



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAMILA TORRES STROZE

**RESISTÊNCIA DE PLANTAS MEDICINAIS A *Meloidogyne*
javanica e *M. paranaensis***

CAMILA TORRES STROZE

RESISTÊNCIA DE PLANTAS MEDICINAIS A *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Prof. Dr^a. Débora Cristina Santiago

Londrina
2013

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S926r Stroze, Camila Torres.
Resistência de plantas medicinais a *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* / Camila Torres Stroze. – Londrina, 2013.
60 f. : il.

Orientador: Débora Cristina Santiago.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Nematoda em plantas – Teses. 2. *Meloidogyne* – Teses. 3. Nematoda – Histopatologia – Teses. 4. Plantas medicinais – Teses. I. Santiago, Débora Cristina. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 631.467.2

CAMILA TORRES STROZE

**RESISTÊNCIA DE PLANTAS MEDICINAIS A *Meloidogyne javanica* e
*M. paranaensis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora. Prof^a. Dr^a. Débora Cristina Santiago
UEL/CCA – Londrina - PR

Prof. Dr. Edmilson Bianchini
UEL/CCB – Londrina - PR

Dr^a. Neucimara Rodrigues Ribeiro (DON
MARIO SEMENTES)
UEL – Londrina - PR

Prof. Dr. Luiz Henrique Ilkiu Vidal
UNICENTRO – Guarapuava - PR

Prof. Dr. Seiji Igarashi
UEL/CCA – Londrina - PR

Profa. Dra. Débora Cristina Santiago
Orientadora
UEL – Londrina - PR

Londrina, 21/ 02 / 2013

À Deus, pois foi Nele que encontrei forças para continuar meu caminho.

Aos meus pais, Terezinha e José Carlos pelo apoio incondicional em todas as fases de minha vida, em especial nesse momento.

Ao eterno namorado, Fernando Cesar Baida.

À minha mãe/avó Antonia Colombo Torres "*in memoriam*", com muita saudade e orgulho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pois é Ele que sempre me fortalece para continuidade dos meus ideais.

À Universidade Estadual de Londrina e ao Departamento de Agronomia, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Dr^a. Débora Cristina Santiago, agradeço não apenas pela orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade e companheirismo.

Ao professor Dr. Edmilson Bianchini, pela orientação na condução do experimento de histopatologia.

Aos membros da Banca Examinadora, pelas sugestões, que contribuíram para a melhoria deste trabalho.

Ao professor Dr. Seiji Igarashi pelas sugestões, pelo estímulo, pelos ensinamentos, que levarei para a vida toda, e pela amizade.

Ao professor Dr. José Roberto Pinto de Souza, por todos conselhos na condução do ensaio com as plantas medicinais e pela amizade conquistada.

Aos funcionários José Aparecido Rocha, técnico do Laboratório de Fitopatologia, João Pereira, técnico do Laboratório de Apoio à Pesquisa Agropecuária (LAPA) e Leonide R. M. de Souza, técnica do Laboratório de Anatomia Vegetal, pelo apoio, colaboração, amizade e pela agradável convivência nos Laboratórios.

Aos amigos Guilherme Sanches Lopes, Juliana Abdos Lopes, Hevandro Colanhese Delalibera, por estarem sempre torcendo pelo meu sucesso e minha felicidade.

Aos amigos Adriely Alves de Almeida, Hélio I. Vieira Filho, Anderson Kikuchi Calzavara, Marcela Blagitz F. do Nascimento, pelo apoio, colaboração na condução desse trabalho, além dos momentos agradáveis nos Laboratórios.

À minha família, Sônia, Geraldo, Rita, João Pedro, vó Olga Stroze, Luis Carlos, Márcia, Eduardo, Karina Baida.

Ao “meu” doutor Fernando Cesar Baida, meu eterno namorado, por toda ajuda, paciência, dedicação durante o desenvolvimento do trabalho, pelo apoio nas análises estatísticas, pelo apoio nos momentos difíceis, e sobretudo pela convivência agradável de todos esses anos, de companheirismo, amizade e respeito.

À minha mãe Terezinha Torres, que sempre me apoia e fortalece a cada dia, pelo estímulo e amor incondicional desde os primeiros passos, pela paciência e ensinamentos para uma vida digna e com sabedoria.

Ao meu pai José Carlos Stroze exemplo de vida, simplicidade, dedicação, amor e grande amizade.

Aos meus avós que partiram deixando muitas saudades e orgulho, João Stroze, Manuel Torres e Antônia Colombo Torres.

Aos meus sobrinhos, Isabela Baida, Pedro Henrique e Maria Fernanda Lopes.

À minha cachorra laika que sempre esteve do lado proporcionando momentos de descontração e lealdade.

À todas as pessoas que indiretamente me apoiaram para a conquista deste trabalho e para o sucesso de mais uma etapa tão importante da minha vida.

STROZE, Camila Torres. **Resistência de plantas medicinais a *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*** 2013. 60f. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR. 2013

RESUMO

As plantas medicinais têm sido tema de pesquisas envolvendo problemas fitossanitários, dentre estes, os nematoides de galhas são os que causam grandes prejuízos econômicos quantitativos e qualitativos. Portanto, objetivou-se testar a hospedabilidade e identificar possíveis alterações histopatológicas envolvidas nas interações de plantas medicinais com as espécies *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) e *M. paranaensis* (Carneiro et al., 1996). O estudo foi conduzido em casa de vegetação e laboratório, com delineamento inteiramente casualizado e 10 repetições. Realizou-se a inoculação de *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf., *Eucalyptus globulus* L. e *Mentha piperita* L., com 6.000 ovos de *M. javanica* e *M. paranaensis*, separadamente, por planta. Após 60 dias da inoculação, foram mensurados altura, massa (fresca e seca) de parte aérea, massa de raiz, número de massas de ovos, número de ovos por sistema radicial e fator de reprodução. Segmentos de raízes normais e com engrossamentos/galhas dessas plantas medicinais foram coletados, incluídos em parafina e submetidos a cortes histológicos transversais. As seções cortadas foram fixadas em laminas de vidro e após coradas com azul de toluidina (1%). As alterações anatômicas foram fotografadas e analisadas em microscópio de luz. Os resultados obtidos indicaram que *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* e *M. piperita* comportaram-se como resistentes aos nematoides avaliados. Enquanto *A. vera* foi considerada suscetível a ambos os nematoides. Constatou-se nas avaliações histológicas que as plantas *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* não tiveram alterações anatômicas observadas, caracterizado pela falha no estabelecimento dos sítios de alimentação, devido a resistência dessas plantas ao *M. javanica* e *M. paranaensis*. Entretanto, mesmo com a resistência observada em *M. piperita*, nos segmentos com galhas observou-se células plásticas e hipertróficas, formação de células gigantes, obliteração de vasos do xilema. Enquanto que em *A. vera* considerada suscetível as duas espécies de *Meloidogyne*, tiveram ocorrência de células plásticas e hipertróficas com compressão dos vasos do xilema.

Palavras chave: Nematóide. Células gigantes. Alterações anatômicas. Penetração de juvenis. Suscetibilidade.

STROZE, Camila Torres. **Resistance of a medicinal plants *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*** 2013. 60p (Dissertation) - University State of Londrina, Londrina, PR. 2013.

ABSTRACT

Medicinal plants have been the subject of research involving phytosanitary problems, among them, the nematode root-knot are causing major economic losses quantitative and qualitative Therefore, the objective was to test the hospitability and identify possible histopathological changes involved in the interactions of plants medicinal with species *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) and *M. paranaensis* (Carneiro et al.,1996). The study was conducted in the greenhouse and laboratory, with a completely randomized and 10 replications. Was carried out the inoculation of *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* DC Stapf., *Eucalyptus globulus* L. and *Mentha piperita* L., with 6,000 eggs of *M. javanica* and *M. paranaensis* separately per plant. After 60 days of inoculation were measured height, weight (fresh and dry) shoot, root mass, number of egg masses, number of eggs per root system and reproduction factor. Segments of normal roots and thickenings / galls of these medicinal plants were collected, embedded in paraffin and subjected to histological cross. The cut sections were fixed on glass slides and after staining toluidine blue (1%). Anatomical changes were photographed and analyzed microscopico light. The results indicated that *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* and *M. piperita* behaved as resistant to nematodes evaluated. While *A. vera* was considered susceptible to both nematodes. It found that the histological evaluations plants *A. millefoluim*, *C. citratus*, *E. globulus* anatomical changes were not observed, characterized by the failure to establish feeding sites due to resistance of these plants to *M. javanica* and *M. paranaensis*. However, even with the resistance observed in *M. piperita*, in segments with galls observed cells hypertrophic and plastic, giant cell formation, obliteration of xylem vessels. While in *A. vera* considered susceptible to both species *Meloidogyne*, were occurring cells hypertrophic and plastic compression of the xylem vessels.

Key Words: Nematode. Giant cells. Anatomical changes. Penetration of juveniles. Susceptibility.

LISTA DE FIGURAS

- Figuras 1** – A) Raiz de *Achillea millefolium* não parasitada. B) Corte transversal de raiz *Achillea millefolium* parasitada por *Meloidogyne javanica*. C) Raiz de *Achillea millefolium* parasitada por *M. paranaensis*; co = córtex; x = xilema. Barra = 50µm41
- Figuras 2** – A) Corte transversal de raiz de *Aloe vera* parasitada por *Meloidogyne javanica* e conjunto de células gigantes comprimindo os elementos de vaso do xilema. B) Raiz de *A. vera* sem inoculação. C) Raiz de *A. vera* parasitada por *M. paranaensis*; co = córtex; x = xilema; cg = células gigantes; ht = hipertrofia das células; hp = hiperplasia das células. Barra = 50µm.....42
- Figuras 3** – A) Raiz de *Cymbopogon citratus* sem inoculação. B) Raiz *C. citratus* parasitadas por *M. javanica*. C) Raiz de *C. citratus* parasitada por *M. paranaensis*. co = córtex; x = xilema; en = endoderme. Barra = 50 µm.....43
- Figuras 4** – A) Corte transversal de raiz de *Eucalyptus globulus* sem inoculação. B) Raiz de *E. globulus* parasitada por *M. javanica*. C) Raiz de *E. globulus* parasitada por *M. paranaensis*; co = córtex; x = xilema; en = endoderme. Barra = 50 µm44
- Figuras 5** – A) Corte de raiz de *Mentha piperita* parasitada por *Meloidogyne paranaensis* mostrando uma fêmea (n) e um conjunto de células gigantes, multinucleadas, com cilindro central obliterado. Barra = 100µm. B) Raiz de *M. piperita* sem inoculação. C) Raiz de *M. piperita* parasitada por *M. javanica*, com células do parenquima apresentando hiperplasia. co = córtex; x = xilema; n = nematoide; cg = células gigantes; hp = hiperplasia das células; mg = matriz gelatinosa. Barra = 50µm.....45
- Figura 6** – A) Corte transversal de raiz de *Lycopersicon esculentum* L. cv. ‘Santa clara’ parasitada mostrando uma fêmea de *M. javanica* e conjunto com quatro células gigantes multinucleadas distorcendo os elementos de vaso do xilema. B) Raiz de *L. esculentum* parasitada por *M. paranaensis* apresentando três nematoides associados ao conjunto de células gigantes, com obliteração dos vasos do xilema; x = xilema; n = nematoide; cg = células gigantes; ht = hipertrofia das células; hp = hiperplasia das células46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Nomes científicos, popular e forma de propagação das espécies medicinais avaliadas quanto à alteração histopatológica de raízes parasitadas por *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*32
- Tabela 2** – Protocolo para desparafinização e coloração empregado na coloração dos cortes histológicos das raízes das plantas medicinais34
- Tabela 3** – Comparação de médias para número de ovos+J₂, massas de ovos e fator de reprodução e reação da planta em relação à reprodução de *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* nas raízes das plantas medicinais38
- Tabela 4** – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e massa fresca de raiz de plantas medicinais inoculadas e não-inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*.....59

LISTA DE GRAFICOS

- Gráfico 1** – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e massa fresca de raiz de *Achillea millefolium* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns)35
- Gráfico 2** – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Aloe vera* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns)35
- Gráfico 3** – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Cymbopogon citratus* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns)36
- Gráfico 4** – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Eucalyptus globulus* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns)37
- Gráfico 5** – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Mentha piperita* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns)37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 PLANTAS MEDICINAIS.....	14
2.1.1 <i>Achillea Millefolium</i> (L.) Less	15
2.1.2 <i>Aloe Vera</i> (L.) Burm. F.	16
2.1.3 <i>Cymbopogon Citratus</i> (D.C.) Stapf.	16
2.1.4 <i>Eucalyptus Globulus</i> L.	17
2.1.5 <i>Mentha Piperita</i> L.	18
2.2 GÊNERO <i>MELOIDOGYNE</i>	18
2.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DAS PLANTAS AO <i>MELOIDOGYNE</i>	20
2.4 REAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS AO GÊNERO <i>MELOIDOGYNE</i>	23
2.5 HISTOPATOLOGIA PARA <i>MELOIDOGYNE</i>	25
3 ARTIGO A: RESISTÊNCIA DE PLANTAS MEDICINAIS A <i>Meloidogyne javanica</i> E <i>M. paranaensis</i>	28
3.1 RESUMO	28
3.2 ABSTRACT	29
3.3 INTRODUÇÃO.....	29
3.4 MATERIAL E METODOS.....	31
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.6 CONCLUSÕES.....	47
3.7 REFERÊNCIAS	47
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
5 REFERÊNCIAS	52
ANEXO	59

1 INTRODUÇÃO

O uso mundial das plantas medicinais tem estimulado constantes pesquisas nas áreas química, medicinal, farmacêutica, biológica, botânica e agrônômica, pois dessas pesquisas conjuntas vem a garantia para que medicamentos produzidos à partir de plantas medicinais possam ser utilizados com eficiência e sem riscos (BRASIL, 2006).

Segundo Fuzér e Souza (2003), a utilização de plantas medicinais para produção de medicamentos apresenta uma melhor relação custo/benefício quando comparada aos produtos sintéticos, pois sua ação biológica é eficaz com baixa toxicidade e efeitos colaterais, além de apresentar um custo de produção inferior. Entretanto, estes medicamentos não são necessariamente mais barato que os sintéticos, pois necessita de matéria-prima de qualidade, para que a planta possa apresentar as substâncias ativas, além de grandes quantidades de planta, o que acaba encarecendo o processo.

O Estado do Paraná é responsável pelo abastecimento de 90% da demanda nacional de plantas medicinais, aromáticas e condimentares e fatura anualmente cerca de R\$ 25 milhões (EMATER, 2012). Entretanto, o cultivo de plantas medicinais de forma comercial defronta-se com poucos dados sobre problemas fitossanitários, especialmente em relação aos fitonematoides.

Plantas medicinais quando parasitadas por fitonematoides podem comprometer qualitativa e quantitativamente suas propriedades farmacológicas e sua produção, pois além de causarem danos diretos como formação de galhas e redução no número de raízes, predispõem as plantas a enfermidades fúngicas e bacterianas refletindo em perdas no rendimento das culturas, podendo levar à morte da planta (TAYLOR; SASSER, 1978). Dentre os fitonematoides constatados parasitando plantas medicinais, destacam-se os do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887.

Os nematoides durante seu parasitismo injetam substâncias que modificam algumas células próximas à região dos vasos condutores dando origem às células gigantes, nutritoras ou síncitos, que aumentam de tamanho e passam a fornecer alimento ao parasita, deformando os vasos do xilema (TIHOHOD, 2000).

Souza, Campos e Maximiniano (1998) avaliaram a frequência de nematóides do gênero *Meloidogyne* em 89 amostras de plantas medicinais e

hortaliças com o objetivo de estudar sua ocorrência e distribuição, resultando em 27,5% de *M. incognita*, 24,8% de *M. javanica* e 5,2% de *M. hapla*. Werlang e Santos (2000) avaliaram a hospedabilidade de *M. javanica* em *Portulaca oleracea* e observaram que este vegetal foi um bom hospedeiro.

A resistência de plantas para o gênero *Meloidogyne* spp. pode ser definida por vários fatores que inibem a reprodução destes nematoides, como a formação anormal das células gigantes, ocorrendo desenvolvimento mais lento do nematoide, além de necroses nas regiões atacadas pelo patógeno (DROPKIN; NELSON, 1960; MCCLURE et al., 1974).

A Organização Mundial de Saúde recomenda a difusão mundial dos conhecimentos necessários ao uso racional das plantas medicinais. No Brasil, um conjunto de resoluções e portarias delinea a implantação da Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, destacando-se a Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS (BRASIL, 2012).

