



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**MULTIPLICAÇÃO DO NEMATOIDE *Meloidogyne paranaensis* E
VELOCIDADE DE ENRAIZAMENTO DE ESTACAS
CAULINARES EM SETE ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS**

CLARISSA IZETTI DE MENDONÇA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

MARÇO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**MULTIPLICAÇÃO DO NEMATOIDE *Meloidogyne paranaensis* E
VELOCIDADE DE ENRAIZAMENTO DE ESTACAS
CAULINARES EM SETE ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS**

CLARISSA IZETTI DE MENDONÇA

ORIENTADOR: PROF. DR. JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS

CO-ORIENTADORA: PROF. DRA. REGINA GOMES CARNEIRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 114/2016

BRASÍLIA/DF

MARÇO/2016



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

**MULTIPLICAÇÃO DO NEMATOIDE *Meloidogyne paranaensis* E
VELOCIDADE DE ENRAIZAMENTO DE ESTACAS
CAULINARES EM SETE ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS**

CLARISSA IZETTI DE MENDONÇA

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

APROVADA POR:

Prof. Dr. JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, FAV – UnB
Orientador – CPF: 002.288.181-68, e-mail: jkmattos@gmail.com

Prof. Dr. JOSE RICARDO PEIXOTO, FAV – UnB
Examinador Interno – CPF: 354.356.236-34, e-mail: peixoto@unb.br

Dr. JADIR BORGES PINHEIRO, Embrapa Hortaliças
Examinador Externo – CPF: 947.451.616-20 e-mail: jadir.pinheiro@embrapa.br

BRASÍLIA/DF
MARÇO/20169

FICHA CATALOGRÁFICA

Mendonça, Clarissa Izetti

Multiplicação do nematoide *Meloidogyne paranaensis* e velocidade de enraizamento de estacas caulinares em sete espécies de plantas medicinais. / Clarissa Mendonça; orientação de Jean Klebler de Abreu Mattos. – Brasília, 99 f. II. Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. Nematoides-das-galha. 2. *Meloidogyne paranaensis*. 3. Plantas medicinais.
4. Propagação vegetativa. 5. Suscetibilidade. I. Mattos, J. K. A. II. Doutor.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

MENDONÇA, C. I. Multiplicação do nematoide *Meloidogyne paranaensis* e velocidade de enraizamento de estacas caulinares em sete espécies de plantas medicinais. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 99 f. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Clarissa Izetti de Mendonça

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Multiplicação do nematoide *Meloidogyne paranaensis* e velocidade de enraizamento de estacas caulinares em sete espécies de plantas medicinais.

GRAU: Mestre

ANO: 2016

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

Nome: CLARISSA IZETTI DE MENDONÇA

CPF: 032.483.471-39 E-mail: clarissaizetti@hotmail.com

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1	Plantas Medicinais	6
2.1.1	<i>Artemisia annua</i> L.	9
2.1.2	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. DON	10
2.1.3	<i>Cordia verbenaceae</i> DC.	11
2.1.4	<i>Hypericum perforatum</i> L.	11
2.1.5	<i>Melissa officinalis</i> LAM.	12
2.1.6	<i>Pfaffia glomerata</i> (SPRENG.) PEDERSEN	13
2.1.7	<i>Pogostemon cablin</i> (BLANCO) BENTH.	14
2.2	Nematoides	15
2.2.1	Genero <i>Meloidogyne</i>	17
2.2.2	<i>Meloidogyne paranaensis</i> Carneiro et al. (1996)	20
2.2.3	<i>Meloidogyne</i> spp.: reação em diferentes plantas medicinais	21
2.3	Propagação vegetativa	26
2.3.1	Propagação vegetativa das espécies estudadas	28
	REFERÊNCIAS	31
	CAPÍTULO 1: MULTIPLICAÇÃO DO NEMATOIDE <i>Meloidogyne paranaensis</i> EM SETE ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS ...	48
	Resumo	49
	Abstract	50
	1 Introdução	51
	2 Material e Métodos	54
	3 Resultados e Discussão	56
	4 Conclusão	63
	Referências	64
	CAPÍTULO 2: PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE PLANTAS MEDICINAIS PARA ENSAIOS COM O NEMATOIDE <i>Meloidogyne</i> spp.	72
	Resumo	73
	Abstract	74
	1 Introdução	75

2 Material e Métodos	76
3 Resultados e Discussão	77
4 Conclusão	85
Referências	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo de vida do nematoide formador de galhas <i>Meloidogyne</i>	18
Figura 2	Raízes de <i>Solanum lycopersicum</i> (A), <i>Pfaffia glomerata</i> (B), <i>Hypericum perforatum</i> (C), <i>Melissa officinalis</i> (D), <i>Artemisia annua</i> (E), <i>Pogostemon cablin</i> (F), <i>Catharanthus roseus</i> (G) e <i>Cordia verbenaceae</i> (H) 90 dias após a inoculação com <i>M. paranaensis</i> (EST P1)	58
Figura 3	Escala diagramática de notas de enraizamento utilizada no ensaio. Baseado em: Suguino et al. (2011)	77
Figura 4	Média do índice de enraizamento de estacas de quatro acessos de plantas medicinais no intervalo de 20 a 50 dias a partir da implantação. <i>HP= Hypericum perforatum</i> ; <i>MO= Melissa officinalis</i> ; <i>PG= Pfaffia glomerata</i> ; <i>PC= Pogostemon cablin</i>	79
Figura 5	Raízes do <i>Hypericum perforatum</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	80
Figura 6	Raízes da <i>Melissa officinalis</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	80
Figura 7	Raízes da <i>Pfaffia glomerata</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	81
Figura 8	Raízes do <i>Pogostemon cablin</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	81
Figura 9	Média do índice de enraizamento de estacas de quatro espécies de plantas medicinais no intervalo de 20 a 50 dias a partir da implantação. <i>AA= Artemisia annua</i> ; <i>CR=Catharanthus roseus</i> ; <i>CV= Cordia verbenaceae</i>	82
Figura 10	Raízes de <i>Artemisia annua</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	82
Figura 11	Raízes de <i>Catharanthus roseus</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	83
Figura 12	Raízes de <i>Cordia verbenaceae</i> aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação.....	83

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Plantas medicinais avaliadas quanto à reação ao <i>Meloidogyne paranaensis</i>	54
Tabela 2	Médias do número de ovos por planta, da massa fresca da raiz, dos ovos por grama de raiz, fator de reprodução e índice de galhas de cinco acessos de plantas medicinais relativos à reação a uma população de <i>Meloidogyne paranaensis</i> (EST P1)	56
Tabela 3	Médias do número de ovos por planta, da massa fresca da raiz, dos ovos por grama de raiz, fator de reprodução e índice de galhas de cinco acessos de plantas medicinais relativos à reação a uma população de <i>Meloidogyne paranaensis</i> (EST P2)	59
Tabela 4	Número de estacas plantadas, número de estacas mortas e percentagem de estacas mortas (falhas) relativas a sete acessos de espécies medicinais, em ensaio de propagação vegetativa em casa de vegetação em Brasília-DF	78

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo aprendizado, por minha saúde e por todas as oportunidades que me são ofertadas.

A minha mãe Angela, amiga e companheira, sempre me ajudando, apoiando, suportando minhas crises com carinho e paciência. Ao meu pai Sávio, tão amoroso e presente e às minhas irmãs e sobrinha, companheiras de jornada. Amo vocês incondicionalmente.

Ao meu orientador Dr. Jean Kleber de Abreu Mattos pela total disponibilidade, atenção e cuidado, compartilhados com sua esposa Heloísa e filha Vanessa, ao me incentivarem na continuidade de meus estudos, oferecendo-me o necessário apoio ao desenvolvimento desse trabalho.

A minha co-orientadora Dra. Regina Carneiro, pelos pacientes ensinamentos.

Aos membros convidados da banca examinadora, Prof. Dr. Cícero Célio de Figueiredo, Dr. Jadir Borges Pinheiro e Prof. Dr. José Ricardo Peixoto pelas orientações finais ao trabalho.

À Universidade de Brasília e à Embrapa CENARGEN pela oportunidade de realizar o mestrado e pela estrutura concedida para os experimentos aqui contidos.

Aos meus demais familiares e aos meus amigos que em todas as horas contribuíram com sua amizade para que eu vivesse com serenidade mais essa etapa da minha vida.

RESUMO

Meloidogyne paranaensis foi caracterizado e descrito por Carneiro et al. como uma nova espécie em 1996. Os primeiros relatos demonstram a alta virulência que provocam em plantas de café no Estado do Paraná e São Paulo, destacando-se das demais espécies de nematoides pela sua agressividade e forte dano ao sistema radicular de cafeeiros. Recentemente, a espécie começou a ser pesquisada em plantas medicinais no Brasil. A primeira etapa, que teve por objetivo testar a reação de sete importantes espécies de plantas medicinais quanto ao *M. paranaensis*, foi realizada em casa de vegetação, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, no Distrito Federal. Utilizou-se delinemaneto inteiramente casualizado com seis repetições. As plantas foram multiplicadas por estaquia e transplantadas para vasos de 2,5 L preenchidos com mistura latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico, na proporção 3:1:1:1 respectivamente, mais a formulação 4-14-8, na dose de 100g para cada 40 L da mistura. No momento de transplante as plantas foram inoculadas com 5.000 ovos de duas populações do nematoide *M. paranaensis* (fenótipos de esterase P1 e P2). Após 90 dias de cultivo, foram colhidas as raízes das plantas para determinação do índice de galhas e do fator de reprodução. Houve diferença de suscetibilidade a duas populações de *M. paranaensis* entre os acessos testados, não havendo estatisticamente diferença importante na reação dos acessos em relação às populações testadas. Os acessos *Pfaffia glomerata*, *Hypericum perforatum* e *Melissa officinalis* apresentaram-se como hospedeiros altamente suscetíveis às duas populações de *M. paranaensis*. *Pogostemon cablin* apresentou-se em situação intermediária podendo ser classificado apenas como suscetível. *Artemisia annua* e *Catharanthus roseus* apresentaram-se como altamente resistentes e *Cordia verbenacea* como resistente. *Catharanthus roseus* distinguiu-se por apresentar elevado índice de galhas, porém sem permitir a multiplicação do nematoide. Ensaio de suscetibilidade de espécies vegetais ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), a fim de garantir resultados confiáveis, devem ser feitos com plantas novas que possuam raízes recém desenvolvidas e apresentem raízes secundárias e pelos radiculares. A segunda etapa, que teve por objetivo avaliar a velocidade de enraizamento de estacas de sete acessos de plantas medicinais, em leito de areia visando obter informações úteis para um estabelecimento de um cronograma de produção de mudas para ensaios com nematoides do gênero *Meloidogyne*. O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em casa de vegetação de novembro a fevereiro de 2016. As estacas foram avaliadas aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação e foram atribuídas notas de enraizamento conforme escala própria visando ensaios com nematoides do gênero *Meloidogyne*. Estacas das espécies medicinais *Artemisia annua*; *Catharanthus roseus*, *Cordia verbenacea*; *Hypericum perforatum*; *Melissa officinalis*; *Pfaffia glomerata*; *Pogostemon cablin* produziram mudas viáveis para ensaios com *Meloidogyne* spp. As espécies diferiram quanto à sobrevivência, eficiência e velocidade de enraizamento das estacas em areia. Elegeram-se um prazo médio de 30 dias para que o volume de raízes das estacas das espécies testadas estivesse em condições de ser inoculado com ovos e juvenis de *Meloidogyne* spp. Estacas de todas as espécies testadas mostraram-se resistentes ao transplante após iniciado o enraizamento.

Palavras chave: nematoide das galhas; plantas medicinais; suscetibilidade; propagação.

ABSTRACT

Meloidogyne paranaensis was characterized and described by Carneiro et al. as a new species in 1996. The first reports demonstrate the high virulence causing coffee plants in the State of Paraná and São Paulo, especially the other species of nematodes for their aggression and strong damage to the root system of coffee. Recently, the species began to search for medicinal plants in Brazil. The first stage, which aimed to test the important reaction of seven species of medicinal plants as the *M. paranaensis* was held in a greenhouse at the Experimental Station of Biology of the University of Brasilia, the Federal District. Was used delinemaneto completely randomized with six replications. The plants were multiplied by cuttings and transplanted into pots filled with 2.5 L of cerrado oxisol mix more sand, vermiculite and compost in the ratio 3: 1: 1: 1 respectively, plus the formulation 4-14-8, at a dose of 100g to each 40 l of the mixture. At the time of transplanting the plants were inoculated with 5000 eggs to two populations of the nematode *M. paranaensis* (esterase phenotypes P1 and P2). After 90 days of culture, the roots of plants to determine the gall index and reproduction factor were harvested. There was susceptibility difference to two populations of *M. paranaensis* between the tested access, with no statistically significant difference in the reaction of access in relation to the populations tested. The *Pfaffia glomerata* access, *Hypericum perforatum* and *Melissa officinalis* presented themselves as highly susceptible hosts to two populations of *M. paranaensis*. *Pogostemon cablin* performed in intermediate situation can be classified only as susceptible. *Artemisia annua* and *Catharanthus roseus* presented themselves as highly resistant and *Cordia verbenacea* as tough. *Catharanthus roseus* is distinguished by a high index of galls, but without allowing the multiplication of the nematode. Susceptibility testing of plant species to root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in order to ensure reliable results must be written with new plants that have newly developed roots and provide secondary roots and root hairs. The second stage, which was to evaluate the speed of rooting cuttings seven accessions of medicinal plants in sand to obtain useful information for establishing a seedling production schedule for trials with nematodes of the *Meloidogyne* genre. The experiment was conducted at Experimental Biology of the University of Brasilia Station in November greenhouse to February 2016. The cuttings were evaluated at 20, 30, 40 and 50 days after implantation and rooting notes were assigned as own scale aiming trials with nematodes of the genus *Meloidogyne*. Cuttings of medicinal species *Artemisia annua*; *Catharanthus roseus*, *Cordia verbenacea*; *Hypericum perforatum*; *Melissa officinalis*; *Pfaffia glomerata*; *Pogostemon cablin* produced viable seedlings for testing with *Meloidogyne* spp. The species differed in survival, efficiency and rooting rate of cuttings in sand. He was elected an average period of 30 days for the root volume of the cuttings of the species tested were able to be inoculated with eggs and juveniles of *Meloidogyne* spp. Cuttings of all species tested showed resistance to transplantation after initiation of rooting.

Key words: root-knot nematode; medicinal plants; susceptibility; propagation.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais é uma das mais antigas práticas da humanidade, seja no tratamento, cura ou prevenção de doenças (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005). Mesmo com os avanços da medicina moderna, estima-se que cerca de 80% da população mundial faz uso de medicamentos derivados de plantas medicinais. A Organização Mundial de Saúde vem ressaltando a necessidade do estabelecimento de normas para a qualidade dos medicamentos de origem vegetal, uma vez que seu consumo vem aumentando consideravelmente nas últimas décadas, assim como o número de espécies utilizadas, sem que haja controle efetivo sobre seus efeitos colaterais (GONÇALVES, 2009; PETENATTI et al., 2011).

O Brasil é um dos países que possui maior biodiversidade do mundo, já que dos 1,4 milhões de organismos catalogados, 10% encontram-se no país. Pode-se afirmar que até os dias atuais o conhecimento sobre a utilização das plantas medicinais pertence à população, que possui como tradição o uso dessas plantas para atendimento de suas necessidades básicas em saúde (CORRÊA JÚNIOR; SCHEFFER, 2013). Para a população, de modo geral, o uso de plantas medicinais é visto como uma prática integrativa à utilização de medicamentos de fabricação sintética, já que os últimos são considerados agressivos ao organismo e financeiramente menos acessíveis. A utilização e automedicação com plantas medicinais e derivados se deve, principalmente, ao seu baixo custo e ao seu fácil acesso à população (LIMA et al., 2015).

Até o final do século 20, a descoberta e comprovação científica dos princípios ativos de origem vegetal e os avanços tecnológicos para o isolamento da estrutura das plantas permitiram que, em média, 38% das novas drogas produzidas por meio de química farmacêutica, síntese orgânica e processos biotecnológicos fossem baseadas em plantas medicinais (FOGANHOLI, 2012). Assim, o aumento regular do mercado de produtos naturais foi estimado em aproximadamente 22% ao ano, em decorrência da grande demanda por aditivos químicos e aromatizantes para a indústria de alimentos; por matéria-prima para produção de medicamentos e por substâncias voláteis e óleos essenciais para a fabricação de cosméticos (STROZE, 2013).

Segundo a Organização das Nações Unidas, o mercado mundial de produtos naturais (derivados de plantas, óleos essenciais, temperos, chás, etc.) envolve cerca de 60 bilhões de dólares por ano e apresenta uma demanda crescente de 7% ao ano. Envolve 3

mil espécies, das quais 900 são cultivadas ou estão em processo de domesticação e movimenta cerca de 400 mil toneladas de plantas por ano (EMBRATER, 2015). Do total de medicamentos consumidos, cerca de 40% são de origem natural, gerando em torno de 100 mil empregos diretos ou indiretos (MÔNACO et al., 2011). Estima-se que 82% da população brasileira utilize produtos à base de ervas (NASCIMENTO et al., 2007). Apesar disso, até 2006, apenas de 10 a 15% de todas as espécies de plantas medicinais haviam sido investigadas (ALVES et al., 2014).

Acredita-se que o conhecimento popular subsidiou ao desenvolvimento de mais de 70% dos medicamentos derivados de plantas. Nos anos 80, o desenvolvimento da pesquisa científica resultou na identificação de 121 compostos de origem vegetal, provenientes de 95 espécies de plantas. A maioria deles se inclui na atual terapêutica dos países ocidentais. Atualmente, metade dos 25 medicamentos mais vendidos no mundo têm sua origem em metabólitos secundários de origem vegetal (MARTINAZZO et al, 2013).

Assim, não é de admirar que indústrias farmacêuticas multinacionais continuem no século 21 a investir fortemente em pesquisa e patenteamento de novas substâncias naturais e extratos padronizados a partir do estudo da estrutura e propriedades físico-químicas e biológicas de plantas, já que estas "são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos". Na defesa de sua competitividade, essas organizações vêm administrando plantações próprias nos países em desenvolvimento para posterior comercialização das mesmas no mercado externo (FOGANHOLI, 2012, p. 25).

Diante desse quadro, verifica-se que os países em desenvolvimento, pouco preparados tecnologicamente para concorrer no mercado internacional, participam do mesmo como principais cultivadores de plantas medicinais e como produtores de óleos brutos ou essenciais, permanecendo em situação de dependência dos fármacos importados ou dos produzidos pelas multinacionais instaladas nestes, os quais são comercializados a preços muito superiores aos praticados em seus países de origem (FOGANHOLI, 2012).

Há um risco no fornecimento de matéria-prima derivada de plantas medicinais, aromáticas e condimentares visto que as áreas onde estas plantas se desenvolvem naturalmente vêm sendo reduzidas pelas pressões exercidas pelo desmatamento, agricultura e urbanização, entre outros. Entretanto, não existe área

cultivada suficiente para atender toda a demanda. Certas espécies mais populares para consumo e de baixa ocorrência em ambientes naturais estão cada vez mais escassas. Cientistas, indústrias e organizações ambientalistas estão em consenso que uma das iniciativas para reduzir a pressão sobre o ambiente e preservar os recursos genéticos é o desenvolvimento de sistemas que permitam o uso sustentável das espécies exploradas, por meio de cultivo com base em pesquisas agrônômicas, visando produzir matéria-prima com qualidade e em quantidade (CORRÊA JÚNIOR; SCHEFFER, 2013).

Vale observar que, até o final da década de 90, somente 35% da produção dos óleos essenciais foi proveniente de espécies cultivadas. Essa situação justifica a preocupação de pesquisadores e ambientalistas com a exploração direta, predatória e por extrativismo das espécies de plantas medicinais e o surgimento de políticas públicas de incentivo ao cultivo e diversificação da produção de óleos essenciais para diminuição das importações de fármacos (BAIDA, 2010).

Por isso é importante o esforço na diversificação do cultivo das plantas medicinais, levando em consideração seus aspectos genéticos, ecológicos e fisiológicos. Busca-se matéria prima de qualidade para a produção de fármacos: com maior quantidade de substâncias ativas, isenta de resíduos e com boas condições sanitárias. Quando o cultivo se dá mediante assistência técnica, em locais, épocas e zoneamento adequados, utilizando-se variedades ou híbridos que tenham caracteres desejados, fazendo um bom manejo das condições do solo, das práticas agrícolas, com um controle de pragas e doenças e utilizando as técnicas de colheita, secagem e armazenagem corretas, fundamentais para manter o princípio ativo das plantas, então pode-se esperar menor custo, maior produtividade e melhor qualidade. Dessa forma, o impacto da matéria prima sobre o custo do processo de produção de fármacos poderá ser menor e atender a expectativa do mercado de obter medicamentos baratos para a população de baixa renda e programas sociais de saúde, ainda que o preço final tenda a ser próximo ao dos medicamentos sintéticos (FOGANHOLI, 2012; STROZE, 2013).

Dentre os problemas fitossanitários que acometem as plantas medicinais destacam-se a presença de fitonematoides, que podem comprometer tanto qualitativa quanto quantitativamente as propriedades farmacológicas e produção destas plantas (MÔNACO et al., 2011). Para que se atinja um cultivo de qualidade, conhecer as espécies de nematoides presentes na área de cultivo é fundamental, para que as medidas de controle sejam efetivas. Nematoides vêm causando, de maneira geral, os seguintes distúrbios diretos às plantas: formação de galhas; redução do número de raízes; exposição a

enfermidades fúngicas e bacterianas; hospedagem e aumento das populações desses parasitas no solo; comprometimento de suas propriedades farmacológicas e até a morte das plantas. Dentre os fitonematoides constatados parasitando plantas medicinais, destacam-se os do gênero *Meloidogyne* (STROZE, 2013).

Espécies do gênero *Meloidogyne* vêm causando limitações substanciais na produção de várias culturas como o café, algodão, cana-de-áçúcar, soja, hortaliças, frutíferas e olerícolas. Entre as principais espécies estão: *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. hapla* (Chitwood), *M. exigua* (Göeldi) e *M. coffeicola* (Lordello). Entretanto, outras espécies de nematoides das galhas vêm apresentando importância crescente como é o caso do *Meloidogyne paranaensis* que tem causado prejuízos nas culturas de café dos Estados de São Paulo e Paraná (FOGANHOLI, 2012).

A qualidade das plantas medicinais e aromáticas é obtida durante todo o processo produtivo e vai desde a identificação botânica, escolha do material vegetal, época e local de plantio, tratos culturais até a determinação da época de colheita e cuidados na colheita, de modo a se obter o máximo da qualidade para o produto (MARCHESE, 2005).

A propagação vegetativa tem se tornado comum para muitas espécies comercialmente importantes, e a tecnologia de enraizamento de estacas é o procedimento mais econômico na propagação em larga escala (SANTOS et al., 2007). Essa técnica é uma importante ferramenta para o melhoramento de espécies lenhosas e herbáceas, e pode ser utilizada em espécies com importância econômica e medicinal. A estaquia é um método de propagação vegetativo amplamente utilizado. Entretanto, sua viabilidade é dependente da capacidade de formação de raízes, da qualidade do sistema radicial e da capacidade da planta de se desenvolver na aclimatização (BETTONI et al, 2010).

Além dos aspectos fitossanitários, é importante se ter maior uniformidade e manter as características genéticas da planta doadora, por isso, mesmo que a planta possa ser propagada sexualmente, a propagação vegetativa tem inúmeras vantagens por ser uma técnica simples, rápida, barata e produzir muitas mudas em espaço reduzido. Trabalhos de domesticação de plantas medicinais são escassos ou inexistentes para a maioria das espécies, sendo necessário o desenvolvimento de estudos relacionados à adaptação dessas plantas às condições de cultivo, principalmente em virtude do aumento da demanda por parte das indústrias farmacêutica e cosmética (COSTA et al., 2007).

