



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA**

ROSIMAR NERI DE SOUZA

**POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL) N. E. BROWN. NO
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM PLANTAS ALFACE**

Cruz das Almas - BA

2017

ROSIMAR NERI DE SOUZA

**POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL) N. E. BROWN. NO
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM PLANTAS ALFACE**

Trabalho de conclusão de curso submetido ao Colegiado de Graduação de Tecnologia em Agroecologia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Agroecologia.

Orientadora: Professora Dr^a Franceli da Silva
Co- orientador: Fábio Nascimento de Jesus

Cruz das Almas - BA

2017

ROSIMAR NERI DE SOUZA

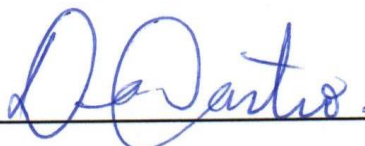
**POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL) N. E. BROWN. NO
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM PLANTAS ALFACE**

Monografia defendida e aprovada pela banca examinadora

Aprovado em 07/04/2017



Prof. Dra. Franceli da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dr. Daniel Melo Castro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dra. Cintia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

DEDICO

Ao meu Deus, por ter mim proporcionado mais uma conquista,
A minha Mainha, Marinalva Neri, meu amor, pelo apoio, conselhos
e incentivo que sempre passa para seguir e nunca desistir dos meus ideais.

AGRADECIMENTOS

Ao meu grande Deus, Senhor do impossível, fonte de luz e inspiração, que norteou os meus passos em todo esse processo;

A Nossa Senhora, pela proteção, amor, carinho, por guiar meus passos e dar-me sabedoria, perseverança nessa longa caminhada;

À minha família, minha mainha Marinalva Neri e meu painho Edmundo Conceição de Souza, meus grandes mestres e os maiores responsáveis pelo incentivo, amor, ensinamentos na minha caminhada acadêmica;

Ao meu irmão Tarcio, que sempre acreditou que a vitória seria o resultado dos meus esforços;

Aos meus tios Antonio Neri e Celina Souza, pelo carinho, amizade e por sempre estarem presentes na minha vida;

À minha tia Laurita de Almeida, por poder sempre contar com seu carinho, apoio, incentivo e dedicação. Serei eternamente grata;

À Prof.^a. Franceli da Silva, minha orientadora, que no decorrer deste processo soube lapidar gradativamente minhas constantes inquietações e por confiar na minha capacidade de desenvolver este trabalho. Além da amizade, apoio, dedicação e disposição;

Ao meu co-orientador Fábio Nascimento, pelo apoio e contribuições dadas ao longo dessa caminhada;

À Prof.^a. Cintia Armond, pelas orientações e suporte passados para enriquecimento deste trabalho;

Ao laboratório de microbiologia, em especial a Dr^a. Josilda Damasceno e Maria Conceição, pelo suporte no decorrer da parte prática desse trabalho;

À Dr^a. Zuleide Carvalho, por todos os ensinamentos, dedicação, paciência, e conselhos dados ao longo desta caminhada;

Aos Professores Carlos Ramos e Nara Eloy, pelos valiosos conhecimentos transmitidos e pelas contribuições que levarei para a vida profissional e pessoal;

Aos Professores do Curso de Agroecologia, Thais Emanuelle, Flávia Barbosa, Ricardo e Mascarenhas, por partilharem seus conhecimentos e ensinamentos, pelo carinho, dedicação. Cuidarei bem da sementinha que plantaram dentro de mim;

Ao Grupo de Pesquisa GEPLAM, Grupo de Pesquisa em Plantas Aromáticas e Mediciniais, em especial a Daniele Vasconcelos e Sara Samanta, por estarem dispostas a ensinar e tirar dúvidas, pela paciência, apoio e amizades. E por propiciarem momentos de descontração, vocês são especiais;