Considerando o valor terapêutico e econômico das plantas medicinais, torna-se importante ter conhecimento da reação dessas plantas aos nematoides, uma vez que estas podem hospedar e aumentar as populações desses parasitas no solo, bem como promoverem alterações nas suas características medicinais em decorrência do parasitismo. Portanto, estudos histológicos, citotóxicos e da ultra-estrutura das células gigantes e tecidos radiciais adjacentes têm contribuído para o conhecimento da interação entre hospedeiro e parasita.

Com base neste contexto, objetivou-se avaliar as plantas medicinais *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf., *Eucalyptus globulus* L. e *Mentha piperita* L. quanto suas reações às espécies *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) e *M. paranaensis* (Carneiro et al., 1996) e suas alterações histopatológicas envolvidas nas interações planta-nematoide.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS.

Plantas medicinais produzem compostos que quando extraídos podem ser utilizados como aditivos químicos em alimentos, matéria-prima para aplicação científica, tecnológica ou comercial (RATES, 2001). Quando estes compostos exercem efeitos fisiológicos de propriedades terapêuticas, são denominados de princípios ativos, que proporcionam o efeito de tratamento (ROBBERS; SPEEDIE e TYLER, 1997).

A utilização dos produtos provenientes das plantas medicinais não se restringe às áreas rurais, sendo também amplamente disseminados em áreas urbanas do país, e muitas espécies são comercializadas por erveiros em mercados e feiras livres em cidades de todo país (ALMEIDA; ALBUQUERQUE, 2002; ALVES; PEREIRA-FILHO, 2007; ALVES; ROSA, 2007; ALVES et al., 2008).

O Brasil possui uma fonte de produtos terapêuticos devido a grande diversidade, no entanto, esse potencial para a descoberta de plantas como fonte de novas drogas é pobremente explorado ou regulamentado, contrastando com o que ocorre em países como Alemanha, Estados Unidos e Canadá (VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008). O Estado do Paraná é responsável pelo abastecimento de 90% da demanda nacional de plantas medicinais, aromáticas e condimentares (EMATER, 2012).

As funções fisiológicas dos princípios ativos nas plantas ainda não estão completamente esclarecidas, mas sua produção associa-se à defesa da planta contra agentes externos como patógenos, pragas, radiação solar, ou como resíduos do metabolismo vegetal. Além disso, já são conhecidos diversos efeitos alelopáticos de estímulo ou inibição da germinação de sementes e de regulação da decomposição da matéria orgânica (SILVA; CASALI, 2000).

Os metabólitos secundários são compostos derivados biologicamente dos metabólitos primários. Possui um papel ecológico como atração de polinizadores, adaptações químicas à pressão ambiental ou defensores químicos contra microorganismos, insetos e predadores superiores. As atividades biológicas das plantas medicinais são frequentemente atribuídas aos seus metabólitos secundários, como a nicotina, a morfina, os óleos essenciais, todos utilizados comercialmente (CHAGAS,

2004). Os óleos essenciais destacam-se pelas suas propriedades antibacterianas, analgésicas, sedativas, expectorantes e estimulantes (SILVA; CASALI, 2000).

Os óleos essenciais provenientes do metabolismo secundário podem ocorrer em diferentes estruturas secretoras especializadas (OLIVEIRA; AKISSUE; AKISSUE, 1998). Esses óleos apresentam funções ecológicas na planta, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra perda de água e aumento da temperatura (CRAVEIRO; MACHADO, 1986).

A *International Standard Organization* (ISO) define óleos essenciais como produtos obtidos de partes de plantas e são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Os componentes químicos dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, entre outros (SILVA; CASALI, 2000).

O comércio de recursos biológicos medicinais em cidades evidencia que o uso tradicional da biodiversidade para fins terapêuticos tem sido incorporado pelas comunidades urbanas (ALVES; ROSA, 2007). O cultivo de plantas medicinais em bases comerciais defronta-se com a relativa escassez de dados sobre problemas fitossanitários, dentre eles os causados por fitonematoides (KARL; SOUZA; MATTOS, 1997).

2.1.1 *Achillea Millefolium* (L.) Less

A espécie medicinal *Achillea millefolium* (mil-folhas), pertencente à família Asteraceae, é uma planta herbácea, perene, rizomatosa, porte pequeno (30-50 cm), suas folhas são compostas, finamente pinadas, as inflorescências são brancas ou rosáceas, em capítulos reunidos em uma panícula terminal (LORENZI; MATOS, 2002). Planta de clima temperado quente a subtropical, tolerando condições climáticas extremas como o sol, geada, seca, frio e não se adapta a regiões com excesso de precipitações (LORENZI; MATOS, 2002).

A multiplicação de *A. millefolium* se dá por estacas e por divisão da touceira, o que garante um desenvolvimento homogêneo. É nativa da Europa, América do Norte, Austrália e Ásia e suas propriedades medicinais são atribuídas à atividade antibacteriana, antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, dentre outras, estu-

dadas a partir de óleo essencial e extratos obtidos de flores, folhas e raízes (CORRÊA JR. et al., 1994).

2.1.2 Aloe Vera (L.) Burm. F.

Planta africana pertencente à família Liliaceae e gênero *Aloe*, à qual pertencem mais de 300 espécies, utilizadas em vários países, inclusive no Brasil, para fins medicinais e na cosmética. Dentre as espécies existentes *Aloe vera* é a mais estudada pelas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e fitoterápica (VAN WYK; SMITH, 1996).

Grupo de plantas monocotiledôneas, perenes, com folhas suculentas, inflorescências em panículas, com flores liliformes. Família de ampla difusão especialmente em regiões tropicais e subtropicais (CARTER, 1994; AGRA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2007; SILVEIRA et al., 2008).

O interior de suas folhas é constituído de um tecido parenquimático rico em polissacarídeos (mucilagem), que lhe confere uma consistência viscosa, de onde surgiu o nome de babosa. Nessa mucilagem ou gel encontram-se seus princípios ativos, que são constituídos de tecidos orgânicos, enzimas, vitaminas, sais minerais e aminoácidos, dentre os quais 18 são importantíssimos para o homem, e desses, sete pertencem aos oito não sintetizados pelo nosso organismo (MATOS, 2002).

Seus princípios ativos, contidos na mucilagem que escorre das folhas recentemente cortadas, são a aloína, um composto químico de natureza antraquinônica de ação purgativa de coloração amarela, e o aloferon que é um polissacarídeo complexo de ação cicatrizante (LORENZI; MATOS, 2002).

2.1.3 *Cymbopogon Citratus* (D.C.) Stapf.

Cymbopogon citratus, pertence à família Poaceae, semi-perene, com longas folhas aromáticas, estreitas, agudas e ásperas e com nervura central proeminente (CRAVEIRO et al., 1981), e muito conhecida nas regiões sul e sudeste do Brasil devido aos seus atributos para ornamentação e às suas propriedades medicinais. É nativa das regiões tropicais da Ásia, cuja ocorrência vem sendo descrita nas Américas e na África (SOUZA; LORENZI, 2005).

É uma planta aromática cultivada para a produção comercial de óleo essencial, geralmente apresenta como constituintes majoritários os monoterpenos citral (mistura isomérica de neral e geranial) e o mircenol. Porém, a maior utilização tem sido na indústria farmacêutica, servindo de material de partida para síntese de importantes compostos como iononas, metil-iononas e vitamina A (VIEIRA, 2006; PRINS et al., 2008).

Sousa et al. (1991) relataram propriedades inseticidas, principalmente larvicida e repelente. Na lavoura tem sido empregada em curvas de nível (LEAL et al., 2003). A maior importância econômica do *C. citratus* é a produção do óleo essencial que é largamente utilizado na indústria de alimentos, cosmética e química (COSTA et al., 2005).

A planta de *C. citratus* apresenta boa tolerância a pragas, mas no Estado do Paraná foi detectada a presença de nematoide dos gêneros *Pratylenchus*, *Helycotylenchus* e *Tylenchus*, e também ocorrência de ferrugem parda nas folhas (GOMES, 2001).

2.1.4 Eucalyptus Globulus L.

O *Eucalyptus* é originário da Austrália, pertence à família Myrtaceae. É uma espécie lenhosa, arbórea, de grande porte, com folhas coriáceas opostas com dois tipos morfológicos diferentes, em ramos jovens são azuladas, largas e pel-tadas, porém em ramos maduros são mais estreitas, lanceoladas ou em forma de foice, as flores surgem isoladas na axila das folhas, os frutos são operculados, mas a frutificação não é comum no Brasil (SCARPINELLA, 2002).

Existem aproximadamente 600 espécies de eucalipto, das quais cerca de 200 espécies foram estudadas quanto à avaliação do rendimento e qualidade de óleos essenciais. Entretanto, menos de 20 espécies são plantadas comercialmente no mundo, e no Brasil apenas três se destacam para a extração de óleos essenciais, o *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus* e *E. staigeriana* (SILVA, 2000). A propagação pode ser por sementes ou de forma vegetativa por estaquia (LORENZI; MATOS, 2002).

De importância econômica, tem potencial como matéria prima para diversos setores, principalmente papel e celulose, além de madeira, chapas de fi-

bras, ripas, caibros, sarrafos, carvão, mel, taninos e óleos essenciais principalmente para produtos de limpeza e aromatizantes (SOUZA; LORENZI, 2008).

2.1.5 *Mentha Piperita* L.

O gênero *Mentha* pertence à família Lamiaceae, são originaria da Europa, adaptando-se bem nos climas tropicais, suportam temperaturas muitas baixas, entretanto, altas temperaturas podem diminuir o rendimento de óleo essencial (CORREA JUNIOR et al., 1994).

Mentha piperita é uma planta de porte herbáceo, com 30-60 cm de altura, estolonífera, folhas oval-lanceoladas e serradas, aveludada, com raiz fibrosa e caule ereto, com inflorescência na espiga terminal de flores violáceas, numerosas, pedunculadas, conhecida popularmente por hortelã-pimenta é uma erva vivaz ou perene, com caule ramificado, contendo folhas opostas pecioladas ovais e com margem serrilhada, apresentando cor verde mais escura na face superior da folha e mais pálida na inferior (LORENZI; MATOS, 2002).

Matos (1998) cita essa espécie como produtora de óleo essencial rico em mentol, mentona e mentofurano, sendo estes compostos mais abundantes nas folhas, apresentando varias aplicações industriais, como produtos de higiene bucal, flavorizantes, aromatizantes de alimentos e bebidas, perfumaria, confeitaria e produtos farmacêuticos.

2.2 GÊNERO *MELOIDOGYNE*.

Os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários obrigatórios, e seus efeitos envolvem queda na produção e na qualidade de uma grande variedade de culturas economicamente importantes (CASTAGNONE-SERENO, 2002). Completam seu ciclo de vida, geralmente, sob temperatura de 27°C entre 22 a 30 dias. Porém, qualquer espécie reduz ou até mesmo cessa por completo as suas atividades vitais em temperaturas superiores a 40°C ou inferiores a 5°C (FERRAZ, 2001).

O ciclo de vida do *Meloidogyne* consiste de seis estádios fenológicos: ovo, juvenis (J₁, J₂, J₃, J₄) e adulto (VAN DER EYCKEN et al., 1996; GHEYSEN; FENOLL, 2002). Inicia-se na forma de ovo unicelular, o qual é depositado pela fê-

mea. O desenvolvimento do ovo ocorre dentro de poucas horas após a oviposição, resultando em 2, 4, 8 e mais células, até a total formação do juvenil de primeiro estágio (J_1) no seu interior (SAIGUSA, 1957), ocorrendo à primeira ecdise no interior do ovo, tornando-se juvenis de segundo estágio (J_2), estes eclodem e passam a migrar no solo à procura de raízes de plantas para hospedá-los (TIHOHOD, 2000).

A penetração dos juvenis de segundo estágio (J_2) ocorre na região adjacente à coifa da raiz ou nos primórdios de raízes laterais (BYRNE; MICHAELSEN; SOUTAR, 1977). Após situar-se em um ponto de alimentação, o J_2 permanece paralelo ao eixo principal da raiz, com o corpo imerso entre as células do córtex e com a região cefálica em contato com a periferia dos elementos vasculares (HUSSEY, 1985).

Os J_2 injetam substâncias que modificam algumas células próximas à região dos vasos condutores dando origem às chamadas células gigantes ou sincítios, que aumentam de tamanho e passam a fornecer alimento ao patógeno. Outras células menores, formadas próximas às células gigantes, são produzidas para assimilação e transferência dos fotoassimilados para as células gigantes (FERRAZ; MONTEIRO, 1995).

No processo de infecção ou infestação, são formadas células gigantes e galhas, que são respostas distintas, as células gigantes são essenciais ao desenvolvimento e a reprodução do parasito, e as galhas, na verdade, constituem apenas bons indicadores da extensão das reações hiperplásicas e hipertróficas dos tecidos afetados pelas substâncias injetadas, podendo ser formadas bem antes que as células gigantes ou mesmo na ausência destas (FERRAZ, 2001). Entretanto, ao contrário da célula gigante, a formação de galhas não é essencial para o desenvolvimento dos fitonematoides (TAYLOR; SASSER, 1978).

A distinção entre sincício e células gigantes é baseada no fato que, no primeiro caso, há dissolução de parede de células adjacentes formando uma massa polinucleada (KIM; KANG; LEE, 1997). No caso das células gigantes, acredita-se que estas são formadas pelas repetidas divisões celulares sincronizadas sem subsequente divisão celular (HUANG; MAGGENTI, 1969). As células gigantes desenvolvem nos tecidos do floema primário e parênquima adjacente (BYRNE; MICHAELSEN; SOUTAR, 1977).

Severas alterações nos tecidos vasculares de raízes infectadas já foram observadas em diferentes hospedeiros, em resposta à presença de células gi-

gantes (PEDROSA; HUSSEY; BOERMA, 1996; LORENZO et al., 2004; PROITE et al., 2008). A quebra ou deformação de vasos e alterações no número de arestas do xilema também já foram observadas em resposta à presença de células gigantes nutridoras (DEL PRADO; CÁRDENAS, 1995).

O uso de cultivares resistente pode ter efeitos em cultivos subsequentes de outras espécies vegetais suscetíveis, que são beneficiadas pela redução populacional do nematoide na área (SILVA, 2001). Essas cultivares possibilita adequado manejo desses nematoides, tanto em sistemas agrícolas de baixo como de alto uso de tecnologia (ROBERTS, 1990).

A resistência e a suscetibilidade de plantas referem-se à habilidade evidenciada na supressão do desenvolvimento e da reprodução de determinadas espécies de nematoides. Plantas altamente resistente possibilitam taxas de reprodução muito restritas dos parasitos, ao passo que as suscetíveis permitem abundante reprodução (SILVA, 2001).

2.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A *MELOIDOGYNE*.

A resistência de um hospedeiro, dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, é definida como a capacidade da planta de atrasar ou evitar a entrada e/ou subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos. Embora as plantas, estejam normalmente expostas a um número incalculável de micro-organismos, como fungos, bactérias, vírus e nematoides, a resistência mostra-se como a regra, enquanto a suscetibilidade aos agentes fitopatogênicos mostra-se como a exceção (PASCHOLATI, 1994).

De acordo com Agrios (2004), as plantas se defendem contra patógenos por características estruturais que agem como barreiras físicas e inibem a entrada e disseminação do patógeno, e por reações bioquímicas que ocorrem em células e tecidos da planta e produzem substâncias que ou são tóxicas para o patógeno, ou criam condições que inibem o desenvolvimento do patógeno na planta.

A resistência pode decorrer de fatores que estão presentes antes do nematoide penetrar na raiz da planta, como os efeitos repelentes e/ ou nematicida de determinadas substâncias químicas presentes no exsudado radicial de algumas plantas (HUANG, 1985), com a substância α -*Tertienil*, produzida pelo cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.).

Por outro lado, após a penetração do patógeno, as plantas normalmente respondem com a formação de um ou mais tipos de estruturas que podem ser mais ou menos eficientes na defesa da planta contra o patógeno. Algumas estruturas de defesa envolvem os tecidos próximos ao patógeno (estruturas histológicas de defesa), outras envolvem as paredes de células invadidas (estruturas celulares de defesa), outras ainda, envolvem o citoplasma das células sob ataque (reação de defesa citoplasmática), e finalmente, a morte de células invadidas (reação de defesa necrótica ou reação de hipersensibilidade) (FRY, 1982; AGRIOS, 2004).

Kaplan e Davis (1987) dividiram a resposta da resistência de plantas em duas fases: determinativa e expressiva. A primeira envolve a detecção do nematoide por células da planta, numa reação do tipo elicitador-receptor. O eliciador provavelmente é produzido na glândula esofagiana do nematoide e é injetado no tecido do hospedeiro, gerando um sinal responsável pela reação de hipersensibilidade. A próxima fase expressiva inclui uma sucessão de eventos de regulação gênica e modificações bioquímicas que são iniciadas com o processo de sinalização, prevenindo o desenvolvimento do nematoide.

