macronutrientes Mg e P foram inversas, enquanto as dos demais seguiram a mesma distribuição. No presente estudo os teores desses nutrientes nas folhas seguiram uma outra ordem decrescente, como segue: K > N > Mg ≅ Ca > P. O Argissolo Vermelho distrófico arênico utilizado nos estudos em casa de vegetação (experimentos 1 e 2) apresentou baixa disponibilidade de K (CQFS-RS/SC, 2004), enquanto que o solo

utilizado nos cultivos a campo apresentou alta disponibilidade de K (Tabela 1) (CQFS-RS/SC, 2004).

Portanto, as variações nos teores dos macronutrientes estudados nas folhas da *P. glomerata* dependem não só das diferentes necessidades dos mesmos pela planta, mas também das distintas condições de fertilidade do solo utilizado no cultivo.

TABELA 4 - Teores médios de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 16 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007.

Tratamentos*	Média do teor de nutrientes nos tecidos								
	N	P	K	Ca	Mg	Zn	Mn	Fe	Cu
NPK (kg ha <sup>-1</sup> )	..... % .....			..... ppm .....					
Folha									
50-50-50	2,35 a**	0,202 bc	5,57 bc	0,48 a	0,566 a	51,33 b	1606,0 a	321,2 ab	9,26 a
50-50-100	2,53 a	0,212 bc	6,12 ab	0,51 a	0,578 a	48,4 b	1760,0 a	370,3 ab	8,86 a
50-100-100	2,18 a	0,182 c	5,08 c	0,48 a	0,57 a	49,13 b	1532,6 a	223,6 b	8,66 a
100-100-100	2,19 a	0,268 a	6,3 ab	0,54 a	0,558 a	50,6 b	1958,0 a	342,4 ab	8,73 a
100-50-50	2,58 a	0,234 ab	6,63 a	0,59 a	0,573 a	62,33 ab	1378,6 a	437,8 a	9,93 a
100-100-50	2,51 a	0,229 ab	5,74 abc	0,56 a	0,559 a	165,7 a	1906,6 a	231,0 b	10,53 a
Média	2,39	0,22	5,91	0,53	0,55	71,2	1690,3	321,07	9,33
CV(%)	10,64	10,9	8,45	14,38	2,51	81,9	17,9	25,4	11,8
Caule									
50-50-50	0,49 a	0,107 b	1,88 b	0,072 c	0,1 a	60,6 a	212,66 a	137,86 a	6,8 c
50-50-100	0,48 a	0,102 b	2,55 a	0,079 bc	0,078 a	61,6 a	300,66 a	162,06 a	7,13 bc
50-100-100	0,47 a	0,119 a	1,94 ab	0,073 c	0,076 a	32,2 a	256,66 a	110,0 a	8,06 a
100-100-100	0,6 a	0,147 a	2,38 a	0,107 a	0,102 a	38,8 a	315,33 a	129,06 a	7,8 ab
100-50-50	0,57 a	0,103 b	1,98 ab	0,081 bc	0,09 a	31,5 a	315,33 a	142,26 a	6,8 c
100-100-50	0,48 a	0,118 a	1,85 b	0,101 ab	0,086 a	32,2 a	264,0 a	120,26 a	6,73 c
Média	0,52	0,11	2,05	0,08	0,088	42,77	277,4	133,6	7,22
CV(%)	13,65	12,22	12,35	14,87	18,8	68,6	22,11	30,74	5,87
Raiz									
50-50-50	0,627 a	0,129 ab	1,32 a	0,088 a	0,074 a	38,1 ab	95,33 b	217,8 a	4,66 b
50-50-100	0,507 a	0,125 ab	1,21 a	0,094 a	0,076 a	30,8 b	139,33 a	302,13 a	5,6 a
50-100-100	0,621 a	0,146 a	1,5 a	0,116 a	0,0081 a	27,86 b	124,66 ab	268,4 a	4,86 ab
100-100-100	0,551 a	0,137 ab	1,34 a	0,111 a	0,072 a	33,73 b	117,33 ab	177,46 a	4,13 b
100-50-50	0,598 a	0,103 b	1,28 a	0,123 a	0,1 a	50,6 a	124,66 ab	246,4 a	4,46 b
100-100-50	0,528 a	0,127 ab	1,13 a	0,114 a	0,07 a	34,46 b	117,33 ab	245,6 a	4,2 b
Média	0,57	0,13	1,29	0,107	0,079	35,9	119,7	242,9	4,65
CV(%)	14,8	14,34	15,4	29,6	37,6	21,5	18,36	36,07	10,27

\* Tratamentos de adubação N-P-K.

\*\*Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Para plantas com 16 meses de cultivo, o maior teor de Zn (166ppm) nas folhas foi obtido pelo tratamento de adubação NPK com as doses de, respectivamente, 100-100-50kg ha<sup>-1</sup>, o qual diferiu dos seguintes tratamentos (50-50-50, 50-50-100, 50-100-100 e 100-100-100kg ha<sup>-1</sup>). Esse comportamento de resposta à adubação NPK também foi observado para o teor de Zn nas raízes (35,9ppm), porém o tratamento com 50-50-50kg ha<sup>-1</sup> não diferiu daquele com 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). No caule o teor de Zn (42,8ppm) não foi afetado pela adubação NPK. Naquelas plantas da 2ª época de cultivo o teor de Zn nas folhas (79,7ppm), no caule (32,3ppm) e nas raízes (42,9ppm) não foi influenciado pela adubação NPK (Tabela 5).

Os teores de Mn nas folhas (1690ppm) e no caule (277ppm) das plantas da 1ª época de cultivo não foram influenciados pela adubação NPK. Já nas raízes apenas dois tratamentos diferiram entre si, sendo que a adubação com 50-50-100kg ha<sup>-1</sup> proporcionou o maior teor (139ppm) e aquele com 50-50-50kg ha<sup>-1</sup> resultou no menor teor (95ppm) (Tabela 4). Naquelas plantas da 2ª época de cultivo, o teor de Mn no caule (303ppm) não foi influenciado pela adubação NPK. Nas folhas e raízes verificou-se uma tendência de maior teor de Mn, respectivamente 2234 e 154ppm, naquele tratamento com as maiores doses de NPK (Tabela 5).

Nas plantas da 1ª época de cultivo, a adubação NPK com 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> aumentou em 52% o teor de Fe nas folhas (438ppm), em relação aos tratamentos com 50-100-100 e 100-100-50 kg ha<sup>-1</sup> (227ppm) (Tabela 4). O teor de Fe no caule (134ppm) e nas raízes (243ppm) não houve efeito dos tratamentos de adubação (Tabela 4). Na 2ª época de cultivo, o teor de Fe nas folhas (209ppm) e nas raízes (173ppm) não foi influenciado pela adubação, porém no caule o maior teor de Fe (206ppm) foi obtido pelo tratamento com 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> em relação àquele com 50-50-100kg ha<sup>-1</sup>, o qual proporcionou o menor teor (88ppm) (Tabela 5).

Dentre os micronutrientes analisados nos tecidos da *P. glomerata*, o teor de Cu foi menor em todos órgãos da planta, independente da idade dessas (Tabelas 4 e 5). Na 1ª época de cultivo, o teor de Cu nas folhas (9,3ppm) não foi influenciado pela adubação NPK. Já no caule e raízes o teor de Cu,

respectivamente de 6,8 e 4,6ppm, foi menor nos tratamentos com 50-50-50, 100-50-50 e 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). Nas plantas da 2ª época de cultivo, o teor de Cu no caule (6,1ppm) e nas raízes (4,4ppm) não foi alterado pelos tratamentos de adubação (Tabela 5). Já o teor de Cu nas folhas diferiu pela adubação NPK, sendo que o tratamento com 50-50-100kg ha<sup>-1</sup> proporcionou aumento de 66% em relação aos tratamentos com 50-50-50 e 100-50-50 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 5).

TABELA 5 - Teores médios de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 6 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007.

Tratamentos*	Média do teor de nutrientes nos tecidos								
	N	P	K	Ca	Mg	Zn	Mn	Fe	Cu
NPK (kg ha <sup>-1</sup> )	..... % .....			..... ppm .....					
Folha									
50-50-50	2,42 bc**	0,216 a	3,21 b	0,504 a	0,565 a	106,3 a	1070,6 b	181,86 a	7,6 b
50-50-100	2,74 abc	0,262 a	3,88 ab	0,500 a	0,555 a	138,6 a	2192,66 a	176,0 a	11,53 a
50-100-100	2,32 c	0,254 a	3,66 b	0,558 a	0,505 a	55,73 a	1730,6 ab	163,53 a	8,2 ab
100-100-100	3,26 a	0,293 a	4,84 a	0,604 a	0,565 a	62,33 a	2234,46 a	233,2 a	10,33 ab
100-50-50	2,96 ab	0,286 a	3,09 b	0,605 a	0,566 a	59,4 a	1764,4 ab	236,86 a	7,66 b
100-100-50	2,85 abc	0,264 a	4,05 ab	0,526 a	0,57 a	55,73 a	2030,6 a	263,26 a	8,73 ab
Média	2,76	0,26	3,79	0,55	0,55	79,68	1837,24	209,12	9,01
CV(%)	11,5	17,6	14,3	17,2	7,07	79,67	20,89	39,57	21,21
Caule									
50-50-50	0,65 a	0,094 b	1,99 ab	0,094 ab	0,126 ab	36,66 a	171,3 a	123,9 abc	6,26 a
50-50-100	0,53 a	0,107 b	2,18 ab	0,081 b	0,096 ab	34,46 a	300,6 a	88,0 c	5,8 a
50-100-100	0,65 a	0,119 ab	2,14 ab	0,096 ab	0,126 ab	30,06 a	352 a	133,4 abc	5,93 a
100-100-100	0,55 a	0,108 b	2,09 ab	0,095 ab	0,108 ab	29,33 a	308 a	101,2 bc	5,8 a
100-50-50	0,69 a	0,157 a	2,55 a	0,114 a	0,155 a	34,46 a	278,6 a	178,9 ab	7,33 a
100-100-50	0,45 a	0,107 b	1,54 b	0,093 ab	0,082 b	27,5 a	308 a	205,7 a	5,3 a
Média	0,59	0,11	2,08	0,09	0,11	32,3	302,8	134,58	6,11
CV(%)	27,6	20,3	21,4	15,6	27,8	16,4	14,2	32,16	20,07
Raiz									
50-50-50	0,621 a	0,163 a	1,74 a	0,118 a	0,097 a	72,6 a	124,6 b	182,6 a	4,4 a
50-50-100	0,527 a	0,129 a	1,32 a	0,107 a	0,069 a	32,26 a	139,3 ab	147,4 a	3,73 a
50-100-100	0,487 a	0,118 a	1,3 a	0,112 a	0,077 a	36,6 a	139,3 ab	143,73 a	5,66 a
100-100-100	0,568 a	0,160 a	1,7 a	0,127 a	0,074 a	27,13 a	154 a	181,86 a	4,13 a
100-50-50	0,586 a	0,175 a	1,74 a	0,110 a	0,075 a	51,3 a	117,3 b	186,2 a	4,2 a
100-100-50	0,504 a	0,147 a	1,48 a	0,100 a	0,065 a	37,4 a	139,3 ab	194,3 a	4,2 a
Média	0,547	0,148	1,55	0,11	0,076	42,9	135,6	172,7	4,38
CV(%)	22,28	21,1	24,4	14,8	22,7	61,6	8,54	30,08	29,8

\* Tratamentos de adubação N-P-K.

\*\* Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Em trabalho com *P. glomerata* cultivada em um Argissolo Vermelho distrófico arênico, (experimento 2 do capítulo 1) sugeriram que os teores adequados de nutrientes nas folhas dessa espécie, para se obter de 95 a 100% de matéria seca total de plantas com 60 dias após o transplante sob condições de casa de vegetação, seriam: N = 3,4 a 4,2%; P = 0,65 a 1,05 %; K = 3,0 a 5,25 %; Ca = 0,28 a 0,45%; Mg = 0,48 a 0,57 %; Cu = 19 a 43mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 65 a 99mg kg<sup>-1</sup>; Fe = 315 a 390mg kg<sup>-1</sup> e Mn = 700 a 1550mg kg<sup>-1</sup>. Considerando que no presente trabalho houve tendência do tratamento com a maior dose de adubação NPK (100-100-100kg ha<sup>-1</sup>) aumentar a produção de biomassa total das plantas com 6 e 16 meses de cultivo, bem como a acumulação de vários nutrientes analisados (i.e. N, P, K, Ca, Mn e Cu nas folhas), constata-se que os teores de certos macro e micronutrientes, nas folhas dessa espécie quando cultivada a campo, neste tratamento de adubação, encontram-se dentro da faixa sugerida como adequada (K e Mg), mas alguns estão abaixo (N, P, Fe, Zn e Cu) ou acima (Ca e Mn) daqueles observados em plantas cultivadas em casa de vegetação. Isto não significa que os teores de macro e micronutrientes encontrados em plantas de *P. glomerata* cultivadas a campo não são adequados.

Os efeitos da adubação com esterco de galinha curtido (controle, 15, 30, 45 e 60t ha<sup>-1</sup>) sobre o teor de N, P e K nos tecido da *P. glomerata* dependeram da época de avaliação (GUERREIRO, 2006). Este mesmo autor verificou que no tratamento com maior produção de biomassa (30t ha<sup>-1</sup>) o teor de N nas folhas variou conforme a idade das plantas, os quais corresponderam a 2,7; 3,7; 3,3; 4,4 e 4,0%, respectivamente, aos 120, 180, 240, 300 e 360 dias, após o transplante das mudas. O teor de P foi de 0,45; 0,24; 0,18; 0,24 e 0,27%, respectivamente, aos 120, 180, 240, 300 e 360 dias após o transplante. Já para o teor K foi de 6,1; 5,6; 3,1; 6,1; 4,3 e 2,4%, respectivamente, aos 60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias. Dessa forma os teores de nutrientes encontrados no presente trabalho, nos órgãos de *P. glomerata*, cultivadas a campo podem ser considerados dentro dos limites adequados, mesmo que difiram daqueles encontrados em experimentos realizados em casa de vegetação.

TABELA 6 - Acumulação de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 16 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007.

Tratamentos* NPK (kg ha <sup>-1</sup> )	Acumulação de nutrientes na folha (g planta <sup>-1</sup> )								
	N	P	K	Ca	Mg	Zn	Mn	Fe	Cu
50-50-50	39,22 a**	3,35 a	92,96 a	7,99 a	9,44 a	0,85 ab	26,88 a	5,32 a	0,154 a
50-50-100	31,45 ab	2,64 a	75,9 ab	6,19 a	7,14 ab	0,6 ab	21,6 ab	4,49 a	0,110 a
50-100-100	28,58 ab	2,37 a	65,4 ab	6,33 a	7,42 ab	0,63 ab	19,7 ab	2,87 ab	0,112 a
100-100-100	22,12 b	2,77 a	66,8 ab	5,65 a	5,84 b	0,53 b	19,5 ab	3,59 ab	0,094 a
100-50-50	22,81 b	2,11 a	59,6 ab	5,26 a	5,1 b	0,56	12,5 b	3,88 ab	0,088 a
100-100-50	21,53 b	1,95 a	48,6 b	4,74 a	4,74 b	1,02 a	15,4 b	1,88 b	0,091 a
CV(%)	26,7	31,4	28,5	29,1	25,8	33	29,7	34,6	31,3
Acumulação de nutrientes no caule (g planta <sup>-1</sup> )									
50-50-50	64,56 b	13,36 b	238,5 b	9,04 c	12,44 a	7,42 a	26,5 a	16,9 a	0,85 b
50-50-100	80,58 ab	17,1 b	377,5 ab	13,2 abc	13,12 a	9,96 a	50,2 a	27,5 a	1,19 ab
50-100-100	76,44 ab	19,73 ab	321,9 ab	11,9 bc	12,38 a	5,4 a	44,5 a	18,8 a	1,33 ab
100-100-100	126,87 a	30,8 a	502,6 a	22,31 a	21,34 a	7,93 a	66,5 a	26,7 a	1,61 a
100-50-50	78,80 ab	14,5 b	272,3 b	12,11 bc	13,35 a	4,6 a	51,2 a	23,2 a	1,01 ab
100-100-50	92,29 ab	23,27 ab	359,5 ab	19,69 ab	16,52 a	6,26 a	50,0 a	23,5 a	1,27 ab
CV(%)	31,05	31,5	30,9	34,5	34,8	65	50	49,1	31,4
Acumulação de nutrientes na raiz (g planta <sup>-1</sup> )									
50-50-50	99,6 a	20,5 ab	210,1 a	14,04 a	11,74 a	6,04 ab	15,2 a	34,6 a	0,74 a
50-50-100	68,1 a	16,4 bc	162,8 a	12,47 a	10,14 a	4,13 bc	18,58 a	40,0 a	0,75 a
50-100-100	69,7 a	24,2 a	174,7 a	13,37 a	9,22 a	3,15 c	14,5 a	32,2 a	0,56 a
100-100-100	98,3 a	21,5 ab	235,8 a	19,54 a	12,51 a	5,79 ab	20,97 a	31,5 a	0,73 a
100-50-50	82,4 a	14,1 c	175,2 a	16,63 a	13,87 a	7,05 a	17,49 a	33,2 a	0,61 a
100-100-50	90,8 a	16,9 bc	193,3 a	19,42 a	12,05 a	5,85 ab	20,32 a	41,6 a	0,72 a
CV(%)	20,3	16,8	19,6	27,5	37	25,6	27,7	36	18,5

\* Tratamentos de adubação N-P-K.

\*\* Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

### *Acumulação de nutrientes*

Na 1ª época de cultivo a acumulação de P, Ca e Cu nas folhas não foi afetada pelos tratamentos testados. Já a acumulação de N, K, Mg, Mn e Fe tendeu ser maior no tratamento com 50-50-50kg ha<sup>-1</sup> de NPK. Quanto à acumulação de Zn, houve tendência de ser maior no tratamento com 100-100-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 6). No caule, as acumulações de Mg, Mn, Zn e Fe não foram afetadas pela adubação NPK, enquanto àquelas de N, P, K Ca e Cu tenderam a ser maiores no tratamento NPK com 100-100-100kg ha<sup>-1</sup> e menores nos tratamentos com 50-50-50 e 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 6). Nas raízes, as

acumulações de N, K, Ca, Mg, Mn, Fe e Cu não foram alteradas pelos tratamentos testados. Por outro lado, a acumulação de P foi maior no tratamento com 50-100-100kg ha<sup>-1</sup>, enquanto a acumulação de Zn foi maior no tratamento com 100-50-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 6).

Aparentemente, a observação de vários pesquisadores (MALAVOLTA, 1997; MISSIO & NICOLOSO, 2005) com relação à diminuição da absorção de Zn pelas plantas, quando submetidas à alta disponibilidade de P, não foi observada nesse trabalho, pelo contrário, a acumulação de Zn nas folhas foi maior no tratamento de adubação NPK com 100-100-50kg ha<sup>-1</sup>. Somente nas raízes é que a acumulação de Zn tendeu ser menor nos tratamentos com a maior dose de P (Tabela 6). Com exceção da acumulação de Zn nas folhas, a acumulação dos demais nutrientes nas folhas seguiu a tendência do efeito da adubação na produção da biomassa foliar, a qual foi favorecida pelo tratamento de adubação NPK com 50-50-50kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 2).

Nas plantas da 2ª época de plantio, não houve efeito dos tratamentos de adubação NPK nas acumulações de macro e micronutrientes em raízes, caule e folhas (Tabela 7). Entretanto, o tratamento de adubação NPK com 100-100-100kg ha<sup>-1</sup> apresentou tendência de aumentar a acumulação de N, P, K, Mn e Cu nas folhas, de P, K, Ca, Mn, Zn e Cu no caule e de N, P, K, Ca, Mg, Mn e Fe nas raízes (Tabela 7).

Em estudo feito por GUERREIRO (2006) sobre o efeito da adubação de esterco de galinha curtido (15 a 60t ha<sup>-1</sup>) na produção de *P. glomerata*, foi verificado que o acúmulo de N, P e K em todas as partes das plantas seguiu a mesma tendência da distribuição da fitomassa seca. Além disso, a acumulação desses nutrientes obedeceu a seguinte ordem K>N>P e o menor acúmulo ocorreu nas raízes.

O conhecimento das fases do desenvolvimento vegetal onde ocorrem as maiores absorções de nutrientes permite quantificar as exigências nutricionais, bem como ajustar à aplicação dos fertilizantes. Desse modo, os dados do presente trabalho sugerem que, para uma maior acumulação de nutrientes minerais nos tecidos de *P. glomerata* e uma possível relação com o acúmulo de princípios ativos de interesse medicinal, as plantas só devem ser coletadas após os 6 meses de cultivo.

TABELA 7 - Acumulação de nutrientes nos tecidos da folha, caule e raiz de plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas a campo por um período de 6 meses e submetidas a diferentes tratamentos de adubação. UFSM, Santa Maria, 2007.