À minha insubstituível amiga, Jamile Moreira, que teve o dom de fazer com que essa caminhada fosse mais suave, sabendo conduzir minhas ansiedades, nervosismos, preocupações, em fim passando serenidade para obtenção concreta dos resultados;

Aos meus eternos amigos do Curso de Agroecologia, Robson, Iremar, Bruno, Advane, Aniele, Maria, obrigada por tudo, de modo especial por me ensinarem o valor das palavras solidariedade, amizade, companheirismo e superação;

Aos funcionários do laboratório bloco L, Técnica Lene, Sr. Jair, Sr. Geovane, Dona Val, Fernanda, Adriana, Fabricio, em fim, por todas as informações e pela gentileza e disponibilidade que mim trataram;

À Universidade Federal do recôncavo da Bahia - UFRB a quem agradeço pela confiança, pelo incentivo e pelo investimento para que eu pudesse realizar esta conquista;

Em fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente na condução deste trabalho.

Ninguém vence sozinho... MEU MUITO OBRIGADA!

“Educação não transforma o
mundo.

Educação muda às pessoas.

Pessoas mudam o mundo”.

(Paulo Freire).

RESUMO

Diante dos prejuízos e danos que os agroquímicos causam, há uma busca incessante por métodos que visem o controle de fitopatógenos de maneira sustentável, sendo os óleos essenciais (OE) extraídos de espécies de plantas são eficientes em inibir a atividade nematocida. O objetivo neste trabalho foi avaliar a ação nematocida, *in vitro* e *in vivo*, do óleo essencial de *Lippia alba*, sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* na cultura da alface (*Lactuca sativa*). O EO foi extraído das folhas por hidrodestilação em aparelho de Clevenger. Instalou-se um bioensaio utilizando 1000 μL de uma solução aquosa contendo, 10 % (v/v) Tween[®] 20, 1000 μL de J2 de *M. javanica*, contendo 50 indivíduos, contendo o EO em diferentes concentrações (4; 8; 16 e 32 $\mu\text{L}/\text{ml}$) mais o controle, com quatro repetições, em delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram avaliados após 24 e 48 horas, respectivamente. O ensaio *in vivo*, foram inoculados 357 indivíduos dentre ovos e juvenis J2 de *M. javanica* por planta, as concentrações testadas foram as mesmas, *in vitro*, com oito repetições por tratamento. Foram incorporados ao solo, 100 ml da solução contendo 10 ml de tween[®] 20, 990 ml de água deionizada e as respectivas concentrações 4, 8, 16 e 32 μL do óleo de *L. alba*, após 45 dias de inoculação. Na determinação da massa seca das raízes e parte aérea as plantas foram colocadas em sacos de papel e levadas à estufa a 40°C. O OE de *L. alba* apresentou atividade nematostática e nematocida, a concentração de 8 $\mu\text{L}/\text{ml}$ diminuiu em 70% a infestação e a concentração de 32 $\mu\text{L}/\text{ml}$ foi responsável por causar a imobilidade de 100% dos juvenis. O efeito nematocida foi comprovado, com a segunda avaliação após 48 horas, verificou-se que 70% e 100%. Nota-se que na concentração de 0 (controle), que apresentou 257 galhas e 87% galhas na concentração 16 $\mu\text{L L}^{-1}$, quando comparados ao controle. O número de massa de ovos e ovos diminuiu com o aumento da concentração. Nas as duas maiores concentrações, 16 e 32 $\mu\text{L L}^{-1}$, reduziram o número de massas de ovos por grama de raízes em 49 e 56% e 51 e 55% em relação à testemunha, respectivamente. Pode-se observar que o óleo essencial de *L. alba* apresenta efeitos nematocida na mortalidade e imobilidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. Javanica*, *in vitro* e *in vivo*.

Palavras chave: plantas medicinais, erva cidreira de arbusto, fitonematóide.