A reação de hipersensibilidade (RH) é vista como um “suicídio” de algumas células da planta em prol da sobrevivência das demais, o que a torna um dos mecanismos de defesa mais importantes nas plantas. A resposta ocorre em função do reconhecimento da infecção, por parte do hospedeiro, como consequência da incompatibilidade entre a planta e o patógeno. Portanto, a reação de hipersensibilidade ocorre somente em interações incompatíveis envolvendo a infecção da planta por vírus, bactérias, fungos e nematoides (PASCHOLATI, 1994; ANWAR; McKENRY, 2002).

Quando o nematoide penetra na planta a resposta da reação de hipersensibilidade aparece nas primeiras 24 horas, e o grau de necrose dos tecidos e o tempo de ocorrência podem diferir mesmo em plantas de uma mesma espécie (PÍPOLO; FERRAZ, 1999).

Dessa forma, em raízes de plantas resistentes, poucos nematoides desenvolvem-se até adultos, havendo formação de número maior de machos, e quando eventuais fêmeas reproduzem, o fazem com taxas mais baixas de fecundidade (SILVA, 2001).

A resistência das plantas às espécies de *Meloidogyne* pode ser definida por vários mecanismos vegetais que inibem a reprodução do patógeno, como

células gigantes mal formadas que acarretam em desenvolvimento lento, deixando de produzir ou produzindo poucos ovos (DROPKIN; NELSON, 1960; McCLURE, 1977).

As células gigantes induzidas por *Meloidogyne* spp. dividem os seus núcleos sem que haja a formação de novas paredes celulares, ou seja, ocorrem repetidas endomitoses sem que ocorra a citocinese, com aumento do conteúdo citoplasmático que apresenta intensa atividade metabólica e a célula expande lateralmente (KARSSEN e MOENS, 2006).

Carneiro et al. (2005), estudando a interação de algodoeiro com *M. incognita* raça 3, observaram que, embora os J₂ tenham penetrado as raízes do genótipo resistente e suscetível, seu desenvolvimento foi seriamente comprometido no genótipo resistente, pois falharam no estabelecimento e manutenção das células gigantes, resultando em baixa reprodução.

As células do cilindro central, próximas ao local de penetração do estilete do nematoide, exibem um processo de morte celular, o que impede o estabelecimento ou o desenvolvimento do nematoide. Em cafeeiro, este mecanismo de resistência já foi observado em raízes das cultivares resistentes Iapar 59 (ANTHONY et al., 2005) e Catimor (RODRIGUES et al., 2000) após inoculação com *M. exigua*.

Algumas espécies de plantas, especialmente leguminosas, podem rapidamente sintetizar compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, chamados fitoalexinas, em resposta à penetração de nematoides (HUANG, 1985). Nos processos normais de infecção da planta, o estímulo para esta síntese provém do invasor. Essas moléculas podem ser carboidratos, lipídeos ou proteínas e são conhecidas como elicitores (HAHN, 1996).

Faria et al. (2003), citam como exemplos raízes atacadas por nematoides, como no caso de soja infectadas por *M. incognita* que produzem gliceolina (isoflavonóide), raízes de feijão infectadas por *Pratylenchus penetrans* produzem comestrol (poliacetileno) e raízes de algodão infectadas por *M. incognita* produzem aldeídos terpenóides.

Pegard et al. (2005), descrevem a RH como uma reação local, acompanhada pela produção ou liberação de formas de oxigênio reativo, ácido salicílico, compostos fenólicos ou outros compostos envolvidos no caminho da sinalização extracelular. Em solanáceas, a resistência normalmente é associada à RH, na qual ocorre morte celular rápida e localizada em resposta a infecção pelo nematoide. Es-

sa resposta pode ocorrer precocemente, prevenindo a penetração e a migração de J₂, ou tardiamente, inibindo o desenvolvimento de células gigantes, suprimindo o desenvolvimento e a multiplicação do fitoparasita.

2.4 REAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS AO GÊNERO *MELOIDOGYNE*.

O parasitismo de fitonematoides em plantas medicinais tem sido descrito em alguns trabalhos. Zem (1977) avaliou a hospedabilidade de 13 espécies de plantas medicinais e constatou que *Portulacca oleracea* L. é hospedeira dos nematoides *M. incognita* e *M. javanica*, e que *Althernanthera brasiliiana* (L.) O. Kuntze e *Momordica charantia* L. são hospedeiras de *M. javanica*.

Antonio e Lehman (1978) mostraram que algumas ervas daninhas como *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze, *Ageratum conyzoides* L., *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv., *Amaranthus* L., *Asclepias curassavica* L., *Leonorus sibiricus* L., *Emilia sonchifolia* (L.) DC. e *Talinum patens* (Jacq.) Willd., eram suscetíveis a *M. javanica*.

A incidência de nematoides de galhas, também, foi constatada em plantas medicinais e aromáticas por Haseeb e Pandey (1987) na Índia, que identificaram 22 novos hospedeiros de *M. incognita* e 21 de *M. javanica*. Reações de 10 espécies de plantas daninhas em relação ao parasitismo de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* foram estudadas por Moura, Régis e Moura (1990), dentre estas quatro espécies medicinais, *Mentha crispera* L., *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash. e *Chenopodium ambrosioides* L. foram imunes às duas espécies de nematoides, enquanto *Coleus amboinicus* Lour. comportou-se imune apenas a *M. javanica*.

Souza, Mattos e Karl (1995) avaliaram a suscetibilidade de 65 espécies de plantas medicinais a *M. javanica* e *M. incognita*, caracterizando conforme a escala de Taylor e Sasser (1978). Dezenove mostraram resistência com ausência de massa de ovos e 42 mostraram-se como intermediária a pelo menos uma das espécies do nematoide.

Com base nos índices de massas de ovos e nos fatores de reprodução, oito espécies de plantas medicinais reproduziram *M. incognita* raça 2 e *M. javanica*, sob condições de casa de vegetação (MACIEL; FERRAZ, 1996). Os mesmos autores verificaram que *Achillea millefolium* (L.) Less, *Arctium lappa* L., *Bryophyllum calycinum* Salibs. e *Crassula portulacea* foram hospedeiras não eficientes ou desfa-

voráveis a ambas as espécies, *Plectranthus barbatus* Andr. e *Polygonum hidropiperoides* Michx. foram eficientes à reprodução das duas espécies, *Achyrocline satureoides* Lam. (D.C.) e *Tropaeolum majus* L. foram eficientes para *M. javanica* e não para *M. incognita*.

Moritz, Simão e Carneiro (2003) observaram a reação de genótipos de milho quando parasitados por *M. incognita* e *M. paranaensis*, e constataram que todos os materiais foram bons hospedeiros de *M. incognita* raça 1 e 3, e para o *M. paranaensis* 43,3% dos genótipos foram imunes, 53,3% foram resistentes e apenas um foi suscetível.

Park, Kim e Khan (2004) testando a hospedabilidade de 22 espécies medicinais a *M. hapla*, em casa de vegetação, avaliada com base no índice de galhas e no fator de reprodução (FR), verificaram que 12 espécies foram suscetíveis ao nematoide com índice de galhas de 2,6-5,0 e FR 1,3-10,6, três foram imunes e cinco espécies foram consideradas resistentes com FR de 0,3-0,6, também, observaram que *Aster scaber* L. e *Agastache rugosa* (Fisch. e C.A.Mey.) Kuntze foram tolerantes e hipersensíveis, respectivamente.

Trinta e oito espécies de plantas daninhas foram avaliadas quanto à reação ao nematoide *M. paranaensis*, sendo que algumas com propriedades medicinais, destas espécies, *Portulaca oleracea* L., *Chenopodium album* L., *Talinum paniculatum* (Jack). Gaertn., *Verbena litoralis* Kunth., *Lepidium pseudodidymum* Thell., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L., *Physalis angulata* L., *Polygonum persicaria* L. foram suscetíveis ao nematoide. Já *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., *Ipomoea quamoclit* L., *Leonurus sibiricus* L., *Sida rhombifolia* L., *Emilia sonchifolia* (L.) DC., *Sonchus oleraceus* L., *Solanum americanum* Mill., apresentaram $FR \leq 1$ e portanto foram resistentes, enquanto *Leonotis nepetaefolia* (L.) R.Br. foi imune (MÔNACO et al., 2009).

Foi observada imunidade de *Jatropha curcas* L. a *M. javanica*, no entanto, esta planta foi suscetível a *Rotylenchulus reniformis* (FERNANDES; ASMUS, 2007). Em outro trabalho Rosso e Asmus (2010) constataram a imunidade de *Jatropha curcas* L. quando parasitado por *Heterodera glycines*.

Mônaco et al. (2011) avaliaram quatorze espécies de plantas medicinais quanto à resistência a *M. paranaensis*. Os resultados obtidos indicaram que *Artemisia dracunculus* L., *Taraxacum officinale* Wiggers, *Matricaria recutita* L., *Melissa officinalis* L., *Hyssopus officinalis* L., *Petiveria alliacea* L., *Lippia alba* (Mill.)

N.E.Br. ex Britton e P.Wilson, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. e *Sedum praealtum* A. de Candolle podem ser cultivados em áreas infestadas por *M. paranaensis*, *Ocimum basilicum* L., *Plectranthus barbatus* Andrews. e *Mentha pulegium* L. foram suscetíveis e possivelmente irão aumentar a população de *M. paranaensis* no solo, proporcionalmente aos valores do FR.

Dias-Arieira et al. (2012) avaliaram a reação de algumas hortaliças e plantas aromáticas quando parasitadas por *M. incognita* e *M. javanica*, observou-se que nas alfaces Mimosa cv. Salad Bowl, Elizabeth, Elisa, e Vera o número de galhas e o FR de *M. javanica* foi superior ao observado para a testemunha, enquanto para as demais oleráceas, os maiores números de galhas e ovos foram para as cultivares de chicória e para manjericão. A maior suscetibilidade a *M. incognita* foi observada para a alface Mimosa cv. Salad Bowl, para as cultivares de chicória, salsa cv. Graú-da Portuguesa e manjericão. Apenas manjerona apresentou número de galhas de *M. incognita* igual à zero.

2.5 HISTOPATOLOGIA DE *MELOIDOGYNE* SPP.

Os estudos histológicos, citoquímicos e da ultra-estrutura do síncito e tecidos radiciais adjacentes têm contribuído para os conhecimentos da interação entre hospedeiro e parasita (ENDO, 1971; MORITZ et al., 2008).

A investigação em nível de histologia desses sítios de alimentação e contribuem para elucidar as complexas interações entre nematoides e plantas hospedeiras. Os J₂ do nematoide de cistos da soja (*Heterodera glycines*) penetram na raiz da planta após a eclosão dos ovos, migram intracelularmente através do córtex, inserem seu estilete nas células do córtex, da endoderme ou do periciclo e induzem à formação do síncito (ENDO, 1975).

O J₂ perfura as células com seu estilete introduzindo o produto de suas glândulas esofagianas e incitando assim o surgimento das células gigantes. A secreção produzida pelas glândulas esofagianas é composta por lisina, histidina, arginina, glicoproteínas e peroxidases (HUSSEY; SASSER, 1973). Essas células gigantes tomam-se multinucleadas e altamente vacuoladas, na proporção de quatro células gigantes para um nematoide. Esse conjunto de células suporta o desenvolvimento dos juvenis até sua transformação em fêmeas maduras, o que ocorre aos 30 dias após a inoculação (ORION; WERGIN; ENDO, 1980). Portanto, quanto maior

o número de juvenis presentes nos tecidos radiciais, maior será o número de células gigantes formadas.

Os nematoides formadores de galhas estão envolvidos em complexas interações com seus hospedeiros, induzindo inúmeras alterações na estrutura das células, tornando-as células gigantes ou nutridoras (SIJMONS; ATKINSON; WYSS, 1994), que aumentam de tamanho e passam a fornecer alimento ao juvenil que se torna sedentário.

Bird e Loveys (1975) e McClure (1977) sugerem a existência da relação nematoide e floema, relatando que os componentes orgânicos requeridos para o desenvolvimento do parasita são provenientes, em parte, dos produtos derivados da fotossíntese, sendo translocados para o nematoide via floema. Entretanto, Ogbuji (1976), Gravato-Nobre e Evans (1998) e Asmus et al. (2000) relatam haver relação dos nematoides e células gigantes com os elementos de vaso do xilema.

As mudanças anatômicas causadas pelo parasitismo de *Meloidogyne* spp. em raízes podem levar à alteração do cilindro vascular (formato circular para elíptico), diminuição da absorção de nutrientes, bem como aumento total da massa de raízes pelo efeito combinado da emissão de raízes secundárias nos locais de parasitismo e pela formação das galhas propriamente ditas (CARNEIRO; ALTEIA, 1990; KIRKPATRICK; OOSTERHUIS; WULLSCHLEGER, 1991; ABRÃO; MAZZAFERA, 2001). Ferraz e Monteiro (1995) observaram que outras células menores, formadas próximas às células gigantes, são produzidas para assimilação e transferência do alimento.

As alterações na estrutura anatômica explica a relação nematoide-hospedeiro, através da formação de células gigantes que provocam acentuadas modificações na faixa cambial (ANDRADE et al., 2003). Alterações cambiais foram observadas por Asmus, Ferraz e Appezzato-da-Glória (2000) em raízes de um híbrido de milho por *M. javanica*, os quais verificaram nas raízes com leves engrossamentos, a presença de células gigantes multinucleadas associadas ao nematoide, restritas ao parênquima vascular. Algumas células do parênquima cortical apresentaram hipertrofia, havendo a obstrução de parte dos elementos de vaso do xilema e a desorganização do cilindro vascular. Observaram, ainda, elevado conteúdo proteico e paredes espessas por substâncias pécticas nas células gigantes multinucleadas.

Castillo (2001) estudou a interação hospedeiro-patógeno entre *M. arenaria* raça 2 e amoreira branca e Di Vito, Vovlas e Castillo (2004) estudaram a re-

lação entre *M. incognita* e espinafre. Nestes estudos os nematoides induziram a formação de galhas, os sítios de alimentação foram caracterizados pelo desenvolvimento das células gigantes as quais apresentaram citoplasma granular e muitos núcleos e nucléolos hipertrofiados. Os tecidos vasculares sofreram hipertrofia e hiperplasia, mostrando uma desorganização dos elementos do xilema e de células do floema primário.

Carneiro et al. (2005) estudaram o mecanismo de resistência de genótipos de algodoeiro a *M. incognita* raça 3 através de histopatologia comparada entre cultivar resistente e suscetível, embora os J₂ tenham penetrado nas raízes dos dois genótipo, o desenvolvimento dos juvenis foi seriamente comprometido no genótipo resistente ocorrendo mal estabelecimento e células gigantes de tamanho reduzido, não suportando a alimentação de fêmeas normais em oviposição, resultando em baixa reprodução.

Moritz et al. (2008), observaram severas alterações nos tecidos vasculares de células de soja em resposta à presença das células gigantes e do nematoide, com interrupções e distorções de elementos do xilema e floema, com áreas no cilindro central ocupadas por células gigantes e partes do nematoide, concluíram que em ambos os cultivares os sítios de alimentação foram formados no cilindro vascular, entretanto, no cultivar suscetível o número de células gigantes foi superior ao do cultivar resistente.

Pontes et al. (2009) avaliaram seis genótipos de melancia quanto ao número de núcleos por células gigantes aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação com *M. mayaguensis*, aferindo a fecundidade e a produção de ovos. Dois genótipos apresentaram as mais baixas taxas de reprodução do nematoide e menor número de núcleos por células gigantes, confirmando a reação de resistência.

É importante a realização de estudos anatômicos radiciais, pois cultivares tidos como resistentes, na presença de *Meloidogyne* spp., podem apresentar a formação de células gigantes e hipertrofia de células parenquimáticas, provocando a obliteração de parte dos elementos de vaso do xilema e a desorganização total do cilindro vascular (ASMUS; FERRAZ; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2000; WANDERLEY; SANTOS, 2004), bem como auxiliam na compreensão dos mecanismos de parasitismo dos nematoides, colaborando para a escolha de plantas a serem utilizadas no manejo de populações de nematoides.