O interesse em pesquisas científicas relacionadas a métodos de propagação, identificação de compostos químicos e aplicações terapêuticas das plantas medicinais têm

se intensificado, possibilitando a realização de estudos em plantas utilizadas na medicina popular e a seleção de espécies que detenham propriedades medicinais (SANTOS et al., 2007). Dentre esses estudos, os ensaios de suscetibilidade de espécies vegetais ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) são importantes e devem ser feitos com plantas novas, que apresentem raízes secundárias e pelos radiculares recém desenvolvidos para se obter resultados confiáveis. Para que o ensaio seja bem sucedido, a uniformidade das mudas deve ser a condição primordial, porém, a capacidade de regeneração do sistema radicular em estacas de plantas varia conforme a espécie pesquisada. Desta forma, a propagação vegetativa de todos os acessos envolvidos no ensaio devem ser feitas, periodicamente, no sentido de se selecionar mudas, que muito embora não sejam da mesma idade, estejam no mesmo estágio de enraizamento.

Partindo desse contexto e da problemática que envolve a defesa das áreas cultivadas com plantas medicinais, a presente dissertação tem por objetivo contribuir para aumentar o conhecimento sobre a reação de sete espécies de plantas medicinais em relação ao *Meloidogyne paranaensis* e avaliar a velocidade de enraizamento dessas plantas (*Artemisia annua* L., *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Cordia verbenaceae* DC., *Hypericum perforatum* L., *Melissa officinalis* Lam., *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pederson e *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth).

Diante do valor terapêutico e comercial que as plantas medicinais têm para a melhoria da qualidade de vida da sociedade, justifica-se o objetivo, o qual se fortalece na medida em que contribui para a pesquisa ainda escassa sobre a reação de plantas medicinais aos nematoides de galhas, tanto quanto para a mobilização de setores da ciência, da economia e da sociedade. Um esforço em conjunto deve ser desenvolvido entorno de pesquisas multidisciplinares nas áreas de química, medicinal, farmacêutica, biológica, botânica e agrônômica, de forma que se consiga garantir aos usuários eficácia e qualidade dos fármacos ofertados no mercado brasileiro (STROZE, 2013).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Plantas medicinais são descritas como todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semisintéticos (MONTANARI JR., 2002). Por sua vez um fitoterápico é descrito pela ANVISA, resolução RDC nº 48, de março de 2004, como:

medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase 3. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais. (ANVISA, 2004, p. 10)

O conhecimento do valor terapêutico das espécies vegetais vem sendo transmitido, ao longo dos tempos, de geração a geração, juntamente com suas aplicações, formando um sistema médico, conhecido como tradicional. As plantas medicinais são utilizadas pela fitoterapia de várias maneiras: por meio de chás, lambedores, garrafadas, etc. O uso de remédios feitos com flores, frutas, folhas, raízes e tubérculos de determinadas plantas é tão antigo quanto os primórdios da história da humanidade (LEITE et al, 2015).

Plantas medicinais, preparações fitofarmacêuticas e produtos naturais isolados representam um mercado que movimenta bilhões de dólares, tanto em países industrializados, como em países em desenvolvimento (LIMA-SARAIVA et al., 2015). Apesar de não existirem dados oficiais atualizados, Carvalho et al. (2008) afirmaram que a FEBRAFARMA - Federação Brasileira da Indústria Farmacêutica no Brasil, estimava que esse mercado girava em torno de US\$ 160 milhões por ano. E o fator de atração foi que o ritmo de crescimento das vendas internamente, foi mais de 15% anual, contra os 4% em que evoluíam as vendas dos medicamentos sintéticos e que em toda a cadeia

produtiva, o setor fitoterápico movimentava anualmente cerca de R\$ 1 bilhão. Em 2015, a Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção de Saúde - ABIFISA (2016), publicou uma notícia em comemoração aos 30 anos da Herbarium, que é a primeira empresa a produzir fitoterápicos totalmente brasileira, onde o gerente de marketing da marca, Bruno Gallerani, disse que o mercado de fitoterápicos teve nesse ano, um crescimento de 7%, tendo um faturamento mundial de US\$ 44 bilhões e que no Brasil esse crescimento foi na casa dos 10%, apenas no último semestre de 2015.

No Brasil, o contexto das plantas medicinais se aproxima ao dos países em desenvolvimento. Sabe-se que, até o início do século 21, apenas 8% das espécies vegetais encontradas no país foi estudada e que foram avaliadas as propriedades medicinais de 1.100 espécies (menos de 0,2% das espécies), dentre as quais aproximadamente 54% encontram-se registradas no Ministério da Saúde e podem ser comercializadas. Por sua vez, o segmento de produtos derivados de plantas medicinais ocupava aproximadamente 7% do mercado farmacêutico, o que significava um faturamento de cerca de 400 milhões de dólares. Em relação à produção de óleos brutos ou essenciais, esta girava em torno de 13% da produção mundial em toneladas ou 45 milhões de dólares anuais, estando ainda incapacitada para atender os padrões de qualidade exigidos pelo mercado internacional, principalmente por conta da falta de pesquisa e desenvolvimento nas áreas de pré-processamento e armazenamento das plantas medicinais. Em consequência, 84% de todos os fármacos foram importados e 78% dos medicamentos produzidos no país foram de empresas multinacionais. O tema foi obrigatoriamente incorporado introduzido nos cursos superiores somente nos anos 80 e formou pesquisadores insuficientes para a dimensão da biodiversidade brasileira (FOGANHOLI, 2012).

Alguns fatores poderiam explicar o aumento do uso de fitoterápicos pela população, como os avanços ocorridos na área científica que permitiram o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes, e também uma forte tendência de busca pela população, por terapias menos agressivas destinadas ao atendimento primário à saúde (MARTINAZZO et al, 2013). Embora a procura por esse tipo de medicamento tenha crescido, na maioria das vezes os consumidores não sabem sobre a possível toxicidade de produtos derivados de plantas medicinais. Essa toxicidade depende do nível de contaminação do produto, da via de administração, da quantidade, frequência e duração da ingestão. Os remédios à base de plantas tem se tornado mais populares nos tratamentos para estresse, ansiedade, demência e esquecimento, por

demonstrarem segurança e eficácia e apresentarem a mesma ação terapêutica com muitas vezes menos efeitos colaterais, dependência ou tolerância. A forma mais utilizada é a infusão de ervas (PETENATTI et al., 2011).

De 1981 até 2010, aproximadamente 75% dos agentes anti-infecciosos eram produtos naturais ou derivados e os metabólitos secundários corresponderam a quase 50% de todas drogas introduzidas no mercado farmacêutico (ALVES et al., 2014). Os metabólitos secundários são responsáveis, na maioria dos casos, pelas atividades biológicas das plantas medicinais. Os óleos essenciais provenientes do metabolismo secundário das plantas destacam-se pelas suas propriedades antibacterianas, analgésicas, sedativas, expectorantes e estimulantes (STROZE, 2013). Os extratos vegetais são de grande relevância para a farmacêutica, visto que suas substâncias ativas são utilizadas na obtenção de fármacos (que são as substâncias ativas isoladas), na obtenção de adjuvantes, ou seja, como produtos utilizados na formulação de medicamentos e na produção de fitoterápicos (SIMÕES; SCHENKEL, 2001).

Devido às pressões exercidas pelo desmatamento, agricultura e urbanização, as áreas onde as plantas medicinais se desenvolvem naturalmente estão reduzidas, colocando em risco o fornecimento de matéria-prima derivada dessas plantas, visto que a área cultivada não é suficiente para atender a demanda e que boa parte dessas plantas vem do extrativismo. Por isso a importância de estudos para desenvolvimento de sistemas que explorem de forma sustentável essas espécies, garantindo a produção de matéria-prima de qualidade e em quantidade (MÔNACO et al., 2011). O cultivo de plantas medicinais não visa exclusivamente à produção, mas também a um controle de qualidade (concentração de princípios ativos/peso).

Outros fatores essenciais para a manutenção desses princípios ativos e substâncias são as técnicas de colheita, secagem, armazenagem e fatores de sanidade dessas plantas (FOGANHOLI, 2012). Problemas fitossanitários, como os fitonematoides, podem comprometer tanto quantitativamente como qualitativamente as propriedades farmacológicas e a sua produção, visto que causam danos diretos como a formação de galhas e redução de raízes além de predispor as plantas a doenças fúngicas e bacterianas, o que reduz o rendimento das culturas e pode matar as plantas (STROZE, 2013).

2.1.1 *Artemisia annua* L.

A *Artemisia annua* é uma Asteraceae nativa de regiões temperadas da Ásia. Mais de 30 espécies do gênero foram estudadas por pesquisadores chineses, porém foi confirmada a atividade antimalárica somente das espécies *Artemisia annua* L. e *Artemisia apiaceae* Hance, combatendo o *Plasmodium vivax* e o *Plasmodium falciparum*, que são os agentes etiológicos da malária (CELEGHINI et al., 2009).

Utilizada há mais de 2.000 anos na medicina popular, a moderna Farmacopeia chinesa descreve as folhas secas da *Artemisia annua* como remédio para febre, incluindo a malária e indica como forma farmacêutica a infusão. Normalmente, para o tratamento, a dose varia de 4-9g de folhas secas para cada litro de água fervente durante cinco a sete dias. Segundo estudos clínicos, a eficácia do tratamento é de até 70% (SILVA et al., 2012). Suas propriedades farmacêuticas incluem antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, antibiótico, antiúlcero-gênica e antimalária. É uma rica fonte de sesquiterpenos, isoprenóides, óleos voláteis, mono e diterpenos (MARQUES et al., 2006).

Seu metabólito secundário mais característico é uma lactona sesquiterpênica, a artemisina, que possui grande importância no tratamento de formas de malária que são resistentes a terapias convencionais com drogas, como a cloroquina e mefloquina. O resíduo gerado na extração de artemisina apresenta atividade antiúlcero-gênica, devido ao aumento da concentração de prostaglandinas na mucosa gástrica (CELEGHINI et al., 2009). A artemisina, por possuir uma ação rápida contra o *Plasmodium vivax* e o *Plasmodium falciparum*, é eficiente no tratamento de casos de malária cerebral. (RODRIGUES et al., 2006).

Os níveis de artemisina variam principalmente devido a fatores genéticos, porém podem variar dependendo da parte da planta, das condições de cultivo e das variações sazonais e geográficas (SILVA et al., 2012).

A *Artemisia annua* foi introduzida no Brasil na década de 80 e vem sendo objeto de estudos de melhoramento genético que resultaram na seleção de genótipos com alto rendimento de artemisina e que se adaptam bem em cultivos em regiões intertropicais. O governo brasileiro vem financiando o Projeto Artemisia através de uma bolsa da Rede Nacional de Malária, o que proporcionou o cultivo em ecossistemas amazônicos (SILVA et al., 2012).

A espécie reveste-se, portanto, de indiscutível importância em países tropicais onde a presença da malária ainda preocupa as autoridades da área da saúde, o que é o caso da Região Centro-Oeste do Brasil.

2.1.2 *Catharanthus roseus* (L.) G. DON

A *Catharanthus roseus* (Sin. = *Vinca rosea* Linn.) pertencente a família Apocynaceae (CANEL, 1998) é nativa da Ilha de Madagascar (MISHRA et al., 2006). Encontra-se amplamente distribuída em todo o mundo por ter alta capacidade de sobrevivência em uma variedade de *habitats* e por seu uso como planta ornamental (AL-SHAGHA et al., 2015).

A decocção ou o sumo de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento de diabetes. Suas folhas frescas têm sido aplicadas por médicos da Medicina Ayurveda na Índia com bons resultados. Nammi et al. (2003) investigou o uso do suco de folhas de *Catharanthus roseus* como hipoglicemiante em coelhos normais e diabéticos, concluindo que o sumo de suas folhas provoca uma redução na glicose do sangue comparável com a glibenclamida, droga utilizada como referência. Esse resultado deveu-se provavelmente ao aumento da secreção de insulina ou pode ter ocorrido por meio de mecanismo extra- pancreático, provocado pela ação do composto ativo da planta.

Suas raízes e folhas contêm mais de 100 alcaloides, vários deles como grande importância econômica (AL-SHAGHA et al., 2015). Dois desses alcaloides terpenóides isolados de *Catharanthus roseus* têm suma importância na medicina - a vincristina e a vimblastina-, e vêm sendo utilizadas como agentes anticancerígenos devido à inibição da metáfase da mitose celular (MISHRA et al., 2006; MELO; ALVARENGA, 2009). Porém, esses alcaloides são produzidos em níveis extremamente baixos, levando a altos preços de mercado e baixa disponibilidade (MIETTINEN et al., 2014).

No Brasil a *Catharanthus roseus* também é utilizada para controle de hemorragias, escorbuto, para dores de dente e para cura e limpeza de feridas crônicas (JOHNSON et al, 1963). Suas raízes são conhecidas por acumular ajmalicine e serpentina que ajudam a controlar a pressão arterial e doenças cardiovasculares (VERMA et al., 2014).

2.1.3 *Cordia verbenaceae* DC.

A *Cordia verbenaceae* D.C. (Sin.= *Varronia curassavica* Jacq.) é uma Boraginaceae, conhecida popularmente como erva-baleeira, catinga-de-barão, maria-milagrosa e maria-preta (FEIJÓ et al., 2014).

Ocorre naturalmente ao longo de todo o litoral brasileiro. É um arbusto ereto, perene, muito ramificado, que mede entre 1 e 3m. Por ter um crescimento vigoroso e espontâneo, muitas vezes é considerada planta daninha. A parte utilizada são as folhas na forma de tintura, chá, macerado em álcool, pomadas, cataplasmas, possuindo baixa toxicidade (BLANCO, 2013). O seu chá é bastante administrado na medicina popular por seu efeito anti-inflamatório, analgésico, antiulcerogênico, antiartrítico e tônico, sendo também empregado como cicatrizante de feridas e úlceras (SANTI et al., 2014).

A presença de flavonoides, fenóis e óleos essenciais, encontrados em estudos fitoquímicos, confirmaram sua atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e alergênica. Os principais componentes do óleo essencial da *Cordia Verbenaceae* são α -pineno (29,69%) e trans-cariofileno (25,27%); outros componentes em concentração significativa são allo-aromadendreno (9,99%) e α -humuleno (4,64%) (FEIJÓ et al., 2014). A Artemina é seu principal flavonóide, utilizado como anti-inflamatório e anti-infeccioso de uso externo em ferimentos e contusões (AMEIRA et al, 2009).

Em 2004, foi aprovado no Brasil o primeiro registro de anti-inflamatório tópico, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ele é feito a partir do óleo essencial da *Cordia verbenaceae* e tem como princípio ativo o α -humuleno (FEIJÓ et al., 2014).

2.1.4 *Hypericum perforatum* L.

Dentro da família Hypericaceae, o gênero *Hypericum* Linn. compreende mais de 450 espécies, sendo o *Hypericum perforatum* a espécie mais representativa delas. Conhecido popularmente como erva-de-São-João, hipérico, orelha-de-gato, alecrim-bravo, arruda-de-São-Paulo, arrudado-campo, milfurada e St. John`s Wort (ALVES et al., 2014), é uma planta herbácea, perene, originária da Europa, Ásia e do Norte da África, bem adaptada a regiões temperadas (SOUZA et al., 2006).

Na maioria dos preparos farmacêuticos utiliza-se a parte aérea dessa planta (BUFALO, 2007). Possui efeitos cicatrizante, antidepressivo, antiviral, antimicrobiano, antioxidante, antitumoral, anti-inflamatório, antifúngico e nefroprotetor (SOUZA et al., 2006; FIGUEIRÓ et al., 2010).

A hipericina é o principal componente do Hipérico, um metabólito secundário, que atua na inibição da enzima monoamino oxidase (MAO), que é responsável pela degradação de neurotransmissores, possuindo, portanto, efeito antidepressivo. Seu extrato vem sendo utilizado principalmente contra depressões com graus leves e moderados, que hoje acometem de 2 a 5% da população mundial (SOUZA et al., 2006).

Após diversos testes clínicos, foi confirmada a efetividade dos extratos aquosos do hipérico contra a depressão, sendo tão efetivos quanto os antidepressivos convencionais, tendo ainda a vantagem de produzir menos efeitos colaterais. Devido à grande quantidade de metabólitos secundários, a composição química do Hipérico vem sendo bastante estudada. Ela possui ao menos dez classes de compostos biologicamente ativos, dentre eles antraquinonas/naftodiantronas, derivados de floroglucinol, flavonoides, biflavonas, xantonas, óleos voláteis, aminoácidos, vitamina C, cumarinas, taninos e carotenoides. O período da colheita, as condições ambientais, o processo de secagem e o armazenamento influenciam diretamente na concentração e proporção desses constituintes na planta (ALVES et al., 2014).

2.1.5 *Melissa officinalis* LAM.

Melissa officinalis é uma Lamiaceae, originária da Ásia e sul da Europa. Cultivada em países de clima subtropical e temperado, é conhecida popularmente como melissa, erva cidreira verdadeira, citronela, chá da França e melissa romana (SODRÉ et al., 2013). É uma erva perene que apresenta um sabor de limão (SILVA et al., 2005).

Utilizada pelos homens desde a Grécia antiga, suas folhas, preparadas como chá, são indicadas como calmante, no combate às dores de cabeça, gases, cólicas intestinais e em infecções virais tais como gripe, herpes, caxumba e varicela, além de ser utilizada como repelente de insetos (SODRÉ et al., 2013). Alguns estudos têm demonstrado seus efeitos anti-tumorais e neuroprotetores (PEREIRA et al., 2009).

Análises feitas no seu óleo essencial demonstraram que seus principais compostos são o citronelal e o citral, seguidos por β -cariofileno, germacreno D, ocimeno e citronellol (SILVA et al., 2005). Possui também mucilagem, taninos, saponinas e resinas, sendo que alguns destes compostos são princípios ativos para produção de medicamentos e cosméticos (SODRÉ, et al. 2013). Especialmente o citral é responsável pela ação relaxante da planta enquanto os monoterpenos pelo odor característico do óleo (BRANDÃO et al., 2014).

2.1.6 *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN

A *Pfaffia glomerata*, Amaranthaceae, é muito utilizada pelos índios brasileiros para a prevenção e cura de doenças. É conhecida popularmente como corango, suma, paratudo, fáfia, ginseng do pantanal e ginseng brasileiro, este último devido a suas raízes serem tuberosas e geralmente ramificadas como as do ginseng do Oriente (GOSMANN et al, 2003; NASCIMENTO et al., 2007).

Essa espécie é quimicamente rica em saponinas triterpênicas, das quais se destacam β -ecdisona, fitoecdisteróides e demais esteróides e triterpenos, sendo esses seus principais compostos isolados (VIGO et al., 2004; KAMADA, 2009).

A planta teve, no Japão, suas propriedades medicinais comprovadas cientificamente como antidiarreico, bioenergético, tônico e afrodisíaco (GOMES, 2006). Seu potencial medicinal é proveniente de componentes presentes nas suas raízes que atuam na regeneração celular, na purificação do sangue, na inibição do crescimento de células cancerígenas, na regulação das funções hormonais e sexuais e como antidiabético (NASCIMENTO et al., 2007). Atua também como antirreumático, antioxidante, anti-inflamatório e gastroprotetor (SERRA et al., 2012).

Com ocorrência em todo o Brasil e países limítrofes, a fáfia é uma espécie perene de clima tropical, embora possa adaptar-se ao subtropical, subarborescente ou arbustiva, medindo entre 0,5 e 2,5 m. Típica de mata ciliar e de campos de inundação, ocorre em orlas de matas, beiras de rios, capoeiras úmidas e campos rupestres (NASCIMENTO et al., 2007). A espécie desenvolve-se melhor em uma temperatura média anual em torno de 22°C, com média das máximas de 32°C e média das mínimas

de 16,0°C; abaixo dessa temperatura, a planta paralisa seu desenvolvimento (ALVES, 2008).

É frequente no Cerrado e outros biomas do Mato Grosso do Sul, incluindo o Pantanal, nas margens e ilhas do Rio Paraná, Paranapanema e Ivaí, entre São Paulo, Mato Grosso do Sul e Paraná (BARBOZA et al., 2010).

Vale enfatizar que o Brasil exporta para o Japão cerca de 30 toneladas de raízes de *Pfaffia* spp. oriundas de extrativismo, sendo o maior fornecedor mundial dessas raízes. Porém, esse extrativismo desmedido vem causando uma diminuição na variabilidade das populações da planta além de danos ao meio ambiente. Estima-se que nos últimos sete anos o consumo dessas raízes tenha aumentado entre 15 e 17% ao ano (GOMES, 2006).

Correa Jr. (2003) estudou as características agrônômicas e fitoquímicas da *Pfaffia glomerata* e sua interrelação sócio-ambiental na planície de inundação do rio Paraná, onde cresce espontaneamente. Os acessos foram coletados nos estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul. A maior produtividade de raízes, tanto em peso fresco, quanto seco, foram alcançadas aos 12 e aos 14 meses. A maior produtividade, em peso seco, foi alcançada na terceira colheita (12 meses), porém não houve diferenças significativas com a 4ª colheita, sendo recomendável, nesse caso, que a colheita fosse realizada doze meses após o transplante. Quanto ao conteúdo de β -ecdisona verificou-se diferenças entre os acessos e entre as épocas de colheita. A média geral obtida foi de 0,29%. O maior conteúdo de β -ecdisona foi obtido aos 12 meses. Aos 14 meses houve uma redução drástica no conteúdo de β -ecdisona. Associando os dados de conteúdo de β -ecdisona aos de produção de biomassa, verificou-se que aos 12 meses o conteúdo médio de β -ecdisona por planta (g) foi 171% superior do que aos 14 meses.

2.1.7 *Pogostemon cablin* (BLANCO) BENTH.

Pogostemon cablin (Blanco) Benth, é uma Lamiaceae, originária do sudeste da Ásia, sendo extensivamente cultivada na Indonésia, Filipinas, Malásia, China e Brasil (XU et al., 2015). É uma erva de hábito perene com altura variável entre 0,6 a 1,0 m e filotaxia oposta com folhas ovaladas, adaptando-se em ambientes semi-sombreados. Seu nome popular é patchouli (STORCK, 2013).

O patchoulol, um sesquiterpeno oxigenado, além de regular a durabilidade do odor, quando em conjunto com α -patchouleno regula também o aroma do óleo essencial de patchouli. Esse óleo possui um forte odor balsâmico amadeirado, com nuances herbáceas e florais (SANT'ANA, et al., 2010).

O óleo essencial produzido pelo patchouli é um dos materiais naturais mais importantes utilizados na indústria de perfumes, o que vem aumentando sua demanda (CHEN, 2014). É extraído de suas folhas e empregado em perfumaria, como base e fixador de suas fragrâncias, e na cosmética, como matéria-prima na fabricação de sabonetes, incensos, produtos de higiene oral e pós-barba (COSTA et al., 2013).

Também são conhecidas suas atividades aromaterápicas, antioxidantes, inseticidas, repelentes contra insetos e antibacterianas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacterium coli*, *Bacterium typhosum* e *Mycobacterium tuberculosis* (SANT'ANA et al., 2010). A parte aérea vem sendo utilizada na China e nas regiões circundantes para o tratamento do resfriado comum, dor de cabeça, febre, vômitos, indigestão e diarreia, bem como um agente antifúngico (XU et al., 2015).

Atualmente está entre os 18 óleos essenciais com maior importância comercial no mundo. No Brasil, a indústria Raros produz, beneficia e exporta 12 toneladas por ano deste óleo essencial (COSTA et al., 2013). Na Indonésia, um óleo essencial de patchouli com 35% de patchoulol é frequentemente misturado com um óleo mais barato, com menor teor de patchoulol, importado da China, para reduzir o preço (SANT'ANA et al., 2010).