Tratamentos* NPK (kg ha <sup>-1</sup> )	Acumulação de nutrientes na folha (g planta <sup>-1</sup> )								
	N	P	K	Ca	Mg	Zn	Mn	Fe	Cu
50-50-50	7,9 a**	0,65 a	10,51 a	1,61 a	1,89 a	0,19 a	3,5 a	0,66 a	0,026 a
50-50-100	4,6 a	0,43 a	6,78 a	0,81 a	0,92 a	0,26 a	3,7 a	0,30 a	0,019 a
50-100-100	5,8 a	0,73 a	9,86 a	1,69 a	1,35 a	0,14 a	4,5 a	0,47 a	0,022 a
100-100-100	8,7 a	0,78 a	13,08 a	1,62 a	1,5 a	0,16 a	6,0 a	0,63 a	0,027 a
100-50-50	5,2 a	0,60 a	5,85 a	1,1 a	1,08 a	0,11 a	3,4 a	0,37 a	0,014 a
100-100-50	3,9 a	0,36 a	5,72 a	0,76 a	0,88 a	0,08 a	2,8 a	0,39 a	0,013 a
CV(%)	70,4	84,4	73,7	87,8	81,6	87,9	69,4	87,1	81
Acumulação de nutrientes no caule (g planta <sup>-1</sup> )									
50-50-50	17,4 a	3,04	64,1 a	3,0 a	3,94 a	1,13 a	8,56 a	4,07 a	0,19 a
50-50-100	20,3 a	4,16 a	78,76 a	3,02 a	3,69 a	1,17 a	10,42 a	3,11 a	0,20 a
50-100-100	27,1 a	4,73 a	85,04 a	3,7 a	5,03 a	1,17 a	13,37 a	5,09 a	0,23 a
100-100-100	27,0 a	5,4 a	102,6 a	4,75 a	5,39 a	1,49 a	16,07 a	5,16 a	0,29 a
100-50-50	24,5 a	5,04 a	83,78 a	3,8 a	5,58 a	1,07 a	8,82 a	5,6 a	0,26 a
100-100-50	15,8 a	3,73 a	53,4a	3,3 a	2,92 a	1,05 a	11,55 a	8,27 a	0,20 a
CV(%)	69,2	56,8	56,8	53,3	67,2	50,1	48,7	60	63,3
Acumulação de nutrientes na raiz (g planta <sup>-1</sup> )									
50-50-50	17,9 a	4,7 a	51,93 a	4,4 a	2,84 a	2,5 a	3,4 a	4,99 a	0,12 a
50-50-100	15,1 a	3,8 a	37,62 a	3,21 a	2,02 a	1,01 a	4,42 a	4,76 a	0,11 a
50-100-100	15,7 a	4,0 a	43,87 a	3,68 a	2,46 a	1,15 a	4,51 a	4,95 a	0,16 a
100-100-100	25,3 a	7,2 a	77,08 a	5,85 a	3,46 a	1,31 a	7,38 a	8,65 a	0,19 a
100-50-50	11,0 a	5,0 a	50,22 a	3,03 a	1,42 a	1,28 a	3,35 a	5,86 a	0,12 a
100-100-50	22,4 a	6,3 a	61,08 a	4,46 a	2,92 a	1,86 a	6,39 a	9,99 a	0,20 a
CV(%)	42,1	46,9	46,6	45,3	47,8	93,7	50,9	72,6	57,9

\* Tratamentos de adubação N-P-K.

\*\* Tratamentos com médias não ligadas por mesma letra, na vertical, diferem pelo teste de Duncan a 5% probabilidade de erro.

## CONCLUSÕES

A adubação NPK afetou distintamente a produção de biomassa dos órgãos das plantas de *P. glomerata* com 16 meses de cultivo. O aumento da adubação nitrogenada favoreceu a produção de biomassa radicular.

Os efeitos da adubação NPK nos teores de macro e micronutrientes nos tecidos de *P. glomerata* dependeram do órgão analisado e da idade das plantas. Os teores médios de nutrientes nas folhas de



plantas com 16 meses de cultivo foram: 2,39% de N, 0,22% de P, 5,91% de K, 0,53% de Ca, 0,55% de Mg, 71mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 1690mg kg<sup>-1</sup> de Mn, 321mg kg<sup>-1</sup> de Fe e 9,3mg kg<sup>-1</sup> de Cu. Em plantas com 6 meses de cultivo, os teores médios de nutrientes nas folhas foram de: 2,76% de N, 0,26% de P, 3,79% de K, 0,55% de Ca, 0,55% de Mg, 80mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 1837mg kg<sup>-1</sup> de Mn, 209mg kg<sup>-1</sup> de Fe e 9,0mg kg<sup>-1</sup> de Cu.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLOTE, A.F.J.; FERREIRA, C.A. Nutrientes minerais e crescimento de árvores adubadas de *Eucalyptus grandis*, na região do cerrado, no estado de São Paulo. **Parte do Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.26/27, p.17-28, 1993.

BENTES, L.B.et al. Época de colheita de *P. glomerata* em Manaus – Amazonas. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 5, Botucatu, 2001, Anais... Botucatu: UNESP, 2001, p.3.

BLANK, A. F. et al. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hortelã-pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, p.195-198, 2006.

BOVI, M.L.A. et al. Respostas de crescimento da pupunheira à adubação NPK. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.161-166, 2002.

CECÍLIO FILHO, A.B. **Época e densidade de plantio sobre a fenologia e o rendimento da cúrcuma (*Curcuma longa* L.)**. Lavras: Faculdade de Engenharia Agrícola. 1996. 100 p. (Tese doutorado).

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS-NRS, 2004. 394p.

CORRÊA JÚNIOR, C. et al. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. Curitiba: EMATER-PR. 1991, 151p.

CORRÊA JÚNIOR, C. **Influência das adubações orgânica e química na produção de camomila**

[*Chamomilla recutita* (L.) **Rauischert**] e do seu óleo essencial. 1994. 96 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

CÔRREA JÚNIOR, C. **Estudo agrônômico de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen): sazonalidade na produção de raízes e conteúdos de  $\beta$ -ecdisona em diferentes acessos de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul.** 2003, 73p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, SP.

EPSTEIN, E. & BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas. Princípios e perspectivas.** Londrina: Ed. Plantas, 2006. 401p.

FIGUEIREDO, L.S. et al. Comportamento de 23 acessos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae), nas condições de Campo dos Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.7, n.1, p.67-72, 2004.

GUERREIRO, C.P.V. **Análise de crescimento, curva de absorção de macronutrientes (N, P e K) e teor de  $\beta$ -ecdisona em fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) em função de adubação orgânicas.** 2006. 144p. Dissertação (Mestre em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

MAGALHAES, P.M. de. Agrotecnología 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.

MAIA, C.E. et al. Teores foliares de nutrientes em meloeiro irrigado com águas de diferentes salinidades **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v.9, (Suplemento), p.292-295, 2005.

MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações.** Piracicaba:POTAFOS, 1997, 319p.

MENDONÇA, A. V. R. et al. Exigências nutricionais de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira do

Sertão). **Revista Cerne**, Lavras, v. 5, n.1, p. 65-75, 1999.

MISSIO, E.L.; NICOLOSO, F.T. Distúrbios nutricionais induzidos pela adubação de fósforo e ferro em plantas jovens de grápia (*Apuleia leiocarpa*). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.15, n.4, p.377-389, 2005.

MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen)**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).

MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdysone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.

MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Secretaria da Agricultura, Diretoria de Terras e Colonização, Seção de geografia. Porto Alegre, 1961. 46p.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen. v.15, p.473-497, 1962.

MURPHY, J. & RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chemica Acta**, Amsterdam, v.27 p.31-36, 1962.

NICOLOSO, F.T. et al.. Micropropagação do ginseng brasileiro. [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.3, n.2, p. 11-18, 2001.

NINAGI, O. MARUYAMA, M. Utilization de 20-hydroxy ecdysone extrated from a plant in sericulture. **JARQ**, v.30, n.2, p.123-28, 1996. Resumo. Biological Abstract on CD.

PEDRON, F.A. et al. **Solos do Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria : Características, classificação e potencial de uso**. Santa Maria: Departamento de Solos/UFSM, 2005. 70p.

PRADO, R.M. et al. Aplicação de potássio no estado nutricional e na produção de matéria seca de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.295-299, 2004.

- RAIJ, B. Van. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo: Ceres, Piracicaba: POTAFOS, 1991. 343 p.
- SHIOBARA, Y. et al. A nortriterpenoid, triterpenoid and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, Oxford, v.32, n.6, p.1527-1530, 1993.
- SKREBSKY, E. C. et al. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1416-1423, 2006.
- SKREBSKY, E.C. et al. Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, no prelo, 2008.
- TEDESCO, M.S. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2 ed. 174p. 1995.
- VIGO, C. L. S. et al. Influências da variação sazonal e tipos de secagem nas características da droga vegetal – raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae) **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, n. 2, p.137-144, 2004.

## Capítulo 2:

Efeito do cádmio no crescimento e metabolismo da *Pfaffia glomerata*.

## Capítulo 2:

### Experimento 4:

O princípio da fitorremediação se baseia nos mecanismos de tolerância à acumulação de metais existentes nas plantas, de forma a manter as funções celulares mesmo na presença de altas concentrações de metais. Estes mecanismos incluem a compartimentalização dos metais em estruturas sub-celulares; exclusão e/ou diminuição do transporte através da membrana; e a formação de peptídeos quelantes, ricos em cisteínas, que auxiliam direta ou indiretamente na acumulação de metais pelas plantas.

Uma espécie não identificada do gênero *Pfaffia* exibiu alta tolerância a solos contaminados com metais, como cádmio e zinco (CARNEIRO et al., 2002). Em função disso, o experimento 4 teve por objetivo avaliar a tolerância das plantas de *P. glomerata* a doses crescentes de Cd, bem como avaliar os mecanismos pelos quais ocorre a destoxificação desse metal.

Os resultados deste estudo também foram divididos em dois artigos. O primeiro estuda o efeito do cádmio no crescimento e metabolismo da planta, no balanço de micronutrientes e na atividade de enzimas como as fosfatases ácidas e a  $\delta$ -aminolevulinic desidratase. O segundo artigo caracteriza os possíveis agentes detoxificadores, relacionados com as alterações no sistema antioxidante enzimático e não enzimático induzidos pelo cádmio.

## **Capítulo 2, Experimento 4, Artículo n°1**

Effect of cadmium on growth, micronutrient balance, and delta-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*

**Effect of cadmium on growth, micronutrient balance, and delta-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata***

Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1,3</sup>, Fernando Teixeira Nicoloso<sup>1,3</sup>, Luciane Almeri Tabaldi<sup>1,3</sup>, Luciane Belmonte Pereira<sup>2,4</sup>, Renata Rauber<sup>1</sup>, Joseila Maldaner<sup>1,3</sup>, Denise Cargnelutti<sup>2,4</sup>, Jamile Fabbrin Gonçalves<sup>1,3</sup>, Gabriel Y Castro<sup>1</sup>, Maria Rosa Chitolina Shetinger<sup>2,5</sup>

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA<sup>1</sup>, QUÍMICA<sup>2</sup>, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA<sup>3</sup> E BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA<sup>4</sup>, CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, 97105-900, SANTA MARIA, RS, BRASIL**

**Abstract**

*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plantlets were grown in five cadmium (Cd) concentrations (0, 20, 40, 60 and 80  $\mu\text{M}$ ) in a hydroponic system, for 7 days, to analyze the growth, micronutrient balance, chlorophyll and carotenoid contents, and delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) and acid phosphatase (AP) activities. Cd content in both shoots and roots increased with increasing Cd levels. Root Cd content was in average 12 fold greater than in shoot. Root length was not affected by all Cd levels. In contrast, the dry weight of both shoot and roots increased significantly upon addition of 20 and 40  $\mu\text{M}$  Cd. Moreover, shoot and total plant dry weight reduced only at the 80  $\mu\text{M}$  Cd level in relation to control. Conversely, root dry weight decreased significantly upon addition of Cd level exceeding 40  $\mu\text{M}$ . A micronutrient- and organ-dependent response to Cd toxicity was observed. Zn and Cu contents in both shoot and roots did not alter upon addition of all Cd levels. Mn uptake was affected by the Cd stress but not the translocation of Mn within the plant. A synergistic effect of Cd on Fe content in shoots at the 20 and 80  $\mu\text{M}$  Cd levels was observed. The activities of both ALA-D and AP were reduced with increasing Cd levels, but ALA-D activity was more affected. At Cd levels of 20 and 80  $\mu\text{M}$ , at which ALA-D



activity was more inhibited, chlorophyll content was also reduced. There was a positive correlation between the content of carotenoids and chlorophylls. In conclusion, our results indicate that *P. glomerata* seems to have some degree of Cd tolerance.

*Keywords:* Chlorophyll, carotenoid, micronutrient, phytoremediation, Brazilian ginseng, metabolic enzymes.

## **1. Introduction**

Heavy metal pollution is of considerable importance and relevant to the present scenario due to the increasing levels of pollution and its obvious impact on human health through the food chain (Hadjiliadis, 1997). Cadmium (Cd) is one of the most dangerous metals because of its discharge and mobility and the small concentration necessary to manifest its effect on human health (Jackson and Alloway, 1990).

It is known that unfavorable effects of heavy metals on plants are manifested, among others, by inhibiting the normal uptake and utilization of mineral nutrients (Trivedi and Erdei, 1992; Jiang et al., 2004; Dong et al., 2006). Most of the experimental data on Cd toxicity provides a dearth of information on the specifics of essential (Cu, Fe, Zn) and non-essential metals (Pb, Hg) (Rauser, 2000) and few studies have been designed specifically to address the effect of micronutrient status on toxicity from exposure to non-essential metals (Peraza et al., 1998).

Cadmium, for instance, can interfere with mineral nutrition by hampering the uptake and translocation of essential elements (Quariti et al., 1997; Boussama et al., 1999; Jiang et al., 2004; Dong et al., 2006). Moreover, Cd can inhibit photosynthesis, and hence reduce plant growth (Gallego et al., 1996), and can affect cell metabolism by altering the activity of key enzymes of important pathways (Kumar and Dubey, 1999; Verma & Dubey, 2001), by changing membrane composition and function (Fodor et al., 1995; Quariti et al., 1997) and by lowering the control of the cell redox state, so causing oxidative stress (Schützendübel et al., 2002; Gratão et al., 2005).

Acid phosphatases (ortophosphoric-monoester phosphohydrolases) are widely distributed in plants and significantly differ from their susceptibility to inhibition by various compounds (Penheiter et al., 1997). Acid phosphatases nonspecifically catalyze the hydrolysis of a variety of phosphate esters in an acidic environment (De-Kundu and Banerjee, 1990). The hydrolysis of phosphate esters is an important process in energy metabolism, metabolic regulation and a wide variety of cellular signal transduction pathways of plant cells (Vincent et al., 1992). These enzymes are proposed to function in the maintenance of the phosphorus status of the plant particularly with respect to a role in accessing phosphorus from the soil (Duff et al., 1994). Several factors have shown to influence the acid phosphatase activity (Duff et al., 1994). Heavy metals effect on acid phosphatase are poor known (Tabaldi et al., 2007).

The enzyme  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) is sensitive to metals due to its sulphhydrylic nature (Rocha et al., 1995; Pereira et al., 2006) and catalyzes the asymmetric condensation of two molecules of  $\delta$ -aminolevulinic acid to porphobilinogen. The synthesis of porphobilinogen promotes the formation of porphyrins, hemes and chlorophylls, which are essential for adequate aerobic metabolism and for photosynthesis (Warren et al., 1998; Jaffe et al., 2000). Furthermore, altered ALA-D activity concomitant with reduced chlorophyll contents has been reported in many terrestrial plants exposed to various metals such as aluminium (Stobart et al., 1985; Pereira et al., 2006).

The mechanism of action of heavy metals lies in their ability to form strong bonds with bases and phosphates from nucleic acids and with  $-SH$  groups from proteins, modifying both their structure and function. They compete with other divalent cations such as Ca, Zn and Mg replacing them in their physiological roles (Pauza et al., 2005; Tabaldi et al., 2007).

The genus *Pfaffia* belongs to the Amaranthaceae family and it has about 90 species distributed in Central and South America. In Brazil, 27 species have been described (Taniguchi et al., 1997). The roots of *Pfaffia glomerata* are of greater interest due to their popular use as anti-tumoral, anti-diabetic and aphrodisiac tonic (Montanari et al., 1999). Because of such uses and the form of its roots, which are similar to the Asian ginseng, its common name is Brazilian ginseng (Montanari et al., 1999). In a recent

study, Carneiro et al. (2002) showed that an undetermined species of the genus *Pfaffia* exhibited high tolerance to soil contamination, growing quite abundantly in soil mix with 90 and 1,450 mg kg<sup>-1</sup> of Cd and Zn, respectively. Moreover, this species showed Cd content higher than 100 mg kg<sup>-1</sup>, being considered Cd hiperaccumulator, and possibly contributing to phytoremediation of contaminated sites with heavy metals. In line with this, it is important to check whether *P. glomerata* shows Cd tolerance and, in such case, which are the mechanisms involved in Cd-tolerance.

The present work was designed to analyze the growth, micronutrient balance, chlorophyll and carotenoid contents, and delta-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plantlets during an extended 7-day period of exposure to different cadmium concentrations, ranging from those observed in highly contaminated soils (20 µM), but also including the ones usually employed in cadmium accumulation studies (up to 80 µM).

## **2. Material and methods**

### *2.1. Experimental design*

Tissue culture plantlets were obtained from the Ginseng Germplasm program, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil. Nodal segments (1.0 cm long) were micropropagated in Murashige and Skoog (1962) medium, supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> of sucrose, 0.1 g L<sup>-1</sup> of myo-inositol and 6 g L<sup>-1</sup> of agar, according to the protocol established by Nicoloso et al. (2001).

Twenty five-day-old plantlets from *in vitro* culture and after three days of acclimatization, following the protocol established by Skrebsky et al. (2006), were transferred into plastic boxes (10 L) filled with aerated full nutrient solution of low ionic strength. The nutrient solution had the following composition (mg L<sup>-1</sup>): 85.31 of N; 7.54 of P; 11.54 of S; 97.64 of Ca; 23.68 of Mg; 104.75 of K; 176.76 of Cl; 0.27 of B; 0.05 of Mo; 0.01 of Ni; 0.13 of Zn; 0.03 of Cu; 0.11 of Mn and 2.68 of Fe. The solution pH was adjusted daily to 5.8±0.1 by titration with HCl or NaOH solutions (0.1 M). At the 14<sup>th</sup> day after transplanting, cadmium as CdCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O was added to each container to form five concentrations: 0

(control), 20, 40, 60 or 80  $\mu\text{M}$ . The nutrient solution in the growth containers was renewed once a week. Both *in vitro* and *ex vitro* cultured plants were grown in a growth chamber at  $25\pm 1^\circ\text{C}$  during 16/8-h light/dark cycle with  $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of irradiance. Cadmium-treated plantlets remained in each solution for 7 days. Three replicates with 54 plantlets were used for each treatment.

## 2.2. Growth analysis

At harvest, the plants were divided into shoot and roots. Roots were rinsed twice with fresh aliquots of distilled water. Subsequently, growth and biochemical parameters were determined. Length of roots was determined according to Tennant (1975), and the length of sprouts was measured with a ruler. To obtain dry weight, the plants were left at  $65^\circ\text{C}$  until reaching a constant weight.

## 2.3. Cadmium and micronutrient contents

The total content of Cd, Zn, Mn, Fe, and Cu of root/shoot were successively measured by atomic absorption spectroscopy (Analytic Jena, Germany) after the tissue wet digestion with  $\text{HNO}_3$ .

## 2.4. Acid phosphatase (E.C. 3.1.3.2) activity

All procedures were carried out at  $4^\circ\text{C}$ . Fresh root and shoot samples were centrifuged at  $43200 \times g$  for 30 min at  $4^\circ\text{C}$  and the supernatant was used for enzyme assay. Acid phosphatases activity was determined according to Tabaldi et al. (2007) in a reaction medium consisting of 3.5 mM sodium azide, 2.5 mM calcium chloride, 100 mM citrate buffer, pH 5.5, at a final volume of 200  $\mu\text{L}$ . A 20  $\mu\text{L}$  aliquot of the enzyme preparation (10-20  $\mu\text{g}$  protein) was added to the reaction mixture and preincubated for 10 min at  $35^\circ\text{C}$ . The reaction was started by the addition of substrate and stopped by the addition of 200  $\mu\text{L}$  of 10% trichloroacetic acid (TCA) to a final concentration of 5%. Inorganic phosphate (Pi) was measured at 630 nm using malachite green as the colorimetric reagent and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  as standard for the calibration curve. Controls were carried out to correct for nonenzymatic hydrolysis by adding enzyme preparation

after TCA addition. Enzyme specific activities are reported as nmol Pi released  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein. All assays were performed in triplicate using PPI as substrate at a final concentration of 3.0 mM.

#### 2.5. *Delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D; E.C. 4.2.1.24) activity*

Shoot tissue was homogenized in 10 mM Tris-HCl buffer, pH 9.0, (1:1, w/v). After it was centrifuged at 12000 x g at 4°C for 10 min to yield a supernatant (S1) that was used for the enzyme assay. The S1 was pre-treated with 0.1% Triton X-100, 0.5 mM dithiothreitol (DTT). ALA-D activity was assayed as described by Barbosa et al. (1998) by measuring the rate of porphobilinogen (PBG) formation. The incubation medium for the assays contained 100 mM Tris-HCl buffer, pH 9.0. For the enzyme assay, the final concentration of ALA was 3.6 mM. Incubation was started by adding 100  $\mu\text{L}$  of the tissue preparation to a final volume of 400  $\mu\text{L}$ . The product of the reaction was determined with the Ehrlich reagent at 555 nm using a molar absorption coefficient of  $6.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  (Sassa, 1982) for the Ehrlich-porphobilinogen salt. ALA-D activity was expressed as nmol PBG  $\text{mg}^{-1} \text{protein h}^{-1}$ .