3 ARTIGO A

RESISTÊNCIA DE PLANTAS MEDICINAIS A *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*

3.1 RESUMO: Problemas fitossanitarios causados por nematoides comprometem quali e quantitativamente a produção de plantas medicinais, dessa forma, objetivou-se avaliar a hospedabilidade e conhecer as alterações histopatológicas envolvidas nas interações planta-nematoide das espécies medicinais *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf., *Eucalyptus globulus* L. e *Mentha piperita* L. em função do parasitismo de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) e *M. paranaensis* (Carneiro et al., 1996) em casa de vegetação. Para tanto, as plantas medicinais foram inoculadas com 6.000 ovos de *M. javanica* e *M. paranaensis*, separadamente, e conduzidas em casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições. Decorridos 60 dias da inoculação, foram mensurados altura, massa (fresca e seca) de parte aérea, massa de raiz, número de massas de ovos, número de ovos por sistema radicial e fator de reprodução. Segmentos de raízes normais e com engrossamentos/galhas dessas plantas medicinais foram coletados, incluídos em parafina e submetidos a cortes histológicos transversais. As secções cortadas foram fixadas e coradas com azul de toluidina (1%). As alterações anatômicas foram fotografadas e analisadas em microscopico de luz. Os resultados obtidos indicaram que *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* e *M. piperita* comportaram-se como resistentes aos nematoides avaliados. Enquanto *A. vera* foi considerada suscetível a ambos os nematoides. Nas avaliações histológicas *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* não tiveram alterações observadas, caracterizado pela falha no estabelecimento dos sítios de alimentação, devido a resistência dessas plantas ao *M. javanica* e *M. paranaensis*. Entretanto, mesmo com a resistencia de *M. piperita*, nos segmentos com galhas observou-se células plásticas e hipertróficas com formação de células gigantes e obliteração de vasos do xilema. Enquanto que em *A. vera* considerada suscetível as duas espécies de *Meloidogyne*, tiveram ocorrência de células hiperplásicas e hipertróficas com compressão dos vasos do xilema, sem observação de células gigantes.

Palavras chaves: Células gigantes. Suscetibilidade. Nematoide. Alteração anatômica. Galhas. Parasitismo.

3.2 ABSTRACT: Phytosanitary problems caused by nematodes affect qualitatively and quantitatively the production of medicinal plants, therefore, aimed to evaluate the hosting ability and know the histopathologic changes involved in interactions plant-nematode of medicinal species *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* DC Stapf., *Eucalyptus globulus* L. and *Mentha piperita* L. due to parasitism of *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) and *M. paranaensis* (Carneiro et al., 1996) in greenhouse. Therefore, medicinal plants were inoculated with 6,000 eggs of *M. javanica* and *M. paranaensis* separately and conducted in a greenhouse. The experimental design was completely randomized with 10 replications. After 60 days of inoculation, we measured height, weight (fresh and dry) shoot, root mass, number of egg masses, number of eggs per root system and reproduction factor. Segments of normal roots and thickenings/galls of these medicinal plants were collected, embedded in paraffin and subjected to histological cross. The cut sections were fixed and stained with toluidine blue (1%). Anatomical changes were photographed and analyzed microscopically. The results indicated that *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* and *M. piperita* behaved as resistant to nematodes evaluated. While *A. vera* was considered susceptible to both nematodes. In the evaluations histological *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* had no observed changes, characterized by the failure to establish feeding sites due to resistance of these plants to *M. javanica* and *M. paranaensis*. However, even with the resistance of *M. piperita*, segments with galls, was observed with cells hypertrophic and hyperplastic, giant cell formation and obliteration of xylem vessels. While in *A. vera* considered susceptible to both *Meloidogyne* species, had occurrence of cells hyperplastic and hypertrophic with compression of the xylem vessels, without observation of giant cells.

Keywords: Giant cells. Susceptibility. Nematodes. Change anatomical. Root knot. Parasitism.

3.3 INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são aquelas que possuem, em um ou mais órgãos, substâncias utilizadas com finalidade terapêutica, ou que sejam ponto de partida para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos. E os compostos quimicamente ativos responsáveis pela ação terapêutica são denominados “princípios ativos” (MARTINS; CASTRO; CASTELLANI, 2003).

Entretanto, as plantas medicinais, nativas ou cultivadas, podem ser hospedeiras de parasitas como ácaros, fungos, nematoides (MICHELE, 1996), o que pode comprometer qualitativa e quantitativamente as substâncias biologicamente ativas e sua produção (MARGINA; ZHELJAZKOV, 1996; KARL; SOUZA; MATTOS, 1997).

O controle de *Meloidogyne* spp. é dificultado pela sua alta capacidade reprodutiva, ampla gama de hospedeiros e sua adaptação a diferentes condições e ecossistemas (FERRAZ, 1985). O controle de pragas e doenças nessas plantas

pode ser difícil, uma vez que não há pesticidas registrados para o controle em plantas medicinais (TRUEMAN; WICK, 1996).

A resistência e a suscetibilidade de plantas referem-se à habilidade evidenciada na supressão do desenvolvimento e da reprodução de determinadas espécies de nematoides. Plantas altamente resistente possibilitam taxas de reprodução muito restritas dos parasitos, ao passo que as suscetíveis permitem abundante reprodução (SILVA, 2001).

Foi observada imunidade de *Jatropha curcas* L. a *M. javanica*, no entanto, esta planta foi suscetível a *Rotylenchulus reniformis* (FERNANDES; ASMUS, 2007). Em outro trabalho Rosso e Asmus (2010) constataram a imunidade de *Jatropha curcas* L. quando parasitado por *Heterodera glycines*.

Mônaco et al. (2011) avaliaram quatorze espécies de plantas medicinais quanto à resistência a *M. paranaensis*. Os resultados obtidos indicaram que *Artemisia dracunculoides* L., *Taraxacum officinale* Wiggers, *Matricaria recutita* L., *Melissa officinalis* L., *Hyssopus officinalis* L., *Petiveria alliacea* L., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton e P.Wilson, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. e *Sedum praealtum* A. de Candolle podem ser cultivados em áreas infestadas por *M. paranaensis*, *Ocimum basilicum* L., *Plectranthus barbatus* Andrews. e *Mentha pulegium* L. foram suscetíveis e possivelmente irão aumentar a população de *M. paranaensis* no solo, proporcionalmente aos valores do FR.

Dias-Arieira et al. (2012) avaliaram a reação de algumas hortaliças e plantas aromáticas quando parasitadas por *M. incognita* e *M. javanica*, observou-se nas alfaces Mimosa cv. Salad Bowl, Elizabeth, Elisa, e Vera o número de galhas e o FR de *M. javanica* foi superior ao da testemunha, a maior suscetibilidade a *M. incognita* foi observada para a alface Mimosa cv. Salad Bowl, chicória, salsa cv. Graúda Portuguesa e manjeriço. Apenas manjerona apresentou número de galhas de *M. incognita* igual à zero.

Asmus, Ferraz e Appezzato-da-Glória (2000), estudando alterações anatômicas induzidas em raízes de um híbrido de milho, verificaram nas raízes com leves engrossamentos, a presença de células gigantes multinucleadas associadas ao nematoide.

Severas alterações nos tecidos vasculares de raízes infectadas com nematoide já foram observadas em diferentes hospedeiros, em resposta à presença de células gigantes (LORENZO et al., 2004), assim como a quebra ou a deformação

de vasos e alterações no número de arestas do xilema (DEL PRADO; CÁRDENAS, 1995).

Em estudo de histopatologia comparativa entre cultivares de soja resistentes e suscetíveis a *M. paranaensis*, Moritz et al. (2008) concluíram que em ambos os cultivares os sítios de alimentação foram formados no cilindro vascular, entretanto, na cultivar suscetível o número de células foi superior ao da cultivar resistente.

Diante da importância das plantas medicinais, não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recursos econômicos, torna-se fundamental focar atenção na reação dessas plantas aos nematoides, uma vez que estas podem hospedar e aumentar as populações desse parasita no solo, bem como comprometer suas características medicinais em decorrência do parasitismo (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010).

Em vista do exposto, uma prévia seleção de plantas medicinais cultivadas no Brasil e presentes na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), com capacidade de gerar produtos de interesse ao Ministério da Saúde, desenvolveu-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar a hospedabilidade e conhecer as alterações histopatológicas envolvidas nas interações planta-nematoide das espécies medicinais *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf., *Eucalyptus globulus* L. e *Mentha piperita* L. em função do parasitismo de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) e *M. paranaensis* (Carneiro et al., 1996) em casa de vegetação.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em condições controladas de casa de vegetação da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina-PR, em delineamento inteiramente casualizado com dez repetições, seguido de avaliações histopatológicas nos Laboratórios de Fitopatologia, Laboratório de Apoio à Pesquisa Agropecuária e Laboratório de Anatomia Vegetal.

As espécies de plantas medicinais estudadas (Tabela 1) foram obtidas através de sementes e propagação vegetativa. As sementes foram colocadas para germinar em bandejas de isopor contendo substrato comercial Tropstrato. Enquanto as partes vegetativas foram coletadas no Horto Florestal da

UEL, acondicionadas em sacos pretos de polietileno, com substrato esterilizado de esterco curtido + palha de arroz carbonizada (1:1) e mantidas em casa de vegetação.

Após o desenvolvimento da quinta folha definitiva para as sementes e novas folhas para as estacas, foi realizado o transplante de uma planta de cada espécie por vaso de 3 L, contendo substrato areia + solo de barranco (2:1) previamente esterilizado.

Tabela 1 – Nomes científicos, popular e forma de propagação das espécies medicinais avaliadas quanto à alteração histopatológica de raízes parasitadas por *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*.

Nome científico	Nome popular	Formas de propagação
<i>Achillea millefolium</i>	mil-folhas	estacas
<i>Aloe vera</i>	babosa	clones
<i>Cymbopogon citratus</i>	capim-limão	rametas
<i>Eucalyptus globulus</i>	eucalipto	sementes
<i>Mentha piperita</i>	hortelã	estacas

As populações de *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* utilizadas foram provenientes de plantas de tomateiro cv. ‘Santa cruz’, mantidas em casa de vegetação da UEL. As raízes infectadas foram coletadas após 60 dias de cultivo, processadas de acordo com a técnica proposta por Boneti e Ferraz (1981) obtendo-se suspensões de ovos calibradas para 1500 ovos + J₂ mL⁻¹.

Os inóculos de *M. javanica* e *M. paranaensis* foram distribuídos na região da rizosfera, em orifícios com cerca de dois cm de profundidade feitos ao redor de cada planta, utilizando-se 5 mL da suspensão, cada nematoide separadamente. Plantas sadias (não inoculadas com nematoide) de cada espécie medicinal foram usadas como testemunhas. Tomateiros cv. ‘Santa cruz’ foram utilizados como testemunha da viabilidade de inóculos dos nematoides.

Sessenta dias após a inoculação (DAI), as raízes foram separadas da parte aérea e lavadas em água corrente para posterior avaliação, foram mensurados altura, massa (fresca e seca) da parte aérea e massa fresca de raiz.

Em seguida, as raízes foram lavadas e colocadas em solução aquosa de floxina B (15 mg L⁻¹), deixando por 15 – 20 minutos (TAYLOR; SASSER, 1978) para evidenciar as massas de ovos das duas espécies de *Meloidogyne*. Após

utilizou-se um bisturi sob microscópio estereoscópico, para seccionar segmentos com e sem galhas, de 1,0 cm de comprimento das raízes de cada espécie medicinal.

Após a contagem das massas de ovos, as raízes foram processadas através da técnica de Boneti e Ferraz (1981), para a extração dos ovos e determinação do fator de reprodução ($FR = n^\circ \text{ de ovos final} / n^\circ \text{ de ovos inicial}$) segundo Oostenbrink (1966). Foram consideradas plantas com FR menor que 1 como resistentes, as plantas com FR maiores ou iguais a 1 como suscetíveis e FR igual a zero como imunes.

Os segmentos de raiz foram imediatamente fixados em solução FAA 70% (5 mL de formaldeído 37%, 5 mL de ácido acético glacial e 90 mL de álcool etílico 70%), e depois desidratados em séries de 70, 80, 90 e 100% de álcool etílico (JOHANSEN, 1940). Para a clarificação utilizou-se Xilol, incorporado em séries gradativas de 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 (álcool:xilol) até o xilol puro. Após o envolvimento em xilol puro foi realizada a inclusão dos segmentos de raiz em parafina, primeiramente em forma de lentilhas, e posterior em parafina fundida, mantidos por uma hora na estufa a 55°C. Foram realizadas duas trocas de parafina pura, deixando-se o material, a cada troca, por mais uma hora na estufa.

A seguir, o material foi emblocado com parafina em pequenas formas, deixando-se esfriar em gelo até a completa solidificação do bloco. As amostras dos segmentos radiciais emblocados foram desenformadas, identificadas e afixadas em cubos de madeira, que serviram como suporte, e então, foram seccionadas transversalmente, com a utilização de um micrótomo rotatório Leica 2155, com 5 μm de espessura.

Foram feitos aproximadamente 7.000 cortes seriados para obtenção de regiões alteradas e saudáveis. As fitas de parafina contendo os cortes foram depositadas sobre água aquecida + gelatina (adesivo). Após as lâminas foram submetidas à desparafinização e coloração (azul de toluidina 1%), conforme a protocolo descrito na Tabela 2. Após a coloração, as lâminas foram fechadas utilizando-se glicerina 0,5% e lamínulas. Os cortes foram examinados e fotodocumentados em microscópio de luz.

Tabela 2 – Protocolo para desparafinização e coloração empregado na coloração dos cortes histológicos das raízes das plantas medicinais.

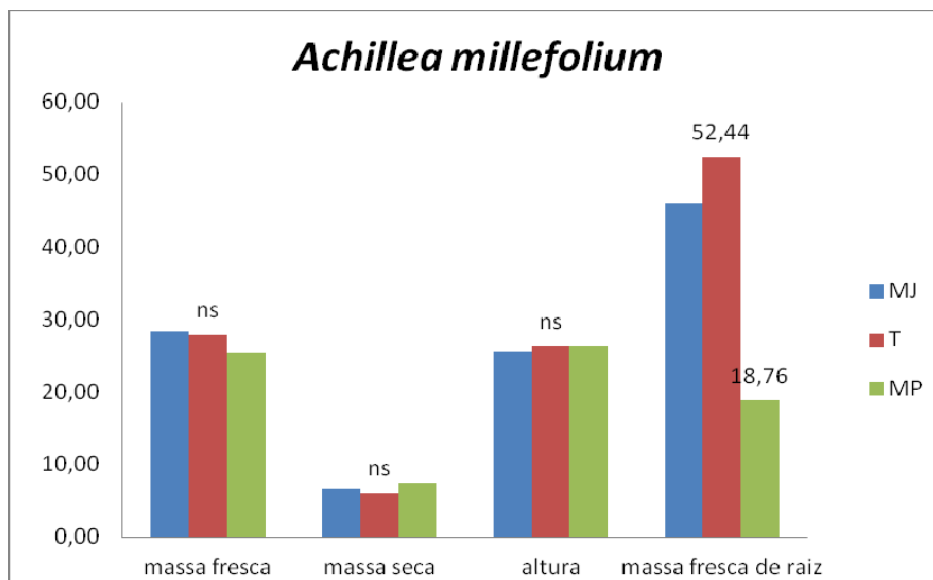
Passo	Solução	Tempo
1	Xilol	10'
2	Xilol	10'
3	Xilol - Etanol absoluto (1:1)	10'
4	Etanol 100%	5'
5	Etanol 95%	5'
6	Etanol 70%	5'
7	Etanol 50%	5'
8	Etanol 30%	5'
9	Água destilada	5'
10	Azul de toluidina 1%	15'
11	Água destilada	1'
12	Água destilada	1'

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e após rejeitar as igualdades das mesmas, as medias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de significância, sendo as variáveis altura, massa (fresca e seca) da parte aérea e massa fresca de raiz comparadas duas a duas e as variáveis número de massas de ovos, número de ovos por sistema radicial e fator de reprodução foram comparadas através de análise múltipla de medias.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

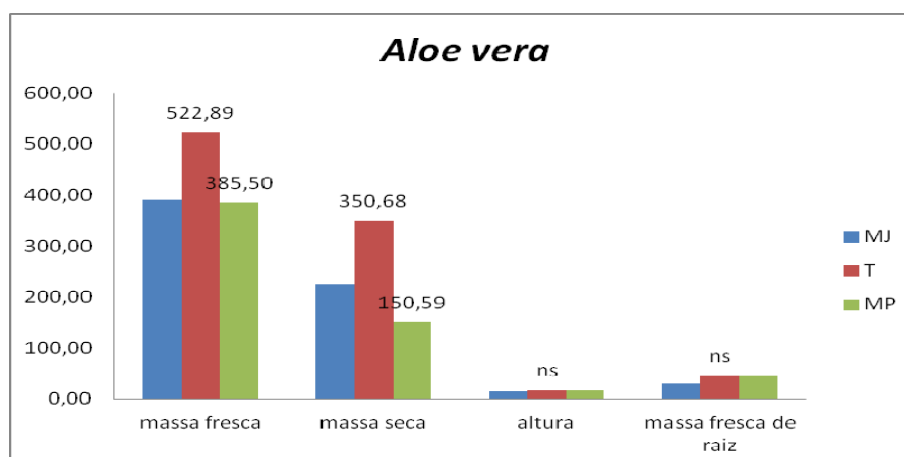
A viabilidade dos inóculos de *M. javanica* e *M. paranaensis* foi confirmada pelos número de ovos por sistema radicial encontrados em raiz de tomateiro cv. 'Santa Cruz', apresentando fator de reprodução médio de 50,8 e 67,0, respectivamente.