ABSTRACT

In the face of the damages and damages that the agrochemicals cause, there is an incessant search for methods that aim at the control of phytopathogens in a sustainable way, being the essential oils (OE) extracted from plant species are efficient in inhibiting the nematicidal activity. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* nematicide action of *Lippia alba* essential oil on juveniles of *Meloidogyne javanica* in lettuce (*Lactuca sativa*). EO was extracted from the leaves by hydrodistillation in a Clevenger apparatus. A bioassay was prepared using 1000 μ l of an aqueous solution containing 10% (v / v) Tween® 20, 1000 μ l of *M. javanica* J2, containing 50 individuals, containing the EO at different concentrations (4, 8, 16 And 32 μ L / ml) plus the control, with four replications, in a completely randomized experimental design. They were evaluated after 24 and 48 hours, respectively. *In vivo* assay, 357 individuals were inoculated between eggs and juveniles J2 of *M. javanica* per plant, the concentrations tested were the same, *in vitro*, with eight replicates per treatment. 100 ml of the solution containing 10 ml of Tween® 20, 990 ml of deionized water and the respective concentrations of 4, 8, 16 and 32 μ L of *L. alba* oil were added to the soil after 45 days of inoculation. In the determination of the dry mass of the roots and part area the plants were placed in paper bags and taken to the stove at 40 ° C. The *L. alba* OE presented nematode and nematicidal activity, the concentration of 8 μ L / ml decreased infestation by 70% and the concentration of 32 μ L / ml was responsible for causing 100% immobility of juveniles. The nematicidal effect was verified, with the second evaluation after 48 hours, it was verified that 70% and 100%. It was observed that in the concentration of 0 (control), which presented 257 galls and 87% galls in the concentration 16 μ L L-1, when compared to the control. Egg and egg mass numbers decreased with increasing concentration. In the two largest concentrations, 16 and 32 μ L L-1 reduced the number of egg masses per gram of roots by 49 and 56%, and 51 and 55%, respectively, relative to the control. It can be observed that the essential oil of *L. alba* presents nematicidal effects on the mortality and immobility of juveniles of the second stage (J2) of *M. Javanica*, *in vitro* and *in vivo*.

Key words: Medicinal plants, Lemon grass herb, phytonematode.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	3
2.1	OBJETIVO GERAL.....	3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3	REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1	Plantas Medicinais.....	4
3.2	Óleo Essencial.....	5
3.3	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N. E. Brown.....	7
3.4	Nematoide das Galhas.....	9
3.5	Alface.....	11
4	MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1	Extração do óleo.....	12
4.2	Obtenção dos ovos e juvenis.....	13
4.3	Avaliação, <i>in vitro</i> , do efeito do óleo essencial de <i>Lippia alba</i> sobre juvenis (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i>	13
4.4	Avaliação dos juvenis (J2) <i>M. javanica</i> em mudas de alface.....	13
4.5	Análise estatística.....	14
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
6	CONCLUSÕES	20
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é detentor de uma rica biodiversidade dividida por vários biomas e ecossistemas. Oferece uma ampla tradição de uso das plantas com potencial bioativo (FERREIRA et al. 2016). Dentre estas espécies está a *Lippia alba* (Mill.) NE Brown pertence à família Verbenaceae, é uma planta arbustiva, possui ramos finos, esbranquiçados e frágeis, suas folhas têm borda serrados e ápice agudo, tendo flores reunidas em inflorescências, habita praticamente todas as regiões do Brasil (PARRA-GARCES et al. 2010 ; SOUZA et al. 2015).

Segundo TOMAZONI *et al.* (2016) as plantas medicinais encontradas no Brasil largamente utilizada devido ao seu potencial sedativo, analgésico, carminativa, dentre outras propriedades. No entanto, têm ação antimicrobiana, fungicida que afetam vários microrganismos patogênicos.