#### 2.6. *Protein extraction*

In all the enzyme preparations, protein was determined by the method of Bradford (1976) using bovine serum albumin as standard and was expressed in  $\text{mg ml}^{-1}$ .

#### 2.7. *Chlorophyll and carotenoids determination*

Chlorophyll and carotenoids were extracted following the method of Hiscox and Israelstam (1979) and estimated with the help of Arnon's formula (Arnon, 1949). Chopped fresh shoot sample (0.1g) was incubated at 65°C in dimethylsulfoxide (DMSO) until tissues were completely bleached. Absorbance of the solution was then measured at 470, 645 and 663 nm in order to determine the contents of carotenoids, chlorophyll a, and chlorophyll b, respectively. Chlorophyll and carotenoid contents were expressed as  $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight.

## 2.8. Statistical analysis

The analyses of variance were computed on statistically significant differences determined based on the appropriate F-tests. The results are the means  $\pm$  SD of at least three independent replicates. Significance was determined at  $p < 0.05$ . The mean differences were compared utilizing Duncan's range test.

## 3. Results

### 3.1. Cd content in *Pfaffia glomerata* plants under Cadmium exposure

Figure 1 shows Cd concentrations in different plant parts of *P. glomerata* grown in four Cd levels. Cadmium content in both shoots (Figure 1A) and roots (Figure 1B) increased with increasing Cd levels. Meanwhile, no difference in both shoot and roots Cd contents was found between 20 to 60  $\mu\text{M}$  Cd treatments. In addition, there was a large difference in Cd content between plant parts, with the highest in roots and the lowest in shoot. Cadmium content in roots was in average 12-fold greater than in shoot. The maximum content of Cd in shoot and roots was,  $345 \text{ mg kg}^{-1}$  and  $3400 \text{ mg kg}^{-1}$ , at 80  $\mu\text{M}$  Cd level, respectively.

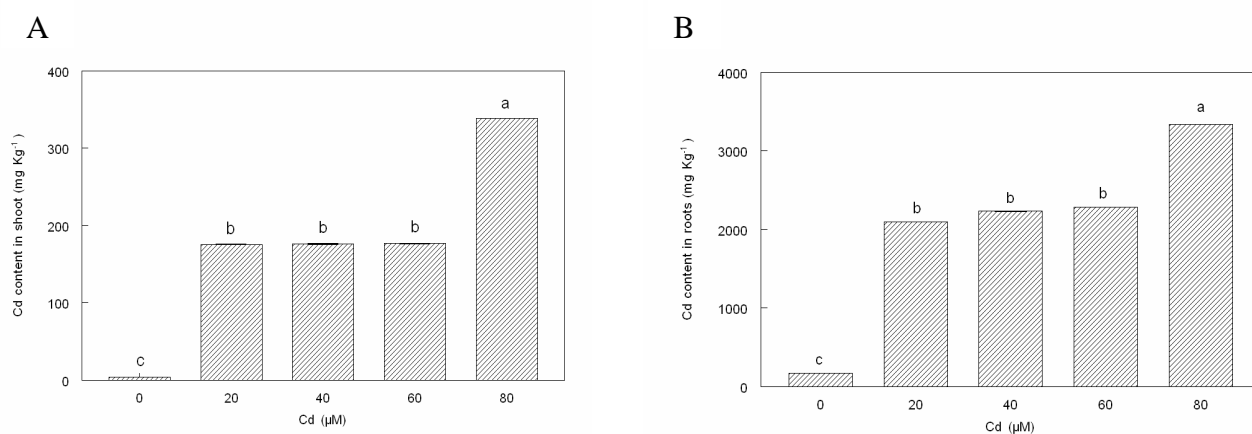


Figure 1. Cadmium (Cd) content in shoot (A) and roots (B) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.

### 3.2. Characterization of Cadmium tolerance

The response of plant growth to Cd stress changed with the growth parameter. Number of leaves per plant was slightly, but not significantly, reduced by Cd concentration up to 40  $\mu\text{M}$ , and whereas at 80  $\mu\text{M}$  Cd level it reduced 26% compared to control (Figure 2A). In addition, length of sprouts (Figure 2B) and length of root system (Figure 2C) per plant were not affected by Cd levels. On the other hand, root length/shoot length ratio increased significantly at the 20  $\mu\text{M}$  Cd level and this ratio was slightly, but not significantly, increased with the upon addition of Cd level exceeding 20  $\mu\text{M}$ , when compared to the control (Figure 2D).

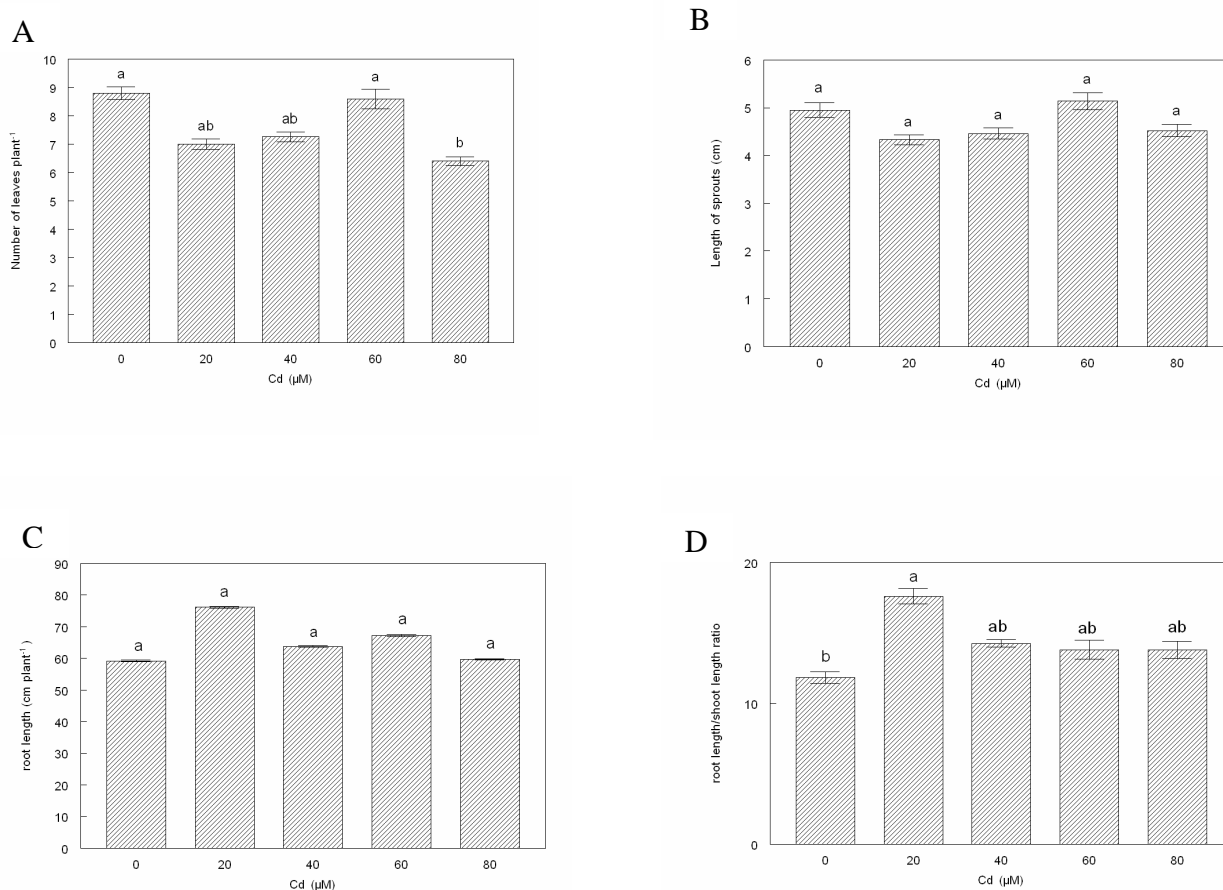


Figure 2. Number of leaves (A), length of sprouts (B), length of whole root system (C) and root length/sprout length ratio (D) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.

Shoot fresh weight was only reduced significantly upon addition of 80  $\mu\text{M}$  of Cd (Figure 3A). Contrary to the results observed for fresh biomass of shoot, the dry weight of both shoot (Figure 3B) and roots (Figure 3C) increased significantly upon addition of 20 and 40  $\mu\text{M}$  Cd. Moreover, shoot and total plant weight reduced only at the 80  $\mu\text{M}$  Cd level in relation to control (Figure 3B and 3D, respectively). Conversely, root dry weight decreased significantly upon addition of Cd level exceeding 40  $\mu\text{M}$  (Figure 3C). Then, root dry weight was the most sensible growth parameter to Cd stress.

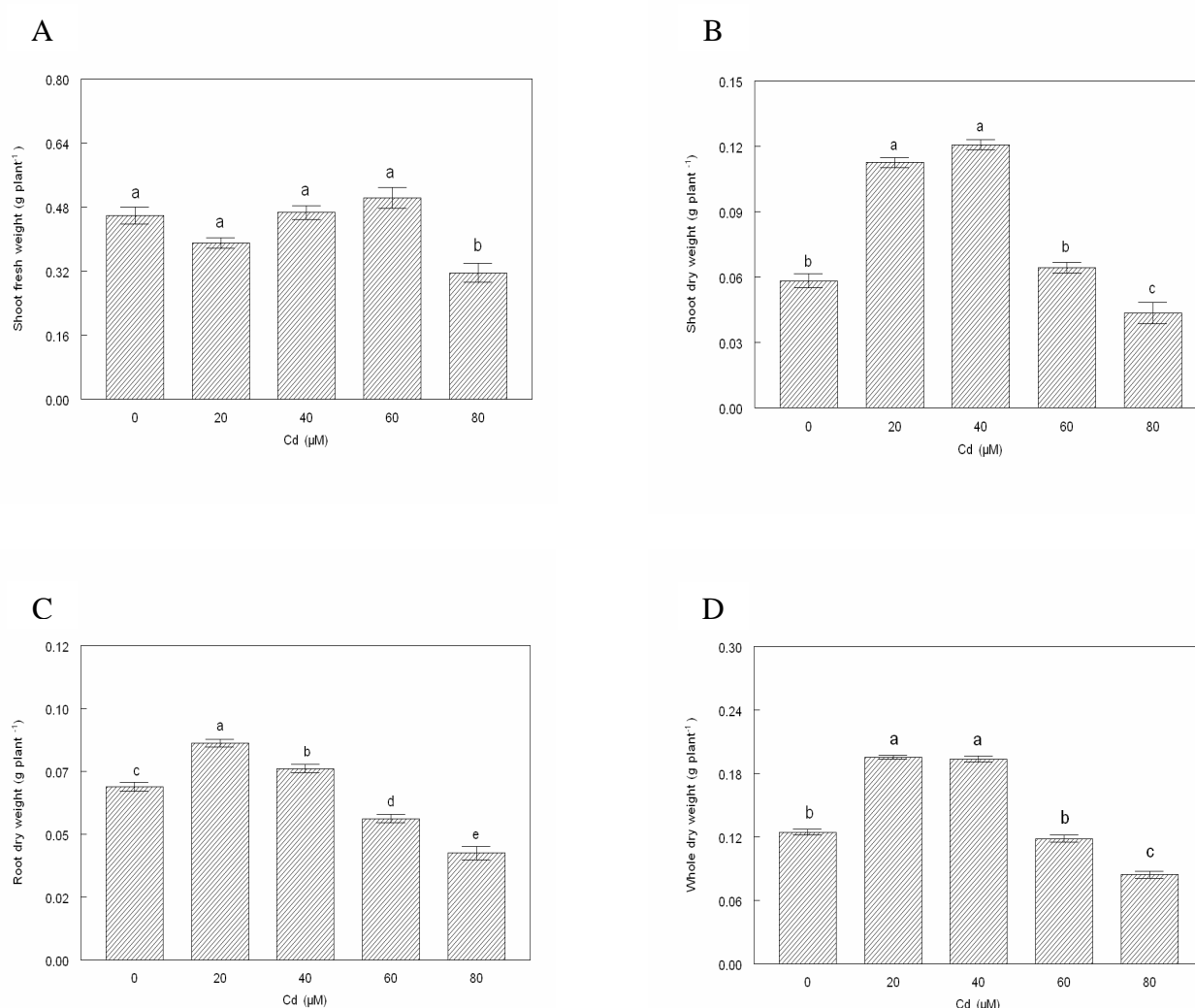


Figure 3. Shoot fresh weight (A), shoot dry weight (B), root dry weight (C), and whole plant dry weight (D) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.



### 3.3. Effect of Cadmium on micronutrient contents

In *P. glomerata* plants growing under different Cd levels, the contents of some micronutrients were examined in roots and shoot at 7 days of Cd exposure (Table 1). A nutrient- and organ-dependent response to Cd toxicity was observed. Zinc content in both shoot and roots did not change upon addition of all Cd treatments. No difference in shoot Mn content was found between Cd treatments and the control. Conversely, Mn content in roots reduced significantly with all Cd levels. Iron content in root increased significantly upon addition of 20 and 80  $\mu\text{M}$  Cd. No significant difference in shoot Fe content was found between any Cd treatment and the control. Copper content both in shoot and roots did not change upon addition of Cd treatments.

Table 1. Zn, Mn, Fe and Cu contents in shoot and roots of *Pfaffia glomerata* plants growing under increasing concentrations of Cd for 7 days.

Treatments	Micronutrient content							
	Zn (mg kg <sup>-1</sup> dw)		Mn (mg kg <sup>-1</sup> dw)		Fe (mg kg <sup>-1</sup> dw)		Cu (mg kg <sup>-1</sup> dw)	
	Root	Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot
Cd ( $\mu\text{M}$ )								
0	719a	128a	508a	140a	18209b	265a	79a	16a
20	573a	148a	168c	121a	24821a	395a	126a	14a
40	523a	91a	177c	118a	19539b	308a	93a	15a
60	571a	105a	244bc	99a	19320b	306a	90a	16a
80	650a	104a	322b	114a	21663a	411a	85a	14a
C.V. (%)	20,04	32,63	18,97	18,58	14,7	28,64	15,2	21,0

Values are the mean of three replicates. Means in columns for each plant tissue followed by the same letter are no significantly different ( $P < 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

### 3.4. Acid phosphatase activity (AP)

Acid phosphatase activity in both shoot and roots reduced by about 24% and 30%, respectively, with increasing Cd levels. Interestingly, AP in both shoot and roots showed the same level of activity in Cd treatments ranging from 20 to 80  $\mu\text{M}$  (Figure 4).

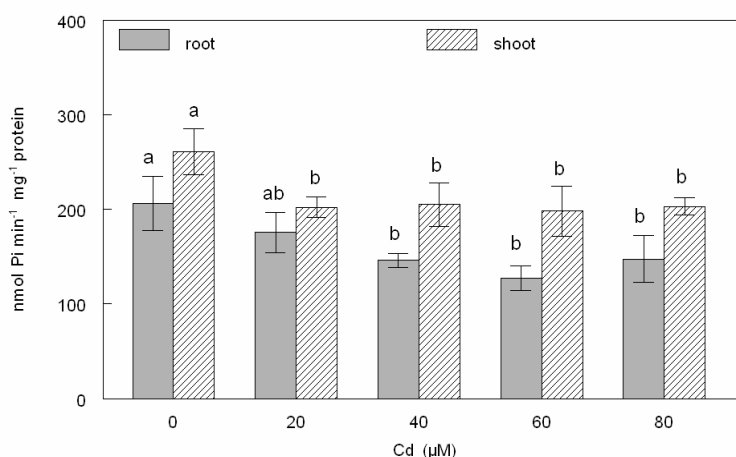


Figure 4. Acid phosphatase activities in shoot and roots of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.

### 3.5. Delta aminolevulinic dehydratase activity and content of chlorophyll and carotenoids

Shoot ALA-D activity decreased with increasing Cd levels in nutrient solution (Figure 5A). A maximum of 89% depletion in ALA-D activity was found at 80  $\mu\text{M}$  Cd. Results also showed that total chlorophylls content reduced only at the 20 and 80  $\mu\text{M}$  Cd levels (Figure 5B). On the other hand, carotenoids content was significantly reduced upon addition of 20, 60 and 80  $\mu\text{M}$  Cd (Figure 5C). However, there was a significantly positive correlation ( $r = 0.73$ ) between the contents of carotenoids and chlorophylls.

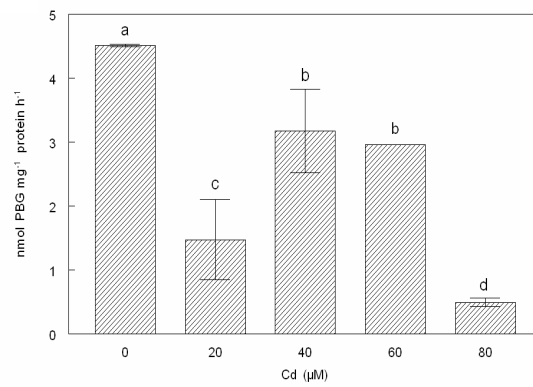
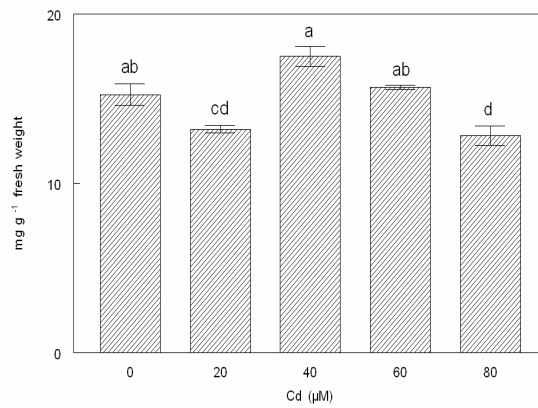
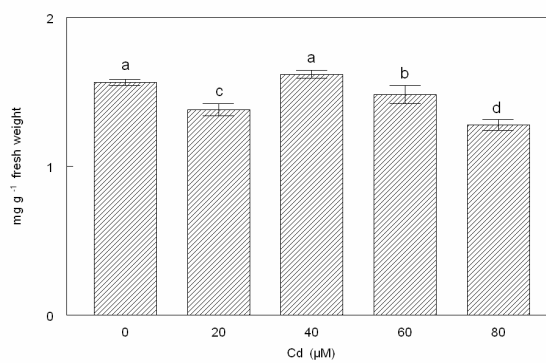
**A****B****C**

Figure 5. ALA-D activity (A), chlorophyll content (B) and carotenoids content (C) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.

## 4. Discussion

### 4.1. Cadmium content and plant tolerance

Cadmium occurs naturally at a low concentration in the soil, but its level has been steadily increasing due to mining and smelting, emission by traffic and metalworking industries, dispersal of sewage sludge, and the use of Cd-rich phosphate fertilizers (Nriagu and Pacyna, 1988). The concentration of Cd utilized in our experiment are within those often observed in highly polluted soils (20  $\mu\text{M}$ ), but also including the ones usually employed in cadmium accumulation studies (up to 80  $\mu\text{M}$ ). It is well-known fact that roots provide the main organ for heavy metal uptake. Our data (Figure 1) demonstrate that higher metal exposures yielded a great increase in both roots and shoot tissues accumulations, hence a higher degree of toxicity, which is in agreement with results reported by other authors (Carneiro et al., 2002; Lima et al., 2006; Mishra et al., 2006). Meanwhile, no significant difference in both shoot and roots Cd contents was found between 20 to 60  $\mu\text{M}$  Cd treatments. This data indicate that, up to a certain level of metal toxicity, roots of *P. glomerata* have some mechanism to avoid excess of Cd uptake. Cadmium confinement in the root tissues may be due to an efficient binding and sequestration to the vacuoles by glutathione and phytochelatins, or by immobilization of Cd by cell wall and extracellular carbohydrates (Lima et al., 2006; Mishra et al., 2006).

Despite that both roots and shoot lengths were not affected by Cd levels, Figure 2D shows that root length/shoot length ratio increased upon addition of all Cd levels, which is not consistent with the results of Guo and Marschner (1995), who reported that usually the inhibition of root elongation of different plant species is the most sensitive parameter of Cd toxicity. In addition, our results also indicate that root elongation was much less affected than the decrease in biomass, which is not consistent with the earlier results of Lima et al. (2006) for *Pisum sativum* and of Meuwly and Rauser (1992) for *Zea mays*. According to Meuwly and Rauser (1992), since most of the root elongation is located in the first 10 mm of the root apex, the contribution of the biomass to this portion is probably too small to allow the detection of any toxic symptoms during the first days, but length inhibitions are enough to be detected.