2.2 NEMATOIDES

Os nematoides pertencem ao reino Animal (Animalia), filo Nemata ou Nematoda. São invertebrados tipicamente vermiformes, pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, ovíparos, dióicos, com sistema digestivo e reprodutivo completo. Em média medem de 0,1 a 4,0 mm de comprimento (FIORENTIN, 2010). As vantagens evolutivas dos nematoides permitiram que esses organismos explorem várias fontes de alimentação, sendo classificados nos seguintes grupos tróficos: fitoparasitas (plantas), fitófagos (algas), micófagos (fungos), bacteriófagos (bactérias), predadores

(nematoides e outros micro-invertebrados), onívoros (hábito alimentar variado) e zooparasitas (animais) (CARES et al., 2006). Os grupos mais abundantes são os fitófagos e os bacteriófagos. Os fitonematoides têm interações complexas com suas plantas hospedeiras, resultando, via de regra, em mudanças morfológicas e de desenvolvimento em ambos os organismos (FIORENTIN, 2010).

Seu deslocamento no solo é bem limitado, não passando de centímetros, motivo pelo qual, inicialmente, ocorre em reboleiras. Sua principal forma de disseminação é pelo escorrimento da água da chuva ou de irrigação e consequente transporte da água. A ação do homem também é importante para sua disseminação através de mudas e implementos agrícolas contaminados (FOGANHOLI, 2012).

Os nematoides fitopatogênicos são de grande importância para agricultura mundial devido as perdas significativas que causam em culturas de elevada importância econômica. Seu controle é muito dispendioso e eleva significativamente os custos acarretando em redução dos lucros dos produtores (SANTOS, 2011).

O manejo de fitonematoides pode ser feito através do uso isolado ou conjunto dos seguintes métodos: a) alqueive que é a ausência de hospedeiras ou qualquer outra planta por um período de tempo; b) rotação de culturas utilizando plantas não hospedeiras ou plantas armadilhas; c) barreiras sanitárias com fiscalização de fronteiras; d) inundação do solo por pelo menos dois meses; e) solarização do solo por dois a três meses; f) controle biológico através do uso de antagonistas bacterianos e fúngicos; g) controle químico utilizando-se nematicidas, h) biocidas; e i) uso de cultivares resistentes (CARES et al. 2006; FOGANHOLI, 2012).

As medidas mais recomendadas vêm sendo o uso de cultivares resistentes, a rotação de culturas e o controle químico. Porém, para qualquer desses métodos existem inconvenientes. O método ideal é o emprego de plantas resistentes, o que nem sempre é possível, pois é dependente de variedades que combinem resistência com características agrônomicas desejáveis. A rotação de culturas nem sempre é desejada pela inviabilidade econômica das culturas recomendadas, embora algumas sejam empregadas como adubo verde. O controle químico apresenta baixa eficiência e os efeitos do seu uso podem gerar a intoxicação de pessoas e animais, o desequilíbrio na biologia do solo e a degradação do meio ambiente, além de deixar resíduos nos produtos agrícolas (FOGANHOLI, 2012).

2.2.1 GÊNERO *MELOIDOGYNE*

O Filo Nemata compreende espécies de vida livre no solo, em água doce e no mar e os parasitas do homem, dos animais e das plantas (GOMES, 2006). Uma pequena parte desse filo corresponde às espécies conhecidas como nematoides formadores de galhas do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (FOGANHOLI, 2012).

As espécies do gênero *Meloidogyne* são conhecidas como nematoides de raiz e estão entre os parasitas economicamente mais importantes, pois possuem ampla distribuição geográfica, muitas vezes interagem com outros patógenos de plantas formando complexos de doenças, são de difícil controle e causam queda na produção e na qualidade de várias culturas economicamente importantes (MÔNACO et al., 2009; STROZE, 2013).

No Brasil, diversas espécies de *Meloidogyne* vêm causando prejuízos à produtividade de várias culturas, entre elas as de café, cana-de-açúcar, algodão, soja, frutíferas, hortaliças e olerícolas. São elas: *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. exigua* (Göeldi), *M. hapla* (Chitwood), *M. coffeicola* (Lordello) e, mais recentemente, *M. paranaensis*, *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *M. ethiopica* (FOGANHOLI, 2012).

Os nematoides formadores de galha são endoparasitas obrigatórios, sedentários e que possuem como característica o dimorfismo sexual. As diferenças na forma do corpo das fêmeas e machos são estabelecidas durante o desenvolvimento pós-embriônico. As espécies de *Meloidogyne* apresentam o mesmo ciclo de vida, porém a diferenciação sexual, a reprodução e a fecundidade dos mesmos são afetadas por fatores ambientais e pela espécie vegetal à qual estão associados (MOURA, 1996; GOMES, 2006; STROZE, 2013). O ciclo de vida consiste em seis estádios de desenvolvimento: ovos, juvenis (J₁, J₂, J₃, J₄) e adulto. O ovo unicelular é depositado pela fêmea e seu desenvolvimento ocorre poucas horas após a oviposição até a formação do juvenil de primeiro estágio (J₁), que ao trocar de cutícula, ainda no interior do ovo, torna-se juvenil de segundo estágio (J₂). Ocorre então a eclosão dos J₂s que migram no solo a procura de raízes de plantas suscetíveis para hospedá-los (STROZE, 2013). Nesse momento o J₂ é móvel, vermiforme, infectivo e migra atraído por substâncias que emanam das plantas (GOMES, 2006).

A penetração nas raízes ocorre na região adjacente à coifa ou nos primórdios de raízes laterais através da perfuração pelo estilete. Achando um sítio de alimentação no

parênquima vascular, os juvenis de segundo estágio (J2) injetam substâncias que modificam algumas células próximas à região dos vasos condutores, originando as células gigantes. Essas células vão aumentando de tamanho e passam a fornecer alimento aos J2, como células nutrices. O parasita 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 de elementos vasculares, tornando-se sedentários. Então, sofre mudanças morfológicas, passando por três ecdises: a primeira para se tornar juvenil de terceiro estágio (J3), a segunda para juvenil de quarto estágio (J4) e a última para se tornar adulto (GOMES, 2006; MORITZ et al., 2008; STROZE, 2013).

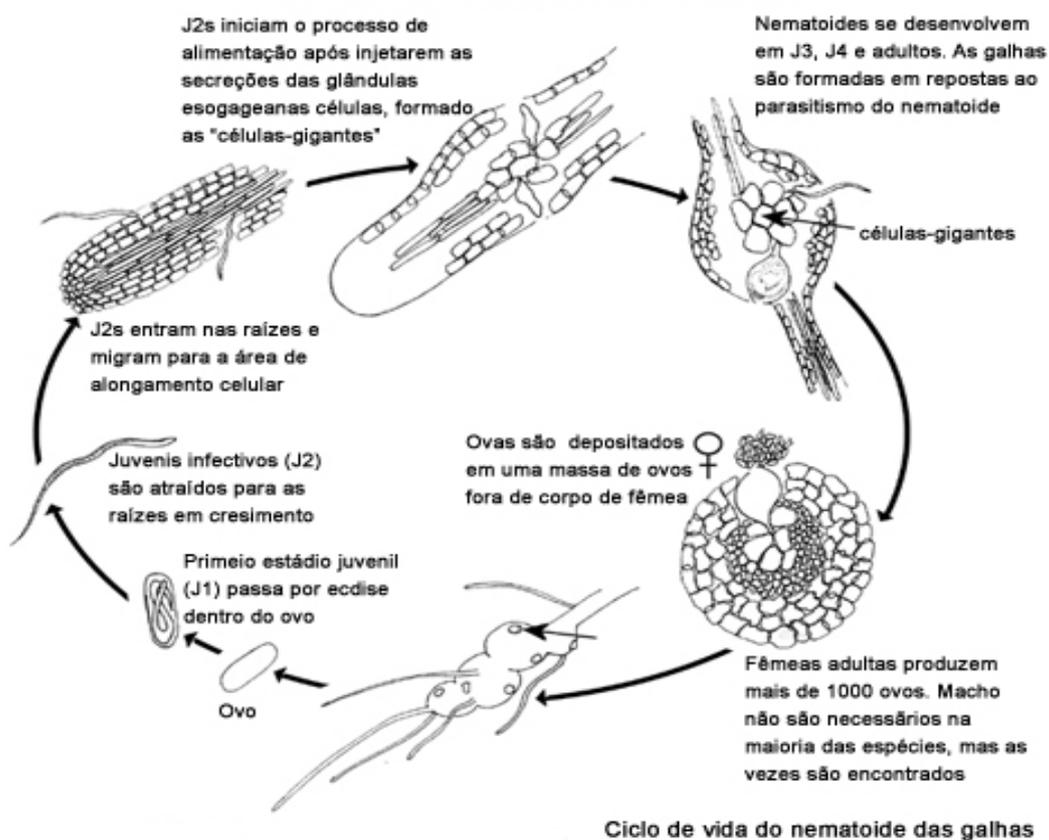


Figura 1 - Ciclo de vida do nematoide formador de galhas *Meloidogyne*
 Fonte: Brewster, V. (apud MITKOWSKI, N.A.; ABAWI, G.S., 2003)

É durante o desenvolvimento pós-embriônico que o sistema reprodutivo é desenvolvido e as gônadas funcionais crescem. A mudança de forma nos machos ocorre durante o quarto estágio juvenil (J4), quando sofre uma metamorfose e seu corpo se alonga ficando vermiforme. Após a última ecdise, os machos emergem inteiramente desenvolvidos, não se alimentam, saem da raiz e movem-se livremente pelo solo. O macho pode procurar por uma fêmea e acasalar-se ou permanecer no solo até a morte, o

que varia conforme o tipo de reprodução da espécie - se é anfimixia ou partenogênese. A maior parte das espécies é partenogenética. A fêmea, após a última ecdise, volta a se alimentar e permanece sedentária durante o restante de sua vida. As fêmeas adquirem forma piriforme e começam a postura de ovos em um único local da raiz entre três e seis semanas após a infecção, dependendo da espécie, da planta e das condições ambientais, formando uma massa de ovos envolta por uma matriz gelatinosa. Cada massa contém em média de 400 a 500 ovos. Essas massas podem ser internas, quando formadas em meio ao parênquima cortical, ou externas, quando formadas na superfície da raiz. As fêmeas produzem ovos por três meses e, depois de cessada a produção, podem viver um pouco mais, enquanto os machos vivem apenas semanas (GOMES, 2006; SANTOS, 2011).

A duração do ciclo de vida das espécies do gênero *Meloidogyne* é afetada pela temperatura, umidade, tipo de solo, práticas culturais e planta hospedeira. Geralmente esses nematoides completam seu ciclo de vida sob temperatura de 27°C, entre 22 a 30 dias. Suas espécies cessam por completo suas atividades vitais em temperaturas superiores a 40°C ou inferiores a 5°C. A temperatura pode influenciar tanto a embriogênese, o desenvolvimento, a eclosão, a mobilidade e a distribuição geográfica do nematoide, como também o crescimento do hospedeiro, causando modificações morfológicas e fisiológicas (FOGANHOLI, 2012; STROZE, 2013).

O estilete e as glândulas esofageanas secretoras são estruturas especializadas essenciais ao parasitismo. O estilete é utilizado para perfurar a parede celular das células vegetais e para injetar proteínas e carboidratos produzidos pelas glândulas esofageanas no interior da célula. Essas secreções provavelmente são responsáveis pela formação das células gigantes que se tornam hipertrofiadas e multinucleadas (GOMES, 2006).

As células gigantes e as galhas são respostas distintas ao processo de infecção ou infestação pelo parasita. A maioria das espécies de *Meloidogyne* induz a formação de galhas que são similares em sua morfologia. Galhas são o tecido da raiz que sofre hiperplasia e hipertrofia para envolver o nematoide e as células gigantes, o que acaba por distorcer as características estruturais da raiz. Essas aparecem normalmente de 1 a 2 dias após a penetração dos juvenis de segundo estágio. As galhas podem ser formadas antes das células gigantes ou mesmo na ausência delas e a sua formação não é essencial ao desenvolvimento dos fitonematoides (GOMES, 2006; STROZE, 2013).

As células gigantes se desenvolvem nos tecidos do floema primário e parênquima adjacente. Acredita-se que sua formação se dê por repetidas divisões

celulares sincronizadas sem subsequente divisão celular. Elas são essenciais ao desenvolvimento e reprodução do nematoide, visto que é a partir delas que estes obtém alimentação (GOMES, 2006; STROZE, 2013).

A resistência a nematoides é definida por algum fator ou por uma combinação de fatores da planta que inibem a reprodução desses parasitas, como, por exemplo, pela má formação de células gigantes. Em plantas que são altamente resistentes os parasitas apresentam taxa de reprodução muito restrita, enquanto que em plantas suscetíveis apresentam alta taxa de reprodução (MORITZ, 2008; STROZE, 2013).

As perdas causadas por esses nematoides vão muito além das perdas diretas, já que o seu controle onera significativamente a produção, uma vez que as formas mais utilizadas para controlá-los são a rotação de culturas e o uso de nematicidas. É imprescindível se conhecer as espécies de nematoides presentes na área de cultivo para se utilizar medidas de controle eficazes.

2.2.2 *Meloidogyne paranaensis* Carneiro et al.

Previamente confundido com *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood, identificado como biótipo IAPAR, em 1996, *M. paranaensis* foi caracterizado e descrito como uma nova espécie por Carneiro et al. (1996). Destaca-se pela sua agressividade e forte dano ao sistema radicular, com elevado grau de depauperamento das plantas (CARNEIRO et al., 2008). As raízes parasitadas por *M. paranaensis* apresentam descascamento e rachaduras, com alguns pontos de engrossamento em que se mostram lesões necróticas e descorticação (CASTRO et al., 2008). Segundo Carneiro et al. (2000), *M. paranaensis* se reproduz por partenogênese mitótica e teve um aumento substancial (70%) na sua distribuição no Paraná, comparativa a *M. incognita* que sofreu uma redução de 30%. Chegou, em alguns casos, a inviabilizar o cultivo de café em áreas contaminadas, possuindo ampla disseminação nos Estados do Paraná e São Paulo. Há também relatos de sua ocorrência em Minas Gerais - nos municípios de Patrocínio, Serra do Salitre, Piumhi e na região do Alto Paranaíba (CASTRO et al., 2003a). *M. paranaensis* foi detectado também na Guatemala e Havaí - Estados Unidos (CARNEIRO et al., 2004). Sua hospedabilidade e reprodução foram relatadas em plantas de café - *Coffea arabica* L.

(CARNEIRO et al., 1996), erva mate - *Ilex paraguariensis* L. (SANTIAGO et al., 2000), soja - *Glycine max* L. Merrill (CASTRO et al., 2003b; ROESE et al., 2004; ROESE et al. 2007), aveia preta - *Avena strigosa* e aveia branca - *Avena sativa* (MORITZ et al. 2003a; CARNEIRO et al., 2006a), milho - *Zea mays* L. (MORITZ et al., 2003b; CARNEIRO et al., 2007), diversas plantas daninhas (ROESE; OLIVEIRA, 2004; MÔNACO et al., 2008), mandioca - *Manihot esculenta* L. (CARNEIRO et al., 2006b), sorgo - *Sorghum bicolor* (MORITZ et al., 2006), diversas gramíneas (CARNEIRO et al., 2006c), trigo - *Triticum aestivum* (SCHERER et al., 2006), híbridos de sorgo e cultivares de milheto (CARNEIRO et al., 2007), em boldo - *Plectranthus barbatus*, poejo - *Mentha pulegium* e alfavaca-cheirosa - *Ocimum basilicum* (MÔNACO et al., 2011) e em *Aloe vera* (STROZE, 2013).

Carneiro et al. (2004) estudaram a diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. que parasitam as plantações de café no Brasil, América Central e Hawaii com base nos fenótipos da enzima esterase (EST), morfologia e polimorfismo molecular. Dentre as populações estudadas, seis amostras eram de *M. paranaensis*. Dessas, 4 isolados amostrados no Brasil e Havaí apresentavam o mesmo fenótipo P1 e as outras duas amostras provenientes da Guatemala acarretaram na descoberta de um novo fenótipo Est P2. Com relação ao polimorfismo da esterase, foi observada essa variabilidade intra-específica que em nível enzimático é geralmente baixa. Isso se deve ao fato de que as enzimas são produzidas através da expressão de genes que são altamente conservados e que representam apenas uma pequena parte do genoma total. Os estudos moleculares mostraram que as duas populações EST P2 se agruparam separadamente das demais, mostrando certa variabilidade filogenética. Recentemente, populações brasileiras com o fenótipo de enzima Est P2 foram detectadas no Brasil, no Paraná (Londrina) e em São Paulo (Herculândia) e estão sendo estudadas em projetos financiados pela Embrapa – Café. (Regina Carneiro, inform. pessoal).

2.2.3 *Meloidogyne* spp.: reação em diferentes plantas medicinais

Reddy (1984) relatou os efeitos de *M. incognita* sobre o patchuli (*Pogostemon cablin*) mediante a inoculação de 100, 1000, 10000 ovos/J₂ durante 180 dias. Houve uma redução nos pesos de parte aérea e raiz. Ao nível de inóculo inicial de 10.000 ovos/ J₂,

ocorreu a maior perda, sendo a redução de 15,9% e 27,9% para o do peso da parte aérea e do peso da raiz respectivamente.

Mesquita et al. (1993) estudaram a suscetibilidade de plantas medicinais a *Meloidogyne incognita* em casa de vegetação. Cada planta foi inoculada com 6000 ovos e juvenis e avaliada pelo número de galhas e de massas de ovos. Dentre as plantas estudadas *Melissa officinalis* e *Galinsoga parviflora* foram consideradas altamente suscetíveis; *Eupatorium maximiliani*, *Chenopodium quinoa* e *Talinum triangulare* como suscetíveis; *Cymbopogon citratus* como moderadamente resistente; *Pothomorphe peltata* e *Pfaffia glomerata* como resistentes; *Lippia germinata* como altamente resistente e *Bruophyllum calycinum*, *Gomphrena globosa*, *Mentha piperata*, *Spilanthes acmella* e *Vetiveria zizanioides* como imunes.

Haseeb; Pandey (1995) estudaram oito espécies de plantas medicinais e aromáticas e avaliaram se eram hospedeiras ou não de *M. incognita* e *M. javanica*. Foram avaliadas as seguintes plantas: *Abelmochus moschatus*, *Artemisia annua*, *Artemisia nilgarica*, *Bacopa monnieri*, *Jasminum humile*, *Paederia scandens*, *Tribulus terrestris* e *Valeriana wallichii*, *Bacopa monnieri*, *Jasminum humile* e *Tribulus terrestris* apresentaram suscetibilidade a *M. javanica* e as demais espécies a *M. incognita*. A *Artemisia annua* apresentou suscetibilidade a *M. incognita*, apresentando nível de infestação leve e galhas pequenas.

Walker (1995) avaliou vinte ervas quanto a reação ao *Meloidogyne incognita* raça 3 em casa de vegetação, dentre elas algumas espécies são medicinais. Trinta dias após o plantio as plantas foram inoculadas com 600 ovos/J₂ e 5.400 ovos/ J₂. As ervas avaliadas foram: *Melissa officinalis* L., *Ocimum basilicum* L., *Nepeta cataria* L., *Matricaria recutita* L., *Coriandrum sativum* L., *Anethum graveolens* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Hyssopus officinalis* L., *Lavandula augustifolia* Mill., *Origanum vulgare* L., *Mentha x piperita* L., *Eruca vesicaria* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Ruta graveolens* L., *Salvia officinalis* L., *Satureja hortensis* L., *Origanum majorana* L., *Tanacetum vulgare* L., *Thymus vulgaris* L. e *Artemisia absinthium* L. Apenas a *Mentha x piperita*, o *Origanum vulgare* e *Origanum majorana* foram resistentes. As demais espécies foram suscetíveis aos dois níveis de inóculo.

Maciel; Ferraz (1996) avaliaram as taxas reprodutivas de *M. incognita* raça 2 e de *M. javanica* em oito espécies de plantas consideradas medicinais, inoculadas com 5000 ovos e juvenis, em de casa de vegetação. As avaliações foram feitas com base nos índices de massas de ovos e nos fatores de reprodução dos nematoides. *Achillea millefolium* (mil-

folhas), *Arctium lappa* (bardana), *Bryophyllum calycinum* (folha-da-fortuna) e *Crassula portulacaea* (bálsamo) foram hospedeiras desfavoráveis a ambas as espécies. *Plectranthus barbatus* (boldo) e *Polygonum hidropiperoides* (polígono) foram eficientes quanto à reprodução das duas espécies. *Achyrocline satureoides* (macela) e *Tropaeolum majus* (chagas) foram boas hospedeiras para *M. javanica* e não para *M. incognita*.

Karl et al. (1997) avaliaram a patogenicidade de *M. javanica* em *Ocimum basilicum* var. *basilicum*, *O. sanctum*, *Melissa officinalis* e *Argeratum conyzoides*. O nível de infecção foi quantificado pelo número de galhas e de massas de ovos expressos por uma escala de 0 a 5. Todas as espécies foram altamente suscetíveis, recebendo índice 5 para galhas e massas de ovos (mais de 100 galhas e massas de ovos por sistema radicular). Apenas *O. basilicum* var. *basilicum* mostrou-se intolerante ao nematoide, apresentando redução nos pesos fresco e seco da parte aérea em comparação com as testemunhas.

Vinte e duas espécies de plantas medicinais foram testadas por Park et al. (2004) quanto a hospedabilidade a *M. hapla*, em casa de vegetação, com base no índice de galhas e no fator de reprodução. Doze dessas espécies, ou seja, *Angelica dahurica*, *Arctium lappa*, *Astragalus membranaceus*, *Carthamus tinctorius*, *Codonopsis lanceolata*, *C. pilosula*, *Coriandran sativum*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Leonurus sibiricus*, *Ligusticum tenuissimum*, *Ostericum koreanum* e *Peucedanum japonicum* foram registradas como suscetíveis a *M. hapla*. Três espécies, *Cassia tora*, *Coix lachryma-jobi* e *Perilla frutescens* foram imunes, não sendo encontradas galhas nem nematoide nessas plantas. Cinco espécies, *Achyranthes japonica*, *Atractylodes japonica*, *Hibiscus manihot*, *Ricinus communis* e *Sophora flavescens* foram consideradas resistentes. *Scaber Aster* e *Agastache rugosa* foram tolerantes e hipersensíveis, respectivamente.

Gomes (2006) avaliou acessos de *Pfaffia glomerata* provenientes das coleções de plantas mantidas pela Universidade de Brasília (UNB) e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) quanto a resistência a *M. incognita* raça 1. As plantas foram obtidas por mini-estaquia e inoculadas com 5000 ovos e juvenis. Noventa dias após a inoculação avaliou-se os sistemas radiculares quanto aos fatores de reprodução (FR) e ao índice de galhas e de massas de ovos. Os acessos São Luís (MA), UFV (MG), CENARGEN 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) e CENARGEN 2213-6 foram considerados altamente resistentes (FR<1); IAPAR (PR), CENARGEN 2216-10 e CENARGEN 2216-16, como medianamente resistentes (FR entre 1,9 e 2,3); CENARGEN 2217-10 e UFC (CE), suscetíveis (FR=10,0) e os acessos Farmacotécnica, DF e CENARGEN 2217-9 como altamente suscetíveis (FR >80). Ficou assim

demonstrada a possibilidade de uso de acessos resistentes para controle de *M. incognita* em áreas de cultivo. Gomes et al. (2010) encontraram aumentos na concentração de β -ecdisona, o principal componente farmacológico da *Pfaffia glomerata*, em raízes de plantas infectadas por *Meloidogyne incognita*.

Moreira (2007) avaliou a suscetibilidade a *M. incognita* raça 2 de 30 espécies (dessas, 20 espécies ornamentais e 10 medicinais). As espécies medicinais foram: *Peumus boldus* Molina, *Ocimum gratissimum* L., *Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Malinv. Ex L.H. Bailey, *Mentha x Vilosa* Huds., *Plectrathus amboinicus* (Lour.) Spreng., *O. basilicum* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cymbopogon citratus* (D.C) Strapf, *Lippia alba* L., *C. winterianus* Jowit. As plantas foram avaliadas quanto ao número de galhas e de ovos, índice de massa de ovos, fator de reprodução e redução do fator de reprodução. Dos resultados, observou-se que cinco das medicinais: *Rosmarinus officinalis*, *Mentha arvensis*, *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum* e *Plectranthus amboinicus* foram hospedeiras de *M. incognita* raça 2.