Os óleos essenciais são localizados nas estruturas celulares da epiderme, mais especialmente, nas glândulas secretoras conhecidas como tricomas. Seus elementos têm diferentes formas com ápice agudo e bordas serrilhadas ou irregulares. O óleo essencial de *L. alba* é composto, principalmente, de dois compostos químicos, terpenóides e fenilpropanoides (LINDE et al. 2016).

A crescente importância do seu emprego no controle de pragas e de doenças se deve à sua eficiência aliada ao menor impacto negativo ao meio ambiente (MARTINS e SANTOS 2016). Na agricultura, os agrotóxicos estão sendo utilizados largamente e de modo indiscriminado no controle de pragas e doenças, o que traz como consequência o acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, no solo e na água, elimina os inimigos naturais e com passar das aplicações, causa resistência dos patógenos aos produtos químicos (MARINO et al. 2012).

O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, conhecido como nematoide das galhas, é o mais importante na agricultura mundial. Afeta várias cultivares e causar danos, provocando elevadas perdas e comprometendo a qualidade das culturas. Há mais de 90 espécies do gênero *Meloidogyne* que acomete várias culturas sendo os mais comuns os *M. incognita* Chitwood 1949, *M. javanica* Chitwood 1949, *M. arenaria* Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood 1949, por serem largamente

disseminados e possui vários hospedeiros, elevando a severidade das infestações no campo (SILVA et al 2016).

Dentre as culturas mais atacadas, a alface é uma das culturas de maior infestação pelo *Meloidogyne* causando perdas consideráveis aos produtores. É a mais consumida no mundo, pode ser cultivada durante todo o ano. Nutricionalmente, possui alto teor de vitamina A em suas folhas, é rica em sais, apresenta baixo valor calórico e custo no cultivo (SCHERER et al. 2016; KOEFENDER et al. 2016). Portanto, sua produção apresenta limitações, quanto à sensibilidade às condições de temperatura e umidade, o que acarreta a infestação de diversos patógenos, como a ocorrência de míldio e a nematoides de nó de raiz, especialmente *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* (DIAS-ARIEIRA et al. 2012; NUNES et al. 2013).

Portanto, o objetivo no trabalho é avaliar a ação nematicida, *in vitro* e *in vivo*, do óleo essencial de *L. alba*, sobre juvenis de *M. javanica* em planta de alface (*Lactuca sativa*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar a ação nematicida, *in vitro* e *in vivo*, do óleo essencial de *L. alba*, sobre juvenis de *M. javanica*, em planta de alface (*Lactuca sativa*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Avaliar a ação do óleo essencial de *L. alba* sobre o nematoide;

Identificar a melhor concentração nematicida *in vitro*;

Testar o potencial da concentração mais eficiente na cultura da alface.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas Medicinais na Agricultura

Plantas medicinais são espécies vegetais que em sua composição química contém substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos LIMA; NASCIMENTO; SILVA (2016). No Brasil, pelo menos a metade das espécies nativas possuem algumas propriedades, o emprego de plantas medicinais e aromáticas pelos seres humanos é crescente (MESSIAS et al. 2015; SOUZA 2015).

As plantas possuem inúmeras substâncias químicas no seu metabolismo. Determinadas substâncias, são conhecidas como princípios ativos. Estas, quando absorvida no organismo dos seres humanos, inclusive, nos animais fornecem uma resposta biológica (SOUZA 2015).

Os metabólitos secundários apresentam várias funções importantes, destaca-se, proteção, contra ataques de patógenos e herbívoros, alelopática, atraí organismos favoráveis como os polinizadores, além das ações de proteção contra aos stress abióticos, mudanças na temperatura, raios solares, dentre outros (EHLERT et al. 2013; FERREIRA et al. 2016).