Therefore, since root biomass of *P. glomerata* was significantly reduced upon addition of Cd levels exceeding 40  $\mu\text{M}$ , this result suggest that this species has some degree of Cd tolerance. Meanwhile, the increase in both roots and shoot biomass (Figure 3) at lower Cd levels (20 and 40  $\mu\text{M}$ ) might be by the hormetic effect. Growth hormesis represents an overcompensation due to a disruption in homeostasis that has been described in relation to different factors, such as several organic and inorganic chemicals, aluminum, and the amelioration of a latent deficiency of an essential element or stimulation of defense reaction leading to a general activation of metabolism (Barceló and Poschenrieder, 2002; Calabrese and Brain, 2005).

Taking into account that the total dry biomass of *P. glomerata* was only significantly reduced at 80  $\mu\text{M}$  Cd level and such concentration is within those observed in highly polluted soils, our results indicate that *P. glomerata* seems to have some degree of Cd tolerance, as it was found for an undetermined species belonging to the genus *Pfaffia*, reported by Carneiro et al. (2002).

#### 4.2. Nutrients content in different degrees of cadmium stress

Mineral nutrients have specific and essential functions in plant metabolism. Depending on how great the growth requirement for a given nutrient, the nutrient is referred to as either a macronutrient or a micronutrient (Marschner, 1995). It is well known that many toxic effects of Cd action result from interaction with micronutrients, in particular those with the same valence as Cd, such as Zn, Mn, Fe and Cu. Cadmium may interfere with nutrient uptake by affecting the permeability of plasma membranes. However, data available on relationship between Cd and these micronutrients provided quite contradicting results. To contribute to a better understanding of the toxicology of Cd, the present study investigated the effect of this metal on the content of micronutrients (Zn, Mn, Fe, and Cu) of *P. glomerata* plants. Our results showed that Zn and Cu contents in both shoot and roots did not alter upon addition of all Cd treatments. Both synergistic and antagonistic effects of Cd on Zn and Cu were found in others earlier studies (Jiang et al., 2004; Dong et al., 2006). Our data indicate that Mn uptake was affected by the

Cd stress but not the translocation of Mn within *P. glomerata* plants. An inhibition in Mn uptake and transport by Cd has been reported by Dong et al. (2006) for *Lycopersicon esculentum*. By contrast, an increase in Mn uptake and translocation to the shoots was observed in *Lactuca sp.* exposed to Cd stress and there was a higher Mn accumulation in chloroplasts when Cd was present in the growth medium (Ramos et al., 2002). Some researches showed that there was an antagonistic relationship between Cd and Fe (Chang et al., 2003; Sharma et al., 2004). Arabidopsis plants that overexpressed *IRT1* gene, a major transporter responsible for high-affinity iron uptake from the soil, accumulated higher levels of Cd and Zn than the wild type, indicating that *IRT1* is responsible for the uptake of these metals (Connolly et al., 2002). By contrast, in the present study, it was observed a synergistic effect of Cd on Fe content in shoot at the 20 and 80  $\mu\text{M}$  Cd levels. Liu et al. (2003) reported that there was correlation between Cd and Zn, Fe and Cu in the uptake and accumulation in rice plants, indicating that some synergistic interaction existed in uptake and translocation between these cations, while the results were conflicting between roots and leaves for Mn. Some of these conflicting results found with our work in relation with others might be presumably due to the differences in the culture methods, species, as well as growth conditions including Cd and micronutrient levels in medium, growth period, temperature and light.

#### 4.3. Metabolic enzymes and content of chlorophyll and carotenoid in different degrees of Cd stress

Acid phosphatases (AP) are a group of enzymes widely distributed in nature, which nonspecifically catalyze the hydrolysis of a variety of phosphate esters in pH ranges from 4 to 6 and play a major role in the supply and metabolism of phosphate in plants (Tabaldi et al., 2007). Our results showed that under Cd stress, AP activity in both shoot and roots of *P. glomerata* reduced significantly in a quite similar fashion with Cd treatments. Moreover, AP showed the same level of activity in the 20-80  $\mu\text{M}$  range. The ability of a naturally occurring *Citrobacter sp.* to accumulate Cd has been attributed to cellular precipitation of  $\text{CdHPO}_4$ , utilizing  $\text{HPO}_4^{2-}$  liberated via the activity of an overproduced, Cd-resistant acid-type phosphatase (Montgomery et al., 1995). Interestingly, Speir et al. (1999) found that

soil phosphatases were inhibited by Cd. Conversely, Tabaldi et al. (2007) found that Cd, Mn and Na did not significantly alter the acid phosphatase activity in *Cucumis sativus*. Phosphatases are generally metalloenzymes depending on Ca or Mg. A possible mechanism explaining Cd-toxicity in high concentrations can be the replacement of Ca and Mg by Cd in the active site of enzyme, or the Cd can be interfering with the  $\text{PO}_4^{3-}$  binding sites. Other metals as Hg and Zn also inhibited AP activity of cucumber, possibly through this mechanism (Tabaldi et al., 2007). Therefore, inhibition of AP activity in *P. glomerata* caused by Cd stress may impair phosphate mobilization, since this enzyme is involved in metabolism, an essential element for plant growth and development (Duff et al., 1994; Marschner, 1995).

In the present study, there was a significant reduction of ALA-D activity at all Cd levels (Figure 5A), but the maximum of 67% and 89% depletion was founded at 20 and 80  $\mu\text{M}$  Cd, respectively. ALA-D is a key enzyme in the synthesis of porphobilinogen. The synthesis of porphobilinogen promotes the formation of porphyrins, hemes and chlorophylls, which are essential for adequate aerobic metabolism and for photosynthesis (Warren et al., 1998; Jaffe et al., 2000). Furthermore, altered ALA-D activity concomitant with reduced chlorophyll contents has been reported in many terrestrial plants exposed to various metals (Stobart et al., 1985; Pereira et al., 2006). Our data also showed that total chlorophylls content reduced significantly at the 20 and 80  $\mu\text{M}$  Cd levels (Figure 5B), at which it was observed greater reduction in ALA-D activity. In addition, carotenoids content in shoot of *P. glomerata* was significantly reduced upon addition of 20, 60 and 80  $\mu\text{M}$  Cd (Figure 5C). Interestingly, there was a significantly positive correlation ( $r= 0.73$ ) between the contents of carotenoids and chlorophylls. The level of chlorophyll and total carotenoids was postulated as a simple and reliable indicator of heavy metal toxicity for higher plants (Gratão et al., 2005). Carotenoids play a significant role in photoprotection of chlorophyll and chloroplast against photooxidative damage, quenching tissue damaging ROS such as singlet oxygen (Behera et al., 2002). Similar to our results, other authors have demonstrated a decrease in carotenoids content in Cd-treated plants, suggesting that occurred an overproduction of ROS (Mishra et al., 2006).

Taking into account that the activity of ALA-D was more affected than that of AP, we suggest that ALA-D is probably a good target-specific biomarker currently available to verify Cd toxicity in *P. glomerata* genotypes. In addition, ALA-D inhibition could have led to an ALA accumulation that in cell might endogenously contribute to enhance level of ROS (Noriega et al., 2006). Therefore, in future studies it will be necessary to analyze the effects of Cd on ROS formation and on both enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems. These defense systems can remove, neutralize or scavenge oxy-radicals and their intermediates (Foyer and Noctor, 2003; Gratão et al., 2005).

### **Acknowledgements**

The authors wish to thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) for the research fellowships.

### **References**

- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant. Physiol.* 24,1-15.
- Barbosa, N.V.B., Rocha, J.B.T., Zeni, G., Emanuelli, T., Beque, M.C., Braga, A.L., 1998. Effect of organic forms of selenium on  $\delta$ -aminolevulinatase from liver, kidney and brain of adult rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 149, 243–253.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., 2002. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. *Environ. Exp. Bot.* 48, 75-92.
- Behera, R.K., Mishra, P.C., Choudhury, N.K., 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *J. Plant Physiol.* 159, 967-973.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein



- utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
- Boussama, N., Quariti, O., Ghorbal, M.H., 1999. Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedlings under cadmium stress. *J. Plant Nutr.* 22, 731-752.
- Calabrese, E.J., Blain, R., 2005. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicol. Appl. Pharmacol. Rev.* 202, 289-301.
- Carneiro, M.A.C., Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., 2002. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. *Pesq. Agropec. Bras.* 37, 1629-1638.
- Chang, Y.C., Zouari, M., Gogorcena, Y., Lucena, J.J., Abadía, J., 2003. Effects of cadmium and lead on ferric chelate reductase activities in sugar beet roots. *Plant Physiol. Biochem.* 41, 999-1005.
- Connolly, E.L., Fett, J.P., Guerinot, M.L., 2002. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *Plant Cell* 14, 1347-1357.
- De-Kundu, P., Banerjee, A., 1990. Multiple forms of acid phosphatase from seedling axes of *Vigna radiata*. *Phytochemistry* 29, 2825-2828.
- Dong, J., Wu, F., Zhang, G., 2006. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere* 64, 1659-1666.
- Duff, S.M.G., Sarath, G., Plaxton, W.C., 1994. The role of acid phosphatase in plant phosphorus metabolism. *Physiol. Plant.* 90, 791-800.
- Fodor, E., Szabó-Nagy, A., Erdei, L., 1995. The effects of cadmium on the fluidity and H<sup>+</sup>-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. *J. Plant Physiol.* 147, 87-92.
- Foyer, C.H., Noctor, G., 2003. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119, 355-364.
- Gallego, S.M.; Benavides, M.P., Tomaro, M.L., 1996. Oxidative damage caused by cadmium chloride in sunflower (*Helianthus annuus*, L.) plants. *Phyton – Intern. J. Exp. Bot.* 58, 41-52.

- Gratão, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32, 481-494.
- Guo, Y.T., Marschner, H., 1995. Uptake, distribution, and binding of cadmium and nickel in different plant species. *J. Plant Nutr.* 18, 2691-2706.
- Hadjiliadis, N.D., 1997. Cytotoxic, mutagenic and carcinogenic potential of heavy metals related to human environment. Kluwer Academic, pp. 123-138.
- Hiscox, J.D., Israelstam, G.F., 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* 57, 1132-1334.
- Jackson, A.P., Alloway, B.J., 1990. The bioavailability of Cd to lettuces and cabbages from soil previously amended with sewage sludge. *Environ. Lett.* 37, 238-254.
- Jaffe, E.K., Kervinen, J., Dunbrack Jr., Litwin, S., Martins, J., Scarrow, R.C., Volin, M., Yeung, A.T., Yonn, E., 2000. Porphobilinogen synthase from pea: expression from an artificial gene, kinetic characterization, and novel implications for subunit interactions. *Biochemistry* 39, 9018–9029.
- Jiang, X.J., Luo, Y.M., Liu, Q., Liu, S.L., Zhao, Q.G., 2004. Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian Mustard. *Environ. Geochem. Health* 26, 319-2004.
- Kumar, R.G., Dubey, R.S., 1999. Glutamine synthetase isoforms from rice seedlings: Effects of stress on enzyme activity and the protective roles of osmolytes. *J. Plant Physiol.* 155, 118-121.
- Lima, A.I.G., Pereira, S.I.A., Figueira, E.M.A.P., Caldeira, G.C.N., Caldeira, H.D.Q.M., 2006. Cadmium detoxification in roots of *Pisum sativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. *Environ. Exp. Bot.* 55, 149-162.
- Liu, J., Li, K., Xu, J., Liang, J., Lu, X., Yang, J., Zhu, Q., 2003. Interaction of Cd and five mineral nutrients for uptake and accumulation in different rice cultivars and genotypes. *Field Crops Res.* 83, 271-281.
- Marschner, H., 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, Amsterdam, p.889.
- Meuwly, P., Rauser, W.E., 1992. Alteration of thiol pools in roots and shoots of maize seedlings exposed

- to cadmium: adaptation and developing cost. *Plant Physiol.* 99, 8-15.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Govindarajan, R., Kuriakose, S.V., Prasad, M.N.V., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.* 44, 25-37.
- Montanari, I.Jr., Magalhães, P.M., Queiroga, C.L., 1999. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdysone in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. *Acta Hort.* 502, 125-128.
- Montgomery, D.M., Dean, A.C., Wiffen, P., Macaskie, L.E., 1995. Phosphatase production and activity in *Citrobacter freundii* and a naturally occurring, heavy-metal-accumulating *Citrobacter* sp. *Microbiology* 141, 2433-2441.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Nicoloso, F.T., Erig, A.C., Martins, C.F., Russowski, D., 2001. Micropropagação do ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. *Rev. Bras. Pl. Med.* 3, 11-18.
- Noriega, G.O., Balestrasse, K.B., Batlle, A., Tomaro, M.A., 2007. Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of  $\delta$ -aminolevulinic acid. *Biometals* 20, 841-851.
- Nriagu, J.O., Pacyna, J.M., 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils with trace metals. *Nature* 333, 134-139.
- Pauza, N.L., Pérez Cotti, M.J., Godar, L., Ferramola De Sancovich, A.M., Sancovich, H.A., 2005. Disturbances on delta aminolevulinate dehydratase (ALA-D) enzyme activity by  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Na^+$  and  $Li^+$ : analysis based on coordination geometry and acid-base Lewis capacity. *J. Inorg. Bioch.* 99, 409-414.
- Penheiter, A.R., Duff, S.M.G., Sarath, G., 1997. Soybean root nodule acid phosphatase. *Plant Physiol.* 114, 597-604.
- Peraza, M.A., Fierro, F.A., Barber, D.S., Casarez, E., Rael, L.T., 1998. Effects of micronutrients on metal

- toxicity. *Environ. Health Perspect.* 106, 203-216.
- Pereira, L.B., Tabaldi, L.A., Gonçalves, J.F., Jucoski, G.O., Pauletto, M.M., Weis, S.N., Nicoloso, F.T., Borher, D., Rocha, J.B.T., Schetinger, M.R.C., 2006. Effect of aluminum on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) and the development of cucumber (*Cucumis sativus*). *Environ. Exp. Bot.* 57, 106-115.
- Quariti, O., Gouia, H., Ghorbal, M.H. 1997. Responses of bean and tomato plants to cadmium: growth, mineral nutrition, and nitrate reduction. *Plant Physiol. Biochem.* 35, 347–354.
- Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J.J., Gárate, A., 2002. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction. *Plant Sci.* 162, 761-767.
- Rauser, W.E., 2000. The role of thiols in plants under metal stress. In: Brunold, C., Rennenberg, H., DeKok, L.J., Stulen, L.J., Davidian, J.C. (eds). *Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants*. Paul Haupt, Bern, Switzerland. pp. 169-183.
- Rocha, J.B.T., Pereira, M.E., Emanuelli, T., Christofari, R.S., Souza, D., 1995. Effects of methylmercury exposure during the second stage of rapid postnatal brain growth on delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activity in brain, liver, kidney and blood of suckling rats. *Toxicology* 100, 27–37.
- Sassa, S., 1982.  $\delta$ -Aminolevulinic acid dehydratase assay. *Enzyme* 28, 133-145.
- Schützendübel, A., Nikolova, P., Rudolf, C., Polle, A. 2002. Cadmium- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in *Populus canescens* roots. *Plant Physiol. Biochem.* 40, 577–584.
- Sharma, S.S., Kaul, S., Metwally A., Goyal K., Finkemeier, I., Dietz, K.J., 2004. Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status. *Plant Sci.* 166, 1287-1295.
- Skrebsky, E.C., Nicoloso, F.T., Maldaner, J., 2006. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida in vitro sob diferentes doses de sacarose. *C. Rural* 36, 1416-1423.
- Speir, T.W., Kettles, H.A., Percival, H.J., Parshotam, A., 1999. Is soil acidification the cause of biochemical responses when soils are amended with heavy metals salts? *Soil Biol. Biochem.* 31,

1953-1961.

- Stobart, A.K., Griffiths, W.T., Bukhari, I.A., Sherwood, R.P., 1985. The effect of aluminum on the biosynthesis of chlorophyll on leaves of barley. *Plant Physiol.* 63, 223–228.
- Tabaldi, L.A., Ruppenthal, R., Cargnelutti, D., Morsh, V.M., Pereira, L.B., Schetinger, M.R.C., 2007. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Environ.Exp. Bot.* 59, 43-48.
- Taniguchi, S.F., Bersani-Amado, C.A., Sudo, L.S., Assef, S.M.C., Oga, S., 1997. Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. *Phytother. Res.* 11, 568-571.
- Trivedi, S., Erdei, L., 1992. Effects of cadmium and lead on the accumulation of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{K}^{+}$  and on the influx and translocation of  $\text{K}^{+}$  in wheat of low and high  $\text{K}^{+}$  status. *Physiol. Plant.* 84:94-100.
- Tennant, D., 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* 63, 995-1001.
- Verma, S., Dubey, R.S., 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biol. Plant.* 44, 117-123.
- Vicent, J.B., Crowder, M.W., Averill, B.A., 1992. Hydrolysis of phosphate monoesters: a biological problem with multiple chemical solutions. *Trends Biochem. Sci.* 17, 105–110.
- Warren, M.J., Cooper, J.B., Wood, S.P., Shalagin, P.M.J., 1998. Lead poisoning, heme synthesis and 5-aminolevulinic acid dehydratase. *TIBS* 23, 217–221.

## **Capítulo 2, Experimento 4, Artículo n°2**

Cadmium detoxification in *Pfaffia glomerata* plants: relationship between toxicity levels, catalase, ascorbate peroxidase, ascorbic acid, and non-protein thiol alterations

**Cadmium detoxification in *Pfaffia glomerata* plants: relationship between toxicity levels, catalase, ascorbate peroxidase, ascorbic acid, and non-protein thiol alterations**

Etiane Caldeira Skrebsky<sup>1,3</sup>, Fernando Teixeira Nicoloso<sup>1,3</sup>, Denise Cargnelutti<sup>2,4</sup>, Luciane Almeri Tabaldi<sup>1,3</sup>, Jamile Fabbrin Gonçalves<sup>1,3</sup>, Gabriel Y Castro<sup>1</sup>, Renata Rauber<sup>1</sup>, Joseila Maldaner<sup>1,3</sup> e Maria Rosa Chitolina Shetinger<sup>2,5</sup>

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA<sup>1</sup>, QUÍMICA<sup>2</sup>, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA<sup>3</sup> E BIOQUÍMICA TOXICOLOGICA<sup>4</sup>, CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, 97105-900, SANTA MARIA, RS, BRASIL**

**Abstract**

*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plantlets were grown during an extended 7-day period in five cadmium (Cd) concentrations (0, 20, 40, 60 and 80  $\mu\text{M}$ ) in a hydroponic system to analyze the growth, lipid peroxidation, hydrogen peroxide content, catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) activities, and non-protein thiol (NPSH) and ascorbic acid (AsA) contents in the plants. Root lipid peroxidation increased with increasing Cd levels, whereas in shoot it was only increased at the level of 80  $\mu\text{M}$ . Shoot dry weight was only reduced at 80  $\mu\text{M}$  Cd level and root dry weight decreased upon addition of 60 and 80  $\mu\text{M}$  Cd. Shoot CAT activity decreased at all Cd treatments. Conversely, root CAT activity increased with increasing Cd levels. CAT activity and  $\text{H}_2\text{O}_2$  contents both in shoot and roots showed an inverse trend with increasing Cd levels. Shoot APX activity increased upon addition of Cd levels exceeding 40 $\mu\text{M}$ . The highest enhancement of APX occurred when CAT reached the lowest activity at the higher levels of Cd. Root AsA content was reduced 20% at the 80  $\mu\text{M}$  Cd level, compared to control. On the other hand, shoot AsA content increased at all Cd levels. NPSH content in both roots and shoot

increased at all Cd levels. The antioxidative enzymes (CAT and APX) and the non-enzymatic antioxidants (AsA and NPSH) seem to play a key role in the detoxification of Cd-induced effects in *P. glomerata*.

*Keywords:* Brazilian ginseng; heavy metal; antioxidant enzymes; oxidative stress; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenger; non-protein antioxidants

## 1. Introduction

Cadmium (Cd) is one of the most important metals in terms of food-chain contamination, because it is readily taken up by roots of different plant species (Li et al., 1995). Cadmium has been shown to cause many morphological, physiological, biochemical and structural changes in plants, such as inhibition of growth, especially root growth, disturbances in mineral nutrition and carbohydrate metabolism, water imbalance, and may therefore strongly reduce biomass production (Moya et al., 1993; Rascio et al., 1993; Carneiro et al., 2002; Gratão et al., 2005; Mishra et al., 2006; Tiryakioglu et al., 2006).

Although Cd does not directly generate reactive oxygen species (ROS), such as the superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>), it generates oxidative stress by interfering with the antioxidant defense system (Milone et al., 2003). Noriega et al. (2007) suggested that accumulation of δ-aminolevulinic acid in nodules, roots and leaves of soybean plants due to treatment with Cd is highly responsible for oxidative stress generation in these tissues. Reactive oxygen species directly damage all biomolecules, especially proteins, due to the higher rate constants of the reaction of the superoxide anion with amino acid side chains (Davies, 2003). Also, one of the most damaging effects of oxygen cytotoxic species and their products in cells is the peroxidation of membrane lipids and ions leakage (Gratão et al., 2005; Mishra et al., 2006).

The ability of plants to cope up with oxidative stress depends on balance between antioxidative system and oxidative stress caused by metals (Gratão et al., 2005; Mishra et al., 2006). The antioxidative system is composed by enzymes like superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase as well as



low molecular weight antioxidants like ascorbic acid, glutathione and carotenoids that scavenge different types of ROS.