Mônaco et al (2008) estudaram a reação de 38 espécies de plantas daninhas ao *M. paranaensis*, dentre essas, algumas consideradas por Lorenzi; Matos (2008) como medicinais. Dentre essas últimas, as que se comportaram como suscetíveis foram: *Portulaca oleracea*, *Chenopodium album*, *Talinum paniculatum*, *Verbena litoralis*, *Lepidium pseudodidymum*, *Momordica charantia*, *Ageratum conyzoides*, *Physalis angulata* e *Polygonum persicaria*. Foram resistentes: *Porophyllum ruderale*, *Ipomoea quamoclit*, *Leonurus sibiricus*, *Sida rhombifolia*, *Emilia sonchifolia*, *Sonchus oleraceus* e *Solanum americanum*; por sua vez imune: *Leonotis nepetaefolia*.

Carneiro et al.(2009) relataram a ocorrência de galhas de *Cecidomyiidae* na parte aérea de *Cordia verbenacea*.

Por meio da determinação do fator de reprodução (FR), Baida (2010) avaliou a reação de 15 espécies de plantas medicinais a *M. javanica* e *M. incognita*. As plantas *Plectranthus neochilus*, *Plectranthus barbatus*, *Matricaria recutita*, *Anethum graveolens*, *Pimpinella anisum*, *Mikania glomerata*, *Hyssopus officinalis*, *Origanum majorana*, *Ocimum basilicum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha pulegium* e *Thymus vulgaris* apresentaram resistência a *M. javanica*, com $FR < 1$. Nenhuma das plantas demonstrou suscetibilidade e observou-se imunidade em *Commiphora myrrha*, *Ruta graveolens* e *Carpobrotus edulis*, que apresentaram $FR = 0$. Para o *M. incognita*, a *Matricaria recutita* foi suscetível, com $FR = 1,64$, considerada uma boa hospedeira, as demais plantas inoculadas com *M. incognita* se mostraram resistentes, com $FR < 1$.

Pandey & Kalra (2010) avaliando o uso de vermicompostos produzidos a partir da destilação de algumas plantas medicinais sobre a eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita* e desenvolvimento de galhas em tomate, encontraram que o extrato aquoso de *A. annua* inibiu 88,5% da eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita*.

Esfahani; Ahmadi (2010) detectaram no Iran a resistência de *Hypericum perforatum* a *Meloidogyne javanica*. A gravidade da infecção e o status de hospedabilidade das plantas foram estimados de acordo com uma escala de número de galhas e o número de ovos e juvenis no solo e raízes.

Genótipos de *Pfaffia glomera* obtidos por autosemeadura foram descritos morfológica e fenologicamente e avaliados quanto a sua reação a *M. javanica* por Salviano; Cunha (2011). A avaliação quanto ao nematoide foi feita de acordo com uma escala adaptada de Charchar; Moita (1996) e resultou em 21 plantas com índice de galhas (IG) = 1, provavelmente altamente resistentes, 25 plantas com IG = 2, provavelmente resistentes, 28 plantas com IG = 3, provavelmente moderadamente resistentes, 16 plantas com IG = 4, provavelmente suscetíveis e 16 plantas com IG = 5, provavelmente altamente suscetíveis.

Mônaco et al. (2011) avaliaram o comportamento de 14 espécies de plantas medicinais ao parasitismo de *Meloidogyne paranaensis* em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas com suspensão de 5000 ovos e juvenis de segundo estágio (J₂) e mantidas em vasos por 60 dias. Foram avaliadas a multiplicação dos nematoides nas raízes através da contagem de ovos e J₂ nos sistemas radiculares, calculando-se os fatores de reprodução (FR). Foram consideradas resistentes as plantas com FR < 1, suscetíveis as com FR ≥ 1 e imunes as com FR = 0. As espécies que se apresentaram resistentes foram *Taraxacum officinale* Wiggers, *Matricaria recutita* L., *Melissa Officinalis* L., *Hyssopus officinalis* L., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton e P. Wilson, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers e *Sedum praealtum* A. de Candolle; como suscetíveis: *Ocimum basilicum* L., *Plectranthus barbatus* Andrews e *Mentha pulegium* L. e como imunes a *Artemisia dracunculus* L. e *Petiveria alliacea* L.

Stroze (2013) avaliou as seguintes plantas medicinais quanto a suas reações às espécies *M. javanica* e *M. paranaensis*: *Achillea millefolium* L., *Aloe vera* L., *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf., *Eucalyptus globulus* L. e *Mentha piperita* L. *Aloe vera* foi suscetível as duas espécies inoculadas, enquanto as demais espécies apresentaram resistência a ambos, com FR < 1.

Ebne et al (2014) observaram a suscetibilidade da *M. officinalis* ao *M. javanica*. Também observaram uma relação inversa entre o fator inicial densidade de nematoides e o FR, ou seja, alguns níveis mais elevados de inóculo não corresponderam a números maiores de FR em relação a outros níveis menores. Constataram também que o parasitismo por *M. javanica* sobre *M. officinalis* esteve relacionado à exaltação de alguns componentes do óleo essencial da planta.

2.3 Propagação Vegetativa

O desenvolvimento de estudos relacionados à adaptação de plantas medicinais às condições de cultivo é essencial, visto que estes são escassos ou até mesmo inexistentes para a maioria das espécies e que, ao mesmo tempo, há um aumento na demanda dessas plantas pelas indústrias farmacêuticas e cosméticas (COSTA et al., 2007).

Isso explica o interesse crescente em pesquisas científicas relacionadas a métodos de propagação, identificação de compostos químicos e aplicações terapêuticas a plantas medicinais. Para muitas espécies comercialmente importantes, a propagação vegetativa tem se tornado comum, sendo o enraizamento de estacas o processo mais econômico para a propagação em larga escala (SANTOS et al., 2007).

Mesmo que a planta possa ser propagada sexualmente, as vantagens da propagação vegetativa são inúmeras, visto que além de ser uma técnica simples, rápida e barata, as características genéticas da planta doadora são mantidas e é possível se produzir muitas mudas em espaço reduzido e com maior uniformidade do estande (COSTA et al., 2007). Porém, a viabilidade da estaquia é dependente da capacidade de formação de raízes, da qualidade do sistema radicial e da capacidade da planta se desenvolver na aclimatização (BETTONI et al., 2010).

Na propagação vegetativa, a reprodução é feita de forma assexuada, graças à capacidade de um novo indivíduo se originar de células ou tecidos vegetais que assumem atividades meristemáticas mediante desdiferenciação e subsequente diferenciação celular. Sendo assim, através de um processo conhecido como totipotência, uma única célula viva contém as informações necessárias para regenerar uma nova planta, que possui características idênticas a que lhe deu origem. Essa característica de regeneração é mais pronunciada em algumas células e partes da planta do que em outras (SANTOS, 2009).

A propagação assexuada pode ser feita através da macropropagação e/ou micropropagação. A primeira envolve métodos como a estaquia, alporquia, enxertia e miniestaquia, enquanto a segunda é feita por técnicas de cultura de tecidos. A estaquia é o método de propagação vegetativa mais utilizada, e pode ser feita a partir da raiz, caule ou folha (SANTOS, 2009).

A propagação por estacas é possível, pois, muitas células têm a capacidade de se tornarem meristemáticas e assim produzir novos sistemas radiculares, caulinares ou ambos. Na propagação por estacas caulinares, somente é necessário que se forme um novo sistema radicular, pois já existe um site caulinar no ramo em potencial, a gema (SANTOS, 2009).

Nas estacas caulinares, primeiro as células injuriadas morrem, formando uma necrose que é selada com suberina, tampando o xilema para proteger a superfície do corte da dessecação e do ataque de patógenos. As células vivas que permanecem atrás desse selo, sofrem divisão formando uma camada de células parenquimáticas, conhecidas por calos, que formarão a periderme. Células próximas do câmbio vascular e floema através de divisões formam essas raízes adventícias (HARTMANN et al., 2002).

Alguns fatores afetam no enraizamento das estacas, sendo eles, as condições fisiológicas como a presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, auxinas, aminoácidos, compostos fenólicos e outras substâncias, o período e a posição de coleta da estaca, a juvenalidade, o estiolamento, a idade da planta matriz, a presença de folhas e de gemas e os fatores ambientais como água, luz e o substrato (HARTMANN et al., 2002).

A presença de brotações e folhas nas estacas é importante no enraizamento, pois possibilita uma maior produção de fotoassimilados e de síntese de auxinas que são essenciais para emissão de raízes adventícias e para o crescimento da planta. Existe variação na capacidade de enraizamento ao longo do ramo da planta na medida em que há uma variação na concentração de fitohormônios e carboidratos que são deslocados das folhas e gemas e que influenciam no seu potencial de enraizamento. Os carboidratos disponibilizam amido que é degradado em açúcares solúveis que estão ligados ao número de raízes e influenciam na formação de órgãos e tecidos (CARVALHO et al., 2015).

2.3.1 Propagação vegetativa das espécies estudadas

A espécie *Pfaffia glomerata* apresenta grande facilidade de enraizamento de estacas aéreas mesmo que sejam multinodais, uninodais ou seminodais (NICOLOSSO et al., 1999; NICOLOSSO et al., 2001; GOMES, 2006).

Segundo Gomes; Barros (2013) as estacas floridas de *Catharanthus roseus* e *Cordia verbenácea*, via de regra, enraízam e brotam, porém apresentam notáveis falhas de *stand*. Os autores obtiveram apenas enraizamento incipiente e calos em estacas de *Catharanthus roseus* com trinta dias de ensaio e ressaltam que estacas de boa qualidade geralmente enraízam, desde que não se trate de espécie recalcitrante. Pereira et al. (2001) ressaltam como importante a manutenção da turgência da estaca, que é crítica para algumas espécies, requerendo não raro a utilização de miniestufas.

Zanchett (2013), no Distrito Federal, registrou 41,7 % de perdas na formação de mudas de *Cordia verbenacea* por estaquia, significando falha no enraizamento das estacas ou estacas mortas, em casa de vegetação. No período de floração da espécie, os ramos vegetativos são escassos e as estacas floridas no geral não são os melhores materiais.

Magalhães (1996) utilizou com sucesso a propagação vegetativa da *Artemisia annua* por cultura de tecidos ou por estacas para utilização em programa de melhoramento genético principalmente visando à manutenção dos progenitores e à fixação de caracteres desejáveis.

Souza et al. (2006) utilizaram com sucesso a propagação vegetativa do *Hypericum perforatum* para produzir mudas visando ensaio de calagem e adubação fosfatada. Cabrera (2011) no Equador, enraizou com sucesso estacas de acessos de *Hypericum sp* (provavelmente *H. androsaeum x H. hircinum*) em substratos obtidos de combinações de fibra de coco, terra orgânica e casca de arroz.

Saglam et al. (2004) compararam dois métodos de propagação de *Melissa officinalis*: por sementes e por estaquia. As mudas obtidas foram cultivadas em campo por dois anos. O rendimento das plantas propagadas por sementes para peso fresco e seco da parte aérea foi maior nas plantas propagadas por sementes, muito embora o rendimento em óleo essencial não tenha variado significativamente, conforme os tratamentos tanto no primeiro ano de cultivo, quanto no segundo.

Nascimento (2009) testou a estaquia uninodal em várias espécies de plantas medicinais incluindo *Melissa officinalis* e observou que esta espécie obteve nota máxima de sucesso de enraizamento dos nós sob miniestufa.

Sevik; Guney (2013) realizaram ensaio de estaquia com *Melissa officinalis* na presença e na ausência de substâncias de crescimento (IAA, IBA, NAA, e GA3). Concluíram que as estacas com pelo menos uma gema podem produzir mudas e que os tratamentos químicos não tiveram efeito aparente na percentagem de enraizamento. No entanto, afetaram características morfológicas como o padrão de enraizamento, por exemplo, e que o GA3 afetou a altura da haste.

Deng et al. (2006) estudaram a propagação vegetativa por estaquia de *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare* e *Lavandula angustifolia* e concluíram que a vermiculita foi o melhor meio de enraizamento e que, embora estacas do meio do ramo e do broto terminal sejam efetivas, as estacas do broto terminal apresentaram os melhores resultados. Os reguladores de crescimento não tiveram efeito significativo no enraizamento das estacas das espécies. Também observaram que estacas de *M. officinalis*, mergulhadas em água por duas horas, poderiam ser utilizadas diretamente para propagação no período do inverno.

Nascimento (2009) testou a estaquia uninodal de *Pogostemon cablin* (Patchulí) em substrato mistura (latossolo textura média + areia + composto orgânico + vermiculita), sob miniestufa e observou que esta espécie teve desempenho modesto para enraizamento e sobrevivência das estacas com apenas 30%, em média, de sucesso.

Bettoni et al. (2010) enraizaram estacas caulinares de 6 cm de *Pogostemon cablin* em substrato Plantmax HT® mediante seis tipos de estacas: 1- com um par de folhas; 2- um par de folhas reduzidas pela metade; 3- com uma folha; 4- com uma folha reduzida pela metade; 5- sem folhas; 6- estacas de folhas. Os melhores resultados para enraizamento foram obtidos com os tratamentos 1 e 2. A retirada total das folhas resultou no menor enraizamento e maior percentagem de estacas mortas.

Priyadarshani et al.(2013) enraizaram vários tipos de estacas de *Pogostemon heyneanus* em diferentes meios de enraizamento em presença e ausência de hormônios. Concluíram que as estacas semi maduras em substrato constituído por areia, composto orgânico e pó de fibra de coco, na proporção 1:1:1 com adição de hormônios, apresentaram os melhores resultados para número e tamanho de raízes, percentagem de sobrevivência de estacas e percentagem de estacas enraizadas. Na ausência de hormônios também houve sucesso no enraizamento.

Rathnayake et al.(2015), enraizaram estacas de um e dois nós de uma espécie de Patchouli (*Pogostemon heyneanus*) em três estágios de maturação (estacas novas, médias e maduras) em três meios de enraizamento com solo, areia e composto orgânico nas relações: 1:1:1; 1:1:2 e 1:2:1 e concluíram que as melhores mudas foram produzidas pelas estacas maduras de dois nós plantadas no substrato 1:1:1.

Saravanan et al. (2015) enraizaram em casa de vegetação com 50% de sombreamento, estacas de *Pogostemon cablin* de um nó com folha, retiradas de diferentes partes do ramo: 1- do segundo nó a partir do broto terminal (estacas jovens); 2- do terceiro nó; 3- do quarto nó, 4- do quinto nó (estaca mais madura), em meio de enraizamento composto por areia, solo, esterco de gado compostado, na proporção 1:1:1. Observaram que o enraizamento e brotação iniciaram-se aos 14 dias no tratamento 3 e aos 18 dias no tratamento 1. Os melhores resultados foram obtidos para o tratamento 3, ou seja, estacas de nós medianos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 48 de 16 de março de 2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/docs/Resolucao%20RDC%2048%20de%2016032004.PDF>. Acesso em: 26 jan.2016

ASSOCIAÇÃO DE EMPRESAS DO SETOR FITOTERÁPICO, SUPLEMENTOS ALIMENTARES E DE PROMOÇÃO DA SAÚDE (ABIFISA). **Celebrando 30 anos no mercado de fitoterápicos**. Disponível em: <2016 <http://www.abifisa.org.br/noticia/09-11-2015-celebrando-30-anos-no-mercado-de-fitoterapicos>>. Acesso em: 25 jan. 2016.

AL-SHAQHA, W. M.; KHAN, M.; SALAM, N.; AZZI, A.; CHAUDHARY, A. A. Anti-diabetic potential of *Catharanthus roseus* Linn. and its effect on the glucose transport Gene (GLUT-2 and GLUT – 4) in streptozotocin induced diabetic wistar rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2015.

ALVES, A. C. S., MORAES, D. C.; FREITAS, G. B. L. de; ALMEIDA, D. J. Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum*. Campinas, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 593-606, 2014.

ALVES, R. B. N. **Caracterização morfológica, química e conservação in vitro de *Pfaffia glomerata* (Sprengel) Pedersen**. 2008. 129 f. Tese (Doutorado em Agronomia / Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, SP, 2008.

AMEIRA, O. A.; PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, M. G.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Estabelecimento de cultura de células em suspensão e identificação de flavonóides em *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 1, p. 7-11, 2009.

BAIDA, F. C. **Hospedabilidade de plantas medicinais aos nematoides *M. javanica* e *M. incognita***. 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

BARBOZA, V. C.; VIEIRA, M. C.; ZÁRATE, N. A. H.; PADOVEZZI, V. H.; SANTOS, M. J. G. Cama-de-frango em mono e policultivo de fáfia com cravo-de-defunto e manjerição. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 348-354, 2010.

BETTONI, M. M.; STORCK, R. C.; PENUELA, L. F.; MORAES, C. P. Propagação vegetativa de Patchouli por estaquia. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 5, p. 417 - 420, set./out. 2010.

BLANCO, M. C. S. G. **Produção Vegetal. Erva baleeira**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento / Governo do Estado de São Paulo, 2013.

BRANDÃO, D. S.; SILVA, P. H. L.; JARUCHE, Y. G. J.; SANTOS, R. R.; MARTINS, E. R. Produção de biomassa e do rendimento do óleo essencial de melissa em cultivo solteiro e consorciado com mil-folhas e alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1513-1518, 2014.

BUFALO, A. C. **Antidepressivo *Hypericum perforatum* L. sobre o sistema reprodutivo masculino de ratos Wistar**. 2007. 82 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmacologia, Curitiba, 2007.

CABRERA, M. A. A. **Propagación vegetativa de tres variedades de (*Hypericum sp*) con tres enraizadores y tres sustratos orgánicos en dos sistemas de cultivo**. 2011. 90 p. Monografía (Graduação Ingeniería de Ciencias Agropecuarias) - Escuela Politécnica Del Ejército, Departamento de Ciências de La Vida, Sangolquí, Ecuador, 2011.

CANEL, C.; LOPES-CARDOSO, M. I.; WHITMER, S.; VAN DER FITS, L. PASQUALI, G.; VAN DER HEIJDEN, R.; HOGE, J. H. C.; VERPOORTE, R. Effects of over-expression of strictosidine synthase and tryptophan descarboxylase on alkaloid production by cell cultures of *Catharanthus roseus*. **Planta**, v. 205, p. 414-419, 1998.

CARES, J. E.; BLUM, E. B.; EDNALVA, P. A. Nematologia vegetal: uma introdução. In: BLUM, L.E.; CARES, J.E.; UESUGI, C.H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Otimismo, 2006.

CARNEIRO, R. M.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. isolates. **Nematology**, Leiden, NL, v. 2, p. 645-654, 2000.

CARNEIRO, R. M.; TIGANO, M. S.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; SARAH, J. L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, v.6, n. 2, p. 287-298, 2004.

CARNEIRO, M. A. A., BORGES, R. A., ARAÚJO, A. P., FERNANDES, G. W. Insetos indutores de galhas da porção sul da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 4, p. 570-592, 2009.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O.; SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Jornal of Nematology**, v. 28, n. 2, p. 177-189, 1996.

CARNEIRO, R. G.; MORITZ, M. P.; MÔNACO, A. P. A.; LIMA, A. C. C.; SANTIAGO, D. C. Reação de cultivares de aveia às raças 1 e 3 de *Meloidogyne incognita* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 3, p. 281-285, 2006a.

_____. Reação de cultivares de mandioca às raças 1 e 3 de *Meloidogyne incognita*, a *M. paranaensis* e a *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n.3, p. 275-279, 2006b.

CARNEIRO, R. G.; MÔNACO, A. P.; LIMA, A. C. C.; NAKAMURA, K. C.; MORITZ, M. P.; SCHERER, A.; SANTIAGO, D. C. Reação de gramíneas a *Meloidogyne incognita*, a *M. paranaensis* e a *M. javanica*. Brasília, **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 3, p. 287-291, 2006c.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MESQUITA, L. F. G.; GONÇALVES, W.; PEREIRA, A. A. Pathogenicity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) from Brazil and Central America on two genotypes of *Coffea arabica*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 309-312, jul./aug. 2008.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MORITZ, M. P.; MÔNACO, A. P. A.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Reação de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 2, 2007.

CARVALHO, A. M.; PEREIRA, A. A.; CARVALHO, G. R.; MENDES, A. N. G.; BOTELHO, C. E. Influência de diferentes tipos de estacas e substratos na propagação vegetativa de *Hyptis pectinata*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.14, n.1, p.89-91, 2015.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO; E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J.P.S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 18, n.2, p.314-319, 2008.

CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; NAVES, R. L.; ANDRADE JÚNIOR, W. C.; DUTRA, M. R.; COIMBRA, J. L.; MAXIMINIANO, C.; SILVA, J. R. C. Levantamento de fitonematoides em cafezais do sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, p. 56-64, 2008.

CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P.; NAVES, R. L. Ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 565, 2003a.

CASTRO J. M. C.; LIMA R; CARNEIRO, R. M. D. C. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 27, n.1, p. 1-12, 2003b.

CELEGHINI, R. M. S.; SOUSA, I. M. de O. L.; SILVA, A. P.; RODRIGUES, R. A. F.; FOGGIO, M. A. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE-IR

para determinação de artemisinina em *Artemisia annua* L. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 875-878, 2009.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 185-189, 1996.

CHEN, Y.; WU, Y. G.; XU, Y.; ZHANG, J. F.; SONG, X. Q.; ZHU, G. P.; HU, X. W. Dynamic accumulation of sesquiterpenes in essential oil of *Pogostemon cablin*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 626-634, 2014.

CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. **Boas práticas agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Curitiba: Instituto EMATER, 2013.

CORRÊA JÚNIOR, C. **Estudo agrônômico de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen): sazonalidade na produção de raízes e conteúdos de β -ecdisona em diferentes acessos de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul**. 2003. 73 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

COSTA, G. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S; DESCHAMPS, C. Rendimento e composição do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) conforme o tempo de extração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 319-324, 2013.

COSTA, L. C. B, PINTO, J. E. B.; BERTOLUCCI, S. K. V. Comprimento da estaca e tipo de substrato na propagação vegetativa de atoveran. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1157-1160, jul./ago., 2007.

DENG, Q. X.; WANG, X. R.; MAO, X. L.; LIU, S. Y. Studies on cutting propagation of *Melissa officinalis* L, *Origanum vulgare* L and *Lavandula angustifolia* in Winter [J]. **Journal of Henan Agricultural Sciences**, v. 6, p. 27, 2006.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; CUNHA, T. P. da; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; BIELA, F.; SANTANA, S. D. M. Reação de hortaliças e plantas aromáticas aos nematoides *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 30, n. 2, 2012.

EBNE, A. S. F.; OLIA, M.; FADAEI, T. A. A.; JAIMAND, K. Effects of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on lemon balm medicine; plant (*Melissa officinalis*). **Journal Plant Protection**. v. 37, n. 1, p. 23-34, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA DE EXTENSÃO RURAL (EMBRATER) / INSTITUTO PARANAENSE DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. **Projeto plantas potenciais, medicinais e aromáticas**: detalhes. Paraná, [19--?]. Disponível em: <<http://www.emater.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=53>>. Acesso em: 24 set. 2015.

ESFAHANI, M. N.; AHMADI, A. Field observations on the reaction of medicinal plants to root-knot nematodes in Isfahan, Iran. **International Journal of Nematology**, v. 20, n. 1, p. 107-112, 2010.

FEIJÓ, E. V. R. da S., OLIVEIRA R. A. de, COSTA L. C. do B. Light affects *Varronia curassavica* essential oil yield by increasing trichomes frequency. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, v. 24, p. 516-523, 2014.

FIGUEIRÓ, A. A., CORREA, C. M., ASTARITA, L.V. SANTARÉM, E. R. Long-term maintenance of in vitro cultures affects growth and secondary metabolism of St. John's Wort. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2115-2121, 2010.