Gráfico 1 – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e massa fresca de raiz de *Achillea millefolium* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns).



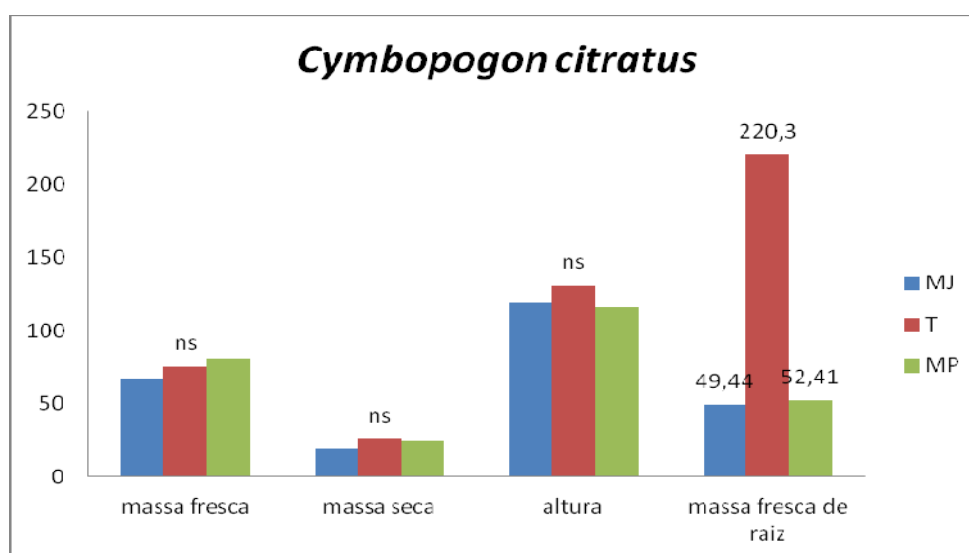
Observando os resultados de *Achillea millefolium* (Gráfico 1), houve diferença estatística apenas para a massa fresca de raiz quando parasitada por *M. paranaensis* comparada com a testemunha não inoculada, porém essa diminuição na massa radicial não interferiu no desenvolvimento da parte aérea, não apresentando diferença estatística.

Gráfico 2 – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Aloe vera* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns).



Aloe vera mostrou-se diferente estatisticamente para a massa fresca e seca de parte aérea em função do parasitismo de *M. paranaensis* (Gráfico 2), sendo a única espécie a apresentar diferença nesse parametro para o nematoide em questão. As espécies que não apresentaram diferenças em comparação às testemunhas, indicam que o parasitismo não causou redução no desenvolvimento vegetativo.

Gráfico 3 – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Cymbopogon citratus* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns).



Com relação a massa fresca de raízes, observou-se que *C. citratus* sofreu influência do parasitismo de *M. javanica* e *M. paranaensis*, com redução da massa de raiz em relação a testemunha não inoculada (Gráfico 3). Além disso as plantas de *C. citratus* apresentaram descamações nas raízes, com pontos necrosados em função do parasitismo de ambos nematoides estudados. O desenvolvimento perfeito do sistema radicial é de fundamental importância para o estabelecimento da planta e sua capacidade máxima produtiva (BAIDA et al., 2011).

A massa fresca e seca de parte aérea, das plantas de *E. globulus* (Gráfico 4) inoculadas com *M. javanica* apresentaram diferença significativa quando comparadas com sua testemunha não inoculada, mostrando uma maior produção de parte aérea, evidenciando a influência deste nematoide sobre as plantas. O

parasitismo de *M. paranaensis* afetou significativamente somente a altura da planta, não mostrando-se diferente estatisticamente nos demais parâmetros.

Gráfico 4 – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Eucalyptus globulus* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns).

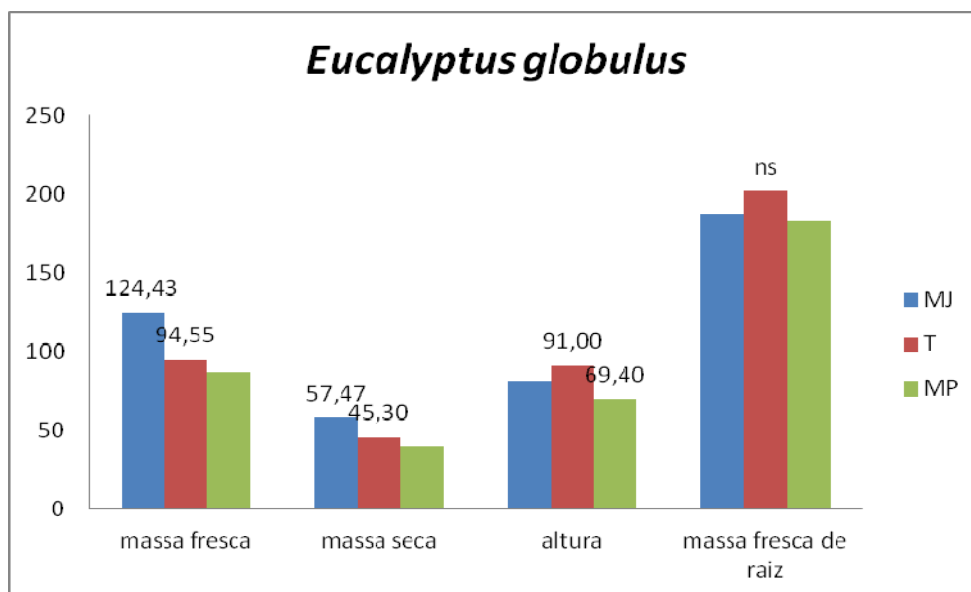
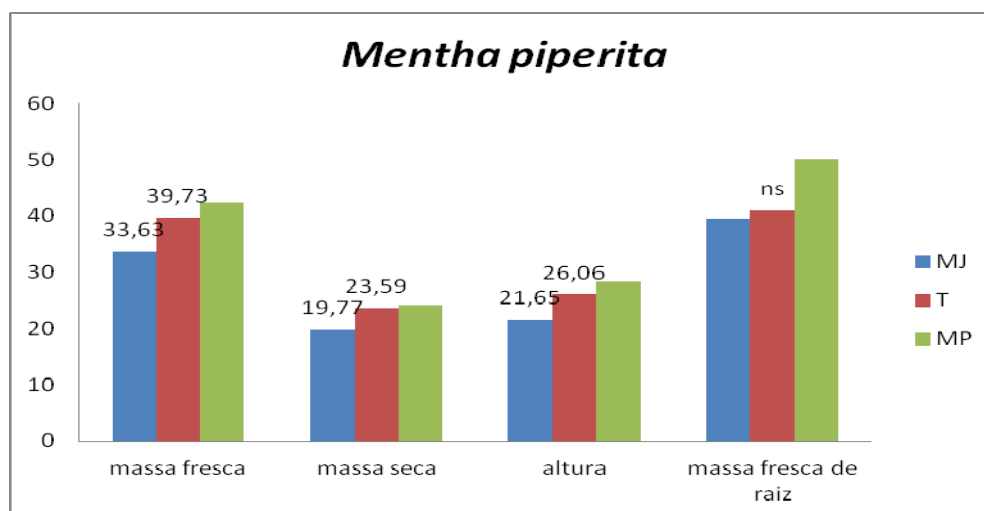


Gráfico 5 – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e peso de raiz de *Mentha piperita* inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, em comparação com a testemunha, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância. Não significativo (ns).



Observando os resultados para a espécie *M. piperita* (Gráfico 5) houve diferença entre as plantas inoculadas com *M. javanica* e a respectiva testemunha, para a massa fresca e seca de parte aérea e a altura, não apresentando diferença para a massa fresca de raiz. O parasitismo do *M. paranaensis* não apresentou diferenças significativas.

Tabela 3 – Comparação de médias para número de ovos+J₂, massas de ovos e fator de reprodução e reação da planta em relação à reprodução de *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* nas raízes das plantas medicinais.

Plantas medicinais	<i>Meloidogyne javanica</i>				<i>Meloidogyne paranaensis</i>			
	Massa de ovos	Ovos + J ₂ (Pf)	FR ³	R ⁴	Massa de ovos	Ovos + J ₂ (Pf)	FR ³	R ⁴
<i>Achillea millefolium</i>	0,00 ¹ b ²	13,41 b	0,04 b	R	0,00 ¹ b ²	18,75 b	0,03 b	R
<i>Aloe vera</i>	16,67 a	238,68 a	11,90 a	S	4,80 b	15680,00 a	2,61 a	S
<i>Cymbopogon citratus</i>	0,00 b	15,96 b	0,37 b	R	0,00 b	52,41 b	0,08 b	R
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,00 b	2,52 b	0,02 b	R	0,00 b	5,20 b	0,09 b	R
<i>Mentha piperita</i>	22,90 a	16,67 b	0,05 b	R	46,80 a	805,00 b	0,13 b	R
CV %	55,60	66,90	56,90		73,74	43,42	87,00	

¹ Dados referentes às médias de 10 repetições, sem transformação.

² Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. As letras são as representações dos dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ ", sendo para as variáveis $k = (0,01)$ e $(0,1)$.

³ Fator de Reprodução (FR=Pf/Pi).

⁴ Reação (S = suscetível, R = resistente, I = imune)

Quanto à variável número de massas de ovos, *A. vera* apresentou a maior média para ambos os nematoide avaliados, diferindo estatisticamente de todas as demais plantas. *Achillea millefolium*, *C. citratus* e *E. globulus* não favoreceram o desenvolvimento das massas de ovos de *M. javanica* e *M. paranaensis*, e produziram poucos ovos por matriz gelatinosa, quando esporadicamente encontrada na raiz. Plantas altamente resistentes possibilitam taxas de reprodução muito restritas dos parasitos, ao passo que as suscetíveis permitem abundante reprodução (SILVA, 2001).

Achillea millefolium foi a espécie mais desfavorável à raça 2 de *M. incognita*, com valores médios de IG (índice de galhas) e IMO (índice de massas de ovos) iguais a zero (MACIEL; FERRAZ, 1996).

Nota-se que para a variável número de ovos+J₂ totais, *A. vera* apresentou as maiores médias de reprodução para os dois nematoides, diferindo

estatisticamente das outras plantas, mostrando-se como boas hospedeiras. Entretanto, *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* e *M. piperita* não diferiram estatisticamente entre si, quando inoculadas com ambas as espécies de *Meloidogyne*.

Moritz, Simão e Carneiro (2003) observaram diferenças quanto a produção de ovos em cultivares resistentes e suscetíveis de milho, sendo que na cultivar resistente a produção de ovos foi menor, porém com formação de inúmeras galhas, tanto na cultivar suscetível quanto na resistente. Algumas espécies de plantas, também, podem rapidamente sintetizar compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, chamados fitoalexinas, em resposta à penetração de nematoide desfavorecendo a produção de ovos (HUANG, 1985).

Em relação à variável fator de reprodução (FR) verificou-se que *A. vera* foi suscetível para ambos os nematoides, enquanto *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* e *M. piperita* foram resistentes ao parasitismo de *M. javanica* e *M. paranaensis*. Mônaco et al. (2011) também observaram valores baixos de FR porém em outras plantas medicinais, indicando elevado nível de resistência de *Matricaria recutita*, *Melissa officinalis* e *Taraxacum officinale*.

O fator de reprodução é um parâmetro de avaliação importante para indicar a suscetibilidade de uma planta ao nematoide em condições controladas (INOMOTO, 2011), portanto merece destaque *A. millefolium*, *C. citratus*, *E. globulus* e *M. piperita* que confirmaram a resistência com médias de FR inferiores a 1 (um), que variaram de 0,02 - 0,37 para *M. javanica* e de 0,03 – 0,13 para *M. paranaensis*. Asmus e Andrade (1997) estudando a reprodução de *M. javanica* em plantas daninhas, usando o mesmo parâmetro, constataram que este se reproduziu melhor em *Bidens pilosa* e *Solanum americanum*, enquanto que *Sida rhombifolia* apresentou FR inferior a 1.

Os fatores de resistência podem decorrer de mecanismos que estão presentes antes do nematoide penetrar na raiz da planta, como os efeitos repelentes e/ou nematicidas de determinadas substâncias químicas presentes no exsudado radicial de algumas plantas (HUANG, 1985), como a substância α -Tertienil produzida pelo cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.).

Os resultados obtidos no estudo histopatológico para as espécies de plantas medicinais demonstraram que os juvenis infectivos (J₂) de *M. javanica* e *M. paranaensis* penetraram nas raízes das plantas medicinais, atravessando o córtex e

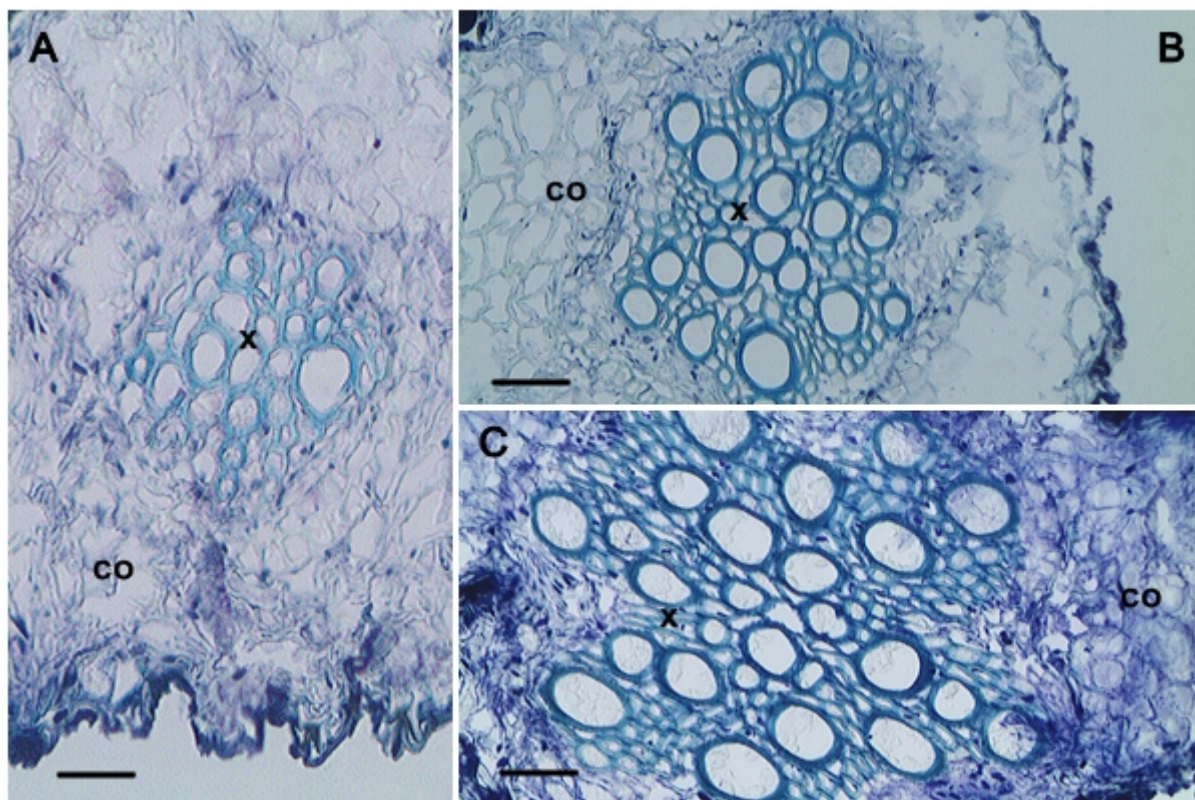
indo em direção ao cilindro central. Para atingí-lo, os J₂ romperam a epiderme e, em razão da passagem intracelular, causaram danos mecânicos às células do córtex. A penetração de juvenis de *Meloidogyne* após a inoculação já foi constatada em outros estudos (MORITZ et al., 2007; WESTERICH; ROSA; WILCKEN, 2011).

A coloração com azul de toluidina nos cortes gerou um bom contraste da parede celular com o conteúdo citoplasmático das células gigantes. O azul de toluidina corou de róseo o citoplasma e os vários núcleos nas células gigantes e, também, o nematoide, além de evidenciar o aumento da espessura das paredes celulares das células gigantes.

Verificou-se a má hospedabilidade da planta *Achillea millefolium* (Figura 1) para *M. javanica* e *M. paranaensis*, pelo fato de suas raízes não serem alteradas morfológicamente, sem formação de galhas. Alguns compostos são produzidos pela planta, durante o processo da doença, o que têm mostrado um papel crucial na resistência ao organismo invasor (NANDAKUMAR et al., 2001).