In a recent study, Carneiro et al. (2002) showed that an undetermined species of the genus *Pfaffia* exhibited high tolerance to soil contamination, growing quite abundantly in soil mix with 90 and 1,450 mg kg<sup>-1</sup> of Cd and Zn, respectively. Moreover, this species showed Cd content higher than 100 mg kg<sup>-1</sup>, being considered a Cd hiperaccumulator, and possibly contributing to phytoremediation of contaminated sites with heavy metals. In a previous study with *Pfaffia glomerata* plantlets grown during an extended 7-day period of exposure to different Cd levels in nutrient solution, we showed that the total length of root system was not affected in the 20-80 µM range of Cd. By contrast, the dry weight of both shoot and roots increased significantly upon addition of 20 and 40 µM Cd, and shoot and total dry weight reduced only at the 80 µM Cd level in relation to control. Taking into account that the increase in plant biomass was observed in the Cd range which is considered within those reported in highly polluted soils, these data indicate that *P. glomerata* seems to have some degree of Cd tolerance. Therefore, one experiment was set to evaluate the changes in Cd-induced oxidant stress and antioxidant system in order to test the hypothesis that the antioxidant system may be a sensitive target of Cd toxicity in *P. glomerata*.

## **2. Material and methods**

### *2.1. Plant material and growth conditions*

Tissue culture plantlets were obtained from the Ginseng Germoplasm Program, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil. Explants of 1.0 cm nodal segments were micropropagated in Murashige and Skoog (1962) medium, supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> of sucrose, 0.1 g L<sup>-1</sup> of myo-inositol and 6 g L<sup>-1</sup> of agar, according the protocol established by Nicoloso et al. (2001).

Twenty five-day-old plantlets from *in vitro* culture and after three days of acclimatization, following the protocol established by Skrebsky et al. (2006), were transferred into plastic boxes (10 L) filled with aerated full nutrient solution of low ionic strength. The nutrient solution had the following

composition ( $\text{mg L}^{-1}$ ): 85.31 of N; 7.54 of P; 11.54 of S; 97.64 of Ca; 23.68 of Mg; 104.75 of K; 176.76 of Cl; 0.27 of B; 0.05 of Mo; 0.01 of Ni; 0.13 of Zn; 0.03 of Cu; 0.11 of Mn and 2.68 of Fe. The solution pH was adjusted daily to  $5.8 \pm 0.1$  by titration with HCl or NaOH solutions (0.1 M). At the 14<sup>th</sup> day after transplanting, cadmium as  $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  was added to each container to form five concentrations: 0 (control), 20, 40, 60 or 80  $\mu\text{M}$ . The nutrient solution in the growth containers was renewed once a week. Both *in vitro* and *ex vitro* cultured plants were grown in a growth chamber at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  during 16/8-h light/dark cycle with  $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of irradiance. Cd-treated plantlets remained in each of the solutions for 7 days. Three replicates with 54 plantlets were made for each treatment.

## 2.2. Determination of hydrogen peroxide

The  $\text{H}_2\text{O}_2$  contents of both roots and shoot were determined according to Loreto and Velikova (2001). Approximately 100 mg of tissue was homogenized at  $4^\circ\text{C}$  in 2 mL of 0.1% (w/v) trichloroacetic acid (TCA). The homogenate was centrifuged at  $12000 \times g$  for 15 min and 0.5 mL of 10 mM potassium phosphate buffer pH 7.0 and 1 mL of 1M KI. The  $\text{H}_2\text{O}_2$  content of the supernatant was evaluated by comparing its absorbance at 390 nm with a standard calibration curve. The  $\text{H}_2\text{O}_2$  content was expressed as  $\mu\text{mol g}^{-1}$  fresh weight.

## 2.3. Estimation of lipid peroxides

The level of lipid peroxidation products was estimated following the method of El-Moshaty et al. (1993) by measuring the concentration of malondialdehyde (MDA) as an end product of lipid peroxidation by reaction with thiobarbituric acid (TBA). Fresh whole plant samples (0.1g fresh weight) were ground in 20 mL of 0.2 M citrate-phosphate buffer (pH 6.5) containing 0.5% Triton X-100, using mortar and pestle. The homogenate was filtered through two layers of paper and centrifuged for 15 min at  $20000 \times g$ . One milliliter of the supernatant fraction was added to an equal volume of 20% (w/v) TCA containing 0.5% (w/v) TBA. The mixture was heated at  $95^\circ\text{C}$  for 40 min and then quickly cooled in an

ice bath for 15 min. After centrifugation at 10000 x g for 15 min, the absorbance of the supernatant was measured at 532 nm. A correction for non-specific turbidity was made by subtracting the absorbance value taken at 600 nm. The lipid peroxides were expressed as nmol MDA mg<sup>-1</sup> protein.

#### 2.4. *Catalase (CAT) assay*

The activity of CAT was assayed according to the method of Aebi (1984) with some modifications. Fresh samples (1g) were homogenized in 5 mL of 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 7.0), 10 g L<sup>-1</sup> polyvinylpyrrolidone (PVP), 0.2 mM ethylenediamine tetracetic acid (EDTA) and 10 mL L<sup>-1</sup> Triton X-100. The homogenate was centrifuged at 12000 x g for 20 min at 4°C and then, the supernatant was used for the enzyme assay. Activity of catalase was determined by monitoring the disappearance of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by measuring the decrease in absorbance at 240 nm from a reaction mixture containing 2 mL (15 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in KPO<sub>4</sub> buffer, pH 7.0) and 30 µL extract. Activity was expressed as ΔE min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein.

#### 2.5. *Ascorbate peroxidase (APX) assay*

Ascorbate peroxidase was measured according to Zhu et al. (2004). The reaction mixture, at total volume of 2 mL, contained 25 mM (pH 7.0) sodium phosphate buffer, 0.1 mM ethylenediamine tetracetic acid (EDTA), 0.25 mM ascorbate, 1.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 100 µL enzyme extract. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dependent oxidation of ascorbate was followed by a decrease in the absorbance at 290 nm ( $E = 2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) and activity was expressed as µM ascorbate oxidated min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein.

#### 2.6. *Ascorbic acid (AsA) content*

Ascorbic acid determination was performed as described by Jacques-Silva et al. (2001). Briefly, plants were homogenized in a solution containing 50 mM Tris-HCl and 10 ml L<sup>-1</sup> Triton X-100 (pH 7.5), centrifuged at 6800 x g for 10 min, and AsA content was determined in the fraction obtained after mixing 1 volume of supernatant with 1 volume of 10% trichloroacetic acid (TCA) followed by centrifugation (6800

x g for 10 min) to remove protein. An aliquot of the sample (300  $\mu\text{L}$ ) was incubated at 37°C in a medium containing 100  $\mu\text{L}$  TCA 13.3%, 100  $\mu\text{L}$  deionized water and 75  $\mu\text{L}$  dinitrophenylhydrazine (DNPH). The DNPH solution contained 2% DNPH, 0.23% thiourea, 0.27%  $\text{CuSO}_4$  diluted in 49 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . After 3 h, 500  $\mu\text{L}$  of 65%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  was added and samples were read at 520 nm and were expressed as  $\mu\text{g AsA g}^{-1}$  fresh weight. A standard curve was constructed using ascorbic acid.

### *2.7. Non-protein thiol (NPSH) content*

Non-protein thiols content in the plant tissues was measured spectrophotometrically with Ellman's reagent (Ellman, 1959). Reaction was read at 412 nm after the addition of 10 mM 5-5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) (0.05 mL). Tissue samples were homogenized in a solution containing 50 mM Tris-HCl and 10 mL  $\text{L}^{-1}$  Triton X-100 (pH 7.5), centrifuged at 6800 x g for 10 min, and NPSH were determined in the fraction obtained after mixing 1 volume of supernatant with 1 volume of 10% trichloroacetic acid (TCA) followed by centrifugation (6800 x g for 10 min) and neutralization (to pH 7.4) with 1 M Tris-HCl as described by Jacques-Silva et al. (2001). A standard curve using cysteine was used to calculate the content of thiol groups in samples, and was expressed as  $\mu\text{mol SH g}^{-1}$  fresh weight.

### *2.8. Protein extraction*

In all the enzyme preparations, protein was determined by the method of Bradford (1976) using bovine serum albumin as standard and was expressed in  $\text{mg ml}^{-1}$ .

### *2.9. Statistical analysis*

The analyses of variance were computed on statistically significant differences determined based on the appropriate F-tests. The results are the means  $\pm$  SD of at least three independent replicates. Significance was determined at  $p < 0.05$ . The mean differences were compared utilizing Duncan's range test.

### 3. Results

#### 3.1. Characterisation of cadmium tolerance

Dry weight of both shoot and roots (Figure 1A) increased significantly upon addition of 20 and 40  $\mu\text{M}$  Cd. Moreover, shoot dry weight reduced only at the 80  $\mu\text{M}$  Cd level in relation to control. Conversely, root dry weight decreased significantly upon addition of Cd level exceeding 40  $\mu\text{M}$ . Therefore, root dry weight was the most sensible growth parameter to Cd stress.

#### 3.2. Effect of cadmium on $\text{H}_2\text{O}_2$ concentration and on lipid peroxidation

##### 3.2.1. $\text{H}_2\text{O}_2$ content

Figure 1B shows  $\text{H}_2\text{O}_2$  content induced by the different Cd levels. The response of  $\text{H}_2\text{O}_2$  content to Cd stress varied with plant parts. In general,  $\text{H}_2\text{O}_2$  content in shoot increased with Cd levels, but at 40  $\mu\text{M}$  Cd it was similar to control. On the other hand,  $\text{H}_2\text{O}_2$  content in roots decreased with Cd levels.

##### 3.2.2. Lipid peroxidation

The level of lipid peroxidation products, measured as the concentration of malondialdehyde (MDA) as an end product, was increased in roots (Figure 1C) at all Cd levels, but it peaked at 60  $\mu\text{M}$  of Cd. Conversely, shoot lipid peroxidation increased at the 80  $\mu\text{M}$  of Cd (Figure 1C). The level of lipid peroxidation in the presence of Cd was only slightly higher in shoots than in roots.

#### 3.3. Effect of cadmium on ROS-scavenging enzymes

##### 3.3.1. Catalase (CAT) activity

As shown in Figure 2A, shoot CAT activity decreased significantly, in comparison with the control, at every Cd treatments. Concurrently, root CAT activity increased with increasing Cd levels. However, CAT activity at 80  $\mu\text{M}$  was similar to that of control. CAT activity and  $\text{H}_2\text{O}_2$  content both in

shoot and roots showed an inverse trend ( $r = -0.82$ ) with increasing Cd levels (Figure 2B).

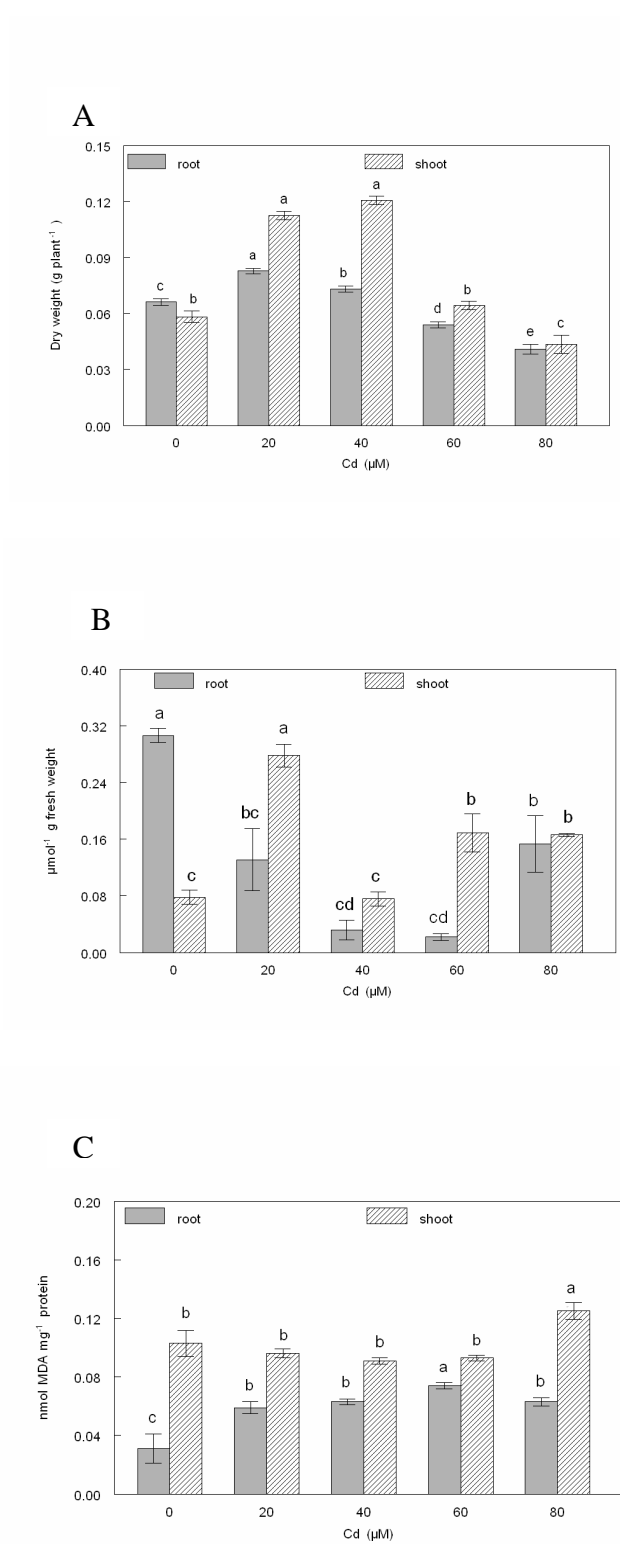


Figure 1. Changes in shoot and root dry weight (A) and contents of hydrogen peroxide (B) and malondialdehyde (C) in the tissues of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.

### 3.3.2. Ascorbate peroxidase (APX) activity

As shown in Figure 2B, shoot APX activity increased significantly upon addition of Cd levels exceeding 40 $\mu$ M. Interestingly, that dramatic increase occurred when the CAT reached the lowest activity at the higher levels of Cd.

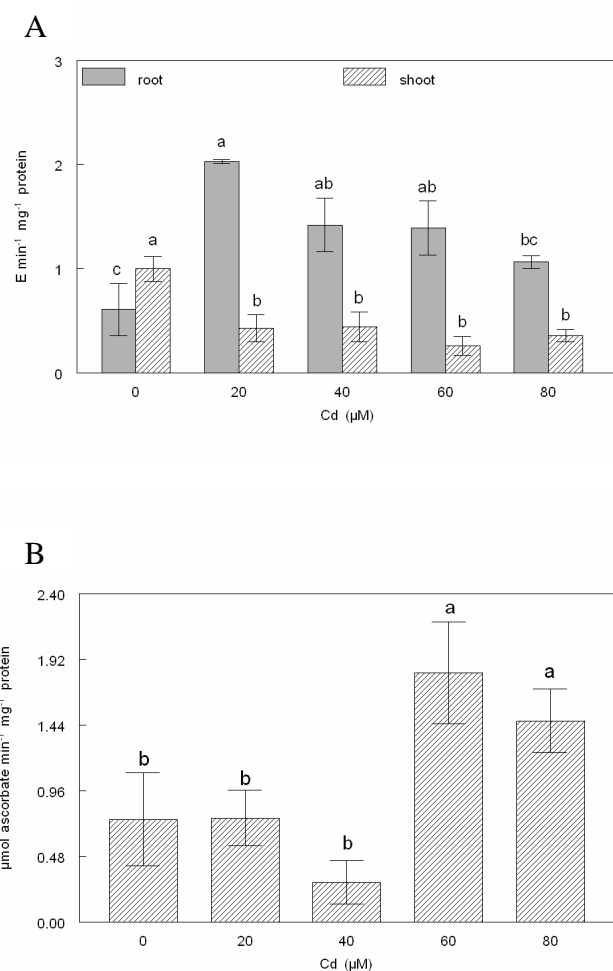


Figure 2. Changes in catalase activity in shoot and roots (A), and ascorbate peroxidase activity in shoot (B) of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference (P<0.05) between means according to Duncan's multiple range test.

### 3.4. Effect of Cd on low molecular weights antioxidants like ascorbic acid and non-protein thiol

#### 3.4.1. Non-protein thiol (NPSH) content

Non-protein thiol content in both roots and shoot increased at all Cd levels (Figure 3A). In addition, NPSH content in shoot was about 3.4-fold higher than in roots.

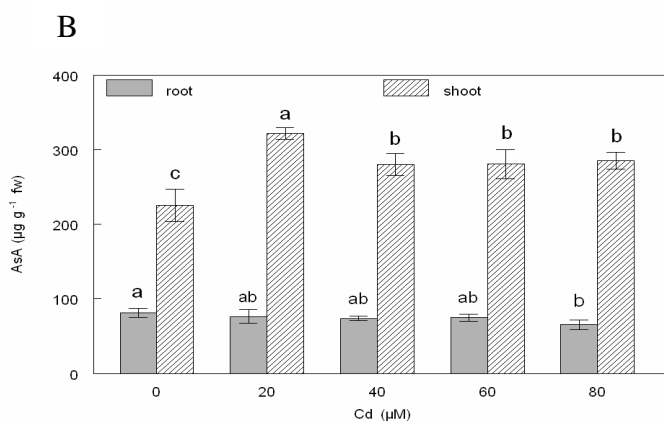
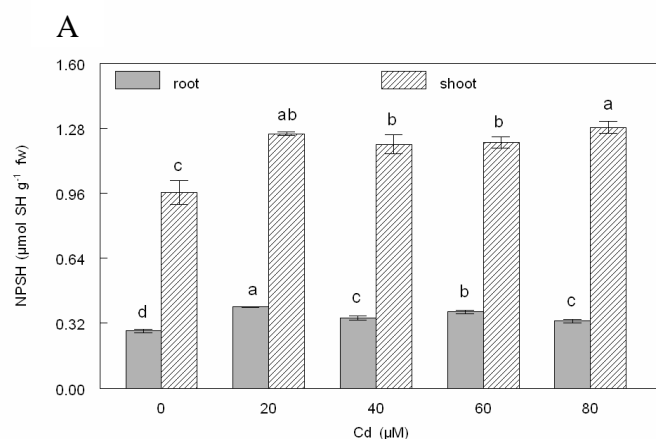


Figure 3. Changes in content of non-protein thiol (A), and ascorbic acid (B) in shoot and roots of *Pfaffia glomerata* plants grown under increasing concentrations of Cd for 7 days. Values are the mean of three replicates. Identical superscripts on bars at each plant tissue have no significant difference ( $P < 0.05$ ) between means according to Duncan's multiple range test.



### 3.4.2. Ascorbic acid (AsA) content

As shown in Figure 3B, root AsA content was slightly, but not significantly, reduced by Cd concentration up to 60  $\mu\text{M}$ , while at the 80  $\mu\text{M}$  Cd level it reduced by 17% compared to control. On the other hand, shoot AsA content was increased at all Cd levels. In addition, AsA content in shoot was about 3.7-fold higher than in roots.

## 4. Discussion

The environmental degradation, promoted mainly by anthropogenic action, has been exercising strong pressure on the quality of the ecosystems (Nriagu and Pacyna, 1988). Soil and water pollution for a wide range of contaminants to the plants and animals has been deeply concerning on researchers. In this sense, the elevated levels of heavy metals such as cadmium (Cd) in the environment are a reality today.

Cadmium occurs naturally at a low concentration in the soil, but its level has been increasing due to mining and smelting, dispersal of sewage sludge and the use of Cd-rich phosphate fertilizers (Williams and David, 1973; Nriagu and Pacyna, 1988). The concentrations of Cd utilized in our experiment (20 to 80  $\mu\text{M}$ ) are within those often observed in highly polluted soils (Wagner, 1993; Sanitá di Toppi and Gabbrielli, 1999). Besides, in a previous work we found a close relationship between Cd supply and Cd content in *P. glomerata* plants. As expected, increasing Cd supply significantly enhanced Cd content in roots and in shoot, and Cd content in roots was in average 12 fold greater than in shoot, which is in agreement with results reported for other species (Carneiro et al., 2002; An et al., 2004; Mishra et al., 2006). Such metal confinement in the root tissues may be due to immobilization of Cd by cell wall (Vecchia et al., 2005) and extracellular carbohydrates (Wagner, 1993), or by an efficient binding and sequestration to vacuoles by glutathione and phytochelatins (Noctor et al., 1998; Lima et al., 2006). Therefore, Cd accumulation in the root system can indicate that roots serve as a partial barrier to Cd transport to the shoots.

The increase in both roots and shoot biomass (Figure 1A) at lower Cd levels (20 and 40  $\mu\text{M}$ )

might be by the hormetic effect. Growth hormesis represents overcompensation due to a disruption in homeostasis that has been described in relation to different factors (Calabrese and Brain, 2005). On the other hand, as shoot dry biomass was only significantly reduced at 80  $\mu\text{M}$  Cd level and root dry weight decreased upon addition of 60 and 80  $\mu\text{M}$  Cd levels, and such concentrations are within those observed in highly polluted soils, it is tempting to suggest that *P. glomerata* seems to have some degree of Cd tolerance.