FIORENTIN, F. **Identificação de *Meloidogyne* spp. em reservas legais e avaliação de parasitismo de *Meloidogyne incognita* raça 3 e *M. javanica* em plantas nativas do oeste paranaense**. 2010. 52 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândi Rondon, 2010.

FOGANHOLI, A. P. A. M. **Hospedabilidade de *Meloidogyne paranaensis* em plantas medicinais, composição química do óleo essencial de *Mentha pulegium* e efeito do parasitismo de *M. paranaensis* sobre as substâncias fenólicas e *M. pulegium*.** 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

GOMES, A. C. M. M. **Resistência e caracterização histológica de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita*.** 2006. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2006.

GOMES, A. C. M. M.; NICOLE M.; MATTOS, J. K. A.; PEREIRA, S. I. V.; PEREIRA, P.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; CAPDEVILLE, G.; MOITA, A. W.; CARNEIRO, R. M. D. G. Influence of *Meloidogyne incognita* infection on the concentration of β -ecdysone in *Pfaffia glomerata* and histological characterization of plant resistance to this nematode. **Nematology**, v. 12, n. 5, p. 701-709, 2010.

GOMES, T. M.; BARROS, F. T. V. **Propagação vegetativa de espécies invasoras de interesse da fitoterapia: ensaio preliminar.** 2013. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2013.

GONÇALVES, M. L. Q. **Boas práticas para medicamentos fitoterápicos em escala magistral no setor público.** 2009. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre, 2009.

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. Ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

HASEEB, A.; PANDEY, R. Additions of the host records of root-knot nematodes among the medicinal and aromatic plants. **Journal Nematologia Mediterranea**, v. 23, n. 2, p. 211-212. 1995.

JOHNSON, I. S.; ARMSTRONG, J. G.; GORMAN, M.; BURNETT, J. P. The vinca alkaloids: a new class of Oncolytic Agents. **Cancer Research**, Indiana, v. 23, p. 1390-1427, 1963. Disponível em: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/23/8_Part_1/1390.full.pdf+html>. Acesso em: 11 jan. 2015.

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

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, nov. 1997.

LEITE, I. A.; MORAIS, A. M.; Ó, K. D. S. do; CARNEIRO, R. G.; LEITE, C. A. Etnobotânica de plantas medicinais no município de São José de Espinharas, Paraíba – Brasil. **Biodiversidade**, v. 14, n. 1, 2015.

LIMA, F. A.; BÚ, E. A. do; SOARES, M. P.; ARAÚJO, C. R. F. Fitoterapia e sua inserção no contexto da atenção básica. **Revista Saúde e Ciência Online**, v. 4, n. 2, p. 120-128, 2015.

LIMA-SARAIVA, S. R. G.; SARAIVA, H. C. C.; OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; SILVA, J. C.; DAMASCENO, C. M. D.; ALMEIDA, J. R. G. S.; AMORIM, E. L. C. A implantação do programa de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema público de

saúde no Brasil: uma revisão de literatura, **Revista Interdisciplinar de Pesquisa e Inovação**, v. 1, 2015.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008, 544p.

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, mai./dez., 1996.

MAGALHÃES, P.M. **Seleção, melhoramento e nutrição da *Artemisia annua* L. para cultivo em região intertropical**. 1996. 117 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 1996.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 7, n. 3, p.86-96, 2005.

MARQUES, D. A.; FOGGIO, M. A.; MORGANTE, P. G.; VAN SLUYS, M.; SHEPHERD, S. L. K. Biotechnology approaches for production of antiulcerogenic dihydro-epideoxyarteannuin B isolated from *Artemisia annua* L. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n. 3, p. 291-299, jul./set. 2006.

MARTINAZZO, A. P.; FILHO, L. C. C.; ROSA, D. A.; TEODORO, C. E. S.; TOMAZELLI, K. K. Perfil de utilização de fitoterápicos nos municípios de Volta Redonda e Barra Mansa / RJ. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 2, p. 73-160, jul./dez. 2013.

MELO, A. A. M.; ALVARENGA, A. A. Sombreamento de plantas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don ‘Pacifica White’ por malhas coloridas: desenvolvimento vegetativo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 514-520, 2009.

MESQUITA, R. L.; SOUZA, R. M.; MATTOS, J. K. A. Susceptibilidade de plantas medicinais a *Meloidogyne incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 17, 1993, São Paulo. **Anais ...** Jaboticabal: [s.n.], 1993.

MIETTINEN, K.; DONG, L.; NAVROT, N.; SCHNEIDER, T.; BURLAT, V.; POLLIER, J.; WOITTIEZ, L.; VAN DER KROL, S.; LUGAN, R., LLC, T.; VERPOORTE, R.; OKSMAN-CALDENTEY, K. M.; BOUWMEESTER, H. GOOSSENS, A.; MEMELINK, J.; WRCK-REICHHART, D. The seco-iridoid pathway from *Catharanthus roseus*. **Nature Communications**, 2014. Disponível em: <<http://www.nature.com/ncomms/2014/140407/ncomms4606/pdf/ncomms4606.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2015.

MISHRA, S.; TYAGI, A.; SINGH, I. V.; SANGWAN, R. S. Changes in lipid profile during growth and senescence of *Catharanthus roseus* leaf. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 4, p. 447-454, 2006.

MITKOWSKI, N.A.; ABAWI, G.S. Nematóides das galhas. **The Plant Health Instructor**. 2003. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/Nematodes/Pages/RootknotNematodePort.aspx>>. Acesso em: 15 abr. 2016.

MÔNACO, A. P. D. A.; CARNEIRO, R. G.; SCHERER, A.; SANTIAGO, D. C. Hospedabilidade de plantas medicinais a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 35, n. 1-2, p. 46-49, 2011.

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**, Piracicaba, v. 33, n. 3, p. 335 – 242, 2009.

MÔNACO A. P. A.; CARNEIRO, R. G.; KRANZ, W. M.; GOMES, J. C.; SCHERER, A.; NAKAMURA, K. C.; MORITZ, M. P.; SANTIAGO, D. C. Reação de Espécies de Plantas Daninhas a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 4, 2008.

MONTANARI JÚNIOR, R. I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas.** Campinas: CPQBA, 2002. Disponível em: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/producao.htm>>. Acesso em: 12 dez. 2015.

MOREIRA, F. J. C. **Hospedabilidade de plantas ornamentais e medicinais a *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White, 1919) Chitwood (1949) e controle alternativo com óleos essenciais.** 2007. 145 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, 2007.

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**, Piracicaba, v. 32, n. 1, 2008.

MORITZ, M. P., SIMÃO, G., CARNEIRO, R. G. Reação de aveia a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3 e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 27, n.2, p. 207-210, 2003a.

_____. Reação de genótipos de milho às raças 1 e 3 de *Meloidogyne incognita* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 27, n. 2, p. 211-214, 2003b.

MORITZ, M. P.; LIMA, A. C. C.; NAKAMURA, K. C.; SHERER, A.; CARNEIRO, R. G. Reação de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*) às raças 1 e 3 de *Meloidogyne incognita* e *M. paranaensis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 26, 2006, Rio de Janeiro. **Resumos..** Campos dos Goytacazes: [s.n.], 2006.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. In: LUZ, W. C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 209-244, 1996.

NAMMI, S.; BOINI, M. K.; LODAGALA, S. D.; BABU S. B. R. The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. Reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 4, 2003.

NASCIMENTO, E. X.; MOTA, J. H.; VIEIRA, M. C.; ZÁRATE, N. A. H. Produção de biomassa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Plantago major* L. em cultivo solteiro e consorciado. **Ciência e Agrotecnologia** Lavras, v. 31, n. 3, p. 724-730, mai./jun., 2007.

NASCIMENTO, O. J. **Multiplicação rápida de espécies medicinais cultivadas mediante estaquia uninodal**. 2009. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2009.

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

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P., CASSOL, L. F.; Comprimento da estaca de ramo no enraizamento do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 57-60, 2001.

PANDEY, R.; KALRA, A. Inhibitory effects of vermicompost produced from agro-waste of medicinal and aromatic plants on eggatching in *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood. **Current Science**, v. 98, n. 6, p. 833, 2010.

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

PEREIRA, R. P.; FACHINETTO, R.; DE SOUZA PRESTES, A.; PUNTEL, R. L.; DA SILVA, G. N. S. da; HEINZMANN, B. M.; MORSCH, V. M. Antioxidant effect of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 973-983, 2009.

PEREIRA, A. B.; AGUILAR, M. A. G.; SODRE, G.; PASQUAL, M.; MENDES, A. N. G. **Enraizamento de estacas de Coffea arabica L. em estufim**. Vitória: Ministério da Agricultura e do Abastecimento / EMBRAPA, 2001.

PETENATTI, M. E.; PETENATTI, E. M.; DEL VITTO, L. A.; TÉVES, M. R.; CAFFINI, N. O.; MARCHEVSKY, E. J.; PELLERANO, R. G. Evaluation of macro and micro minerals in crude drugs and infusions of five herbs widely used as sedatives. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, v. 21 n. 6, p. 1144-1149, 2011.

PRIYADARSHANI, N. D. N.; SUBASINGHE, S.; KUMARASINGHE, H. K. M. S. Selection of favorable exogenous factors on adventitious root formation in kollankola (*Pogostemon heyneanus*) cuttings. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MINOR FRUITS AND MEDICINAL PLANTS FOR BETTER LIVES, 2, 2013, Sri Lanka. **Proceedings...** Ruhuna: University of Ruhuna, p. 229-233, 2013.

RATHNAYAKE, R., DHARMADASA, R. M., ABEYSINGHE, D. C. *Suitable maturity stage, type of cuttings and potting media for vegetative propagation of Pogostemon heyneanus Benth.* **World Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 6, p.203-207, 2015.

REDDY, D. D. R. Pathogenicity and analysis of crop losses in patchouli (*Pogostemon cablin*) due to *Meloidogyne incognita*. **Indian Journal Of Nematology**, v. 14, p. 36–38, 1984.

RODRIGUES, R. A. F.; FOGLIO, M. A.; JÚNIOR, S. B.; SANTOS, A. S.; REHDER, V. L. G. Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua* L. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 368-372, 2006.

ROESE, A. D.; OLIVEIRA R. D. L. Capacidade reprodutiva de *Meloidogyne paranaensis* em espécies de plantas daninhas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 28, n.2, p. 137-141, 2004.

ROESE, A. D.; OLIVEIRA, R. D. L.; LANES, F. F. Reação de cultivares de soja (*Glycines max* L. Merrill) a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 28, n. 3, p. 131-135, 2004.

ROESE, A. D., OLIVEIRA, R. D. L.; OLIVEIRA, D. S. **Variabilidade fisiológica em populações de *Meloidogyne paranaensis***. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2007.

SAGLAM, C.; ATAKISI, I.; TURHAN, H.; KABA, S.; ARSLANOGLU, F.; ONEMLI, F. Effect of propagation method, plant density, and age on lemon balm (*Melissa officinalis*) herb and oil yield. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.32, n. 4, p. 419-423, 2004.

SALVIANO, F. N.; CUNHA, I. A. **Estudos morfológicos e avaliação fitossanitária de plantas de *Pfaffia glomerata* oriundas de autosemeadura**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

SANT'ANA, T. C. P.; BLANK, A. F.; VIEIRA, S. D.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B. Influência do armazenamento de folhas secas no óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin* BENTH.). **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1263-1265, 2010.

SANTI, M. M.; SANCHES, F. S.; SILVA, J. F. M.; SANTOS, P. M. L. Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. Por HPLC-DAD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 256-261, 2014.

SANTIAGO, D. C., KRZYZANOWSKI, A. A.; HOMECHIN, M. Behavior of *Ilex paraguariensis* St. Hilaire, 1822 to *Meloidogyne incognita* and *M. paranaensis* and their influence on development of plantlets. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 2, p. 139-142, 2000.

SANTOS, M. C. A.; FREITAS, S. de P.; SANTOS, A. L. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, M. S. de; LEMOS, G. C. da S. Efeito do ácido indolbutírico, tipos de estacas e substratos sobre o enraizamento de *Catharanthus roseus*. **Revista Ceres**, v. 54, n. 314, p. 369-374, 2007.

SANTOS, M. F. A. **Diversidade de *Meloidogyne incognita* e espécies correlatas como sugerem abordagens biológicas, citológicas, morfológicas e moleculares**. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Brasília, 2011.

SANTOS, J. P. **Potencial de enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais da mata ciliar**. 2009. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

SARAVANAN, R.; SAROJ-KUMAR, V.; MAITI, S. Standardization of single eye cutting in patchouli (*Pogostemon cablin*). **Current Horticulture**, v.3, n.1, p. 19-23, 2015.

SCHERER, A.; MÔNACO, A. P. A.; LIMA, A. C. C.; NAKAMURA, K. C.; MORITZ, M. P.; CARNEIRO, R. G. **Reação de cultivares de trigo às raças 1 e 3 de *Meloidogyne incognita*, a *Meloidogyne paranaensis* e a *Meloidogyne javanica***. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 29, 2006, Botucatu. **Anais...** Botucatu: [s.n.], 2006.

SEVIK, H.; GUNEY, K. Effects of IAA, IBA, NAA and GA3 on rooting and morphological features of *Melissa officinalis* L. Stem cuttings. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-5, 2013.

STROZE, C. T. **Resistência de plantas medicinais a *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis***. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

SERRA, L. Z.; FELIPE, D. F.; CORTEZ, D. A. Quantification of β -ecdysone in different parts of *Pfaffia glomerata* by HPLC. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 6, p. 1349-1354, nov./dec. 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, v. 12, n. 1, p. 35-40, 2002.

SILVA, S. D.; SATO, A.; LAGE, C. L. S.; GIL, S.; SILVA, R. A. da; AZEVEDO, D. D. A.; ESQUIBEL, M. A. Essential oil composition of *Melissa officinalis* L. in vitro produced under the influence of growth regulators. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1387-1390, 2005.

SILVA, L. F. R. e; MAGALHÃES, P. M. de; COSTA, M. R. F.; ALECRIM, M. das G. C.; CHAVES, F. C. M.; HDALGO, A. de F.; POHLIT, A. M.; VIEIRA, P. P. R. In vitro susceptibility of plasmodium falciparum welch field isolates to infusions prepared from *Artemisia annua* L. cultivated in the Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 7, p. 859-866, nov. 2012.

SODRÉ, A. C. B.; HABER, L. L.; LUZ, J. M. Q.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, C. R. Adubação orgânica e mineral em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 147-152, 2013.

SOUZA, A. G.; AMARANTE, C. V. T.; DESCHAMPS, F. C.; ERNANI, P. R. Calagem e adubação fosfatada promovem crescimento inicial e produção de hipericina em erva-de-São-João. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 421-425, 2006.

STORCK, R. C.; DESCHAMPS, C.; MÓGOR, A. F.; COCCÔ, L. C.; SCHEER, A. P.; YAMAMOTO, C. I. Desenvolvimento vegetativo e produção de óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) após a aplicação de ácido giberélico e extrato de alga marinha. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.15, n.3, p.391-396, 2013.

STROZE, C. T. **Resistência de Plantas Mediciniais a *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis***. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERMA, M.; GHANGAL, R.; SHARMA, R.; SINHA, A. K.; JAIN, M. Transcriptome analysis of *Catharanthus roseus* for gene discovery and expression profiling. **PLOS One**, jul. 2014. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0103583>>. Acesso em: 27 dez. 2015.

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

WALKER, J. T. Garden herbs as hosts for Southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood, race 3. **Horticultural Science**, v.30, n. 2, p. 292-293, 1995.

XU, Y.; YOU-GEN, W.; YING, C.; JUN-FENG, Z.; XI-QIANG, S.; GUO-PENG, X. Autotoxicity in *Pogostemon cablin* and their allelochemicals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, v. 25, p. 117–123, 2015.

ZANCHETT, F. **Crescimento e desenvolvimento de mudas de *Cordia verbenacea* e *Murraya koenigii* em casa de vegetação**. 2013. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2013.

CAPÍTULO 1

MULTIPLICAÇÃO DO NEMATOIDE *Meloidogyne paranaensis* EM SETE ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS

RESUMO

Meloidogyne paranaensis Carneiro et al. foi caracterizado como uma nova espécie parasitando cafeeiros no estado do Paraná. Os relatos do autor demonstram a alta agressividade em plantas de café em alguns estados brasileiros. Os nematoides podem comprometer tanto qualitativamente quanto quantitativamente a produção de plantas medicinais. No presente trabalho, considerando a importância tanto econômica quanto terapêutica destas plantas, avaliou-se a reação de sete importantes plantas medicinais ao nematoide *Meloidogyne paranaensis*. O ensaio foi instalado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, no Distrito Federal, em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições. As plantas foram multiplicadas por estaquia e transplantadas para vasos de 2,5 L preenchidos com mistura de latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico, respectivamente na proporção 3:1:1:1, mais a formulação 4-14-8, na dose de 100g para cada 40 L da mistura. No momento do transplante, as plantas foram inoculadas com 5.000 ovos e eventuais juvenis de duas populações do nematoide *M. paranaensis* (fenótipos de esterase P1 e P2). Após 90 dias de cultivo foram colhidas as raízes das plantas nas quais foram determinados: o índice de galhas e o fator de reprodução. Praticamente, não houve diferença de suscetibilidade/resistência entre as duas populações de *M. paranaensis* e os acessos testados. Os acessos *Pfaffia glomerata*, *Hypericum perforatum* e *Melissa officinalis* apresentaram-se como hospedeiros altamente suscetíveis às duas populações de *M. paranaensis*. *Pogostemon cablin* apresentou-se em situação intermediária podendo ser classificado apenas como suscetível. *Artemisia annua* e *Catharanthus roseus* apresentaram-se como altamente resistentes e *Cordia verbenacea* como resistente. *Catharanthus roseus* distinguiu-se por apresentar elevado índice de galhas, sem contudo permitir a multiplicação do nematoide.

Palavras chave: nematoide das galhas, plantas medicinais, suscetibilidade.

ABSTRACT

Meloidogyne paranaensis Carneiro et al. was characterized as a new species parasitizing coffee in the state of Paraná. The author of the reports demonstrate the high aggressiveness in coffee plants in some states. The nematodes can compromise both qualitatively and quantitatively the production of medicinal plants. In this study, considering the importance both economically and treatment of these plants, we evaluated the reaction of seven important medicinal plants to nematode *Meloidogyne paranaensis*. The experiment was conducted at the Experimental Station of Biology of the University of Brasilia, the Federal District, in the greenhouse, in a completely randomized design with six replications. The plants were multiplied by cuttings and transplanted into filled 2.5 liter pots with a mixture of savannah oxisol more sand, vermiculite and organic compound, respectively in the ratio 3: 1: 1: 1, more the formulation 4-14-8 at a dose of 100g to each 40 l of the mixture. At the moment of transplanting, the plants were inoculated with 5,000 eggs and juveniles of any two populations of nematode *M. paranaensis* (esterase phenotypes P1 and P2). After 90 days of culture were harvested the roots of the plants in which they were determined: the gall index and reproduction factor. Practically, there was no difference in susceptibility / resistance between the two populations of *M. paranaensis* and tested hits. The *Pfaffia glomerata* access, *Hypericum perforatum* and *Melissa officinalis* presented themselves as highly susceptible hosts to two populations of *M. paranaensis*. *Pogostemon cablin* performed in intermediate situation can be classified only as susceptible. *Artemisia annua* and *Catharanthus roseus* presented themselves as highly resistant and *Cordia verbenacea* as tough. *Catharanthus roseus* is distinguished by a high index of galls, without allowing the multiplication of the nematode.

Key words: root-knot nematode, medicinal plants, susceptibility.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais é uma das mais antigas práticas da humanidade, seja para tratamento, cura ou prevenção de doenças (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005). Essas plantas quando atacadas por fitonematoídeos, tem suas propriedades farmacológicas comprometidas, tanto qualitativa quanto quantitativamente, além de atingir diretamente sua produção (MÔNACO et al., 2011). As espécies do gênero *Meloidogyne* são conhecidas como nematoídeos das galhas da raiz, e estão entre os parasitas economicamente mais importantes, pois possuem ampla distribuição geográfica e muitas vezes interagem com outros patógenos de plantas, formando complexos de doenças que são de difícil controle (MÔNACO et al., 2009). Além disso, causam queda na produção e na qualidade de várias culturas economicamente importantes (STROZE, 2013).

As perdas causadas por esses nematoídeos vão muito além das perdas diretas, já que o seu controle onera significativamente a produção, uma vez que as formas mais utilizadas para controlá-los são a rotação de culturas e o uso de nematicidas. Os nematoídeos do gênero *Meloidogyne* vem causando no Brasil prejuízos à produtividade de várias culturas, entre elas a do café, cana-de-açúcar, algodão, soja, frutíferas, hortaliças e olerícolas. As espécies de maior ocorrência são o *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. exigua* (Göeldi), *M. hapla* (Chitwood), *M. coffeicola* (Lordello) e, mais recentemente, o *M. paranaensis*, o *M. enterolobii* e o *M. ethiopica* (FOGANHOLI, 2012).

Previamente confundido com o *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *Meloidogyne paranaensis* foi caracterizado como uma espécie nova por Carneiro et al. (1996). Os primeiros relatos sobre esta espécie demonstram sua alta patogenicidade em plantas de café no Estado do Paraná (MÔNACO et al., 2008). Destaca-se pela sua agressividade e forte dano ao sistema radicular do cafeeiro, com elevado grau de depauperamento das plantas (CARNEIRO et al., 2008). As raízes parasitadas por *M. paranaensis* apresentam descascamento e rachaduras, com alguns pontos de engrossamento, em que se mostram lesões do tipo necroses e descorticação (CASTRO et al., 2008).

Muitos estudos foram realizados em relação à reação de plantas medicinais a espécies de *Meloidogyne* (Mesquita et al., 1993; Araújo; Mattos; Souza, 1994; Maciel;

Ferraz, 1996; Karl et al. 1997; Souza et al., 1998; Park et al., 2004; Gomes, 2006; Moreira, 2007; Gomes et al., 2010, Baida, 2010, Salviano; Cunha, 2011, Dias-Arieira et al. 2012), sendo que apenas Mônico et al. (2008), Mônico et al. (2011) e Stroze (2013) estudaram a interação entre plantas medicinais e *M. paranaensis*. As principais características das espécies estudadas são citadas abaixo.

A *Artemisia annua* é conhecida pela atividade antimalárica de suas folhas por combater dois dos agentes etiológicos o *Plasmodium vivax* e o *Plasmodium falciparum* (CELEGHINI et al., 2009). São também conhecidas outras propriedades farmacêuticas como antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, antibiótico e antiúlcero-gênica, por ser uma rica fonte de sesquiterpenos, isoprenóides, óleos voláteis, mono e diterpenos (MARQUES et al., 2006).

A *Cordia verbenaceae* conhecida popularmente como erva-baleeira, catianga-de-barão, maria-milagrosa e maria-preta (FEIJÓ et al., 2014), possui em suas folhas compostos químicos utilizados na forma de tintura, chá, macerado em álcool, pomadas e cataplasmas (BLANCO, 2013), com efeito anti-inflamatório, analgésico, antiúlcero-gênico, antiartrítico e tônico, sendo também empregados como cicatrizante de feridas e úlceras e possuindo baixa toxicidade (SANTI et al., 2014).

A decocção ou o sumo das folhas de *Catharantus roseus* é utilizada para o tratamento de diabetes. Suas folhas frescas têm sido aplicadas por médicos da Medicina Ayurveda na Índia. No Brasil, a *Catharantus roseus* também é utilizada para controle de hemorragias, escorbuto, para dores de dente e para cura e limpeza de feridas crônicas (JOHNSON et al, 2005). Suas raízes conhecidas por acumular ajmalicine e serpentina controlam a pressão arterial e doenças cardiovasculares (VERMA et al., 2014).