Para CAMPOS et al. (2014) os compostos, produzidos pelo metabolismo secundário, incluem substâncias aromáticas, ácidos fenólicos, alcalóides, óleos essenciais, etc. Dentre os grupos, os óleos essenciais, são produtos de plantas, que têm grandes potencialidades, uma vez que possuem propriedades antifúngicas, antibacterianas, inseticidas e nematicidas, assim, possuem substâncias que podem substituir os fungicidas sintéticos (TOMAZONI et al. 2016). Os óleos essenciais possuem ativos com potenciais biológicos, com atividades antioxidante, antifúngica, antimicrobiana e nematicida (MONTEIRO et al. 2014; URIAS-ORONA et al. 2016; TORRENEGRA-ALARCON et al. 2016).

3.2 *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown

Lippia alba pertencente à família Verbenaceae, têm sua origem nas Américas do Sul e Centra, é uma planta medicinal aromática. Popularmente é difundida como: erva-cidreira, erva-cidreira-do-campo, falsa-melissa, alecrim-do-campo, alecrim-selvagem, cidreira-brava (EHLERT et al, 2013; JEZLER et al. 2013; LINDE et al 2016). Aborda um arbusto odorífero, medindo até 2m de altura. Folhas opostas variam-se seu diâmetro, bordos serrados e ápice agudo, na sua composição química apresenta vários compostos majoritários como o citral, linalol e carvona (AGUIAR e COSTA 2005).

Segundo CORTEZ et al. (2015) no conhecimento empírico, a erva cidreira, é usada como antiinflamatória, analgésica, antifebril, carminativa, dentre outras. É uma planta, com diversos compostos químicos em sua constituição, assim como, os óleos essenciais, com várias propriedades antisséptica, antifúngica, antibacteriana.

A Composição química está dividida em quimiotipos, os quais são resultantes da união entre os fatores ambientais e as características genéticas da espécie. Para LINDE et al. (2016) óleo essencial de *L. alba*, possui vários quimiotipos relata os três principais, citral-mirceno, citral-limoneno e carvona-limoneno. Esses podem variar suas concentrações de acordo com a região de cultivo. JANNUZZI et al. (2011) acrescenta o citral e linalol, enfatiza-se que a espécie de *Lippia* com os quimiotipos citral-mirceno, citral-limoneno é bastante utilizada no Brasil, na forma de chá das folhas frescas.

Para CORTEZ et al. (2015) a composição química do óleo de erva cidreira apresenta elevada variação, qualitativa e quantitativa, o que implica em seu agrupamento em quimiotipos, divididos pelos elementos mais abundantes, como o quimiotipos I (citral e mirceno), o quimiotipos II (citral e limoneno) e quimiotipos III (carvona e limoneno). Seu óleo essencial tem como um dos seus compostos majoritários Citral e linalol que se destaca pelo seu rendimento na planta e por sua ampla utilização na indústria de cosméticos e perfumes.

Segundo TAVARES et al. (2011) é uma planta propícia para as indústrias farmacêutica, aromáticas e perfumes e pode ser sugerida para indústrias agroquímicas, devido aos seus potenciais comprovados como, antifúngica, inseticida e repelente, além das suas facilidades agrônômicas, como a rusticidade, propagação vegetativa, adaptabilidade em vários ambientes e por vegetar e florescer o ano todo. MARCHESE et al. (2010) discorre que a estaquia e propagação vegetativa das plantas medicinais é uma forma de prevenir variações nos teores dos princípios ativos e de manter a

qualidade do produto final. A produção de mudas de *Lippia alba* deve ser realizada com estacas e estas, mostrou-se eficiente como alternativa para a produção de mudas desta espécie, apresentando facilidade de enraizamento e desenvolvimento das estacas.



Fonte: Souza, 2015

3.3 Óleo essencial

A designação, óleos essenciais, determina um grupo de substâncias naturais de ampla composição que fazem partes da estrutura de diversas espécies e são extraídos por metodologias específicas (OOTANI et al. 2013). Os óleos essenciais são substâncias voláteis naturais, encontrados em diversas variedades de plantas. Os principais constituintes são os terpenos, como os mono e sesquiterpenos e os fenilpropanoides (MONTEIRO et al. 2014). Vários métodos podem ser usados na extração dos óleos essenciais tais como: hidrodestilação, destilador a vapor e prensagem a frio, sendo o mais utilizado em escala laboratorial, por hidrodestilação.