In the present study, *P. glomerata* plants exposed to 20-80  $\mu\text{M}$  Cd range showed a significant increase in malondialdehyde (MDA) level in roots, but such enhancement was almost at the same level within such Cd range, except at 60  $\mu\text{M}$  which showed higher MDA level (Figure 1C). A variety of abiotic stresses including heavy metals may cause molecular damage to plant cells either directly or indirectly through the production of reactive oxygen species (ROS) (Piqueras et al., 1999; Schützendübel et al., 2001). Enhancement of  $\text{O}_2^-$  can produce the hydroperoxyl radical ( $^{\bullet}\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), which in turn converts fatty acids to toxic lipid peroxides, destroying biological membranes (Hegedüs et al., 2001). Measurement of MDA level is routinely used as an index of lipid peroxidation under stressful conditions (Dong et al., 2006; Mishra et al., 2006). Increased MDA levels of roots from 20  $\mu\text{M}$  of Cd (Figure 1C), accordingly, suggest that Cd levels stimulate lipid peroxidation, and it might result in irreversible damage to root tissue development and function. By contrast, MDA level in shoot was only significantly increased at the highest Cd level tested (80  $\mu\text{M}$ ). Such behavior fits well with the data of biomass, which showed that shoot dry weight was only significantly reduced at 80  $\mu\text{M}$  Cd level and root dry weight decreased upon addition of 60 and 80  $\mu\text{M}$  Cd levels.

Catalase (CAT) is one of the key enzymes involved in the removal of toxic peroxide, and it decomposes  $\text{H}_2\text{O}_2$  to water and molecular oxygen (Willekens et al., 1997; Lin and Kao, 2000). In the present study, CAT activity (Figure 2A) in roots increased at all Cd levels, except at 80  $\mu\text{M}$  in which it was similar to control. Concurrently,  $\text{H}_2\text{O}_2$  content in roots decreased dramatically with Cd levels (Figure 1B). On the other hand, shoot CAT activity decreased significantly at all Cd treatments, whereas  $\text{H}_2\text{O}_2$

content increased. Therefore, our results clearly indicate that CAT activity and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content both in shoot and roots showed an inverse trend with increasing Cd concentration. Interestingly, when CAT could not remove the toxic level of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the shoot tissue, ascorbate peroxidase (APX) activity increased significantly upon addition of Cd levels exceeding 40 μM.

Furthermore, to understand the contribution of the non-enzymatic antioxidants in the response of *P. glomerata* plantlets to Cd toxicity, we examined the contents of ascorbic acid (AsA) and non-protein thiol groups (NPSH) in the tissues of this species. It has been accepted that AsA is a major primary antioxidant reacting directly with hydroxyl radicals, superoxide, and singlet oxygen (Tiryakioglu et al., 2006). In the present study, AsA content of roots was significantly reduced by 17% at the 80 μM Cd level, when compared to the control (Figure 2B). On the other hand, AsA content of shoot was stimulated at all Cd levels (Figure 2B). In addition, AsA content in shoot was about 3.7-fold higher than in roots. These data clearly indicate that AsA content is more involved in antioxidant response in shoot rather than in roots to Cd toxicity in *P. glomerata*. Moreover, NPSH content in both roots and shoot increased at all Cd levels (Figure 3A). In many plant species, a majority (up to 95%) of NPSH represent reduced glutathione (GSH) (Noctor et al., 1998). Therefore, the increase observed in the *P. glomerata* NPSH content can be ascribed to GSH. Many reports (Rauser, 1995; Lima et al., 2006) have demonstrated that phytochelatins are enzymatically synthesized from GSH, and the accumulation of phytochelatins is an important mechanism of Cd detoxification (Lima et al., 2006). Our results indicate that both AsA and NPSH contents were important to scavenge Cd-induced ROS in *P. glomerata*. Antioxidants such as ascorbic acid and glutathione, which are found at high concentrations in chloroplasts and other cellular compartments, are crucial for plant defense against oxidative stress (Noctor and Foyer, 1998).

Heavy metals are toxic to plants if their accumulation levels exceed the detoxification capacity of the plant tissues. Thus, a potentially decisive factor in determining the outcome of oxidative stress is the speed with which plants can activate their antioxidant reserves (Mittler, 2002; Ranieri et al., 2002). Correlation studies have indicated that this response is an important aspect of stress tolerance (Sinha et

al., 1996). Taking into account that the dry weight of both shoot and roots of *P. glomerata* were significantly increased upon addition of 20 and 40  $\mu\text{M}$  Cd, and such concentrations are within those observed in highly polluted soils, our data suggest that *P. glomerata* seems to have a suitable scavenging system for toleration or even adaptation to high Cd level in the substrate, as it was found to an undetermined species of the genus *Pfaffia* by Carneiro et al. (2002). Furthermore, we showed that the antioxidative enzymes (CAT and APX) and the non-enzymatic antioxidants (AsA and NPSH) appear to play a key role in the detoxification of Cd-induced effects on *P. glomerata*.

### **Acknowledgements**

The authors wish to thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) for financial support.

### **References**

- Aebi, H., 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol. 105, 121-126.
- An, Y-J., Kim, Y-M., Kwon, T-I., Jeong, S-W., 2004. Combined effect of copper, cadmium, and lead upon *Cucumis sativus* growth and bioaccumulation. Sci. Total Environ. 326, 85-93.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.
- Calabrese, E.J., Blain, R., 2005. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. Toxicol. Appl. Pharmacol. Rev. 202, 289-301.
- Carneiro, M.A.C., Siqueira, J.O., Moreira, F.M., 2002. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. Pesq. Agropec. Bras. 37, 1629-1638.
- Davies, M.J., 2003. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. Biochem. Biophys. Res. Commun. 305, 761-770.

- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of Pea (*Pisium sativum* L. cv Azad). J. Exp. Bot. 52, 1101-1109.
- Elmann, G.G., 1959. Tissue sulphhydryl and groups. Arch. Biochem. Biophys. 82,70-77.
- El-Moshaty, F.I.B., Pike, S.M., Novacky, A.J., Sehgal, O.P., 1993. Lipid peroxidation and superoxide productions in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco rings virus or southern bean mosaic virus. Physiol. Mol. Plant Pathol. 43, 109-119.
- Gratão, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Functional Plant Biology 32, 481-494.
- Hedegüs, A., Erdei, S., Horvath, G., 2001. Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. Plant Sci. 160, 1085-1093.
- Jacques-Silva, M.C., Nogueira, C.W., Broch, L.C., Flores, E.M.M., Rocha, J.B.T., 2001. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. Pharmacol. Toxicol. 88, 119–125.
- Li, Y.M., Channey, L.R., Schneiter, A.A., 1995. Genotypic variation in kernel cadmium concentration in sunflower germplasm under varying soil conditions. Crop Sci. 35, 151-155.
- Lima, A.I.G., Pereira, S.I.A.L., Figueira, E.M.A., Caldeira, G.C.N., Caldeira, H.D.Q.M., 2006. Cadmium detoxification in roots of *Pisum sativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. Environ. Exp. Bot. 55, 149-162.
- Lin, C.C., Kao, C.H., 2000. Effect of NaCl stress on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism in rice leaves. Plant Growth Regulat. 30,151-155.
- Loreto, F., Velikova, V., 2001. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. Plant Physiol. 127, 1781-1787.
- Milone, M.T., Sgherri, C., Clijsters, H., Navari-Izzo, F., 2003. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. Environ. Exp. Bot. 50, 265-276.

- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Plant Sci.* 7, 405-410.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Govindarajan, R., Kuriakose, S.V., Prasad, M.N.V., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.* 44, 25-37.
- Montanari, I.Jr., Magalhães, P.M., Queiroga, C.L., 1999. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdysone in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. *Acta Hort.* 502, 125-128.
- Moya, J.L., Ros, R., Picazo, I., 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynth. Res.* 36, 75-80.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Nicoloso, F.T., Erig, A.C., Martins, C.F., Russowski, D., 2001. Micropropagação do Ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. *Rev. Bras. Pl. Med.* 3, 11-18.
- Noctor, G., Arisi, A-C.M., Jouanin, L., Kunet, K-J., Rennenberg, H., Foyer, C.H., 1998. Glutathione biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *J. Exp. Bot.* 49, 623-647.
- Noctor, G., Foyer, C., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 249-279.
- Noriega, G.O., Balestrasse, K.B., Batlle, A., Tomaro, M.L., 2007. Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of  $\delta$ -aminolevulinic acid. *Biometals* 20, 841-851.
- Piqueras, A., Olmos, E., Martinez-Solano, J.R., Hellin, E., 1999. Cd-induced oxidative burst in tobacco BY2 cells: time course, subcellular location and antioxidant response. *Free Radic. Res.* 31, 33-38.
- Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B., Soldatini, G.F., 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. *J. Exp. Bot.* 52, 25-35.
- Rascio, N., Dalla Vecchia, D., Ferretti, M., Merlo, L., Ghisi, R., 1993. Some effects of cadmium on maize

- plants. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 25, 106-115.
- Rauser, W.E., 1995. Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis and function. Plant Physiol. 109, 1141-1149.
- Schützendybel, A., Schwanz, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld-Heysler, R., Godbold, D., Polle, A., 2001. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and differentiation in pine (*Pinus sylvestris*) roots. Plant Physiol. 127, 887-898.
- Sinha, S., Gupta, M., Chandra, P., 1996. Bioaccumulation and biochemical effects of mercury in the plant *Bacopa monnieri* L. Environ. Toxicol. Water Quality 11, 105-112.
- Skrebsky, E.C., Nicoloso, F.T., Maldaner, J., 2006. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida in vitro sob diferentes doses de sacarose. C. Rural 36, 1416-1423.
- Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S., Cakmak, I., 2006. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. J. Trace Elem. Med. Biol. 20, 181-189.
- Vecchia, F.D., Rocca, N.L., Moro, I., De Faveri, S., Andreoli, C., Rascio, N., 2005. Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea canadensis* exposed to cadmium. Plant Sci. 168, 329-3338.
- Wagner, G.J., 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. Adv. Agron. 51, 173-212.
- Williams, C.H., David, D.J., 1973. The effect of superphosphate on the cadmium content of soils and plants. Aust. J. Soil Res. 11, 43-56.
- Willekens, H., Chamnonpgol, S., Davey, M., Shraudner, M., Langebarteis, C., Montagu, M.van, Inzé, D., Camp, W.van, 1997. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defense in C3 plants. EMBO J. 16, 4806-4816.
- Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q., Yu, J., 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Sci. 167, 527-533.

## CONCLUSÕES FINAIS

### Capítulo 1 - Nutrição mineral da *Pfaffia glomerata*

Sob condições de casa de vegetação, plantas jovens de *Pfaffia glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico apresentam grande diminuição no crescimento em biomassa, bem como nos teores de macro e micronutrientes, pela omissão dos nutrientes N, K, S e P na adubação. As omissões de Mg e dos micronutrientes na adubação não limitaram o crescimento inicial das plantas.

Ainda em casa de vegetação, a produção de biomassa pelos diferentes órgãos da planta respondeu distintamente à interação tripla das adubações NPK, onde as doses de máxima eficiência técnica estimada (DMET) às adubações de N, P e K na produção de biomassa total da planta, foram de, respectivamente, 60, 120 e 80mg kg<sup>-1</sup>. Assim, mudas de *P. glomerata* cultivadas em Argissolo Vermelho distrófico arênico, são altamente exigentes em fósforo e moderadamente exigentes em nitrogênio e potássio. A variação da concentração da adubação NPK (40 a 120mg kg<sup>-1</sup> de solo) induziu alterações expressivas nos teores de macro e micronutrientes das folhas. As respostas à adubação NPK sobre o número de folhas por planta e altura de planta variaram com a idade das mudas.

A adubação NPK afetou distintamente a produção de biomassa dos órgãos das plantas de *P. glomerata* com 16 meses de cultivo a campo. O aumento da adubação nitrogenada favoreceu a produção de biomassa radicular. Entretanto, houve tendência da adubação NPK com 100-100-100kg ha<sup>-1</sup> aumentar a biomassa total das plantas, independente da idade das plantas. Os efeitos da adubação NPK nos teores de macro e micronutrientes nos tecidos dependeram do órgão analisado e da idade das plantas. Sugere-se que para uma maior acumulação de nutrientes minerais nos tecidos de *P. glomerata* e uma possível relação com o acúmulo de princípios ativos de interesse medicinal, as plantas só devam ser coletadas após os 6 meses de cultivo a campo.



## Capítulo 2 - Efeito do Cádmio no crescimento e metabolismo da *Pfaffia glomerata*

Plântulas de *Pfaffia glomerata* cultivadas por 7 dias sob sistema hidropônico com cinco níveis de cádmio (0, 20, 40, 60 e 80 $\mu$ m), apresentaram aumento no conteúdo de cádmio (Cd) nas raízes e parte aérea. A resposta do crescimento das plantas ao estresse promovido pelo Cd variou com os parâmetros de crescimento, sendo que a biomassa total foi apenas reduzida significativamente a 80 $\mu$ M de Cd, concentração esta, que se enquadra dentro daquelas observadas em solos altamente poluídos.

A atividade da ALA-D ( $\delta$ -aminolevulinic acid desidratase) e da AP (fosfatase ácida) foram reduzidas com os níveis de Cd. A redução na atividade da ALAD foi acompanhada pelo conteúdo de clorofila. Em adição, houve correlação positiva entre o conteúdo de clorofila e carotenóides.

Antioxidantes enzimáticos, como CAT (catalase) e APX (ascorbato peroxidase), bem como antioxidantes não enzimáticos, como AsA (ácido ascórbico) e NPSH (grupo tióis não protéicos), tiveram um papel chave na detoxificação de efeitos induzidos pelo Cd nas raízes e parte aérea das plântulas de *P. glomerata*.

Estes resultados indicam que a *P. glomerata* parece ter algum grau de tolerância ao cádmio, como já encontrado para outra espécie pertencente ao gênero *Pfaffia*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Em razão do crescente requerimento por plantas medicinais é necessário o desenvolvimento de tecnologias apropriadas para o cultivo dessas espécies. A complementação da adubação dos substratos de cultivo para se obter uma melhor concentração de princípios ativos ou aumento da biomassa é um importante fator a ser levado em consideração. O estudo detalhado sobre a nutrição mineral da *Pfaffia glomerata* apresentado no Capítulo 1 dessa tese traz importantes informações sobre as necessidades nutricionais dessa espécie. Entretanto, dados mais aprofundados são necessários para se fazer recomendações de adubação visando a obtenção dos metabólitos secundários de interesse.

Para uma boa nutrição mineral dessa espécie, devem ser considerados o período inicial de estabelecimento das mudas, em cultivo em campo, já que o desenvolvimento das raízes, visando uma expressiva acumulação dos princípios ativos de interesse medicinal, deve ocorrer na fase adulta da planta.

As caracterizações fitoquímicas, principalmente  $\beta$ -ecdisona (principal substância utilizada como marcadora química em *P. glomerata*) estão sendo realizadas através de uma parceria entre o laboratório de Biotecnologia Vegetal da UFSM e o Laboratório de Fitoquímica da URI (Universidade Regional Integrada) em Frederico Westphalen. Isto permitirá uma primeira aproximação dos teores adequados de nutrientes versus  $\beta$ -ecdisona para essa espécie, fato que possibilitará traçar correlações relevantes entre as condições nutricionais das plantas e a acumulação de substâncias de interesse farmacológico.

Dentre as várias formas de contaminação do meio ambiente resultante das diversas atividades industriais e agrícolas, a contaminação com metais pesados tem sido uma das que tem trazido mais preocupação. Há, portanto, grande interesse em encontrar meios que possibilitem a descontaminação do meio ambiente, como o uso de plantas fitoremediadoras. Os resultados encontrados no estudo sobre o efeito do cádmio no crescimento e metabolismo da *Pfaffia glomerata* (Capítulo 2), apesar de indicarem um possível papel destoxicador desta planta, sugerem a realização de um estudo complementar para verificar se realmente esta planta poderá ser utilizada em programas de fitorremediação. Se este fato for comprovado, deve haver o cuidado de que estas plantas não sejam utilizadas para a fitoterapia, já que a raiz é o principal órgão utilizado na extração dos compostos ativos considerados medicinais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - INTRODUÇÃO GERAL

- ABREU, I. N. et al. Nitrogênio e fósforo na produção vegetal e na indução de mucilagem em plantas de insulina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 536-540, 2002.
- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, v.1, p.299-351, 2000.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley. 339 p. 1993.
- BARROS, N. F. et al. Recomendação de fertilizantes minerais em plantios de eucalipto. In: GONÇALVES, J.L.; de M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, p.269-286, 2000.
- BAKER, A. J. M. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal Plant Nutrition**, v.3, p.643-654, 1981.
- BAKER, A. J. M. Metal tolerance. **New Phytologist**, p.93-111, 1987.
- CARNEIRO, M. A. C. et al. Comportamento de trinta espécies herbáceas em solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.1629-1638, 2002.
- ELTROP, L. et al. Lead tolerance of betula and salix in the mining area of Mechernich/Germany. **Plant and Soil**, v.131, p.279-285, 1991.
- HADJILIADIS, N. D. **Cytotoxic, mutagenic and carcinogenic potential of heavy metals related to human environment**. Kluwer Academic, p. 123-138, 1997.
- JACKSON, A. P.; ALLOWAY, B. J. The bioavailability of Cd to lettuces and cabbages from soil previously amended with sewage sludge. **Environmental Research Letters**, v.37, p.238-254, 1990.
- LI, Y. M. et al. Genotypic variation in kernel cadmium concentration in sunflower germplasm under varying soil conditions. **Crop Science**, v.35, p.151-155. 1995.
- MAGALHAES, P. M. de. Agrotecnología 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.
- MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa:Universidade Federal de Viçosa, 1995. 220p.
- MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen)**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).
- MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdisonone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.
- POCÁ, A. M. P. C. **Biomassa, óleo essencial, perfil fitoquímico e nutrientes da carqueja sob influência de fontes e dose de nitrogênio**. 2005. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ROBSON, A. D.; PITMANN, M. G. Interactions between nutrients in higher plants. In : LAUCHLI, A. BIELESKI, R. L. (eds). **Inorganic Plant Nutrition**. Berlin: Springer-Verlag, p.147-180, 1983.

SALT, D. E. et al. Phytoremediation. Annual Review of Plant Physiology. **Plant Molecular Biology** v.49, p.643-668, 1998.

SANITÀ di TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental Experimental Botany**, v.41, p.105-130, 1999.

SINGH, O. V. et al. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. **Applied microbiology and Biotechnology**, v.63, n.2. p.128-135, 2003.

VIGO, C. L. S. et al. Caracterização farmacognóstica comparativa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Hebanthe paniculata* Martius - Amaranthaceae Kuntze. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.6, n.2, p.7-19, 2004.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - REVISÃO DE LITERATURA

ABREU, I. N. et al. Nitrogênio e fósforo na produção vegetal e na indução de mucilagem em plantas de insulina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 536-540, 2002.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soil**. New York: John Wiley, 1993, 339p.

ALLOWAY, B. J.; STEINNES, E. Anthropogenic additions of cadmium to soil. In: MACHLAUGHIN, M. J.; SINGH, B. R. (Eds.), **Cadmium in soils and plants**. Kluwer Academic Publishers, p.97-118, 1990.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiology Plant**. 85, 235-241, 1992.

ASSIS, M. P. et al. Limitações nutricionais para a cultura do arroz em solos orgânicos sob inundação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.299-310, 2001.

BAKER, A. J. M. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal Plant Nutrition**, v.3, p.643-654, 1981.

BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K. Nutrient use efficiency in acid soils: nutrient management and plant use efficiency. In: MONIZ, A. C. (Ed.) **Plant-soil interactions at low pH**. Campinas: SBCS, p.79-95, 1997.

BARROS, N. F.; NOVAIS, R. F. **Relação solo-eucalipto**. Viçosa: Folha de Viçosa, 330p, 1990.

BATISTA, M. M. F. et al. Efeito da omissão de macronutrientes no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral em gravioleiras (*Annona muricata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.315-318, 2003.

BLANK, A. F. et al. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hortelã-pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, p.195-198, 2006.

BOUSSAMA, N. et al. Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedlings under cadmium stress. **Journal Plant Nutrition**, 22, 731-752, 1999.

BOVI, M. A. et al. Respostas de crescimento da pupunheira à adubação NPK. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.161-166, 2002.

CAMARGO, M. S. et al. Crescimento e absorção de nutrientes pelo *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 143-146, 2004.

CARNEIRO, M. A. C. et al. Comportamento de trinta espécies herbáceas em solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.1629-1638, 2002.

CASTILLO, F. J. Peroxidases and stress. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, T. H. (Ed.) **Plant peroxidases 1980-1990: topics and detailed literature of molecular, biochemical and physiological aspects**. Geneva: University of Geneva, p.187-203, 1992.

CHAVES, F. M. C. et al. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e teor de eugenol em alfavaca cravo, em função de adubação orgânica e sazonalidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.360, 2002.

CLIJSTERS, H. et al. Physiological responses to heavy metals in higher plants; defence against oxidative stress. **Z. Naturforsch.** 54c, 730-734, 1999.

CORRÊA JÚNIOR, C. et al. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Curitiba: EMATER-PR. 151p, 1991.