A hipericina é o principal componente do *Hypericum perforatum*, um metabólito secundário, que atua na inibição da enzima monoamino oxidase (MAO), que é responsável pela degradação de neurotransmissores, possuindo, portanto, efeito antidepressivo. Seu extrato vem sendo utilizado principalmente contra depressões, com graus leves e moderados, que hoje acometem de 2 a 5% da população mundial (SOUZA et al., 2006). Na maioria dos preparos farmacêuticos utiliza-se a parte aérea dessa planta (BUFALO, 2007). Possui também efeito cicatrizante, antiviral, antimicrobianos, antioxidante, antitumoral, anti-inflamatório, antifúngico e nefroprotetor (SOUZA et al., 2006; FIGUEIRÓ et al., 2010).

Melissa officinalis é utilizada desde a Grécia antiga e suas folhas, preparadas como chá, são indicadas como calmante, no combate às dores de cabeça, gases, cólicas

intestinais e em infecções virais, tais como gripe, herpes, caxumba e varicela, além de ser utilizada como repelente de insetos (SODRÉ et al., 2013). Alguns estudos têm demonstrado seus efeitos anti-tumorais e neuroprotetores (PEREIRA et al., 2009).

A *Pfaffia glomerata* é muito utilizada pelos índios brasileiros para a prevenção e cura de doenças. É conhecida popularmente como corango, suma, paratudo (GOSMANN et al., 2003), fáfia, ginseng do pantanal e ginseng brasileiro, este último devido a suas raízes serem tuberosas e geralmente ramificadas como as do ginseng do Oriente (NASCIMENTO et al., 2007). No Japão, suas propriedades medicinais foram comprovadas cientificamente como antidiarreico, além de ter efeito bioenergético, tônico e afrodisíaco (GOMES, 2006). Seu potencial uso medicinal é proveniente de componentes presentes nas suas raízes que atuam na regeneração celular, na purificação do sangue, na inibição do crescimento de células cancerígenas, na regulação das funções hormonais e sexuais e como antidiabético (NASCIMENTO et al., 2007). Atua também como antirreumático, antioxidante, anti-inflamatório, gastro-protetor (SERRA et al., 2012).

O óleo essencial de *Pogostemon cablin* é um dos materiais naturais mais importantes na indústria de perfumes e sua demanda vem aumentando (CHEN, 2014). É extraído de suas folhas e empregado em perfumaria, como base e fixador de suas fragrâncias, e na cosmética, como matéria-prima na fabricação de sabonetes, incensos, produtos de higiene oral e pós-barba. São também conhecidas suas atividades aromaterápicas, antioxidantes, inseticidas, repelentes contra insetos e antibacterianas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacterium coli*, *Bacterium typhosum* e *Mycobacterium tuberculosis* (SANT'ANA et al., 2010). A parte aérea vem sendo utilizada na China e nas regiões circundantes para o tratamento do resfriado comum, dor de cabeça, febre, vômitos, indigestão e diarreia, bem como um agente antifúngico (XU et al., 2015).

Considerando a importância das plantas medicinais, tanto econômica quanto terapêuticamente, bem como a falta de estudos relacionados à interação dessas plantas com *M. paranaensis*, esse trabalho teve por objetivo avaliar a multiplicação desse nematoide nas sete espécies de plantas medicinais acima apresentadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (UnB), em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e seis repetições. No primeiro experimento as sete espécies foram inoculadas com *Meloigogyne paranaensis* EST P1 e, no segundo, as mesmas espécies foram inoculadas com *M. paranaensis* EST P2. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) cv. ‘Santa Clara’ foram utilizadas como testemunhas para verificar a viabilidade do inóculo de *M. paranaensis*, visto que o tomateiro é, de maneira geral, um bom hospedeiro para os nematoides do gênero *Meloidogyne*.

Tabela 1 – Plantas medicinais avaliadas quanto à reação ao *Meloidogyne paranaensis*

Nome científico	Nome Vulgar	Procedência
<i>Artemisia annua</i>	Artemisia	CPQBA – Unicamp - SP
<i>Catharanthus roseus</i>	Vinca	UnB - DF
<i>Cordia verbenaceae</i>	Erva- baleeira	Horto Florestal de Planaltina - DF
<i>Hypericum perforatum</i>	Hipérico	Sementes Certificadas
<i>Melissa officinalis</i>	Melissa	Holambra - SP
<i>Pfaffia glomerata</i>	Fáfia	Farmacotécnica - DF
<i>Pogostemon Cablin</i>	Patchouli	UFMS – Dourados - MS

Obs: CPQBA - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas, UnB – Universidade de Brasília; UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

No primeiro experimento as sete espécies de plantas medicinais foram avaliadas durante o período de 10 de janeiro de 2015 a 10 de março de 2015, com média das temperaturas variando entre mínimas de 18 °C e máximas de 41,14 °C, sendo a média equivalente a 29,5 °C. Durante o segundo experimento, realizado de 19 de novembro de 2015 a 14 de fevereiro de 2016, a média das temperaturas foi de 20,05°C (mínimas) e de 39,95 °C (máximas), sendo a média igual a 29,5 °C.

A população de *M. paranaensis* EST P1 foi proveniente de Rolândia, Paraná e a de *M. paranaensis* EST P2 de Herculândia, São Paulo. Estas espécies foram mantidas na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A identificação das espécies foi confirmada pelo perfil de esterase (EST) (CARNEIRO; ALMEIDA et al. 2001; CARNEIRO et al., 2000). Para obtenção dos inóculos, essas populações foram mantidas em tomateiros cv. Santa Clara. Os ovos e eventuais J₂ foram extraídos pelo método de Hussey; Barker (1973) modificada por Bonetti; Ferraz (1981) e a concentração determinada em lâminas de Peters ao microscópio óptico.

A multiplicação das espécies de plantas medicinais foi feita por estaquia caular simples, e quando enraizadas foram transferidas para vasos individuais. Esse processo foi realizado semanalmente para que todas as espécies tivessem exemplares com aproximadamente 15 cm e raízes novas, no momento da inoculação. Os vasos utilizados foram de 2,5 L, contendo a mistura de latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico na proporção 3:1:1:1:1, mais a formulação 4-14-8, na dose de 100g para 40 L da mistura. A mistura foi previamente esterilizada em autoclave a 120°C por 1 hora.

Em ambos os experimentos cada planta foi inoculada com 5ml de solução aquosa contendo 5000 ovos e eventuais J₂. O inóculo foi distribuído na região da rizosfera, a aproximadamente 1 a 2 cm do caule. Noventa dias após a inoculação, a parte aérea foi cortada e descartada e as raízes lavadas, pesadas e fotografadas. O índice de galhas foi determinado e as raízes processadas para a extração dos ovos/J₂ e cálculo do fator de reprodução.

A avaliação foi realizada de acordo com a escala proposta por Charchar; Moita (1996), atribuiu-se notas para os parâmetros número de galhas e massas de ovos, onde nota 1 = raízes sem galha; nota 2 = raízes com até 10 galhas pequenas; nota 3 = raízes com até 50 galhas pequenas; nota 4 = raízes com mais de 50 galhas pequenas e até 10 galhas grandes e nota 5 = raízes com mais de 50 galhas pequenas e mais de 10 galhas grandes coalescentes. As galhas com dimensões acima de 3mm foram consideradas grandes.

Os ovos/J₂ foram extraídos pelo método Hussey; Barker (1973), modificado por Bonetti; Ferraz (1981). Os nematoides foram contados em lâminas de Peters ao microscópio óptico por 3 vezes. A média das contagens foi utilizada para o cálculo do fator de reprodução (FR), onde se dividiu o número total de ovos extraído/planta pelo número de ovos inoculados (5000). Foram consideradas más hospedeiras (resistentes) as

espécies que apresentaram $FR < 1$ (Oostenbrink, 1966). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente para comparação das médias pelo Teste Scott-Knott (0,05) e as demais classificações seguiram as análises estatísticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados (Tabelas 2 e 3), que apresentam as médias do número ovos por planta, da massa fresca da raiz, dos ovos por grama de raiz, do fator de reprodução e do índice de galhas de sete acessos de plantas medicinais relativos à reação a uma população de *Meloidogyne paranaensis* (EST P1 E EST P2).

De acordo com a Tabela 2 para a população *M. paranaensis* EST P1, verificou-se que o Fator de Reprodução médio do nematoide no tomateiro (*S. lycopersicum*) cv ‘Santa Clara’ foi de 30,49, atestando a qualidade do inóculo.

Tabela 2. Médias do número ovos por planta, massa fresca da raiz, ovos por grama de raiz, fator de reprodução e índice de galhas de sete acessos de plantas medicinais relativos à reação a população de *Meloidogyne paranaensis* (EST P1).

Acesso	<i>Pf</i> = N° de ovos/ planta x 1000	Massa fresca da raiz	N° ovos/ grama de raiz x 1000	FR	IG	Reação
<i>A. annua</i>	1.33 a	17,92	0.09 a	0,27	3,00	AR
<i>C. roseus</i>	1.49 a	9,75	0.15 a	0,30	4,16	AR
<i>C. verbenacea</i>	6.61 a	8,08	0.83 a	1,32	1,83	MR
<i>P. cablin</i>	55.55 b	18,25	3.06 a	11,11	3,00	AS
<i>P. glomerata</i>	99.11 b	14,83	7.92 a	19,82	5,00	AS
<i>M. officinalis</i>	368.72 c	13,58	28.95 b	73,74	5,00	AS
<i>H. perforatum</i>	445.72 d	17,00	28.88 b	89,15	5,00	AS
<i>S. lycopersicum</i>	152.44	9,25	16.80	30,49	5,00	AS
<i>CV</i>	17,39%		21,66%			

Obs.: Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente do Teste Scott-Knott a 5%. Para a análise os dados originais foram transformados em $x^{0,5}$
S. lycopersicum: Tomateiro cv. Santa Clara utilizado como testemunha; IG = índice de galhas (escala 1-5) de acordo com Charchar; Moita (1996); Reação = Classificação da

reação: AR= altamente resistente; MR = moderadamente resistente; R= resistente; S= suscetível; AS= altamente suscetível; FR = Fator de Reprodução (Pf/Pi), sendo a população inicial (Pi) de 5.000 ovos/ J_2 .

Os acessos *Pfaffia glomerata* (FR= 19,82), *Melissa officinalis* (FR= 73,74) e *Hypericum perforatum* (FR=89,15) apresentaram-se como hospedeiros altamente suscetíveis a essa população de *M. paranaensis* utilizada no primeiro ensaio. Estas espécies também apresentaram índice de galhas (IG) igual a 5,00, ou seja, suas raízes apresentavam mais de 50 galhas pequenas e mais de 10 galhas grandes coalescentes.

Pogostemon cablin (FR= 11,11) embora apresentando números menores que *Pfaffia glomerata* (FR= 19,82) enquadra-se também na categoria dos altamente suscetíveis. *Artemisia annua* (FR=0,27) e *Catharanthus roseus* (FR= 0,30) apresentaram-se como altamente resistentes e *Cordia verbenacea* (FR= 1,32), embora apresentando um Fator de Reprodução (FR) maior que um (1), ficou muito próxima do FR resistente e foi considerada Moderadamente Resistente (MR).

A reação de *Catharanthus roseus* chamou a atenção, pois apresentou alto índice de galhas (IG) = 4,16 e FR = 0,30, sugerindo um mecanismo de resistência tardio, em que ocorre desenvolvimento da fêmea associada a células gigantes, formação de galhas e posterior degeneração das células gigantes sem formação de ovos. Esse mecanismo já foi descrito anteriormente para o feijão caupi (DAS et al., 2008) e araçazeiro (FREITAS et al. 2014).

Na Figura 2, observar-se as raízes dos acessos testados quando a população de *M. paranaensis* (EST P1). Onde as raízes da testemunha (*Solanum lycopersicum*), da *Pfaffia glomerata*, do *Hypericum perforatum* e da *Melissa officinalis* apresentam-se com várias galhas, confirmando o índice de galha (IG) igual a 5,00, observado na Tabela 2.



Figura 2 – Raízes de *Solanum lycopersicum* (A), *Pfaffia glomerata* (B), *Hypericum perforatum* (C), *Melissa officinalis* (D), *Artemisia annua* (E), *Pogostemon cablin* (F), *Catharanthus roseus* (G) e *Cordia verbenaceae* (H) 90 dias após a inoculação com *M. paranaensis* (EST P1).

Tabela 3. Médias do número ovos por planta, da massa fresca da raiz, dos ovos por grama de raiz, fator de reprodução e índice de galhas de cinco acessos de plantas medicinais relativos à reação a uma população de *Meloidogyne paranaensis* (EST P2).

Acesso	Pf = N°. de ovos/ planta x 1000	Massa fresca da raiz	N°. ovos/ grama de raiz x 1000	FR	IG	Reação
<i>A. annua</i>	0,28 a	9,0	0,05 a	0,02	1,33	AR
<i>C. roseus</i>	0,50 a	6,17	0,08 a	0,04	4,16	AR
<i>C. verbenacea</i>	2,39 a	6,33	0,37 a	0,46	2,50	AR
<i>P. cablin</i>	10,83 a	4,67	3,46 b	2,17	1,50	S
<i>P. glomerata</i>	56,56 b	7,50	7,99 b	11,31	5,00	AS
<i>M. officinalis</i>	307,28 c	3,08	35,85 c	28,86	4,00	AS
<i>H. perforatum</i>	139,39 d	9,00	58,40 c	61,46	4,66	AS
<i>S. lycopersicum</i>	33,28	7,58	4,45 c	6,65	5,00	S
CV	46%		34%			

Obs.: Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente do Teste Scott-Knott a 5%. Para a análise os dados originais foram transformados em $x^{0,5}$

S. lycopersicum: Tomateiro cv. Santa Clara utilizado como testemunha; IG = índice de galhas (escala 1-5) de acordo com Charchar; Moita (1996); Reação = Classificação da reação: AR= altamente resistente; MR = moderadamente resistente; R= resistente; S= suscetível; AS= altamente suscetível; FR = Fator de Reprodução (Pf/Pi), sendo a população inicial (Pi) de 5.000 ovos/J₂.

Conforme observado na tabela 3, para a população EST P2 de *M. paranaensis*, os tomateiros apresentaram FR menor do que o esperado (FR= 6, 65), sendo classificados apenas como suscetíveis. Isso aconteceu provavelmente porque as raízes não se encontravam em boas condições no momento da colheita, apresentando sinais de podridão. Porém a viabilidade do inóculo pode ser confirmada pelo *Hypericum perforatum* que apresentou FR= 61,46.

Ainda com relação à população EST P2 de *M. paranaensis*, todos os acessos apresentaram a mesma tendência que haviam apresentado em relação à população EST P1, com *C. verbenacea* (FR = 0,02), *C. roseus* (FR=0,04) e *A. annua* (FR=2,5) apresentando-se como altamente resistentes e *P. glomerata* (FR=11,31), *M. officinalis* (FR= 28,86) e *H. perforatum* (FR=61,46) como altamente suscetíveis. *Pogostemon cablin* variou dentro da categoria suscetível, mostrando tendência de multiplicação com

mais eficiência à população EST P1, onde apresentou FR =11,11, do que à população EST P2, com FR= 2,17.

A espécie *C. roseus*, quando submetida à população EST P2 de *M. paranaensis*, apresentou a mesma reação observada em relação à população EST P1, ou seja, IG= 4,16, tendo a produção de galhas sem haver a correspondente produção de ovos por parte do nematoide (como explicado acima para população EST P1) sendo, portanto, classificada como altamente resistente às duas populações. Esta espécie já foi relatada anteriormente como mau hospedeiro de *M. incognita* (MCSORLEY; MCGOVERN, 2000).

Melissa officinalis em ambos os experimentos apresentou-se como altamente suscetível ao *Meloidogyne paranaensis* EST P1 e EST P2, contrariando o resultado encontrado por Mônico et al. (2011), no qual mostrou-se resistente com FR de 0,21. Essa diferença de resposta se deveu certamente a características do acesso utilizado por aqueles autores. A diferença de reação de acessos é comum em trabalhos com *Meloidogyne*, conforme observado anteriormente por Gomes (2006) em diferentes acessos *Pfaffia glomerata* e suas reações ao *Meloidogyne incognita*.

A espécie *Melissa officinalis* foi referida como hospedeira de *M. incognita* raça 3 por Walker (1995), como hospedeira de *M. arenaria* por Karanastasi et al. (2008) e como hospedeira de *M. javanica* por Esfahani; Ahmadi (2010). Ebne et al (2014) observaram que a inoculação com *M. javanica* causou um incremento nos componentes do óleo essencial (Z)-cariofileno, hidroxil citronelal, borneol, humuleno-a, oxido de cariofileno, terpineno-a, isoborneol, trans-pulegol, trans-carveol, citronelol e dihidro citronelol acetato. O incremento de componentes de interesse farmacológico devido ao parasitismo por *Meloidogyne* também foi observado por Gomes et al. (2010) em *Pfaffia glomerata*, que apresentou em um dos acessos suscetíveis testados o aumento na concentração de beta-ecdisona.

No primeiro experimento a *Cordia verbenacea* apresentou-se como moderadamente resistente, com FR=1,32; já no segundo experimento mostrou-se altamente resistente, com FR=0,02. Isso demonstra uma pequena variabilidade na suscetibilidade dessa planta ao ataque de *M. paranaensis*. No entanto, pode-se considerar este acesso como resistente às duas populações. Não foram encontrados até o momento relatos da ocorrência de *Meloidogyne* spp. nessa espécie.

Artemisia annua mostrou-se como altamente resistente às duas populações de *M. paranaensis*. Haseeb; Pandey (1995) chegaram à conclusão de que a mesma é suscetível a *M. incognita*, porém apresentando nível de infestação leve e galhas pequenas. Pandey;

Kalra (2010) demonstraram que o extrato aquoso de *A. annua* inibiu 88,5% da eclosão de ovos de *M. incognita*.

Pogostemon cablin não chegou a um FR tão alto como alguns acessos considerados altamente suscetíveis. Foi enquadrado como suscetível porque multiplicou a população EST P1 de *M. paranaensis* em 11,11 vezes e a população EST P2 em 2,17 vezes. Em ambos os experimentos as galhas apresentavam tamanho reduzido, sendo o índice de galhas para a população EST P1 de 3,00 e para a população EST P2 de 1,5. Reddy (1984) observou os efeitos patogênicos do nematoide das galhas *M. incognita* sobre o *P. cablin*, submetendo a planta a diferentes níveis populacionais. Com o inóculo de 10.000 nematoides/planta, num período de seis meses, registrou redução nos pesos da parte aérea e raiz, com perda de peso na parte aérea (produção de folhas secas à sombra), em vasos, sob condições de campo. O índice de galhas foi 2.75 numa escala de 1 a 4. Segundo Jonathan (2010), na Índia, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. hapla* foram relatados como importantes na cultura do patchuli.

As plantas medicinais que apresentaram os maiores FRs e índices de galhas, para as duas populações de *M. paranaensis*, foram *Hypericum perforatum*, que para a população EST P1 apresentou FR= 89,15 e IG= 5,00 e para a população EST P2 FR= 61,46 e IG = 4,66, seguido por *Melissa officinalis*, que apresentou FR = 73,74 e IG= 5,00 para a população de *M. paranaensis* EST P1 e FR= 28,86 e IG= 4,00 para a população EST P2, sendo ambos classificados como altamente suscetíveis.

Esfahani; Ahmadi (2010) detectaram no Iran a resistência de *Hypericum perforatum* a *Meloidogyne javanica*. Pirone (1978) relatou a importancia de *M. incognita* para a cultura do *H. perforatum* no sudoeste dos USA. Arens; Van Tuyl (2009) citaram *Meloidogyne* spp. como importante parasita para o hipérico. Neste trabalho, essa planta foi altamente suscetível.

Os resultados obtidos indicam que a *Artemisia annua*, a *Catharanthus roseus* e a *Cordia verbenaceae* podem ser cultivadas em áreas infestadas por *M. paranaensis* (EST P1 e P2), uma vez que provavelmente sofreriam poucos danos. Porém, é possível que mesmo sendo desfavorecidos à reprodução do nematoide venham a ter seu desenvolvimento prejudicado em condições de campo, uma vez que estas podem ser sensíveis a altas populações do nematoide. Por apresentarem valores de FR baixo, podem ser eficientes na redução da população de nematoides no solo.

Em relação ao *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Pfaffia glomerata* e *Pogostemon cablin*, que foram suscetíveis, possivelmente teram seu desenvolvimento

vegetativo prejudicado pelo parasitismo do nematoide em condições de campo. O cultivo dessas espécies em áreas infestadas por *M. paranaensis* (EST P1 e P2) causará um aumento da população do mesmo no solo proporcional ao aumento no fator de reprodução.

4 CONCLUSÃO

Praticamente não houve diferença de suscetibilidade das diferentes plantas testadas quanto às duas populações de *M. paranaensis* (EST P1 e EST P2). Os acessos *Pfaffia glomerata*, *Hypericum perforatum* e *Melissa officinalis* confirmaram-se como hospedeiros altamente suscetíveis às duas populações de *M. paranaensis*. *Pogostemon cablin* apresentou-se em situação intermediária podendo ser classificado apenas como suscetível. *Artemisia annua* e *Catharanthus roseus* mostraram-se como altamente resistentes e *Cordia verbenacea* como resistente. *Catharanthus roseus* distinguiu-se por apresentar elevado índice de galhas sem, contudo, permitir a multiplicação do nematoide.

REFERÊNCIAS

ARENS, P. F. P.; VAN TUYL, J. M. **Marker assisted breeding for nematode resistance in Hypericum**. [S.l.]: Narcis editors, 2009. (Projeto) Disponível em: <http://www.narcis.nl/research/RecordID/OND1342382>. Acesso em 20 fev. 2016.

ARAÚJO, W.P.; MATTOS, J. K. A.; SOUZA, R.M. Fontes de resistência a *Meloidogyne javanica* entre procedências de *Pfaffia glomerata*. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.322-323, 1994.

BAIDA, F. C. **Hospedabilidade de plantas medicinais aos nematoides *M. javanica* e *M. incognita***. 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

BLANCO, M. C. S. G. **Produção Vegetal. Erva baleeira**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento / Governo do Estado de São Paulo, 2013.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.

BUFALO, A. C. **Antidepressivo *Hypericum perforatum* L. sobre o sistema reprodutivo masculino de ratos wistar**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O.; SANTOS M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitizing coffee in Brasil. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 2, p. 177-189, 1996.

CARNEIRO, R. M. D. G., ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. isolates. **Nematology**, Leiden, v. 2, p. 645-654, 2000.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G., MESQUITA, L. F. G., GONÇALVES, W.; PEREIRA, A. A. Pathogenicity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) from Brazil and Central America on two genotypes of *Coffea arabica*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 309-312, jul./aug. 2008.

CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; NAVES, R. L.; ANDRADE JÚNIOR, W. C.; DUTRA, M. R.; COIMBRA, J. L.; MAXIMINIANO, C.; SILVA, J. R. C. Levantamento de fitonematoides em cafezais do sul de Minas Gerais. Piracicaba, **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, p. 56-64, 2008.

CELEGHINI, R. M. S.; SOUSA, I. M. de O.; SILVA, A. P.; RODRIGUES, R. A. F.; FOGLIO, M. A. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE-IR para determinação de artemisinina em *Artemisia annua* L. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 875-878, 2009.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 185-189. 1996.

CHEN, Y.; WU, Y. G.; XU, Y.; ZHANG, J. F.; SONG, X. Q.; ZHU, G. P.; HU, X. W. Dynamic accumulation of sesquiterpenes in essential oil of *Pogostemon cablin*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 626-634, 2014.

DAS, S.; DEMASON, D. A.; EHLERS, J. D.; CLOSE, T. J.; ROBERTS P. A. Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 1305–1313, 2008.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; DA CUNHA, T. P.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; BIELA, F.; SANTANA, S. D. M. Reação de hortaliças e plantas aromáticas aos

nematoides *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v.30, n. 2, 2012.