De acordo com OLIVEIRA et al. (2012) as alterações na produção dos metabólitos secundários, deve-se as variações no clima, stress hídrico, umidade, dentre outros. Assim, esses representam uma interação química entre as plantas e o ambiente. Os fatores ambientais influenciam ou redirecionam a sua rota metabólica, estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, produzindo a biossíntese de diferentes compostos. Dentre estes, ressalta – se as interações, idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós – colheita.

Segundo OLIVEIRA et al. (2006) apresenta cientificamente que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas. MACHADO; PEREIRA; BATISTA, (2014) avaliando a variabilidade sazonal da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia alba*, conclui que o óleo essencial das folhas de *L. alba* demonstra atividade antimicrobiana contra todas as espécies bacterianas patogênicas que causam deterioração alimentar testadas, as *Escherichia coli* ATCC 10536, *Listeria innocua* ATCC 19115, *Listeria monocytogenes* ATCC 33090, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Por outro lado, SOUZA; SERRA; MELO, (2012) verificaram o efeito de óleos essenciais de eucalipto, copaíba, andiroba, babaçu, coco, neem, semente de uva, amêndoa, hortelã e pau rosa, em diferentes concentrações sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, *in vitro* e em frutos de pimenta em pós colheita. Como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, constatou que o uso de óleos essenciais no controle de antracnose em pimenta na pós-colheita pode ser uma alternativa viável e sustentável para o produtor.

Segundo GONÇALVES, et al. 2016 verificaram o efeito de óleos essenciais de *L. alba* na mortalidade de juvenis pré-parasitas do segundo estágio de *Meloidogyne incognita*. Podendo constatar a ação nematicida, observando que *L. alba* contém em seu óleo essencial, compostos com efeitos significativos na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita*.

A busca por novas tecnologias no controle de pragas e doenças nas plantas é constate. Os controles mais utilizados, como, os herbicidas, nematicidas, fungicidas, entre outros, os quais causam sérios impactos negativos no ambiente. (CRUZ et al. 2012). Diante aos prejuízos e danos os agroquímicos causam, há uma busca incessante por pesquisas científicas que visam o controle de nematoides, descrevem que os óleos essenciais extraídos de algumas espécies de plantas, são eficientes em inibir a atividade nematicida e podem ser utilizadas como uma alternativa ecológica favorável ao controle deste patógeno. Os óleos extraídos das plantas apresentam potenciais, biológicos e químicos, que podem ser explorados com nematicidas (GONÇALVES et al. 2016).

3.4 Nematoides das Galhas

Segundo BRIDA et al. (2016); GONÇALVES et al. (2016) os fitonematóides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nematoda: Meloidogynidae), são fitopatógenos que acarretam danos à produção agrícola, os quais se devem à sua habilidade de adaptação aos distintos ambientes, considerado - o de difícil controle. Causam elevados prejuízos na horticultura e em cultivares de grande porte, perdas significativas estimadas em bilhões de euros anualmente com redução de 50 a até 90% na lavoura das culturas afetadas. No Brasil, os que mais causam danos às culturas são os de galhas (*Meloidogyne* spp.), o de cisto (*Heterodera glycines*), o das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e o reniforme (*Rotylenchulus reniformis*). Entre os nematoides de galhas, *Meloidogyne javanica* apresenta elevadas ocorrências, determinando danos crescentes e rigorosos às culturas suscetível.