CÔRREA JÚNIOR, C. et al. Aspectos gerais da espécie fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen) e recomendações técnicas para seu cultivo. In: JORNADA IBEROAMERICANO DE AGROTECNOLOGIA DE PLANTAS MEDICINAIS, 1, 2002, Guatemala. **Monografia da I Jornada Ibero-americana de Agrotecnologia de Plantas Mediciniais**. Guatemala: CYTED, 2002, p.11.

CORRÊA JÚNIOR, C. **Influência das adubações orgânica e química na produção de camomila [Chamomilla recutita (L.) Rauschert] e do seu óleo essencial**. 1994. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

CÔRREA JÚNIOR, C. **Estudo agrônômico de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen): sazonalidade na produção de raízes e conteúdos de  $\beta$ -ecdisona em diferentes acessos de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul**. 2003. 73p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, SP.

DE-KUNDU, P., BANRJEE, A. Multiple forms of acid phosphatase from seedling axes of *Vigna radiata*. **Phytochemistry**, 29, 2825–2828, 1990.

DIXIT et al. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of Pea (*Pisium sativum* L. cv Azad). **Journal Experimental Botany**, 52, 1101-1109, 2001.

DONG, J., et al. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). **Chemosphere**, 64, 1659-1666, 2006.

DUFF et al. The role of acid phosphatase in plant phosphorus metabolism. **Physiology Plant**. 90, 791-800, 1994.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates. 400 p., 2005.

FIGUEIREDO, L. S. et al. Comportamento de 23 acessos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae), nas condições de Campo dos Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.7, n.1, p.67-72, 2004.

GADAPATI, W. R.; MACFIE, S. M. Phytochelatins are only partially correlated with Cd-stress in two species of Brassica. **Plant Science**, 170, 471–480, 2006.

GALLEGO, S. M. et al. 1996. Oxidative damage caused by cadmium chloride in sunflower (*Helianthus annuus*, L.) plants. *Phyton – Intern. Journal Experimental Botany* 58, 41-52, 1996.

GRANGEIRO, L. C.; CECÍLIO FILHO, A. B. Acúmulo e exportação de macronutrientes pelo híbrido de melancia Tide. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 93-97, 2004.

GUERREIRO, C. P. V. **Análise de crescimento, curva de absorção de macronutrientes (N, P e K) e teor de  $\beta$ -ecdisona em fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) em função de adubações orgânicas.** 2006. 144p. Dissertação (Mestre em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

HADJILIADIS, N. D. Cytotoxic, mutagenic and carcinogenic potential of heavy metals related to human environment. **Kluwer Academic**, p. 123-138, 1997.

HEGEDÜS, A. et al. Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. **Plant Science**. 160, 1085-1093, 2001.

HERBARIUM. O mercado de fitoterápicos no Brasil. **Herbarium saúde**, Curitiba, n 22, 2p, 2002.

JACKSON, A. P., ALLOWAY, B. J. The bioavailability of Cd to lettuces and cabbages from soil previously amended with sewage sludge. **Environmental Letter**. 37, 238-254, 1990.

JAFFE, E. K., et al. Porphobilinogen synthase from pea: expression from an artificial gene, kinetic characterization, and novel implications for subunit interactions. **Biochemistry**, 39, 9018–9029, 2000.

JIANG, X. J., et al. Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian Mustard. **Environmental Geochemical Health**, 26, 319, 2004.

KUMAR, R. G., DUBEY, R. S. Glutamine synthetase isoforms from rice seedlings: Effects of stress on enzyme activity and the protective roles of osmolytes. **Journal Plant Physiology** 155, 118-121, 1999.

LI, Y. M., et al. Genotypic variation in kernel cadmium concentration in sunflower germplasm under varying soil conditions. **Crop Science**. 35, 151-155, 1995.

MAGALHAES, P. M. de. Agrotecnología 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.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres. 251p., 1980.

MALDANER, J. et al. Crescimento de plântulas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas *in vitro* sob dois níveis de nitrogênio e sacarose, durante seis subculturas sucessivas e aclimatização. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.133-140, 2007.

MANN, S. S. et al. Cadmium accumulation in agricultural soil in western Australia. **Water air soil pollut.** 141, p.281-297. 2002.

MARQUES, T. C. L. L. S. de. et al. Exigências nutricionais do Paricá (*Schizolobium amazonicum*, Herb.) na fase de muda. **Revista Cerne**, Lavras, v.10, n.2, p.167-183, 2004.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa:Universidade Federal de Viçosa, 1995. 220p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic. 890p, 2002.

MAPELI, N. C. et al. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.32-37, 2005.

MATTOS, J. K. A. Biologia da Ferrugem (*Uromyces platensis* Speg) da *Pfaffia glomerata* Pedersen. In: MING, L. C. *et al.* **Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares - Avanços na Pesquisa Agrônoma**, Botucatu: UNESP, v.2, p. 127-138, 1998.

MEDICAMENTOS a partir de plantas medicinais no Brasil, 1998. Ferreira: Academia Brasileira de Ciências. Disponível em: <http://www.abc.org.br/arquivos.html>. Acesso em: agosto de 2005.

MENDONÇA, A. V. R. et al. Exigências nutricionais de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira do Sertão). **Revista Cerne**, Lavras, v. 5, n.1, p. 65-75, 1999.

MICHIHIRO, K. et al. Enhancing effect of brazilian *Pfaffia glomerata* on reproductive ability of male golden hamsters and of male mice. **Natural Medicines**, London, v. 52, n. 1, p. 68-73, 1998.

MILONE, M. T., et al. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. **Environmental Experimental Botany**. 50, 265-276, 2003.

MING, L. C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, n.1, p.3-9, 1994.

MISHRA, S. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. **Plant Physiology Biochemistry**. 44, 25-37, 2006.

MONTANARI JR., I. **Aspectos do cultivo comercial do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen)**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1999. 3p. (Boletim Agroecológico, 12).

MONTANARI JR., I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of  $\beta$ -ecdysone in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.

MONTANARI JR, I. **Avaliação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen visando seu cultivo comercial**. 2005. 63 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical Área de Concentração: Melhoramento Genético Vegetal). Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas.

MOREIRA, A. et al. Disponibilidade de nutrientes em vertissolo calcário. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.10, p.2107-2113, 2000.

MOTA, L. D. C.; et al. *Pfaffia mosaica virus*: a new potyvirus found infecting *Pfaffia glomerata* in Brazil. **Plant Pathology**, v. 53, p. 368-373, 2004.

NAGAO, E. O. et al. Efeitos de sacarose e do nitrogênio inorgânico sobre a multiplicação “*in vitro*” de brotações de porta enxerto de citros. **Bragantia**, Campinas, v.53, n.1, p.25-31, 1994.

NICOLOSO, F. T. et al. Exigências nutricionais da grábia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride) em solo podzólico vermelho amarelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.225-231, 1999.

NICOLOSO, F. T. et al. Micropropagação do ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.3, n.2, p. 11-18, 2001a.

NICOLOSO, F. T. et al. Efeito de concentrações e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**,



Lavras, v.27, n.1, p.84-90, 2003.

NINAGI, O. MARUYAMA, M. Utilization de 20-hydroxy ecdysone extrated from a plant in sericulture. **JARQ**, v.30, n.2, p.123-28, 1996. Resumo. Biological Abstract on CD.

NISHIMOTO, N.; et al. Ecdisteroides de *Pfaffia glomerata*. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 11, 1900, João Pessoa, **Anais do XI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 1990.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology*. 49:249–79, 1998.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C. et al. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.735-739, 2005.

PAUZA, N. L. et al. Disturbances on delta aminolevulinate dehydratase (ALA-D) enzyme activity by  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Na^+$  and  $Li^+$ : analysis based on coordination geometry and acid-base Lewis capacity. **Journal Inorganic Biochemical**. 99, 409-414, 2005.

PEREIRA, L. B., et al. Effect of aluminum on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) and the development of cucumber (*Cucumis sativus*). **Environmental Experimental Botany**. 57, 106-115, 2006.

POTTERS, G.; et al. Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime? **Plant Physiology Biochemistry**. 40, 537–548, 2002.

PRAKASA RAO, E. V. S. et al. Response of palmarosa (*Cymbopogon martini* (Roxb) Wats. var motia) to farmyard manure and nitrogen. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v.34. n.3, p.376-378, 1989.

QUARITI, O., et al. Responses of bean and tomato plants to cadmium: growth, mineral nutrition, and nitrate reduction. **Plant Physiology Biochemistry**. 35, 347–354, 1997.

RAMOS, S. J. et al. Produção de matéria seca e óleo essencial de menta sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.8, n.1, p.9-12, 2005.

RENO, N. B. et al. Limitações nutricionais ao crescimento inicial de quatro espécies arbóreas nativas em latossolo vermelho-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.2071-2081, 1997.

RIBEIRO, P. G. F.; PEREIRA, E. F. Influencia do método de propagação e tipo de solo na produção de raízes de fáfia (*Pfaffia glomerata*). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13, 1994, Fortaleza. **Resumos de temas livres**, Petrolina: FINEP/CNPq, 1994.

RODRIGUES, C. R. et al. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p. 573-578, 2004.

ROCHA, J. B. T. et al. Effects of methylmercury exposure during the second stage of rapid postnatal brain growth on delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activity in brain, liver, kidney and blood of suckling rats. **Toxicology**, 100, 27–37, 1995.

SALIM, M. L. Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. **Physiology Plantarum** 72, 681-689, 1987.

- SANITÁ DI TOPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental Experimental Botany**. 41, 105-130, 1999.
- SARTÓRIO, M. L. et al. **Cultivo orgânico de plantas medicinais**. Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 2000. 260p.
- SAUVE, S. et al. Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions. **Environmental Science technology**, 34, 291-296, 2000.
- SCHÜTZENDBÜBEL, A., et al. Cadmium- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in *Populus canescens* roots. **Plant Physiology Biochemistry**. 40, 577–584, 2002.
- SHAH, K. et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Science**. 161, 1135–1144, 2001.
- SHIOBARA, Y. et al. A notriterpenoid, triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, Oxford, v.32, n.6, p.1527-1530, 1993.
- SINGH, R. S. et al. Effect of nitrogen, phosphorus and potash on essential-oil production of palmarosa (*Cymbopogon martini* var *motia*) under rainfed condition. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v.37, n.2, p.305-308, 1992.
- SKREBSKY, E. C. et al. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de Ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1471-1477, 2004.
- SKREBSKY, E. C. et al. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1416-1423, 2006.
- SIQUEIRA, J. C. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae). **Acta Biológica Leopoldensia**, São Leopoldo, v.10, p.269-278, 1987.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Flora Ilustrada Catarinense: amarantáceas**. Itajaí: Herbário Brabosa Rodrigues, 1972. 110 p.
- STOBART, A. K., et al. The effect of aluminum on the biosynthesis of chlorophyll on leaves of barley. **Plant Physiology**. 63, 223–228, 1985.
- TABALDI, L. A., et al. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. **Environmental Experimental Botany**. 59, 43-48, 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p.
- TANIGUCHI, S. F. et al. Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. **Phytotherapy Research**, London, v.11, p.568-571, 1997.
- VASCONCELOS, J. M. O. **Estudo taxonômico sobre Amaranthaceae no RS, Brasil**. 1982. Porto Alegre. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- VERMA, S., DUBEY, R. S. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in

rice. **Biologia Plantarum**. 44, 117-123, 2001.

VIÉGAS, I. J. M. et al. Limitações nutricionais para o cultivo de açaizeiro em latossolo amarelo textura média, Estado do Pará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.382-384, 2004a.

VIÉGAS, I. J. M. et al. Efeito da omissão de macronutrientes e boro no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral de plantas de camucamuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.315-319, 2004b.

VIGO, C. L. S. et al. Caracterização farmacognóstica comparativa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Hebanthe paniculata* Martius - Amaranthaceae Kuntze. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.6, n.2, p.7-19, 2004.

VICENT, J. B., et al. Hydrolysis of phosphate monoesters: a biological problem with multiple chemical solutions. **Trends Biochemical Science**. 17, 105–110, 1992.

YADAV, R. L.; et al. Fertilizer-nitrogen recovery and growth of Java citronella as influenced by row spacing and nitrogen. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v.29, n.3, p.305-308, 1984.

WANG et al. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.). **Bioresource Technology**, 98:82-88, 2007.

WARREN, M. J., et al. Lead poisoning, heme synthesis and 5-aminolevulinic acid dehydratase. **TIBS**, 23, 217–221, 1998.

WILLEKENS, H., et al. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defense in C3 plants. **EMBO J**. 16, 4806-4816, 1997.

ZHU, Y. L. et al. Over-expression of glutathione synthase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance. **Plant Physiology**, 119, p.73-80, 1990.

Anexo 1: Fotos do experimento 1 (A), experimento 2 (B), experimento 3 (C) e experimento 4 (D).

A



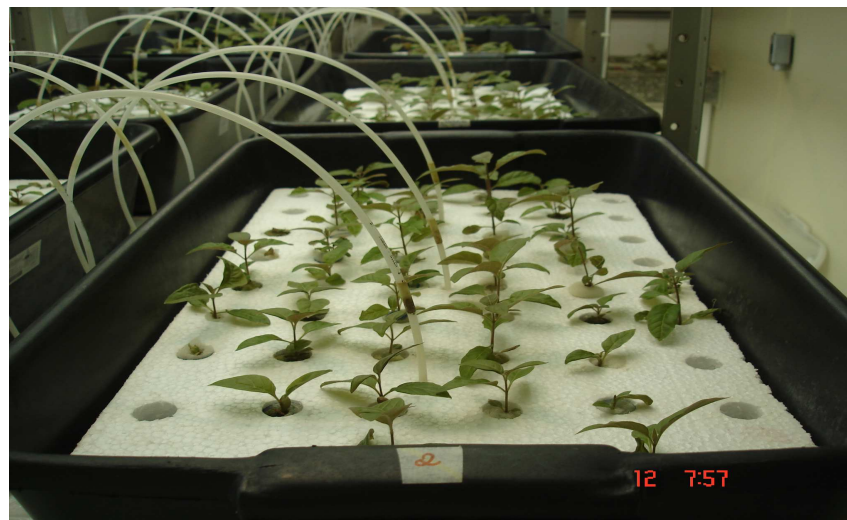
B



C



D



ANEXO 2: Teste de hipótese na análise estatística das avaliações de crescimento da *Pfaffia glomerata* aos 45 e 60 dias após o transplante, UFSM, Santa Maria, 2007.

<b>AVALIAÇÕES</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>N*P</b>	<b>N*K</b>	<b>P*K</b>	<b>N*P*K</b>
Nºfolhas aos 45 DAT	S	S	S	S	S	S	<b>S</b>
Altura aos 45 DAT	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS
Nºfolhas aos 60 DAT	NS	S	S	S	S	S	<b>S</b>
Altura aos 60 DAT	NS	S	S	S	S	S	<b>S</b>
MSF 60 DAT	S	S	S	S	S	S	<b>S</b>
MSC 60 DAT	S	S	S	S	S	S	<b>S</b>
MSPA 60 DAT	S	S	S	S	S	S	<b>S</b>
MSR 60 DAT	S	S	S	S	S	NS	<b>S</b>
MST 60 DAT	S	S	S	S	S	NS	<b>S</b>
Razão R/PA 60 DAT	<b>S</b>	S	NS	NS	NS	<b>S</b>	NS

S = significativo, NS = não significativo – nível de probabilidade de erro de 5%.

DAT = dias após transplante

ANEXO 3: Teste de hipótese referente na análise estatística da concentração e acumulação de nutrientes no

desenvolvimento inicial da *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, 2007.

<b>AVALIAÇÕES</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>N*P</b>	<b>N*K</b>	<b>P*K</b>	<b>N*P*K</b>
Concentração de N no caule (%)	S	NS	NS	NS	NS	NS	<b>S</b>
Concentração de N nas folhas (%)	<b>S</b>	NS	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS
Concentração de N nas raízes (%)	<b>S</b>	S	NS	NS	NS	<b>S</b>	NS
Concentração de P no caule (%)	NS	S	NS	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Concentração de P nas folhas (%)	<b>S</b>	S	NS	NS	NS	<b>S</b>	NS
Concentração de P nas raízes (%)	NS	S	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Concentração de K no caule (%)	S	<b>S</b>	S	NS	<b>S</b>	NS	NS
Concentração de K nas folhas (%)	S	NS	S	NS	<b>S</b>	NS	NS
Concentração de K nas raízes (%)	NS	S	S	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Concentração de Ca no caule (%)	S	S	NS	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Concentração de Ca nas folhas (%)	<b>S</b>	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS	NS
Concentração de Ca nas raízes (%)	S	NS	NS	S	NS	S	<b>S</b>
Concentração de Mg no caule (%)	S	NS	S	S	NS	S	<b>S</b>
Concentração de Mg nas folhas (%)	S	S	S	NS	NS	NS	<b>S</b>
Concentração de Mg nas raízes (%)	S	NS	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Concentração de Mn no caule (ppm)	S	S	S	NS	S	NS	<b>S</b>
Concentração de Mn nas folhas (ppm)	NS	S	S	S	S	NS	<b>S</b>
Concentração de Mn nas raízes (ppm)	NS	NS	S	S	S	S	<b>S</b>
Concentração de Zn no caule (ppm)	<b>S</b>	NS	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS
Concentração de Zn nas folhas (ppm)	S	S	NS	NS	NS	NS	<b>S</b>
Concentração de Zn nas raízes (ppm)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Concentração de Fe no caule (ppm)	<b>S</b>	NS	S	NS	NS	<b>S</b>	NS
Concentração de Fe nas folhas (ppm)	NS	NS	NS	S	NS	S	<b>S</b>
Concentração de Fe nas raízes (ppm)	NS	NS	NS	<b>S</b>	NS	NS	NS
Concentração de Cu no caule (ppm)	S	NS	S	S	NS	NS	<b>S</b>
Concentração de Cu nas folhas (ppm)	S	S	S	S	S	S	<b>S</b>
Concentração de Cu nas raízes (ppm)	S	NS	NS	S	S	NS	<b>S</b>
Acumulação de N no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	NS	S	S	NS	<b>S</b>
Acumulação de P no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	NS	NS	S	NS	<b>S</b>
Acumulação de K no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	S	S	S	NS	<b>S</b>
Acumulação de Ca no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	NS	NS	S	S	<b>S</b>
Acumulação de Mg no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	S	NS	NS	S	<b>S</b>
Acumulação de Mn no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	S	NS	S	NS	<b>S</b>
Acumulação de Zn no caule (g planta <sup>-1</sup> )	<b>S</b>	NS	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS
Acumulação de Fe no caule (g planta <sup>-1</sup> )	<b>S</b>	NS	S	NS	NS	<b>S</b>	NS
Acumulação de Cu no caule (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	NS	NS	NS	NS	<b>S</b>
Acumulação de N nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Acumulação de P nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	NS	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Acumulação de K nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	S	NS	<b>S</b>	NS	NS
Acumulação de Ca nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	<b>S</b>	<b>S</b>	NS	NS	NS	NS	NS
Acumulação de Mg nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	NS	NS
Acumulação de Mn nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	S	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Acumulação de Zn nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	NS	NS	S	S	<b>S</b>
Acumulação de Fe nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	NS	NS	NS	S	NS	S	<b>S</b>
Acumulação de Cu nas folhas (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	S	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Acumulação de N nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	S	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Acumulação de P nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	NS	S	NS	S	S	S	<b>S</b>
Acumulação de K nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	S	S	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Acumulação de Ca nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	S	S	S	S	<b>S</b>
Acumulação de Mg nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	NS	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	NS
Acumulação de Mn nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	S	S	S	S	<b>S</b>
Acumulação de Zn nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	NS	NS	NS	NS	NS	NS	<b>S</b>
Acumulação de Fe nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	NS	<b>S</b>	NS	NS	NS
Acumulação de Cu nas raízes (g planta <sup>-1</sup> )	S	NS	NS	S	S	NS	<b>S</b>

S = significativo, NS = não significativo – nível de probabilidade de erro de 5%.



ANEXO 4: Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) na concentração de N, P, K, Ca e Mg nas folhas, caule e raiz da *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, RS, 2007.