EBNE, A. S. F.; OLIA, M.; FADAEI, T. A. A.; JAIMAND, K. Effects of root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on lemon balm medicine plant (*Melissa officinalis*). **Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)**, v. 37, n. 1, p. 23-34, 2014.

ESFAHANI, M. N.; AHMADI, A. Field observations on the reaction of medicinal plants to root-knot nematodes in Isfahan, Iran. **International Journal of Nematology**, v. 20, n. 1, p. 107-112, 2010.

FEIJÓ, E. V. R. da S.; OLIVEIRA R. A. das; COSTA L. C. do B. Light affects *Varronia curassavica* essential oil yield by increasing trichomes frequency. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, v. 24, p. 516-523, 2014.

FIGUEIRÓ, A. A.; CORREA, C. M.; ASTARITA, L. V.; SANTARÉM, E. R. Long-term maintenance of in vitro cultures affects growth and secondary metabolism of St. John's Wort. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n.10, p. 2115-2121, 2010.

FOGANHOLI, A. P. A. M. **Hospedabilidade de *Meloidogyne paranaensis* em plantas medicinais, composição química do óleo essencial de *Mentha pulegium* e efeito do parasitismo de *M. paranaensis* sobre as substâncias fenólicas e *M. pulegium***. 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

FREITAS, V. M.; CORREA, V. R.; MOTTA, F. C.; SOUSA, M. G.; GOMES, A. C. M. M.; CARNEIRO, M. D. G.; SILVA, D. B.; MATTOS, J. K.; NICOLE, M.; CARNEIRO, R.M.D.G. Resistant accessions of wild *Psidium* spp. to *Meloidogyne enterolobii* and histological characterization of resistance. **Plant Pathology**, v. 63, p. 738-746, 2014.

GOMES, A. C. M. M.; NICOLE M.; MATTOS, J. K. A.; PEREIRA, S. I. V.; PEREIRA, P.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; CAPDEVILLE, G.; MOITA, A. W.; CARNEIRO, R. M. D. G. Influence of *Meloidogyne incognita* infection on the concentration of β -ecdysone

in *Pfaffia glomerata* and histological characterization of plant resistance to this nematode. **Nematology**, v. 12, n. 5, p. 701-709, 2010.

GOMES, A. C. M. M. **Resistência e caracterização histológica de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. 2006. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2006.

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

HASEEB, A.; PANDEY, R. Additions of the host records of root-knot nematodes among the medicinal and aromatic plants. **Journal Nematologia Mediterranea**, v. 23, n. 2, p. 211-212. 1995.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, St Paul, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

JOHNSON, I. S.; ARMSTRONG, J. G.; GORMAN, M.; BURNETT, J. P. The vinca alkaloids: a new class of Oncolytic Agents. **Cancer Research**, Indiana, v. 23, p. 1390-1427, 1963.

JONATHAN, E. I. *Nematology: fundamentals and applications*. [S.l.]: New India Publishing Agency, 2010.

KARANASTASI, E.; CONCEIÇÃO, M.; SANTOS, E.; TZORTZAKAKIS, I.; ABRANTES, O. Occurrence of the root-knot nematode *Meloidogyne arenaria* on balm and in a mixed population with *M. javanica* on grapevine in Greece. **Helminthologia**, v. 45, n. 1, p. 52-53, 2008.

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, nov. 1997.

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, mai./dez., 1996.

MARQUES, D. A.; FOGLIO, M. A.; MORGANTE, P. G.; VAN SLUYS, M.; SHEPHERD, S. L. K. Biotechnology approaches for production of antiulcerogenic dihydro-epideoxyarteannuin B isolated from *Artemisia annua* L. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 3, p. 291-299, jul./set. 2006.

MCSORLEY, R.; MCGOVERN, R. J. Effects of solarization and ammonium amendments on plant-parasitic nematodes. **Supplement to the Journal of Nematology**, v. 32, n.4, p. 537–541, 2000.

MESQUITA, R. L.; SOUZA, R. M.; MATTOS, J. K. A. Susceptibilidade de plantas medicinais a *Meloidogyne incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 17, 1993, São Paulo. **Anais....** Jaboticabal: [s.n.], 1993.

MÔNACO, A. P. D. A.; CARNEIRO, R. G.; SCHERER, A.; SANTIAGO, D. C. Hospedabilidade de plantas medicinais a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 35, n. 1-2, p. 46-49, 2011.

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**, Piracicaba, v. 33, n. 3, p. 335 – 242, 2009.

MÔNACO A. P. A.; CARNEIRO, R. G.; KRANZ, W. M.; GOMES, J. C.; SCHERER, A.; NAKAMURA, K. C.; MORITZ, M. P.; SANTIAGO, D. C. Reação de espécies de

plantas daninhas a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 4, 2008.

MOREIRA, F. J. C. **Hospedabilidade de plantas ornamentais e medicinais a *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White, 1919) Chitwood (1949) e controle alternativo com óleos essenciais**. 2007. 145 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Fortaleza, 2007.

NASCIMENTO, E. X.; MOTA, J. H.; VIEIRA, M .C.; ZÁRATE, N. A. H. Produção de biomassa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Plantago major* L. em cultivo solteiro e consorciado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 724-730, mai./jun., 2007.

PANDEY, R.; KALRA, A. Inhibitory effects of vermicompost produced from agro-waste of medicinal and aromatic plants on eggatching in *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood. **Current Science**, v. 98, n. 6, p. 833, 2010.

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

PEREIRA, R. P.; FACHINETTO, R.; PRESTES, A. de S.; PUNTEL, R. L.; SILVA, G. N. S. da; HEINZMANN, B. M.; MORSCH, V. M. Antioxidant effect of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 973-983, 2009.

PIRONE, P. P. **Diseases and pest of ornamental plant**. 5 ed. [S.l.]: John Wiley & Sons Inc. 1978.

REDDY, D. D. R. Pathogenicity and analysis of crop losses in patchouli (*Pogostemon cablin*) due to *Meloidogyne incognita*. **Indian Journal Of Nematology**, v. 14, p. 36-38, 1984.

SALVIANO, F. N.; CUNHA, I. A. **Estudos morfológicos e avaliação fitossanitária de plantas de *Pfaffia glomerata* oriundas de autosemeadura**. 2011. 34 f. Trabalho de

Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2011.

SANT'ANA, T. C. P.; BLANK, A. F.; VIEIRA, S. D.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B. Influência do armazenamento de folhas secas no óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin* BENTH.). **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1263-1265, 2010.

SANTI, M. M.; SANCHES, F. S.; SILVA, J. F. M.; SANTOS, P. M. L. Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. por HPLC-DAD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 256-261, 2014.

SERRA, L. Z.; FELIPE, D. F.; CORTEZ, D. A. Quantification of β -ecdysone in different parts of *Pfaffia glomerata* by HPLC. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 6, p. 1349-1354, nov./dec. 2012.

SODRÉ, A. C. B.; HABER, L. L.; LUZ, J. M. Q.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, C.R. Adubação orgânica e mineral em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 147-152, 2013.

SOUZA, A. G.; AMARANTE, C. V. T.; DESCHAMPS, F. C.; ERNANI, P. R. Calagem e adubação fosfatada promovem crescimento inicial e produção de hipericina em erva-de-São-João. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 421-425, 2006.

SOUZA, J. T.; CAMPOS, V. P.; MAXIMIANO, C. Ocorrência e distribuição de nematoides associados a hortaliças e plantas medicinais. **Summa Phytopatologica**, v. 24, n. 3-4, p.283-291, 1998.

STROZE, C.T. **Resistência de Plantas Mediciniais a *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis***. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova.**, v. 28, n. 3, p. 19-528, 2005.

VERMA M.; GHANGAL R.; SHARMA R.; SINHA, A. K.; JAIN, M. Transcriptome analysis of *Catharanthus roseus* for gene discovery and expression profiling. **PLOS One**, jul. 2014. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0103583>>. Acesso em 27 dez. 2015.

XU, Y.; YOU-GEN, W.; YING, C.; JUN-FENG, Z; XI-QIANG, S; GUO-PENG, X. Autotoxicity in *Pogostemon cablin* and their allelochemicals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, v. 25, p. 117–123, 2015.

WALKER, J. T. Garden Herbs as Hosts for Southern Root-knot Nematode [*Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood, race 3] **Horticultural Science**, v. 30, n. 2, p.292-293, 1995.

CAPÍTULO 2

PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE PLANTAS MEDICINAIS PARA ENSAIOS COM O NEMATOIDE *Meloidogyne* spp.

RESUMO

Ensaio de suscetibilidade de espécies vegetais ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) afim de garantirem resultados confiáveis devem ser feitos com plantas novas que possuam raízes recém desenvolvidas e apresentem raízes secundárias e pelos radiculares. O presente trabalho teve por objetivo testar o enraizamento de estacas de sete acessos de plantas medicinais, em leito de areia visando obter informações úteis para um estabelecimento de um cronograma de produção de mudas para ensaios com nematoides do gênero *Meloidogyne*. O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em casa de vegetação, de novembro de 2015 a fevereiro de 2016. As estacas foram avaliadas aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação e atribuíu-se notas de enraizamento conforme escala própria. Estacas das espécies medicinais: *Artemisia annua*, *Catharanthus roseus*, *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Pfaffia glomerata*, *Pogostemon cablin* e *Cordia verbenacea* produziram mudas viáveis para ensaios com *Meloidogyne* spp. As espécies diferiram quanto à sobrevivência, eficiência e velocidade de enraizamento das estacas em areia. Elegeram-se um prazo médio de 30 dias para que as raízes das estacas das espécies testadas estejam em condições de ser inoculadas com ovos e juvenis de *Meloidogyne* spp. Estacas de todas as espécies testadas mostraram-se resistentes ao transplante após iniciado do enraizamento.

Palavras-chave: plantas medicinais, propagação, nematoides

ABSTRACT

Susceptibility testing of plant species to root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in order to ensure reliable results are to be made with new plants that have newly developed roots and provide secondary roots and root hairs. This study aimed to test the rooting seven hits medicinal plant cuttings in sand bed to obtain useful information for establishing a seedling production schedule for trials with nematodes of the *Meloidogyne* genre. The experiment was conducted at the Experimental Station of Biology of the University of Brasilia, in the greenhouse, from November 2015 to February 2016. The cuttings were evaluated at 20, 30, 40 and 50 days after implantation and has allocated-notes rooting as own scale. Cuttings of medicinal species: *Artemisia annua*, *Catharanthus roseus*, *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Pfaffia glomerata*, *Pogostemon cablin* and *Cordia verbenacea* produced viable seedlings for testing with *Meloidogyne* spp. The species differed in survival, efficiency and rooting rate of cuttings in sand. He was elected an average period of 30 days so that the roots of the cuttings of the species tested are able to be inoculated with eggs and juveniles of *Meloidogyne* spp. Cuttings of all species tested showed resistance to transplantation after started rooting.

Keywords: medicinal plants, propagation, nematodes

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de estudos relacionados à adaptação de plantas medicinais às condições de cultivo vem se tornando imperativo na medida em que são escassos, ou até mesmo inexistentes para a maioria das espécies. Essa situação afeta significativamente o suprimento da crescente demanda das mesmas por parte das populações mais carentes, das indústrias farmacêuticas e de cosméticos (COSTA et al., 2007). Para muitas espécies comercialmente importantes, a propagação vegetativa tem se tornado comum, sendo o enraizamento de estacas o processo mais econômico para a propagação em larga escala (SANTOS et al., 2007). As vantagens da propagação vegetativa são inúmeras, visto que além de ser uma técnica simples, rápida e barata, as características genéticas da planta doadora são mantidas e é possível se produzir muitas mudas em espaço reduzido e com maior uniformidade do estande (COSTA et al., 2007). Porém, a viabilidade da estaquia depende da capacidade de formação de raízes, da qualidade do sistema radicular e da capacidade da planta se desenvolver na aclimatização (BETTONI et al., 2010).

Os ensaios de suscetibilidade de espécies vegetais ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) são feitos com plantas novas que apresentem raízes recém-desenvolvidas, apresentando raízes secundárias e pelos radiculares, a fim de garantir resultados confiáveis. A uniformidade das mudas é a condição primordial para o sucesso do ensaio, entretanto, a capacidade de regeneração do sistema radicular em estacas de plantas varia conforme a espécie pesquisada. Desta forma, plantios periódicos de estacas de todos os acessos envolvidos em um ensaio são feitos no sentido de selecionar mudas que, muito embora não sejam da mesma idade, estejam no mesmo estágio de enraizamento.

Neste capítulo, foram buscados dados que possibilitassem determinar o grau médio de enraizamento de acessos, em diferentes períodos, a partir da implantação da estaca no leito de enraizamento, quando a muda estaria suficientemente enraizada para que a inoculação com ovos e/ou juvenis de *Meloidogyne* não fosse perdida e os ovos lixiviados (no caso de tratar-se de bom hospedeiro). Busca-se dessa forma facilitar a penetração, desenvolvimento e reprodução do parasita na expectativa de verificar o crescimento das galhas típicas e das massas de ovos ao final do ciclo.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi testar a velocidade de enraizamento de sete acessos de plantas medicinais, em leito de areia, visando obter informações úteis para

estabelecimento de um cronograma de produção de mudas para ensaios com nematoides do gênero *Meloidogyne*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Estacas de sete acessos de espécies medicinais de aproximadamente 7cm de tamanho, com em média três nós, foram postas a enraizar em areia, contida em vasos plástico de 2,5 L de capacidade. As estacas de *Catharanthus roseus*, *Cordia verbenacea*, *Melissa officinalis*, *Pogostemon cablin* apresentavam apenas duas folhas ponteiras com o limbo cortado pela metade. As estacas de *Pfaffia glomerata* foram retiradas do meio do ramo e apresentavam duas gemas brotadas, as de *Artemisia annua* foram do tipo tanchão, retiradas da porção média da planta. As estacas de *Hypericum perforatum* foram ponteiras, com vários nós em virtude da morfologia externa da espécie, que apresenta entrenós curtos.

Para cada acesso foram feitas quatro repetições, contendo quatro estacas por vasos, sendo assim implantadas 16 estacas por acesso. As avaliações do nível de enraizamento, através da escala de notas, foram feitas aos 20; 30; 40 e 50 dias após a instalação do ensaio, em quatro estacas por acesso, retiradas uma da cada vaso, por vez, correspondendo a uma repetição de quatro plantas. As estacas foram retiradas cuidadosamente com torrão, mergulhadas em água para liberação do sistema radicular em formação, com a finalidade de se preservar ao máximo as radículas. As estacas de cada acesso foram então fotografadas em presença de escala métrica sendo a foto a seguir analisada para atribuição da nota de enraizamento. Com as notas obtidas foi construído um gráfico de evolução do enraizamento para cada acesso.

Os dados possibilitaram registrar o grau médio de enraizamento de cada acesso nos diferentes períodos estudados e determinar o tempo necessário desde a implantação da estaca no leito de enraizamento, até que a muda estivesse suficientemente enraizada para receber o inóculo do nematoide e, em caso de hospedeiro, possibilitar a penetração e desenvolvimento do parasita, apresentando ao final do ensaio número de galhas e massas de ovos suficientes para a avaliação.

A percentagem de falhas no enraizamento das estacas foi registrada para se avaliar o grau de facilidade das espécies testadas em sobreviver e enraizar.

A escala diagramática de notas de enraizamento utilizada no ensaio foi adaptada de Suguino et al. (2011) variando de 01 a 04 (Figura 3), onde: 1- Ausência de raízes ou enraizamento incipiente; 2- Enraizamento escasso. Sistema radicular inferior a 5 cm de comprimento; 3- Enraizamento denso. Sistema radicular com 5 a 10 cm de comprimento; 4- Enraizamento denso. Sistema radicular superior a 10 cm de comprimento.

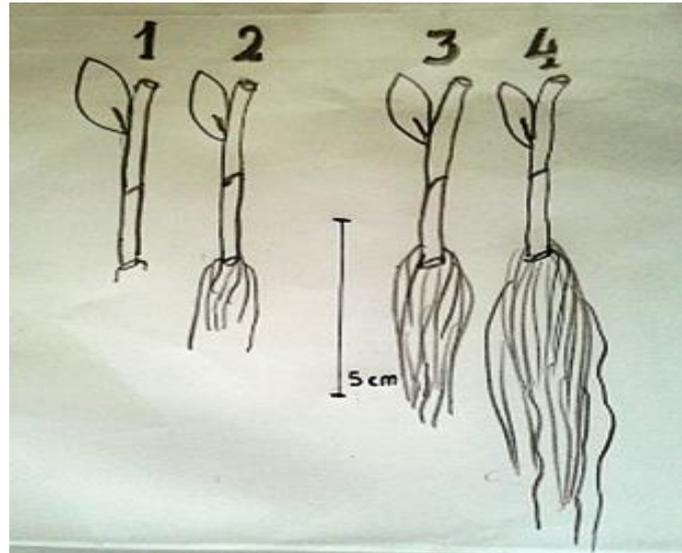


Figura 3. Escala diagramática de notas de enraizamento utilizada no ensaio.
Baseado em: Suguino et al. (2011)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4 apresenta os resultados do ensaio de propagação vegetativa com o objetivo de determinar o nível de enraizamento suficiente para inoculação de ovos e juvenis de nematoides. A espécie *Cordia verbenacea* apresentou 21,05% de morte de estacas, destacando-se em relação aos demais acessos por um desempenho mais modesto. Os destaques positivos foram *Pfaffia glomerata* e *Melissa officinalis*, por não registrarem mortes de estacas.

Tabela 4 - Número de estacas plantadas, número de estacas mortas e percentagem de estacas mortas (falhas) relativas a sete acessos de espécies medicinais, em ensaio de propagação vegetativa em casa de vegetação em Brasília-DF.

Acessos	Número de estacas		% de estacas
	plantadas	mortas	sem raízes
<i>Artemisia vulgaris</i>	16	1	6,25
<i>Catharanthus roseus</i>	20	1	5,00
<i>Cordia verbenacea</i>	19	4	21,05
<i>Hypericum perforatum</i>	22	1	4,54
<i>Melissa officinalis</i>	18	0	Zero
<i>Pfaffia glomerata</i>	17	0	Zero
<i>Pogostemon cablin</i>	18	1	5,55

Os demais acessos apresentaram percentagem de mortes de estaca em torno de 5%, o que não significa sucesso de enraizamento, porquanto ensaios anteriores registraram casos de estacas que permaneceram vivas por mais de 30 dias, e mesmo que apresentando brotações, formaram apenas calos nos pontos de enraizamento (GOMES; BARROS, 2013; ZANCHETT 2013).

A percentagem de falhas de *Cordia verbenacea* foi destaque e coincide com a tendência de resultados encontrados por Zanchett (2013) no Distrito Federal, que registrou 41,7 % de perdas na formação de mudas de *Cordia verbenacea* por estaquia, por falha no enraizamento das estacas ou estacas mortas, em condições de casa de vegetação. Nessa espécie, no período de floração, os ramos vegetativos são escassos e o viveirista tem que lançar mão das estacas floridas que geralmente não são as mais adequadas à obtenção do enraizamento. Essa circunstância ocorreu no presente ensaio.

Os resultados obtidos com *Pogostemon cablin* superam aqueles relatados por Nascimento (2009), nos quais a sobrevivência das estacas uninodais testadas esteve em torno de apenas 30%. No entanto, deve ser considerado que o autor utilizou estacas uninodais, com gemas dormentes sob miniestufa e não utilizou areia como leito de enraizamento e sim a mistura latossolo + areia + composto orgânico + vermiculita. Observou-se que, para essa espécie que estacas com gemas dormentes, não são as melhores para enraizamento e sobrevivência. Saravanan et al. (2015) também testaram a estaca uninodal, mas com folhas, e obtiveram melhores resultados com estacas dos nós medianos da planta.

Bettoni et al. (2010), obtiveram bons resultados com estacas de 6 cm com um par de folhas, verificaram que a retirada total das folhas das estacas resultou no menor

enraizamento e maior percentagem de estacas mortas. Este padrão foi o mesmo utilizado no presente ensaio.

Com referência à espécie *Melissa officinalis*, o sucesso de sobrevivência e enraizamento foi total, confirmando os resultados de ensaios anteriores (SAGLAM et al., 2004; NASCIMENTO, 2009; DENG et al., 2006; SEVIK et al., 2013).

Excelente resultado também foi obtido com *Pfaffia glomerata*, confirmando resultados de outros autores: Nicolosso et al., 1999; Nicolosso et al., 2001; Gomes, 2006; Santos, 2006.

Os resultados de falhas no enraizamento e na sobrevivência de estacas de *Artemisia annua* e *Hypericum perforatum* foram considerados aceitáveis. As referências quanto à multiplicação dessas espécies por estaquia encontradas são poucas e ainda acessórias, não se referindo especificamente à arte da propagação, mas simplesmente como atividade decorrente de ensaios de adubação e melhoramento genético.

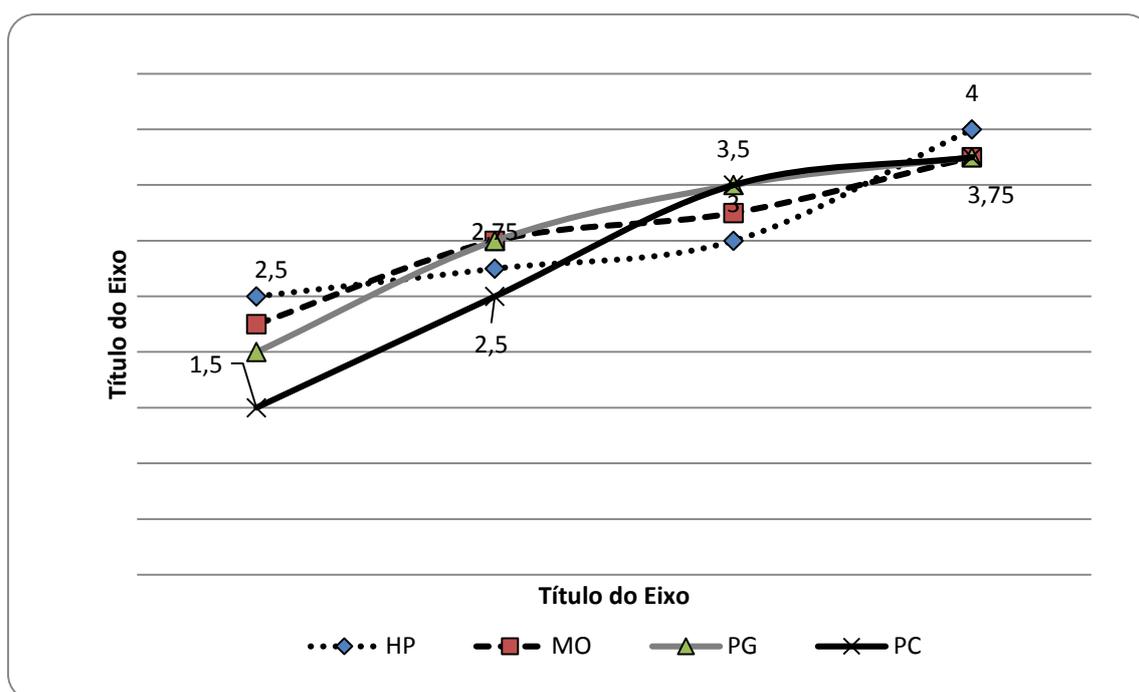


Figura 4 - Média do índice de enraizamento de estacas de quatro acessos de plantas medicinais 20 a 50 dias a partir da implantação.

HP= *Hypericum perforatum*; MO= *Melissa officinalis*; PG= *Pfaffia glomerata*; PC= *Pogostemon cablin*

A Figura 4 representa a média do índice de enraizamento de estacas de quatro espécies de plantas medicinais 20 a 50 dias a partir da implantação para: *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Pfaffia glomerata* e *Pogostemon cablin*. Se estabelecido um índice de referência médio de 2,75 para o ponto de inoculação do nematoide, observa-se que apenas *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis* e *Pfaffia glomerata* aos 30 dias

de implantação das estacas estarão em condições satisfatórias para a inoculação. Aos 20 dias, nenhum acesso apresentará as condições de enraizamento adequadas para a inoculação. *Hypericum perforatum* apresentará melhores índices de enraizamento em relação a *Melissa officinalis*, *Pfaffia glomerata* e *Pogostemon cablin*, podendo ser inoculado entre 20 e 30 dias após a implantação das estacas, como pode ser observado nas figuras 5, 6, 7 e 8.