A resistência pode ocorrer por fatores contidos nos exudatos radiciais, incluindo uma resistência de pré-infecção, em que os nematoides não penetram nas raízes das plantas, devido à presença de produtos químicos, tóxicos ou antagonistas nos tecidos (PANDEY et al., 2000)

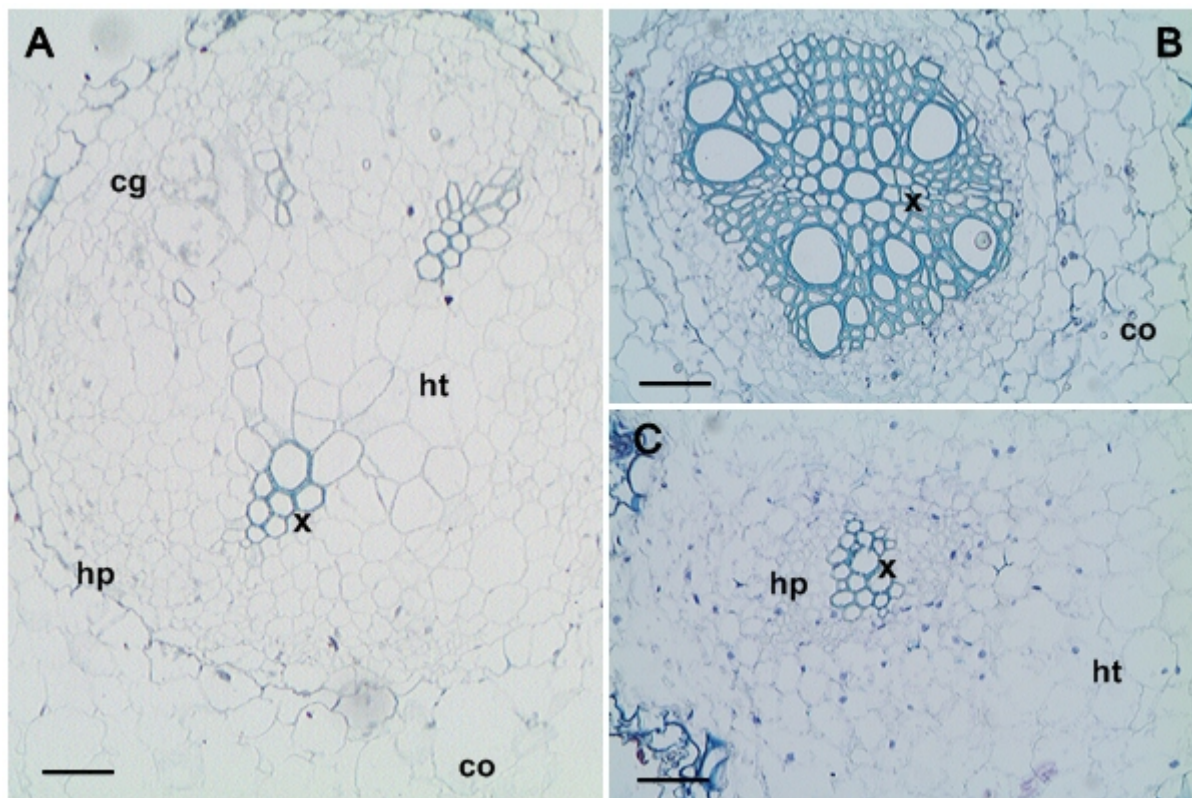
Figuras 1 – A) Raiz de *Achillea millefolium* não parasitada. B) Corte transversal de raiz *Achillea millefolium* parasitada por *Meloidogyne javanica*. C) Raiz de *Achillea millefolium* parasitada por *M. paranaensis*; co = córtex; x = xilema. Barra = 50µm.



O exame macroscópico das raízes de *A. vera* inoculadas revelou ocorrência de pequenas galhas (1 a 2 mm de diâmetro), principalmente na região de alongação da raiz. No entanto, observações histológicas (Figura 2A) mostram o ataque de *M. javanica* bem evidenciado, devido a presença de células gigantes, compressão de elementos de vasos do xilema, resultando em desorganização do cilindro central, que pode exercer importante interferência nos fluxos de água e de nutrientes na planta (HUSSEY, 1985).

Observou-se nas raízes atacadas pelo *M. paranaensis* (Figura 2C) a ocorrência de hiperplasia e hipertrofia das células parenquimáticas, estas sofrem repetidas endomitoses sem que ocorra a citocinese tornando-se células multinucleadas (KARSSSEN e MOENS, 2006), que expandem-se exercendo pressão sobre o cilindro central comprimindo os elementos de vasos do xilema, características não encontradas nas células de *A. vera* sem a presença do nematoide (Figura 2B), com cilindro central sem compressão e células do xilema em desenvolvimento normal.

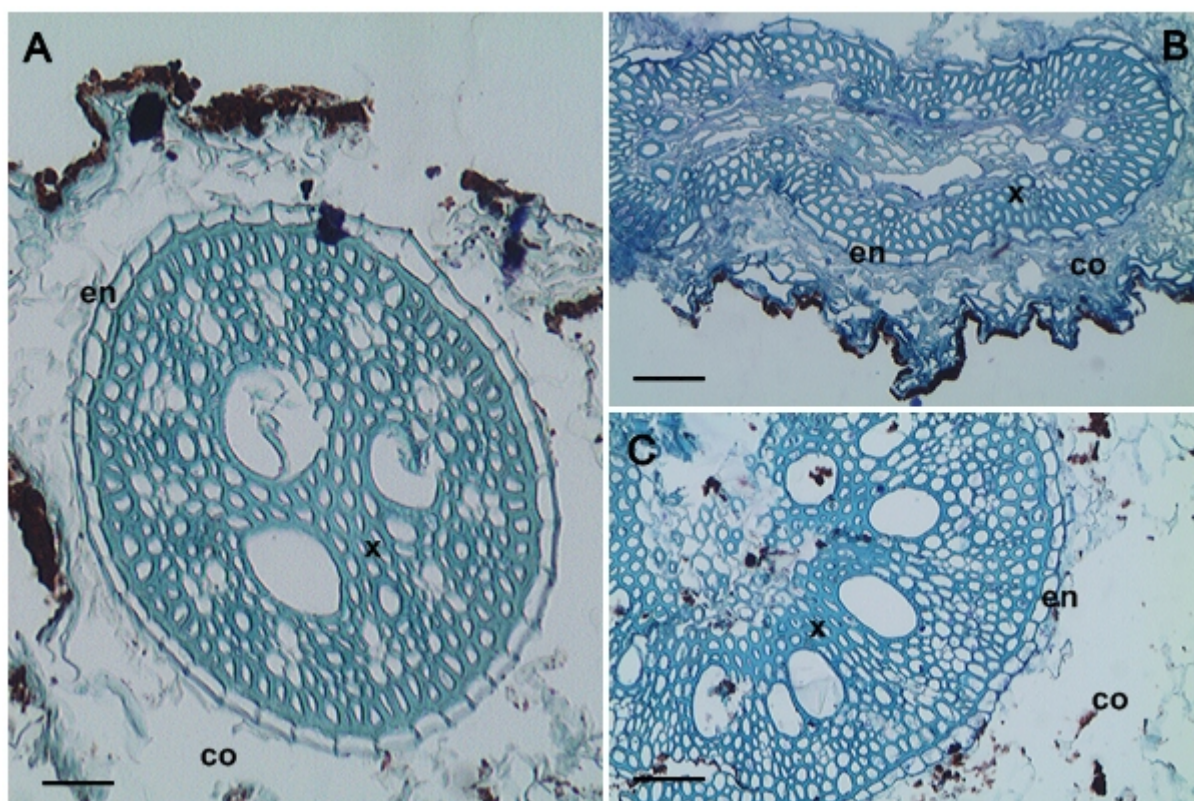
Figuras 2 – A) Corte transversal de raiz de *Aloe vera* parasitada por *Meloidogyne javanica* e conjunto de células gigantes comprimindo os elementos de vaso do xilema. B) Raiz de *A. vera* sem inoculação. C) Raiz de *A. vera* parasitada por *M. paranaensis*; co = córtex; x = xilema; cg = células gigantes; ht = hipertrofia das células; hp = hiperplasia das células. Barra = 50µm.



Pode-se observar que o insucesso do parasitismo de *M. javanica* e *M. paranaensis* em plantas de *C. citratus* (Figura 3). Segundo Dropkin (1969) e Ho et al. (1992), em plantas resistentes, os nematoides penetram nas raízes e migram em direção ao cilindro vascular não ocorrendo o desenvolvimento do sítio de alimentação, havendo também a formação de número maior de machos.

De acordo com Lopes et al. (2005), compostos aplicados nas plantas podem ser liberados via exsudados radiciais, atuando contra os nematoides. Alguns compostos presentes nos óleos essenciais produzidos pelas plantas medicinais podem atuar diretamente sobre o patógeno ou serem indutores de resistência, neste caso envolvendo a ativação de mecanismos de defesa latentes das plantas (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003), como a deposição de lignina nas paredes das células.

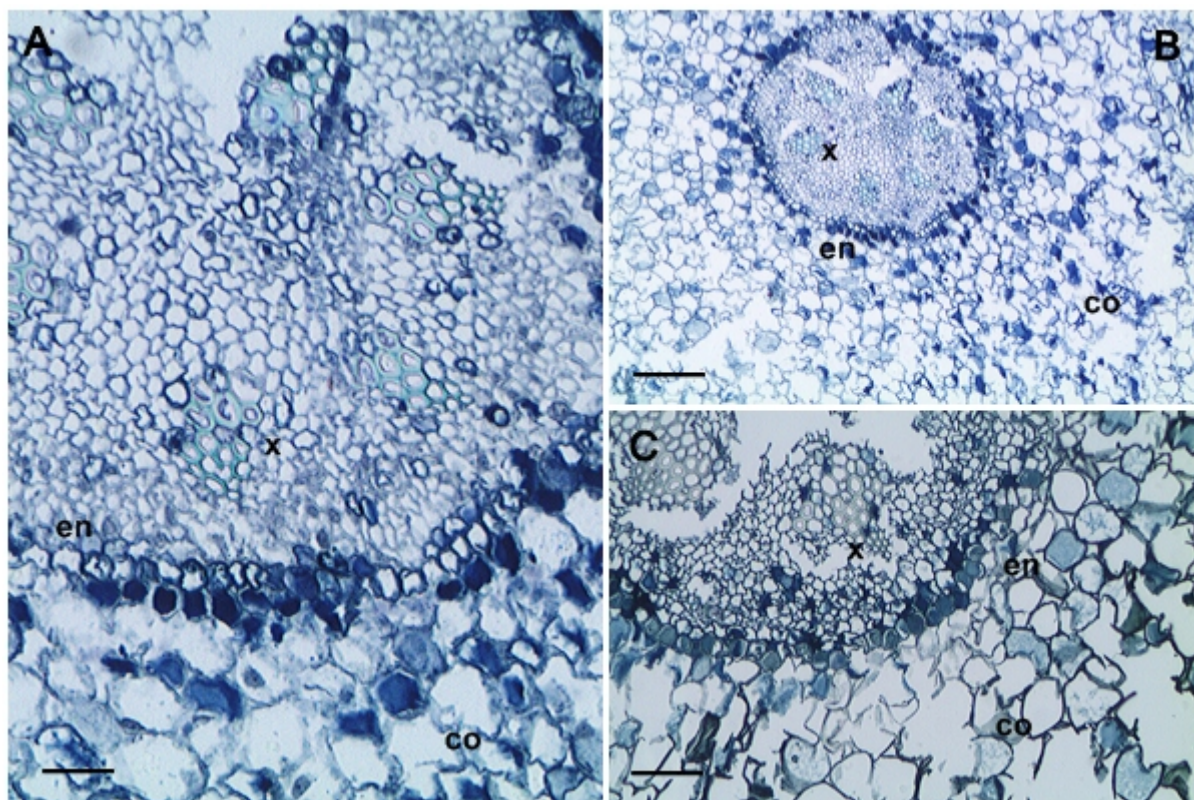
Figuras 3 – A) Raiz de *Cymbopogon citratus* sem inoculação. B) Raiz *C. citratus* parasitadas por *M. javanica*. C) Raiz de *C. citratus* parasitada por *M. paranaensis*. co = córtex; x = xilema; en = endoderme. Barra = 50 µm.



Não houve diferença apresentada nos cortes transversais de *E. globulus* entre as plantas inoculadas e a testemunha (Figuras 4), em todos os cortes avaliados observou-se normalidades morfológicas e histológicas. Ou seja, as plantas de eucalipto comportaram-se como resistentes a *M. javanica* e *M. paranaensis*.

A utilização de metabólitos secundários na forma de óleos essenciais de plantas de eucalipto pode causar efeito antagônico a certos micro-organismos (BATISH et al., 2008). O principal constituinte deste óleo é o eucaliptol que apresentou atividade tóxica *in vitro* sobre a forma jovem do nematóide *Anisakis simplex* (NAVARRO et al., 2008), e também apresentou toxicidade *in vitro* sobre as juvenis de *Meloidogyne incognita* (PANDEY et al., 2000). Contudo, outros fatores de resistência deveriam ser estudados para melhor explicar esta associação, pois estudos têm demonstrado correlação entre a atividade de enzimas como a β -1,4 endoglucanase e resistência de planta a fitonematoides (DAVIS et al., 2002).

Figuras 4 – A) Corte transversal de raiz de *Eucalyptus globulus* sem inoculação. B) Raiz de *E. globulus* parasitada por *M. javanica*. C) Raiz de *E. globulus* parasitada por *M. paranaensis*; co = córtex; x = xilema; en = endoderme. Barra = 50 μ m.

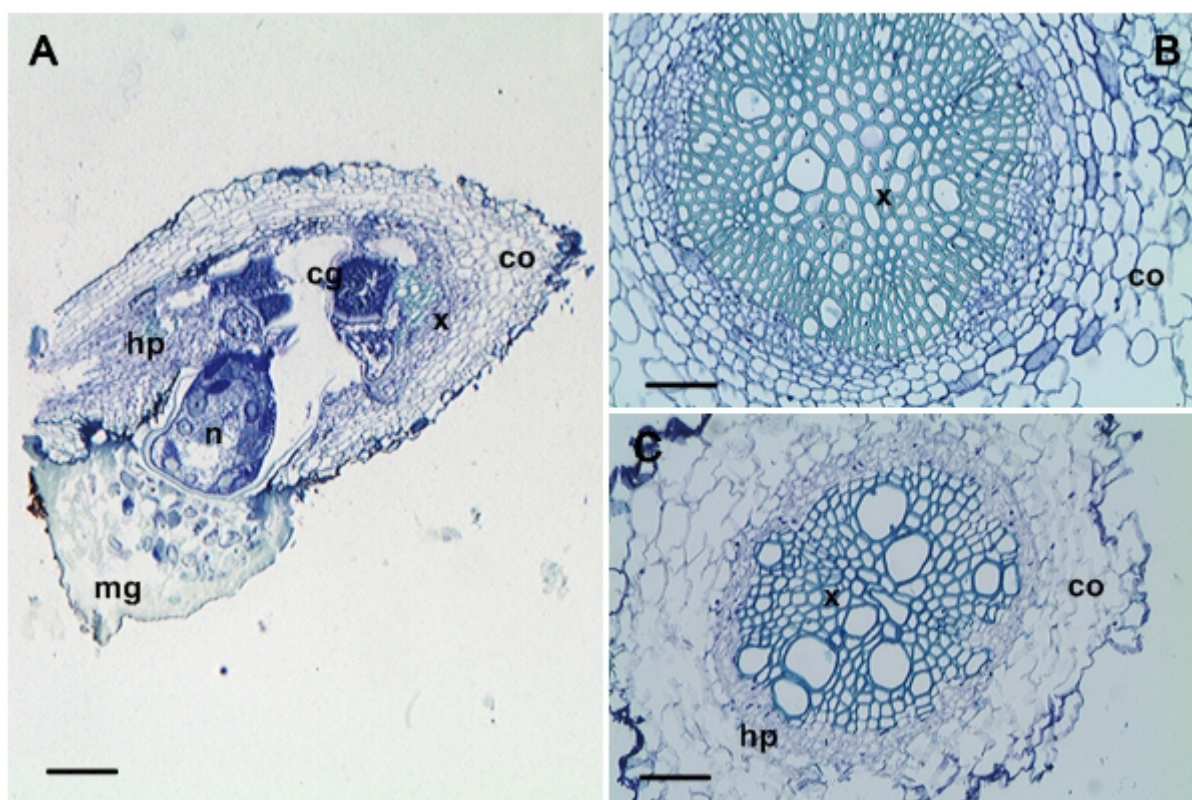


Embora esporádicas e pouco evidentes a olho nú, galhas foram formadas na raízes de *M. piperita* (Figura 5). No entanto parasitadas por *M. javanica* (Figura 5C), não se observou células gigantes em atividade com citoplasma denso, somente células com paredes normais, que podem ser com a testemunha (Figura 5A) que apresentou células do cilindro central com desenvolvimento e crescimento dos vasos do xilema organizado.