Tratamentos N-P-K (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração na folhas (%)					Concentração no caule (%)					Concentração na raiz (%)				
	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
40-40-40	3,41	0,61	1,95	0,45	0,52	1,91	0,47	2,53	0,07	0,13	0,99	0,10	0,11	0,11	0,05
80-80-80	4,21	0,74	4,11	0,43	0,49	2,87	0,56	4,03	0,09	0,11	1,22	0,11	0,11	0,13	0,07
120-120-120	4,43	0,68	4,03	0,33	0,48	2,20	0,43	2,88	0,10	0,07	1,34	0,13	0,18	0,16	0,08
40-40-80	3,62	0,68	3,68	0,40	0,48	1,89	0,49	3,55	0,11	0,12	1,27	0,24	0,55	0,19	0,13
40-40-120	3,79	0,64	4,93	0,47	0,54	2,11	0,56	4,61	0,12	0,12	1,30	0,22	0,59	0,23	0,12
40-80-80	3,76	0,81	3,47	0,32	0,54	1,62	0,46	2,83	0,09	0,12	1,42	0,30	0,46	0,21	0,14
40-120-120	3,38	0,84	3,79	0,28	0,52	1,86	0,57	3,47	0,10	0,13	1,39	0,34	0,48	0,26	0,14
40-80-40	4,10	0,83	1,65	0,34	0,56	1,88	0,51	2,37	0,09	0,13	1,37	0,36	0,31	0,24	0,15
40-120-40	4,62	1,00	0,88	0,29	0,58	1,53	0,56	1,44	0,10	0,17	1,42	0,34	0,18	0,20	0,15
80-40-40	4,73	0,67	2,61	0,47	0,57	2,25	0,47	3,01	0,12	0,14	1,22	0,22	0,26	0,18	0,10
120-40-40	4,49	0,64	2,72	0,41	0,44	2,62	0,45	3,31	0,11	0,11	1,33	0,28	0,31	0,25	0,14
40-120-80	3,45	1,06	3,97	0,37	0,57	1,88	0,57	2,88	0,09	0,13	1,24	0,32	0,40	0,18	0,12
40-80-120	3,54	1,05	5,25	0,41	0,51	2,22	0,63	4,37	0,09	0,14	1,66	0,33	0,55	0,21	0,17
80-80-40	4,35	0,81	2,13	0,36	0,49	2,41	0,52	2,88	0,05	0,10	1,70	0,36	0,28	0,22	0,17
80-80-120	4,32	0,95	5,12	0,46	0,53	2,55	0,59	4,24	0,07	0,11	1,50	0,31	0,39	0,26	0,17
80-40-80	5,04	0,68	2,80	0,50	0,54	2,90	0,57	3,73	0,09	0,15	1,06	0,42	0,50	0,29	0,21
80-120-120	4,22	0,89	4,80	0,34	0,50	2,35	0,58	3,73	0,06	0,10	1,72	0,33	0,44	0,23	0,19
80-40-40	4,24	0,81	4,93	0,44	0,50	1,83	0,50	3,57	0,07	0,10	1,53	0,28	0,44	0,29	0,17
80-120-80	3,69	0,74	3,07	0,35	0,50	2,22	0,54	3,39	0,06	0,08	1,93	0,40	0,44	0,24	0,19
120-80-80	4,06	0,68	3,60	0,33	0,43	2,64	0,57	3,68	0,07	0,10	1,96	0,39	0,46	0,33	0,20
80-40-120	4,02	0,64	5,33	0,43	0,47	2,00	0,48	3,47	0,07	0,08	1,70	0,29	0,66	0,25	0,20
120-120-40	3,95	0,75	2,69	0,26	0,51	2,42	0,61	2,96	0,06	0,11	1,76	0,34	0,30	0,29	0,20
120-120-80	4,50	0,73	3,31	0,40	0,50	2,16	0,45	2,59	0,05	0,07	1,88	0,32	0,36	0,26	0,16
120-40-80	4,21	0,62	3,84	0,56	0,46	2,72	0,57	4,03	0,08	0,09	2,19	0,39	0,61	0,31	0,21
120-80-40	4,84	0,69	2,77	0,39	0,52	2,63	0,52	2,88	0,07	0,10	1,81	0,36	0,33	0,29	0,19
120-40-120	3,97	0,27	3,60	0,41	0,35	2,79	0,36	4,13	0,09	0,09	1,69	0,23	0,63	0,35	0,21
120-80-120	3,49	0,62	3,63	0,30	0,39	2,18	0,53	3,60	0,07	0,07	1,71	0,29	0,41	0,32	0,19
Média	4,15	0,75	3,50	0,39	0,49	2,24	0,52	3,34	0,08	0,11	1,50	0,29	0,39	0,23	0,15
CV (%)	11,54	16,05	19,61	18,72	9,33	15,57	12,95	14,61	14,66	15,54	20,8	19,7	21,22	17,41	23,69

ANEXO 5: Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) na acumulação de N, P, K, Ca e Mg nas folhas, caule e raiz da *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, RS, 2007.

Tratamentos N-P-K (mg kg <sup>-1</sup> )	Acumulação na folhas (g planta <sup>-1</sup> )					Acumulação no caule (g planta <sup>-1</sup> )					Acumulação na raiz (g planta <sup>-1</sup> )				
	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
40-40-40	42,8	7,73	24,5	5,61	6,44	28,6	6,97	37,9	1,06	1,89	12,0	1,25	1,34	1,35	0,64
80-80-80	54,2	9,47	52,8	5,47	6,28	44,7	8,74	62,7	1,36	1,75	15,0	1,34	1,36	1,61	0,86
120-120-120	57,3	8,70	51,8	4,27	6,12	30,6	5,92	40,1	1,36	1,02	15,1	1,48	2,05	1,75	0,85
40-40-80	49,3	9,19	50,1	5,49	6,57	30,7	8,01	57,6	1,75	1,96	17,6	3,33	7,65	2,62	1,82
40-40-120	51,0	8,58	66,4	6,35	7,32	32,9	8,72	72,0	1,94	1,85	17,8	3,04	8,06	3,13	1,69
40-80-80	52,1	11,29	48,1	4,40	7,46	27,1	7,68	47,4	1,56	1,96	18,9	3,95	6,11	2,79	1,84
40-120-120	48,1	11,90	54,1	3,92	7,39	30,4	9,31	56,7	1,60	2,08	18,1	4,44	6,20	3,36	1,88
40-80-40	53,7	10,81	21,6	4,42	7,28	28,8	7,86	36,5	1,42	2,02	16,9	4,44	3,83	2,97	1,85
40-120-40	48,2	10,47	9,2	3,03	6,04	20,4	7,49	19,3	1,32	2,23	14,8	3,51	1,90	2,04	1,58
80-40-40	58,4	8,31	32,2	5,74	6,99	31,2	6,52	41,7	1,60	1,90	15,5	2,82	3,25	2,28	1,30
120-40-40	52,6	7,51	31,9	4,80	5,09	32,7	5,60	41,1	1,36	1,31	14,8	3,11	3,46	2,74	1,55
40-120-80	47,1	14,46	54,3	5,07	7,83	31,1	9,46	47,9	1,49	2,21	16,6	4,26	5,38	2,45	1,58
40-80-120	47,9	14,09	70,8	5,51	6,91	34,8	9,88	68,7	1,36	2,26	22,6	4,56	7,50	2,86	2,28
80-80-40	54,1	10,06	26,4	4,47	6,14	32,9	7,11	38,9	0,65	1,30	20,5	4,39	3,33	2,61	2,03
80-80-120	55,6	12,19	66,0	5,86	6,80	36,3	8,32	60,0	0,93	1,60	18,0	3,73	4,58	3,15	2,01
80-40-40	61,3	8,25	34,0	6,03	6,50	37,6	7,33	48,5	1,12	1,92	27,5	4,77	5,58	3,31	2,35
80-120-120	58,8	12,31	66,7	4,80	6,92	34,5	8,52	54,9	0,91	1,45	22,3	4,26	5,64	3,03	2,50
80-40-80	52,6	10,04	61,1	5,48	6,25	23,2	6,42	45,6	0,94	1,22	18,6	3,40	5,34	3,57	2,10
80-120-80	51,7	10,43	42,9	4,90	6,97	35,8	8,73	54,8	0,96	1,65	27,2	5,62	6,20	3,36	2,62
120-80-80	65,1	8,51	45,0	4,19	5,44	36,0	7,78	50,0	0,89	1,30	23,0	4,60	5,35	3,83	2,31
80-40-120	52,4	8,30	69,7	5,61	6,13	26,3	6,37	45,7	0,96	0,99	21,1	3,57	8,24	3,12	2,47
120-120-40	51,2	9,79	35,0	3,37	6,61	32,8	8,24	40,1	0,83	1,49	21,3	4,13	3,68	3,53	2,38
120-120-80	59,8	9,67	44,0	5,33	6,61	32,0	6,54	37,4	0,72	1,04	22,6	3,79	4,28	3,10	1,89
120-40-80	49,3	7,28	45,0	6,59	5,33	34,3	7,16	51,0	0,98	1,11	24,6	4,40	6,83	3,46	2,32
120-80-40	59,2	8,37	33,9	4,68	6,35	32,9	6,48	36,0	0,82	1,21	20,3	4,02	3,69	3,22	2,11
120-40-120	40,7	2,76	36,8	4,18	3,63	31,2	4,04	46,1	0,99	0,96	17,0	2,30	6,36	3,55	2,12
120-80-120	55,6	7,84	45,9	3,77	4,91	28,8	6,90	47,2	0,86	0,93	20,6	3,51	4,99	3,81	2,23
Média	52,77	9,67	45,18	4,93	6,38	31,79	7,48	47,62	1,17	1,58	18,86	3,62	4,84	2,86	1,85
CV (%)	13,23	16,34	19,81	19,18	9,71	15,41	13,61	14,65	15,62	14,18	15,06	18,07	19,67	16,88	22,26



ANEXO 6: Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) na concentração de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas, caule e raiz da *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, RS, 2007.

Tratamentos N-P-K (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração na folhas (ppm)				Concentração no caule (ppm)				Concentração na raiz (ppm)			
	Mn	Zn	Fe	Cu	Mn	Zn	Fe	Cu	Mn	Zn	Fe	Cu
40-40-40	1261,41	109,27	736,71	43,77	218,17	28,60	427,02	16,43	137,50	46,71	4905,85	10,40
80-80-80	936,17	73,77	436,92	34,24	194,48	19,51	205,85	14,77	128,41	35,27	3815,46	11,15
120-120-120	789,14	46,05	446,97	31,92	196,61	18,55	188,47	7,38	216,70	46,86	3030,39	13,39
40-40-80	1127,43	90,05	338,73	43,15	204,09	20,31	220,81	7,11	382,29	77,51	5411,78	16,25
40-40-120	1548,21	81,33	366,23	36,03	330,07	18,77	145,79	5,38	636,90	94,75	4352,92	20,73
40-80-80	864,60	74,87	347,53	38,77	156,57	18,85	205,55	2,99	433,77	80,08	5914,85	19,93
40-120-120	975,41	99,37	391,31	19,46	228,65	19,87	187,15	6,23	488,47	115,50	4715,70	20,84
40-80-40	711,99	77,00	254,25	18,73	193,53	24,13	179,15	4,27	422,77	140,51	4764,17	19,77
40-120-40	441,17	53,53	251,53	23,21	207,61	30,73	232,91	13,75	248,42	95,55	4202,78	18,03
80-40-40	996,23	88,22	301,62	17,24	214,79	26,03	278,59	16,93	437,51	76,12	6943,93	23,85
120-40-40	1000,41	72,01	388,45	14,73	301,25	25,23	282,55	18,13	537,23	120,29	4749,39	21,90
40-120-80	832,63	79,93	328,09	22,01	211,35	22,88	141,75	12,47	440,66	72,38	6649,39	22,03
40-80-120	1220,41	79,20	352,37	19,14	307,63	17,45	226,38	6,34	589,31	154,73	5544,07	16,37
80-80-40	914,54	91,67	313,50	20,44	225,21	23,17	91,15	18,23	405,24	86,02	4496,73	20,66
80-80-120	955,97	91,96	372,53	18,06	196,53	17,53	123,57	15,13	415,36	115,28	4435,20	22,86
80-40-40	1051,60	101,57	286,88	26,01	244,71	28,01	123,93	16,82	396,95	78,39	3945,70	20,39
80-120-120	704,22	65,78	323,91	23,40	192,79	17,82	106,26	19,63	438,39	73,04	6642,17	22,11
80-40-80	963,75	85,51	340,05	19,61	274,49	22,66	78,61	13,26	385,00	64,68	4482,57	22,55
80-120-80	819,57	74,29	314,53	19,01	165,22	16,35	223,08	6,47	411,91	83,16	6362,40	20,91
120-80-80	856,68	69,15	329,19	15,49	202,84	15,62	91,81	11,22	323,62	173,58	4251,43	18,02
80-40-120	937,86	78,54	306,83	23,18	212,23	17,53	55,07	18,11	424,49	65,45	5865,42	16,66
120-120-40	662,05	64,02	347,01	31,05	191,77	18,77	131,12	16,10	395,45	75,46	4968,37	17,31
120-120-80	930,16	63,80	459,87	21,45	214,94	15,91	170,13	15,00	369,82	55,99	4379,32	17,59
120-40-80	1347,72	80,15	432,45	22,18	271,41	19,80	156,27	20,87	382,91	71,39	6568,87	17,43
120-80-40	1006,21	87,71	404,65	18,13	224,33	22,22	109,01	19,89	409,75	62,37	5193,21	17,57
120-40-120	1296,61	78,39	323,33	17,69	278,37	18,33	115,72	17,75	440,18	77,47	3998,52	15,98
120-80-120	794,49	51,63	415,65	14,09	244,27	17,97	145,57	22,97	409,75	55,00	4331,36	17,87
Média	960,98	78,1	367,07	24,15	226,07	20,83	172,76	13,46	393,92	86,92	4996,9	18,7
CV (%)	15,12	19,08	27,2	22,71	14,4	17,55	47,17	39,14	18,0	61,56	25,48	17,88

ANEXO 7: Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) na acumulação de Mn, Zn, Fe e Cu nas folhas, caule e raiz da *Pfaffia glomerata* aos 60 dias de cultivo, UFSM, Santa Maria, RS, 2007.

Tratamentos N-P-K (mg kg <sup>-1</sup> )	Acumulação na folhas (g planta <sup>-1</sup> )				Acumulação no caule (g planta <sup>-1</sup> )				Acumulação na raiz (g planta <sup>-1</sup> )			
	Mn	Zn	Fe	Cu	Mn	Zn	Fe	Cu	Mn	Zn	Fe	Cu
40-40-40	15565,5	1347,8	9035,8	542,9	3262,8	427,4	4224,9	246,2	1671,6	568,0	59635,3	126,4
80-80-80	12049,7	947,3	5606,7	441,9	3032,0	303,2	3216,5	229,0	1584,9	437,4	47160,4	138,2
120-120-120	10166,0	746,1	5748,4	409,6	2722,2	260,2	2637,7	118,6	1328,1	210,5	34541,8	151,6
40-40-80	15316,7	1226,7	4608,6	586,7	3317,1	329,9	3592,1	114,7	5291,4	1077,0	74762,5	225,2
40-40-120	20822,1	1095,0	4927,6	485,5	5152,2	291,7	2272,9	83,9	8745,6	1302,0	59755,6	284,5
40-80-80	11969,1	1037,1	4830,1	538,2	2620,2	315,3	3454,1	50,1	5777,5	1065,2	78816,5	265,4
40-120-120	13968,2	1423,1	5616,0	276,4	3737,0	324,4	3051,6	66,0	6353,8	940,2	61343,0	271,2
40-80-40	9318,4	1007,4	3333,2	244,8	2983,6	372,1	2746,9	65,9	5183,2	1710,2	58448,0	242,9
40-120-40	4599,4	559,3	2624,4	242,1	2754,0	407,9	3055,7	185,4	3486,0	985,6	43760,6	187,6
80-40-40	12309,5	1089,4	3733,8	212,9	2973,1	361,7	3882,9	235,3	5554,9	974,1	88103,7	302,0
120-40-40	11704,0	842,6	4547,3	172,1	3762,5	315,2	3536,4	229,9	6003,3	2006,2	79006,4	364,6
40-120-80	11434,3	1094,5	4523,4	303,1	3503,3	378,9	3111,7	204,9	5888,4	983,8	89935,6	298,4
40-80-120	16487,3	1070,7	4730,9	259,2	4832,6	273,1	3553,2	100,0	8029,0	958,8	75336,1	224,4
80-80-40	11339,0	1141,4	3836,4	256,5	3065,9	315,8	1747,3	247,7	4887,8	1037,3	54334,8	250,0
80-80-120	12256,1	1170,0	4804,3	231,5	2784,3	247,5	1749,0	216,9	4967,9	1395,8	52919,3	275,4
80-40-40	12743,7	1221,6	3456,0	310,6	3174,8	363,2	1608,7	216,0	4471,4	891,2	44573,9	230,1
80-120-120	9774,2	912,9	4493,7	326,8	2826,1	262,6	1554,7	280,9	5691,0	956,2	85414,5	285,8
80-40-80	11961,2	1061,9	4215,8	243,3	3499,4	289,0	1272,7	169,2	4669,1	785,9	54433,2	273,7
80-120-80	11486,6	1040,8	4404,2	266,4	2681,0	263,8	3536,4	105,7	5810,0	1172,5	89689,5	295,1
120-80-80	10667,9	863,7	4101,0	192,6	2757,3	212,4	1250,8	152,3	3706,8	1917,8	48475,7	208,1
80-40-120	12294,7	1027,6	4030,3	304,2	2798,2	231,2	707,6	239,5	5286,7	812,4	73193,4	207,1
120-120-40	8580,8	830,2	4501,6	404,3	2581,6	254,1	1797,5	219,8	4792,6	914,8	60251,0	210,1
120-120-80	12384,8	847,9	6118,4	285,0	3094,1	229,7	2439,7	218,5	4438,2	672,1	52552,7	211,4
120-40-80	15814,3	939,4	5081,3	260,1	3439,9	250,7	1979,1	264,2	4303,6	803,5	42846,5	196,1
120-80-40	12166,7	1048,8	4972,7	220,0	2803,5	277,0	1376,1	247,4	4605,6	701,5	58263,6	197,4
120-40-120	13256,1	802,8	3309,4	181,4	3091,6	204,9	1295,3	198,7	4425,9	778,9	40210,2	160,7
120-80-120	10036,9	652,9	5254,3	176,5	3205,9	236,7	1904,4	301,0	4973,8	668,6	52548,2	217,2
Média	12239,7	1004,9	4683,2	310,17	3202,1	296,27	2472,8	187,83	4959,7	996,1	61334,3	230,6
CV (%)	15,23	17,95	27,9	22,92	14,07	17,09	38,56	38,86	14,04	45,84	23,25	18,63

ANEXO 8: Efeito de três níveis de NPK (40, 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup>) no crescimento da *Pfaffia glomerata* aos 45 e 60 dias após transplante, UFSM, Santa Maria, RS, 2007.

Tratamentos NPK (mg kg <sup>-1</sup> )	Nf 45DAT	Alt 45DAT	Nf 60DAT	Alt 60DAT	MSF 60DAT	MSC 60DAT	MSPA 60DAT	MSR 60DAT	MST 60DAT	R/PA 60DAT
40-40-40	86	62,6	122,8	76,9	12,51	14,97	27,48	12,16	39,64	0,44
80-80-80	88,2	59,5	160,8	75,3	12,74	15,40	28,13	12,31	40,44	0,44
120-120-120	86	52,84	175,8	72,5	12,90	13,74	26,65	11,30	37,94	0,42
40-40-80	90	55,2	134	65,3	13,58	16,10	29,68	13,80	43,48	0,46
40-40-120	87,2	55,9	143,2	67,2	13,59	15,72	29,31	13,76	43,07	0,47
40-80-80	94,6	62,2	146	74,6	13,81	16,80	30,61	13,33	43,94	0,44
40-120-120	98,8	61	147	69,4	14,18	16,30	30,47	12,96	43,43	0,43
40-80-40	91,4	59,3	139,6	71,8	13,07	15,53	28,61	12,25	40,86	0,43
40-120-40	71,4	71,8	108,4	99,2	10,42	13,44	23,86	10,49	34,35	0,44
80-40-40	80,2	52,9	135,2	66,8	12,29	13,84	26,13	12,80	38,93	0,49
120-40-40	62,6	50,6	119	68,1	11,65	12,38	24,03	11,14	35,16	0,46
40-120-80	90,2	63,1	150,4	74,4	13,91	16,81	30,72	13,37	44,09	0,44
40-80-120	102,2	52	149,6	61,8	13,61	15,87	29,48	13,69	43,17	0,46
80-80-40	83,4	52,9	143,6	71	12,35	13,56	25,91	11,97	37,88	0,46
80-80-120	79,2	57,3	132,6	73,1	13,13	14,41	27,55	12,25	39,79	0,44
80-40-40	66	50,8	120,6	73,5	11,94	12,90	24,84	11,27	36,11	0,45
80-120-120	86,8	53	152,4	69,6	13,96	14,91	28,87	13,10	41,97	0,45
80-40-80	53,4	50,4	113,4	74	12,43	12,78	25,21	12,13	37,34	0,48
80-120-80	94,8	57,8	157	73,9	14,02	15,99	30,01	14,09	44,10	0,47
120-80-80	74	51,9	141	70,9	12,54	13,61	26,15	11,84	37,99	0,45
80-40-120	63,6	53,4	116,4	72,7	13,10	13,33	26,43	12,50	38,94	0,47
120-120-40	82,2	56,5	153,2	78,2	13,01	13,70	26,71	12,09	38,80	0,45
120-120-80	86,4	55,9	165,6	76,8	13,30	14,64	27,94	11,96	39,90	0,43
120-40-80	54,6	48,8	127,6	70,8	11,72	12,57	24,29	11,27	35,55	0,46
120-80-40	65,6	52,1	126	73,6	11,94	12,40	24,34	11,32	35,66	0,47
120-40-120	30,6	45,5	76,8	71,3	10,30	11,30	21,61	10,06	31,67	0,47
120-80-120	80,8	47,1	149,6	67,2	12,83	13,22	26,06	12,03	38,09	0,46
Média	78,9	55,3	137,3	72,6	12,7	14,3	27	12,3	37,4	0,45
CV (%)	15,6	11,3	11,7	7,6	5,3	5,5	6,9	5,4	4,5	5