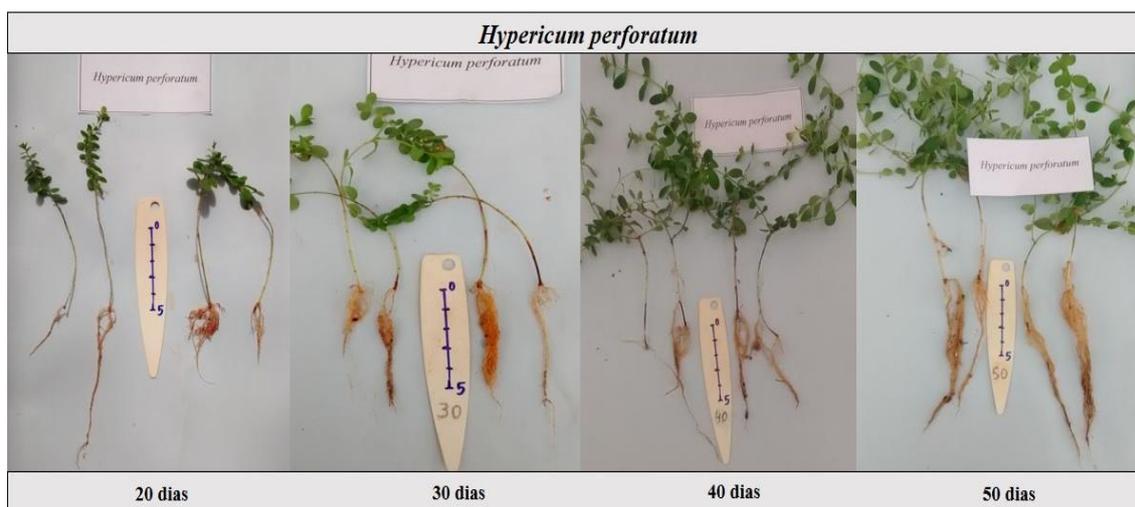


Figura 5 – Raízes do *Hypericum perforatum* aos 20, 30, 40 e 50 dias após após a implantação

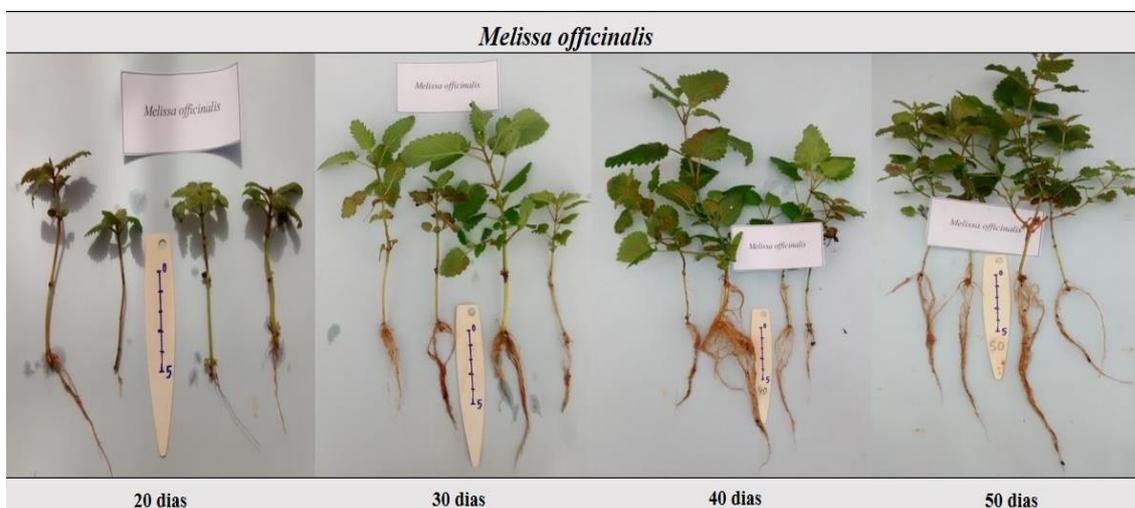


Figura 6 – Raízes da *Melissa officinalis* aos 20, 30, 40 e 50 dias após após a implantação

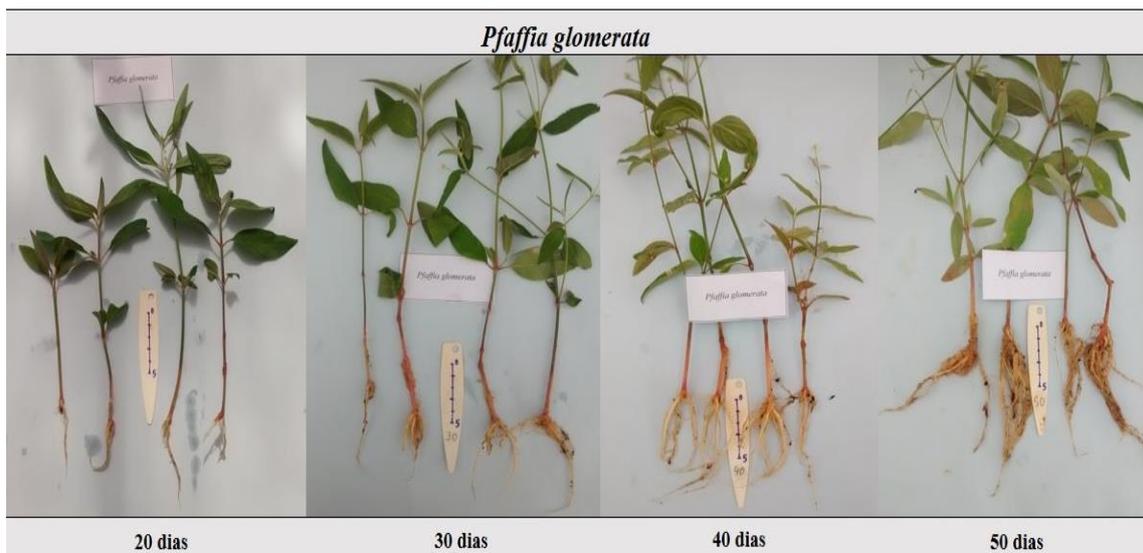


Figura 7 - Raízes da *Pfaffia glomerata* aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação

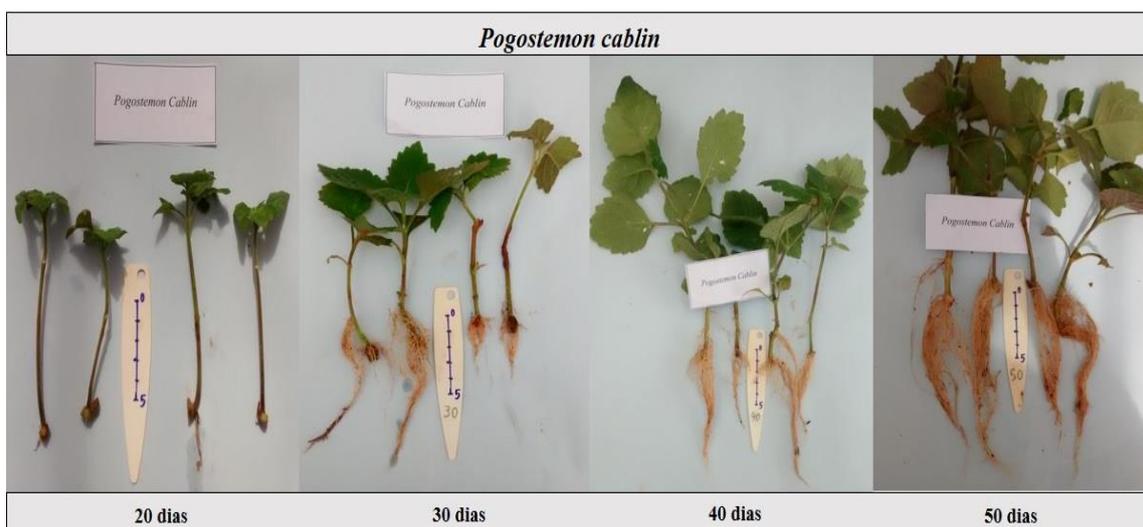


Figura 8 - Raízes do *Pogostemon cablin* aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação

A Figura 9 representa a média do índice de enraizamento de estacas de três acessos *Artemisia annua*, *Catharanthus roseus* e *Cordia verbenacea* de 20 a 50 dias a partir da implantação. Verifica-se que apenas *Artemisia annua*, *Catharanthus roseus* e *Catharanthus roseus*, aos 30 dias de implantação das estacas, estariam nas condições satisfatórias para a inoculação.

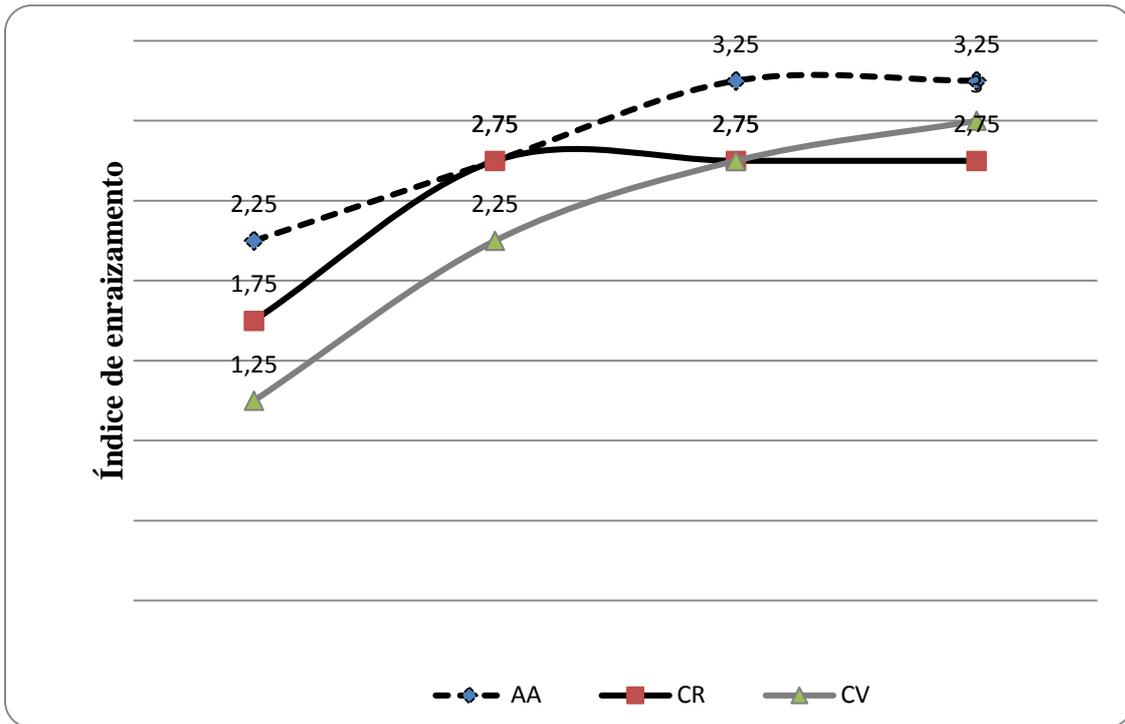


Figura 9 - Média do índice de enraizamento de estacas de quatro espécies de plantas medicinais de 20 a 50 dias a partir da implantação.
 AA= *Artemisia annua*; CR=*Catharanthus roseus*; CV= *Cordia verbenacea*.

Aos 20 dias, nenhum acesso apresentou as condições de enraizamento adequadas para a inoculação, como pode ser observado nas figuras 10, 11 e 12. *Artemisia annua* apresentou melhores índices de enraizamento em relação a *Catharanthus roseus* e *Cordia verbenacea*.



Figura 10 - Raízes de *Artemisia annua* aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação

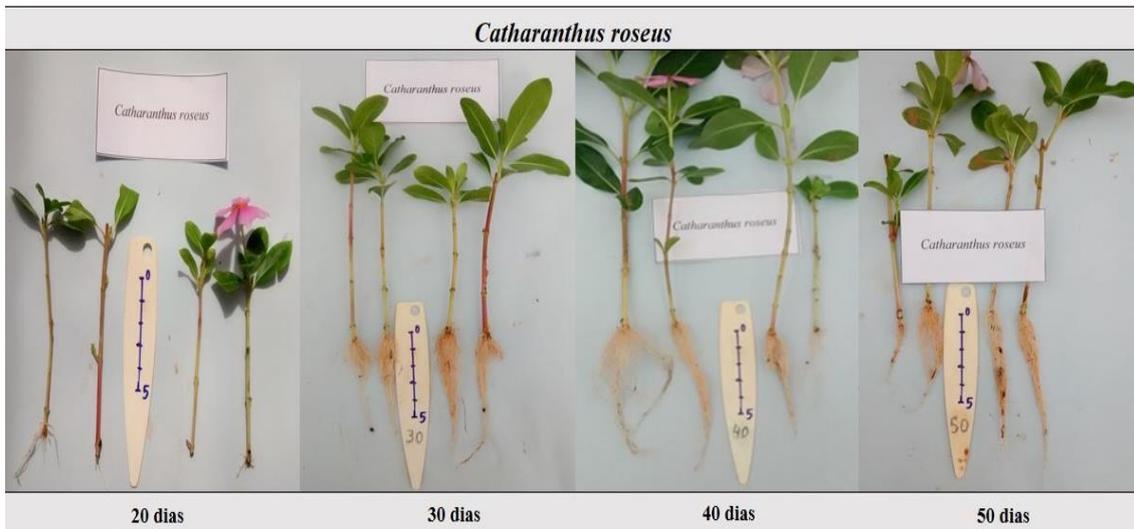


Figura 11 - Raízes de *Catharanthus roseus* aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação

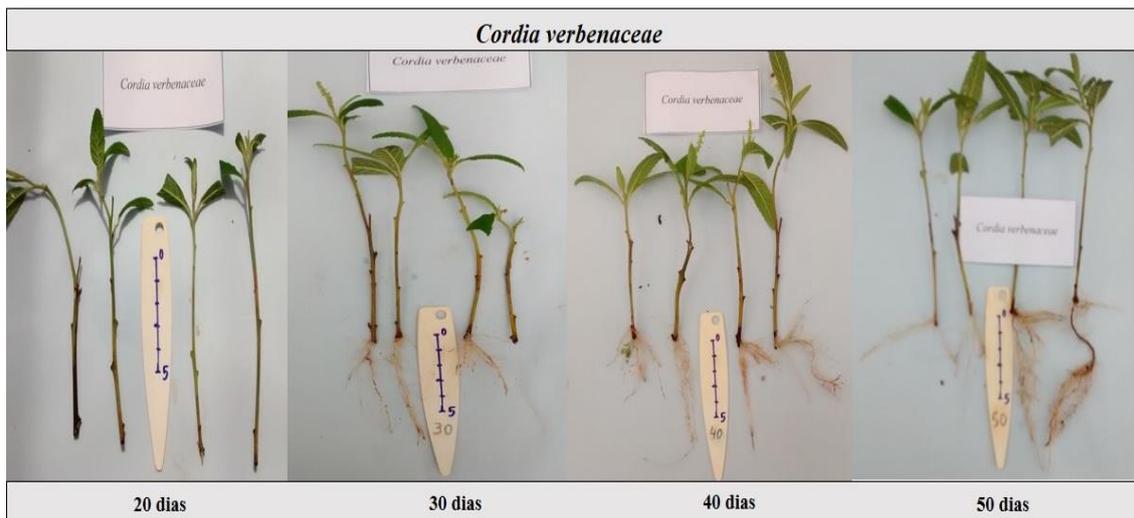


Figura 12 - Raízes de *Cordia verbenaceae* aos 20, 30, 40 e 50 dias após a implantação

Ensaios de reação de plantas a espécies de *Meloidogyne* requerem que as suas mudas estejam suficientemente enraizadas, que sejam uniformes em seu enraizamento e plantadas em substrato suficientemente estéril, seja comercial ou artesanal, como, por exemplo, areia lavada ou misturas esterilizadas em autoclave (VILLELA, 2011).

Quando as plantas são propagadas por sementes, o pesquisador precisa considerar que os tempos de germinação podem ser diferentes para cada espécie ou ainda lidar com eventuais problemas de dormência, requerendo tratamentos especiais como, por exemplo, a embebição das sementes (ADEGAS et al. 2003).

Quando as plantas são propagadas vegetativamente, especialmente por estaquia da parte aérea, deve ser considerado que algumas espécies são recalcitrantes para enraizamento de estacas, tornando-se necessária a aplicação exógena de substâncias de crescimento (BORGES et al. 2011). No caso de rizomas ou raízes gemíferas, o cuidado deve ser redobrado por tratar-se de órgãos retirados do solo que podem abrigar inóculo de outros nematoides (SILVA et al. 2011).

É sabido que o sucesso do enraizamento depende do meio de enraizamento, onde se destaca a areia, da qualidade da estaca, do tempo necessário ao crescimento das raízes e das condições ambientais de temperatura, luz e umidade (RATHNAYAKE et al., 2015; SARAVANAN et al., 2015). Em alguns casos, notadamente com “seedlings” de espécies não dormentes, o período de três semanas é suficiente para a produção de mudas satisfatórias para a inoculação com *Meloidogyne* (MCSORLEY; MCGOVERN, 2000). Este período de 21 dias tem sido uma referência também para plantas multiplicadas por estaquia. No entanto, o mesmo pode variar conforme as circunstâncias. Borges et al. (2011) estabeleceram um prazo de trinta dias para o transplante de miniestacas enraizadas de *Eucalyptus globulus*.

Dependendo da finalidade para a qual as mudas estão sendo produzidas, o tempo de viveiro das estacas antes do transplante pode variar. Por exemplo, para *Pfaffia glomerata*, de 15 dias (SANTOS, 2006), 90 dias (NICOLOSSO et al, 1999) e 44 dias (NICOLOSSO et al., 2001); para *Coffea arabica*, 35 dias em estufim (PEREIRA et al. 2001); para *Cordia verbenacea*, 60 dias (ZANCHETT, 2013). Saglam et al. (2004) transplantaram estacas enraizadas de *Melissa officinalis* quando elas apresentaram raízes com 8 a 10 cm de comprimento. Sevik; Guney (2013) avaliaram estacas enraizadas de *Melissa officinalis* aos 60 dias após a implantação, mesmo tempo utilizado por Nascimento (2009).

O nível de enraizamento das estacas pode ser verificado periodicamente, durante a produção das mudas, desenterrando-as. Caso ainda não esteja satisfatório, a estaca poderá ser replantada para que o mesmo se complete, conforme verificado no presente ensaio, onde todas as estacas que já apresentavam algum enraizamento seguiram vegetando e incrementando o enraizamento após o replantio em areia.

4 CONCLUSÃO

Estacas das espécies medicinais *Artemisia annua*, *Catharanthus roseus*, *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Pfaffia glomerata*, *Pogostemon cablin* e *Cordia verbenacea* produziram mudas viáveis para ensaios com *Meloidogyne* spp. As espécies diferiram quanto à sobrevivência, eficiência e velocidade de enraizamento das estacas em areia. Elegeram-se um prazo médio de 30 dias para que as raízes das estacas das espécies testadas estivessem em condições de ser inoculadas com ovos e juvenis de *Meloidogyne* spp. As estacas de todas as espécies testadas mostraram-se resistentes ao transplante, após iniciado o enraizamento.

REFERÊNCIAS

ADEGAS, F. S.; VOLL, E.; PRETE, C. E. C. Embebição e germinação de sementes de picão preto (*Bidens pilosa*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 1, p.21-25, 2003.

BETTONI, M. M.; STORCK, R. C.; PENUELA, L. F.; MORAES, C. P. Propagação vegetativa de Patchouli por estaquia. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 5, p. 417-420, set./out., 2010.

BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; MELO, L. A.; ROSADO, A. M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.

COSTA, L. C. B, PINTO, J. E. B.; BERTOLUCCI, S. K. V. Comprimento da estaca e tipo de substrato na propagação vegetativa de atroveran. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1157-1160, jul./ago., 2007.

DENG, Q. X.; WANG, X. R.; MAO, X. L.; LIU, S. Y. Studies on cutting propagation of *Melissa officinalis* L, *Origanum vulgare* L and *Lavandula angustifolia* in winter. **Journal of Henan Agricultural Sciences**, v. 6, p. 27, 2006.

GOMES, T. M.; BARROS, F. T. V. **Propagação vegetativa de espécies invasoras de interesse da fitoterapia: ensaio preliminar**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2013. 28 p.

GOMES, A. C. M. M. **Resistência e caracterização histológica de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. 2006. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MCSORLEY, R.; MCGOVERN, R. J. Effects of Solarization and Ammonium Amendments on Plant-Parasitic Nematodes. **Supplement to the Journal of Nematology**, v. 32, n. 4, p. 537-541, 2000.

NASCIMENTO, O. J. **Multiplicação rápida de espécies medicinais cultivadas mediante estaquia uninodal.** 2009. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2009.

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

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P., CASSOL, L. F.; Comprimento da estaca de ramo no enraizamento do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 57-60, 2001.

PEREIRA, A. B.; AGUILAR, M. A. G.; SODRE, G.; PASQUAL, M.; MENDES, A. N. **G. Enraizamento de estacas de *Coffea arabica* L. em estufim.** Vitória: Ministério da Agricultura e do Abastecimento / EMBRAPA, 2001.

RATHNAYAKE, R., DHARMADASA, R. M., ABEYSINGHE, D. C. *Suitable maturity stage, type of cuttings and potting media for vegetative propagation of Pogostemon heyneanus Benth.* **World Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 6, p. 203-207, 2015.

SAGLAM, C.; ATAKISI, I.; TURHAN, H.; KABA, S.; ARSLANOGLU, F.; ONEMLI, F. Effect of propagation method, plant density, and age on lemon balm (*Melissa officinalis*) herb and oil yield. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 32, n. 4, p. 419-423, 2004.

SANTOS, M. C. A.; FREITAS, S. de P.; SANTOS, A. L. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, M. S. de; LEMOS, G. C. da S. Efeito do ácido indolbutírico, tipos de estacas e substratos sobre o enraizamento de *Catharanthus roseus*. **Revista Ceres**, v. 54, n. 314, p. 369-374, 2007.

SANTOS, T. V. M. **Propagação rápida do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*) mediante estaquia semi-nodal.** 2006. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação

em Agronomia) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2006.

SARAVANAN, R.; SAROJ-KUMAR, V.; MAITI, S. Standardization of single eye cutting in patchouli (*Pogostemon cablin*). **Current Horticulture**, v. 3, n. 1, p. 19-23, 2015.

SEVIK, H.; GUNAY, K. Effects of IAA, IBA, NAA, and GA3 on rooting and morphological features of *Melissa officinalis* L. stem cuttings. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-5, 2013.

SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; CORDEIRO, M. C. T.; PEREIRA, E. B. C.; PEREIRA, A. V. Propagação vegetativa de *Brosimum gaudichaudii* Tréc (mama-cadela) por estacas de raízes. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 13, n. 2, p. 151-156, 2011.

SUGUINO, E.; MARTINS, A.N.; HEIFFIG-DEL-AGUILA, L.S.; AGUILA, J.S. del; MINAMI, K. Produção de mudas de sapotizeiro por meio de estaquia em diferentes substratos. **Nucleus**, v. 8, n. 2, p. 69-76, 2011.

VILLELA, J. G. A. **Resistência de cultivares comerciais de maracujazeiro azedo a isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em condições de casa de vegetação**. 2011. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2011.

ZANCHETT, F. **Crescimento e desenvolvimento de mudas de *Cordia verbenacea* e *Murraya koenigii* em casa de vegetação**. 2013. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2013.