Nas raízes de *M. piperita* parasitadas por *M. paranaensis* (Figura 5A), observou-se galhas pequenas, porém desenvolvidas com as fêmeas associadas ao grupo de células gigantes, causando completa desorganização dos tecidos. O aumento da atividade metabólica das células gigantes estimula a mobilização de produtos fotossintéticos da parte aérea para as raízes, em particular, para as células gigantes. Essa ação de dreno de açúcares das células gigantes formadas por *M. incognita* e por *M. javanica* em plantas de soja foi demonstrada por Carneiro, Mazzafera e Ferraz (1999).

A desorganização dos tecidos, causada pela presença do sítio de alimentação no cilindro vascular, provocou a compressão e destruição do xilema (Figura 15A), como também relatado por Asmus et al., (2000), trabalhando com *Zea mays* parasitado por *M. javanica*.

Figuras 5 – A) Corte de raiz de *Mentha piperita* parasitada por *Meloidogyne paranaensis* mostrando uma fêmea (n) e um conjunto de células gigantes, multinucleadas, com cilindro central obliterado. Barra = 100µm. B) Raiz de *M. piperita* sem inoculação. C) Raiz de *M. piperita* parasitada por *M. javanica*, com células do parenquima apresentando hiperplasia. co = córtex; x = xilema; n = nematoide; cg = células gigantes; hp = hiperplasia das células; mg = matriz gelatinosa. Barra = 50µm.

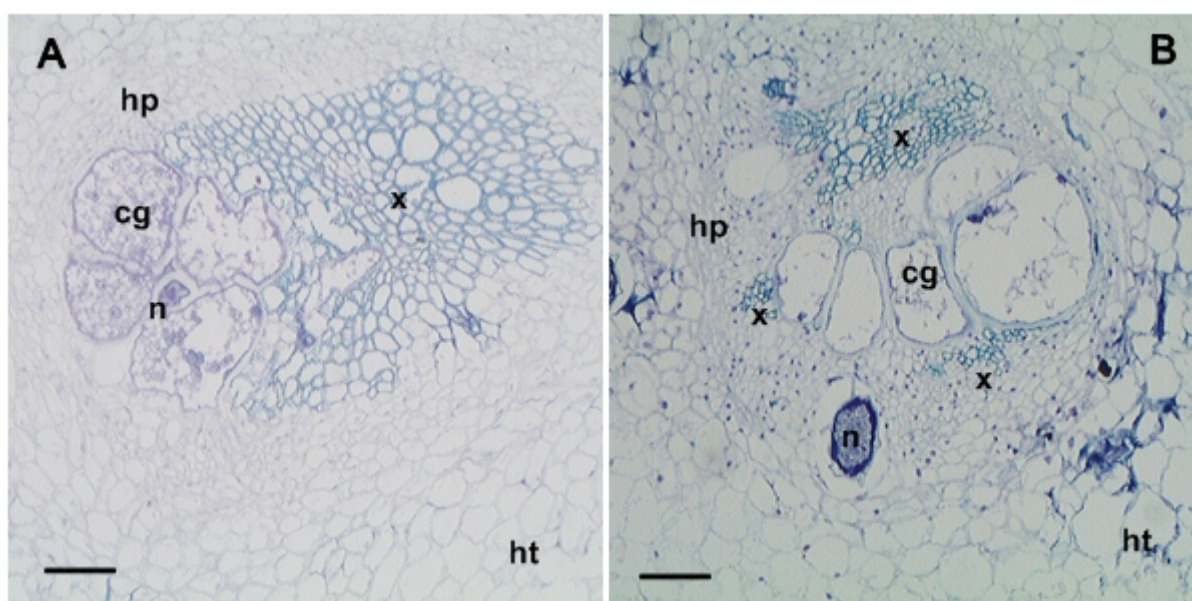


Plantas de tomate cv. 'Santa cruz' foram utilizadas para comparar as alterações anatômicas decorrentes da presença de *M. javanica* e *M. paranaensis* (Figura 6A). Verificou-se que *M. javanica* penetrou e desenvolveu-se normalmente, formando sítios de alimentação ligados a quatro células gigantes multinucleadas (Figura 6A), com hiperplasia e hipertrofia nas células do parênquima cortical, exercendo pressão sobre o cilindro central.

A presença das células gigantes no cilindro vascular sugere um possível comprometimento de suas funções, através da alteração de sua quantidade e tamanho, acarretando em redução do transporte de água e nutrientes pelo xilema (DORHOUT; GOMMERS; KOLLÖFFEL, 1991). Fêmeas associadas ao sítio de alimentação (Figura 6) caracteriza este sítio como eficiente para a nutrição do nematoide, como afirmaram Silva, Ferraz e Santos (1990) em raízes de tomateiro parasitadas por *M. javanica*.

Da mesma maneira para *M. paranaensis* (Figuras 6B), a relação parasita-hospedeiro foi comprovada no cilindro central com formação de sítios de alimentação, constituídos pela presença de várias células gigantes, caracterizadas pela ocorrência de citoplasma denso e granuloso, células multinucleadas, elementos vasculares apresentaram-se comprimidos e desorganizados, observando-se também hipertrofia de células do parênquima cortical.

Figura 6 – A) Corte transversal de raiz de *Lycopersicon esculentum* L. cv. 'Santa clara' parasitada mostrando uma fêmea de *M. javanica* e conjunto com quatro células gigantes multinucleadas distorcendo os elementos de vaso do xilema. B) Raiz de *L. esculentum* parasitada por *M. paranaensis* apresentando três nematoides associados ao conjunto de células gigantes, com obliteração dos vasos do xilema; x = xilema; n = nematoide; cg = células gigantes; ht = hipertrofia das células; hp = hiperplasia das células.



3.6 CONCLUSÃO

As plantas *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus globulus* e *Mentha piperita* comportaram-se como resistentes. Enquanto *Aloe vera* foi suscetíveis a ambos os nematoides.

Considerando-se a resistência de *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus globulus* não foi observado nenhuma alteração morfológica nas raízes. Entretanto, *Aloe vera* para ambos os nematoides e *Mentha piperita* para *M. paranaensis*, foi possível identificar alterações anatômicas que permitiram o sucesso do parasitismo.

3.7 REFERÊNCIAS

ALVES, R. R. N., ROSA, I.L. Zootherapeutic practices among fishing communities in North and Northeast Brazil: A comparison. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 82-103, 2007.

ASMUS, G. L., FERRAZ, L. C. C. B, APPEZZATO-DA-GLÓRIA B. Anatomical changes in corm (*Zea mays* L.) roots caused by *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**. v. 30, p. 33-39, 2000.

ASMUS, G. L., ANDRADE, P. J. M. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em algumas plantas daninhas de ocorrência frequente na região oeste do Brasil. **Embrapa**, Comunicado Técnico, n.19, p.1-3, 1997.

BAIDA, F. C., SANTIAGO, D. C., TAKAHASHI, L. S. A., ATHANÁZIO, J. C., CADIOLI, M. C., LEVY, R. M. Reação de linhagens de feijão-vagem ao *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* em casa-de-vegetação. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.2, p. 237-241. 2011.

BATISH, D. R., SINGH, H. P., KOHLI, R. K., KAUR, S. Eucalyptus essential oil as nature pesticide. **Forest Ecology and Management**. v. 256, n. 12, p. 2166-2174. 2008.

BONETI, J. I. S., FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.

CARNEIRO, R. G., MAZZAFERA, P., FERRAZ, L. C. C. B. Carbon partitioning in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Journal of Nematology**. v.31, n.3, p. 348–355. 1999.

DAVIS, E. L., HUSSEY, R. S., BAUM, T. J., BAKKER, J., SCHOTS, A., ROSSO, M. N., ABAD, P. Nematode parasitism genes. **Annual Review Phytopathology**. v.38, p. 365-396. 2002.

- DEL PRADO, I. C. V., CÁRDENAS, E. S. Histopatologia inducida por dos especies de *Meloidodera* (Nemata: Heteroderidae) en raices de chile y tejocote. **Nematropica**, 25 n.1, p. 75-78. 1995.
- DORHOUT, R., GOMMERS, F. J., KOLLÖFFEL, C. Water transport through tomato roots infected with *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**. v.81, n.4, p.379-385, 1991.
- DROPKIN, V. H. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**. v. 59, n. 11, p. 1632-1637, 1969.
- ENDO, B. Y. Penetration and development of *Heterodera glycines* in soybean roots and related anatomical changes. **Phytopathology**. v.54, n.1, p. 79-88, 1964.
- FERNANDES, R. S., ASMUS, G. L. Reação de Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.) a *Meloidogyne javanica* e *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Brasileira**. v. 31, n.2, p.13-16. 2007.
- FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: EMBRAPA Soja. Sociedade Brasileira de Nematologia. p. 15-38. 2001.
- HO, J. Y., WEIDE, R., MA, H. M., WORDRAGEN, M. F., LAMBERT, K. N., KOORNNEEF, M., ZABEL, P., WILLIAMSON, V. M. The root-knot nematode resistance gene (*Mi*) in tomato: construction of a molecular linkage map and identification of dominant cDNA markers in resistant genotypes. **Plant Journal**, v.2, p.971-982, 1992.
- HUANG, J. S. Mechanisms of resistance to root-knot nematodes. In: SASSER, J. N., CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne*: Biology and control**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, v. 1, p.11-17. 1985.
- HUSSEY, R. S., SASSER, J. N. Peroxidase from *Meloidogyne incognita*. **Physiological Plant Pathology**, v. 3, p. 223-229, 1973.
- HUSSEY, R.S. **Host-parasite relationships and associated physiological changes**. In: SASSER, J.N., CARTER, C.C. (ed). **An Advanced treatise on *Meloidogyne*: I - Biology and Control**. North Carolina State University Graphics, Raleigh. p. 143-153. 1985.
- INOMOTO, M. M. Avaliação da resistência de 12 híbridos de milho a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, vol. 36, 5, 308-312, 2011.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 523 p. 1940.
- KARL, A. C., SOUZA, R. M., MATTOS, J. K. A. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em quatro espécies de plantas medicinais. **Horticultura brasileira**, v.15, n.2, p.118-121, 1997.

- KARSSSEN, G., MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant nematology**. p. 59-90. 2006.
- LOPES, E. A., FERRAZ, S., FREITAS, L. G., FERREIRA, P. A, AMORA, D. X. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**. 29 (1): 67-74. 2005.
- LORENZO, E., DOUCETE, M. E., SUÁREZ, S., PAOLA, L. Histopathology of *Melilotus albus* roots parasitized by *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, 28 (1). p. 111-114. 2004.
- MÔNACO, A. P. A., CARNEIRO, R. G., SCHERER, A., SANTIAGO, D. C. Hospedabilidade de plantas medicinais a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**. v. 35 n.1-2 p.46-49. 2011.
- MORITZ, M. P., CARNEIRO, R. G., SANTIAGO, D. C., MEDRI, M. E., CORREA, A., NAKAMURA, K. C., PIGNONI, E., GOMES, J. C. Histopatologia Comparada das Raízes de Cultivares Suscetível e Resistente de Soja Inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**. v. 32, n.1, p.41-49. 2007.
- MORITZ, M. P., SIMÃO G., CARNEIRO, R. G.. Reação de genótipos de milho às raças 1 e 3 de *M. incognita* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**. v. 27, n.2, p. 211-214, 2003.
- NANDAKUMAR, R., BABU, S., VISWANATHAN, R., RAGUCHANDER, T., SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p.603-612. 2001.
- NAVARRO, M. C., NOGUERA, M. A., ROMERO, M. C., MONTILLA, M. P., SELGAS, J. M. G, VALERO, A. *Anisakis simplex* s.l.: Larvicidal activity of various monoterpenic derivatives of natural origin against L3 larvae *in vitro* and *in vivo*. **Experimental Parasitology**. v. 120, p. 295-299, 2008.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristic of the relation between nematodes and plants. **Mededlingen voor Landb Hoogeschool Wageningen**, v. 66, p. 3-46. 1966.
- PANDEY, R., KALRA, A., TANDON, S., MEHROTRA, N., SINGH, H. N., KUMAR, S. Essential oils as potent sources of nematocidal compounds. **Journal of Phytopathology**. v.37 p.490-491. 2000.
- PARK, S. D., KIM, J. C., KHAN Z. Host status of medicinal plants for *Meloidogyne hapla*. **Nematropica**. v.34, n.1, p.39-43, 2004.
- PEDROSA, E. M. R., HUSSEY, R. S., BOERMA, H. R. Cellular responses of resistant and susceptible soybean genotypes infected with *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2. **Journal of Nematology**. v.28, n.2, p.225-232. 1996.
- RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem do ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.11 n.2 p.57-69. 2001.

ROBBERS, E., SPEEDIE, M. K., TYLER, V. E. **Farmacognosia e fármaco biotecnologia**. São Paulo: Editora Premier, 1997.

ROSSO, G. T., ASMUS, G. L. Imunidade de Pinhão-manso a *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**. v.34, n.2, p.129-131. 2010.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., STANGARLIN, J. R., CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**. v.28, p.54-56, 2003.

SILVA, G. S., FERRAZ, S., SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de crotalária parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**. v.15, n.1, p.46-48, 1990.

SILVA, J. F. V. Resistência genética de soja a nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V.; MAZAFFERA, P.; CARNEIRO, R. G.; ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja: Sociedade de Nematologia, p.127, 2001.

TAYLOR, A. L., SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.)**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1978.

WERLANG, R. C., SANTOS, M. A. Hospedabilidade de plantas daninhas comuns em áreas de soja da região dos cerrados a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.24, n.1, p.100, 2000.

WESTERICH, J. N., ROSA, J. M. O., WILCKEN, S. R. S. Estudo Comparativo da Biologia de *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *Meloidogyne javanica* em tomateiros com gene *Mi*. **Summa phytopathologica**. v. 37, n.1 p. 35-41. 2011.

WILLIANSO, V. M., HUSSEY, H. R. Nematode pathogenesis and resistance in plant. **The Plant Cell**. v.8 p.1735-1745. 1996.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A reprodução dos nematoides nas raízes das plantas medicinais mostraram que *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus globulus* e *Mentha piperita* foram resistentes para *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*, com $FR < 1$, característica que são desejáveis em plantas comerciais, a fim de diminuir a população existente nas área infestadas e de contra partida utilizar plantas com valor economico agregado. Enquanto a *Aloe vera* foi suscetível a ambos os nematoides, possivelmente terá o desenvolvimento vegetativo prejudicado ao longo de sucessivos cultivos, além de aumentar a população no solo, proporcionalmente ao fator de reprodução.

O conhecimento das alterações anatômicas radiciais, devido à interação plantas medicinais com *M. javanica* e *M. paranaensis*, podendo contribuir para o melhor entendimento desse patossistema.

Entretanto, a microscopia de luz não possibilitou a detecção dos mecanismos que atuam nas alterações anatômicas causadas pelo estabelecimento do parasitismo de *M. javanica* e *M. paranaensis* em *Aloe vera* e *Mentha piperita*.

5 REFERÊNCIAS

- ABRÃO, M. M., MAZZAFERA, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. **Bragantia**, v. 60, n. 1, p. 19-26, 2001.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. San Diego: Academic Press. p. 922. 2004.
- ANTONIO, H., LEHMAN, P. S. Nota sobre a ocorrência de nematoides do gênero *Meloidogyne* em algumas ervas daninhas nos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul. In: **Anais: Reunião de Nematologia**, Mossoró, p. 29-32, 1978.
- ANTHONY, F., TOPART, P., MARTINEZ, A., SILVA, M., NICOLE, M. Hypersensitive-like reaction conferred by the *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. **Plant Pathology**. v.54 p.476-482. 2005.
- ALMEIDA, C. F. C. B., ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): um estudo de caso. **Interciencia** v.26(6), p. 276-285, 2002.
- ALVES, R. R. N., PEREIRA-FILHO, G. A. Commercialization and use of snakes on North and Northeastern Brazil: implications for conservation and management. **Biodiversity and Conservation**. v. 16, p. 969-985, 2007.
- ALVES, R. R. N., ROSA, I. L. Zootherapeutic practices among fishing communities in North and Northeast Brazil: A comparison. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 82-103, 2007.
- ALVES, R. R. N., LIMA, H. N., TAVARES, M. C., SOUTO, W. M. S., BARBOZA, R. R. D., VASCONCELLOS, A. Animal-based remedies as complementary medicines in Santa Cruz do Capibaribe, Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 8, p 1-9, 2008.
- ANDRADE, N. C. et al. Análise histopatológica de genótipos de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* L. WALP.) resistente e suscetível ao nematoide de galhas (*Meloidogyne incognita*). In: **Congresso Nacional de Botânica**, 54., Belém, EMBRAPA, 2003.
- ANWAR, S. A., MCKENRY, M. V. Developmental response of a resistance-breaking population of *Meloidogyne arenaria* on *Vitis* spp. **Journal of Nematology**. v.34 p.28-33. 2002.
- ASMUS, G. L., FERRAZ, L. C. C. B, APPEZZATO-DA-GLÓRIA B. Anatomical changes in corn (*Zea mays* L.) roots caused by *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**. v. 30, p. 33-39, 2000.
- BIRD, A. F., LOVEYS, B. R. The incorporation of photosynthates by *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 7, n. 2, p. 111-113, 1975.
- BYRNE, R., MICHAELSEN, J., SOUTAR, A. Fossil charcoal as a measure of wildfire frequency in Southern California: A preliminary analysis. In "Proceedings of the Symposium on the Environmental Consequences of Fire and Fuel Management in Medi-

terranean Ecosystems” (H. A. Mooney, and C. E. Conrad, Tech. Coords.), Washington, DC. **General Technical Report** v. 3, p. 361–367. 1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Espécies vegetais.** DAF/SCTIE/MS - RENISUS - fev/2009.

Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso: em 20 jul.2012.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos.** Brasília: Ministério da Saúde, 148p. 2006.

CARNEIRO, R. G.; ALTÉIA, A. A. K. Constatação de *Meloidogyne incognita* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 14, p. 6-7, 1990.

CARNEIRO, R. M. D. G., NEVES, D. I., CIA, E., SÁ, M. F. G. Resistência de genótipos de algodoeiro a *M. incognita* raça 3: reprodução e histopatologia. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n.1, p. 1-10, 2005.

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. **Nematology**, v. 4, n. 5, p. 605-608, 2002.

CASTILLO, P. Host-parasite relationships in root-knot disease of white mulberry. **Plant Disease**, v. 85, n. 3, p. 277-281, 2001.

CHAGAS, A .C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 13, p. 156-160, 2004.

DEL PRADO, I. C. V., CÁRDENAS, E. S. Histopatologia inducida por dos especies de Meloidodera (Nemata: Heteroderidae) en raices de chile y tejocote. **Nematropica**, 25 (1): 75-78. 1995.

DIAS-ARIEIRA, C. R., CUNHA, T. P. L., CHIAMOLERA, F. M., PUERARI, H. H., BIELA, F., SANTANA, S. M. Reaction of vegetables and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Horticultura Brasileira** v.30, p.322-326. 2012.

DI VITO, M., VOVLAS, N., CASTILLO, P. Host-parasite relationships of *Meloidogyne incognita* on spinach. **Plant Pathology**, v. 53, p. 508-514, 2004.

DROPKIN, V. H., NELSON, P. E. The histopathology of root-knot nematode infections in soybeans. **Phytopathology**, v. 50, p. 442-447, 1960.

ENDO, B. Y. Nematode-induced syncytia (giant cells). Host-parasite relationships of Heteroderidae. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W.F.; ROHDE, R.A. **Plant parasitic nematodes: cytogenetics, host-parasite interactions, and physiology.** New York: Academic press, v.2, p.91-117, 1971.

ENDO, B.Y. Pathogenesis of nematode infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 13, p. 213-238, 1975.

EMATER, Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural. **Plantas medicinais aromáticas e potenciais**. Disponível em <http://www.emater.pr.gov.br/emater.php?emater=1&mid=76>. Acesso em: dez/2011.

FARIA, C. M. D. R.; SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, H. D.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P.; COIMBRA, J. L. Mecanismos de ataque e defesa na interação nematóide-planta. In.: FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Revisão anual de patologia de plantas, v. 11, p. 373-410. 2003.

FAROOQ, T. The anatomy of a root gall of *Lycopersicum pimpinellifolium* infected by *Meloidogyne incognita*. **Nematologica**, v. 19, n. 1, p. 118-119, 1973.

FERNANDES, R. S., ASMUS, G. L. Reação de Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.) a *Meloidogyne javanica* e *Rotylenchulus reniformis*. *Nematologia Brasileira*. v. 31, n.2 p.13-16. 2007.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: EMBRAPA Soja; Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 15-38. 2001.

FERRAZ, L. C. C. B. & MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMAI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p.168-201. 1995.

FINLEY, A. M. Histopathology of *Meloidogyne chitwoodi* on Russet Burbank Potato. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 4, p. 486-491, 1981.

FRY, W. E. **Principles of plant disease management**. San Diego: Academic Press, 378p. 1982.

GOMES, E. C. Aspectos do cultivo e beneficiamento do capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) no Paraná, Brasil. **Visão Acadêmica**, v. 2, n. 1, p. 11-17, 2001.

GRAVATO-NOBRE, M. J., EVANS, K. Plant and nematode surfaces: their structure and importance in host-parasite interactions. **Nematologica**, v. 44, p. 103-124, 1998.

GHEYSEN, G., FENOLL, C. Gene expression in nematode feeding sites. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 191-219, 2002.

HAHN, M. G. Microbial elicitors and their receptor in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v.34, p.387-412, 1996.

HASEEB, A., PANDEY, R. Incidence of root-knot nematodes in medicinal and aromatic plants-new host records. **Nematropica**, v.17, n.2, p.209-212, 1987.

HUANG, J. S. Mechanisms of resistance to root-knot nematodes. In: SASSER, J. N., CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne: Biology and control**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, v. 1, p.11-17. 1985.

- HUANG, C. S., MAGGENTI, A. R. Wall modifications in developing giant cells of *Vicia faba* and *Cucumis sativus* induced by root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Phytopathology**, v. 59, n. 7, p. 931-937, 1969.
- HUSSEY, R. S., SASSER, J. N. Peroxidase from *Meloidogyne incognita*. **Physiological Plant Pathology**, v. 3, p. 223-229, 1973.
- HUSSEY, R. S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: SASSER, J.N., CARTER, C.C. (ed). **An Advanced treatise on Meloidogyne: I - Biology and Control**. North Carolina State University Graphics, Raleigh. p. 143-153. 1985.
- KAPLAN, D. T., DAVIS, E. L. Mechanisms of plant incompatibility with nematodes. In: VEECH, J. A., DICKSON, D. W. **Vistas on Nematology**, Hyasttsville: Society of Nematologists, p.267-276. 1987.
- KARL, A.C., SOUZA, R. M., MATTOS, J. K. A. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em quatro espécies de plantas medicinais. **Horticultura brasileira**, v.15, n.2, p.118-121, 1997.
- KARSSSEN, G., MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N., MOENS, M. (Eds.). **Plant nematology**. p. 59-90. 2006.
- KIM, S. W., KANG, S. W., LEE, J. S. Cellulase and xylanase production by *Aspergillus niger* KKS in various bioreactors. **Bioresource Technology**. V. 59, p. 63-67, 1997.
- KIRKPATRICK, T. L., OOSTERHUIS, D. M., WULLSCHLEGER, S. D. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stress in two cotton cultivars. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 4, p. 462-467, 1991.
- LORENZO, E., DOUCETE, M. E., SUÁREZ, S., PAOLA, L. Histopathology of *Melilotus albus* roots parasitized by *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.28, n.1 p.111-114. 2004.
- MACIEL, S. L., FERRAZ, L. C. C. B. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, n.2/3, p.232-236, 1996.
- McCLURE, M. A. *Meloidogyne incognita*: a metabolic sink. **Journal of Nematology**, v. 9, n.1, p. 88- 89, 1977.
- MÔNACO, A. P. A., CARNEIRO, R. G., KRANZ, W. M., GOMES, J. C., SCHERER, A., SANTIAGO, D. C. Reação de Espécies de Plantas Daninhas a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3, a *M. javanica* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**. v. 33, n.3. 2009.
- MÔNACO, A. P. A., CARNEIRO, R. G.,SCHERER, A., SANTIAGO, D. C. Hospedabilidade de Plantas Medicinais a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**. v. 35(1-2) p.46-49. 2011.

MORITZ, M. P., SIMÃO, G., CARNEIRO, R. G. Reação de genótipos de milho às raças 1 e 3 de *M. incognita* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.2, p. 211-214, 2003.

MORITZ, M. P., CARNEIRO, R. G., SANTIAGO, D. C., NAKAMURA, K. C., PIGNONI, E., GOMES, J. C. Estudo comparativo da penetração e reprodução de *Meloidogyne paranaensis* em raízes de cultivares de soja resistente e suscetível. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p.33-40, 2008.

MOURA, R. M., RÉGIS, E. M. O., MOURA, A. M. Reação de dez espécies de plantas, algumas produtoras de óleos essenciais, em relação ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* raça1 e *M. javanica*, em população mista. **Nematologia Brasileira**, v.14, p.39-44, 1990.

OGBUJI, R.O. Giant cell formation in corn roots caused by *Meloidogyne hapla* infection. **Nematologica**, v. 22, p. 62-64, 1976.

ORION, D., WERGIN, W. P., ENDO, B. Y. Inhibition of syncytia formation and root-knot nematode development on cultures of excised tomato roots. **Journal of Nematology**, v. 12, n. 3, p. 198-203, 1980.

PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. In.: FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Revisão anual de patologia de plantas, v. 2, cap. 1, p. 1-51. 1994.

PARK, S.D.; KIM, J.C.; KHAN Z. Host status of medicinal plants for *Meloidogyne hapla*. **Nematropica**, v.34, n.1, p.39-43, jun. 2004.

PEDROSA, E. M. R., HUSSEY, R. S., BOERMA, H. R. Cellular responses of resistant and susceptible soybean genotypes infected with *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2. **Journal of Nematology**, 28 (2): 225–232. 1996.

PERGARD, A., BRIZZARD, G., FAZARI, A., SOUCAZE, O., ABAD, P., DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. **Phytopathology**, v.95 p. 158-165. 2005.

PIPOLO, V. C., FERRAZ, L. C. C. B. Resistência a Nematóides. In.: MONTALVÁN, R.; DESTRO, D. (Org.). **Melhoramento genético de plantas**. cap. 29, p. 515-540. 1999.

PONTES, M. F. C., PEDROSA, E. M. R., GUIMARÃES, L. M. P., CHAVES, A. A nuclear dynamics of giant cells induced by *Meloidogyne mayaguensis* in watermelon roots. In: **International Congress of Tropical Nematology**, 2., Anais... Maceió: ONTA and SBN, 2009.

PROITE, K., CARNEIRO, R., FALCAO, R., GOMES, A., LEAL-BERTIOLI, S., GUIMARAES, P., BERTIOLI, D. Post-infection development and histopathology of *Meloidogyne arenaria* race 1 on *Arachis* spp. **Plant Pathology**, v.57. p 974-980. 2008.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterapicos: uma abordagem do ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.11 n.2 p.57-69. 2001.

RODRIGUES, A. C. F. O., ABRANTES, I. M. O., MELILLO, M. T., BLEVE-ZACHEO, T. Ultrastructural response of coffee roots-knot nematodes, *Meloidogyne exigua* and *M. megadora*. **Nematropica**. v.30 p.201-210. 2000.

ROBBERS, E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e fármaco biotecnologia**. São Paulo: Editora Premier, 1997.

ROBERTS, P. A. Resistance to nematodes: definitions, concepts and consequences. In: STARR, J. L. **Methods for evaluating plant species for resistance to plant-parasitic nematodes**. Maryland: Society of Nematologists. p.01-15. 1990.

ROSSO, G. T. e ASMUS, G. L. Imunidade de Pinhão-manso a *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**. v.34, n.2 p.129-131. 2010.

SAIGUSA, T. On the egg development and its morphological observations of the root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, v. 1, p. 238-243, 1957.

SIDDIQI, I. A., TAYLOR, D. P. Histopathogenesis of galls induced by *Meloidogyne naasi* in wheat roots. **Journal of Nematology**, v. 2, n. 3, p. 239-247, 1970.

SIJMONS, P. C., ATKINSON, H. J., WYSS, U. Parasitic strategies of root-knot nematodes and associated host cell responses. **Annual Review Phytopathology**, v. 32, p. 235-259, 1994.

SILVA, F., CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa: UFV, 2000.

SILVA, J. F. V. Resistência genética de soja a nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V.; MAZAFFERA, P.; CARNEIRO, R. G.; ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja: Sociedade de Nematologia, 127p. 2001.

SOUZA, R. M., MATTOS, J. K. A., KARL, A. C. Avaliações preliminares da reação de plantas medicinais a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.13, n.2, p.209-211, set. 1995.

TAYLOR, A. L., SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.)**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1978.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 473p. 2000.

VAN DER EYCKEN, W., ALMEIDA ENGLER, J., INZÉ, D., VAN MONTAGU, M., GHEYSEN, G. A. A molecular study of root-knot nematode-induced feeding sites. **Plant Journal**, v. 9, n. 1, p. 45-54, 1996.

VEIGA-JUNIOR, V. F., MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p.464-471, 2008.

WANDERLEY, M. J. A., SANTOS, J. M. Resistance of sweet potato cultivars to *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.4, p.437-440, 2004.

ZEM, A. C. Informações preliminares sobre os nematoides que se hospedam em plantas invasoras. In: REUNIÃO DE NEMATOLOGIA, 2., 1977, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, p.45-48. 1977.

ANEXO

ANEXO A

Tabela 4 – Massa seca e fresca de parte aérea, altura e massa fresca de raiz de plantas medicinais inoculadas e não-inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*.

Plantas Mediciniais	<i>Meloidogyne javanica</i>				<i>Meloidogyne paranaensis</i>			
	Massa fresca (g)	Massa seca (g)	Altura (cm)	Massa fresca de raiz (g)	Massa fresca (g)	Massa seca (g)	Altura (cm)	Massa fresca de raiz (g)
<i>Achillea millefolium</i>	28,33 ¹	6,60 ^{ns}	25,50 ^{ns}	45,95 ^{ns}	25,32 ^{ns}	7,31 ^{ns}	26,22 ^{ns}	18,7 ^{ns}
<i>A. millefolium</i> Testemunha	27,82	6,01	26,30	52,44	27,82	6,01	26,30	52,4 ^b
CV %	59,40	42,80	29,16	52,55	33,30	2	26,66	58,9 ^a
<i>Aloe vera</i>	390,4 ^{ns}	223,9 ^{ns}	14,79 ^{ns}	29,85 ^{ns}	385,5 ^{ns}	150,0 ^{ns}	15,24 ^{ns}	45,7 ^{ns}
<i>Aloe vera</i> Testemunha	522,8 ^s	350,6 ^s	18,39 ^s	45,66 ^s	522,8 ^b	350,6 ^b	18,39 ^s	45,6 ^s
CV %	78,49	92,12	36,08	43,88	69,25	21,4 ^a	28,35	44,2 ^a
<i>Cymbopogon citratus</i>	75,60 ^{ns}	19,26 ^{ns}	119,3 ^{ns}	49,44 ^{ns}	81,26 ^{ns}	24,4 ^{ns}	116,0 ^{ns}	52,4 ^{ns}
<i>C. citratus</i> Testemunha	67,58	26,33	131,2 ^s	220,3 ^s	67,58 ^a	26,3 ^s	131,2 ^s	220,3 ^b
CV %	43,35	53,55	15,83	87,07	42,39	50,7 ^a	15,50	85,0 ^a
<i>Eucalyptus globulus</i>	124,4 ^{ns}	57,47 ^{ns}	80,60 ^{ns}	187,2 ^{ns}	86,77 ^{ns}	39,7 ^{ns}	69,40 ^{ns}	183,0 ^{ns}
<i>E. globulus</i> Testemunha	94,55 ^a	45,30 ^a	91,00 ^s	201,5 ^s	94,55 ^s	45,3 ^s	91,00 ^a	201,5 ^s
CV %	20,19	19,91	17,49	19,50	31,51	30,6 ^a	17,46	26,6 ^a
<i>Mentha piperita</i>	33,63 ^{ns}	19,77 ^{ns}	21,65 ^{ns}	39,39 ^{ns}	42,37 ^{ns}	24,0 ^{ns}	28,30 ^{ns}	50,0 ^{ns}
<i>Mentha piperita</i> Testemunha	39,73 ^a	23,59 ^a	26,06 ^a	40,90 ^s	39,73 ^s	23,5 ^s	26,06 ^a	40,9 ^s
CV %	14,08	20,73	19,10	48,80	15,21	9	14,91	46,1 ^a

¹ Dados referentes a médias de 10 repetições, sem transformação.

² Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo Teste Scott-Knott comparação dois a dois em nível de 5% de significância.

³ ns = não significativo ao teste estatístico.