Nas áreas onde ocorre a presença dos nematoides de galha, podem-se constatar manchas em reboleiras nas lavouras, as plantas, não se desenvolvem ficam pequenas e amareladas, em ataque rigoroso mostram redução na altura da planta às vezes, pode não acontecer redução no tamanho, mas por ocasião do florescimento, nota-se intenso abortamento das vagens. Nas raízes, observam-se galhas em números e dimensões variados, dependendo da suscetibilidade da cultivar e da densidade populacional do nematoide. (DAMASCENO et al. 2015; BRIDA 2016). SANTOS et al. (2012) avaliaram danos e os níveis de resistência de cultivares do feijoeiro-comum ao parasitismo de *M. incognita* raça 3 e *M. javanica* em casa de vegetação, obtiveram resultados onde ambas as espécies de nematoides influenciaram negativamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas em comparação ao controle (plantas não inoculadas).

Para SANTOS et al. (2016) O controle biológico tem representado uma saída viável tanto para o manejo dos fitonematóides quanto para o meio ambiente, reduzindo os danos além de ter custo acessível quando comparado aos métodos químicos convencionais. MOREIRA et al. (2015) acrescenta que as medidas de controle utilizando plantas resistentes, rotação de culturas com espécies não hospedeiras e o uso de adubos verdes com plantas de efeito adverso ao nematoide, contribuí para a queda das populações destes organismos, beneficiando – se as plantas durante seu ciclo vital e a produtividade dos cultivos.

MIORANZA et al (2016) analisaram a eficiência do extrato aquoso de rizomas de cúrcuma (*Curcuma longa*) na eclosão, na imobilização e na mortalidade de juvenis de *Meloidogyne incognita*. O extrato aquoso de cúrcuma apresenta potencial nematostático e nematicida contra J2 de *Meloidogyne incognita* nos testes *in vitro*, promovendo a partir da concentração de 10% a paralização total dos nematoides e na concentração de 15% mais de 90% de mortalidade e que em todas as concentrações do extrato reduziram a eclosão de *M. incognita*.

Por outro lado, MOREIRA et al. (2015) avaliaram os efeitos dos óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela, dentre os resultados encontrados, constatou-se que a aplicação dos dois óleos essenciais no solo infestado foi eficaz, reduzindo a reprodução do nematoide e as épocas de aplicação afetaram a reprodução do nematoide em duas espécies vegetais.

3.5 Alface

È uma planta de clima ameno, em altas temperaturas, há modificações expressivas como: aceleração do ciclo vegetativo, a fase reprodutiva é antecipada, o produto perde qualidade para o consumo, tendo, folhas amargas, rígidas e redução no número e tamanho das folhas, logo, as condições ambientais influenciam no desempenho da alface (LÉDO et al. 2000 ; SANTI et al. 2010).

A alface (*Lactuca sativa L.*) dentre as hortaliças folhosas é mais conhecida e consumida, devido a suas fontes de vitaminas e sais minerais. No Brasil, é encontrado em todos os estados e regiões, caracteriza-se pelo plantio intenso, ciclo curto, baixo custo, a adaptabilidade a diferentes climas permitindo-lhes ser cultivada em pequenas áreas, pelos produtores familiares (ZARATE et al. 2010; CORREIA et al. 2015). Seu destaque é devido a sua grande importância econômica e alimentar para a maioria da população (MOTA; VIEIRA; ARAUJO, 2011).

Dentre vários microrganismos que atacam a cultura, destacam-se os nematoides de nó de raiz, os quais muitas cultivares são suscetíveis. Em elevadas temperaturas o ataque desses fitopatógenos são mais drásticos podendo ter perdas de 100% da produção (DIAS-ARIEIRA et al. 2015). LÈDO et al. (2000) avaliou o comportamento de cultivares de alface disponíveis no mercado, em termos de características agrônomicas e rendimento. Em seus resultados verificou-se que a incidência de nematoide (*M. javanica*), com exceção de cultivar Babá de Verão, a cultivar do tipo lisa

sem cabeça e lisa com cabeça tiveram maior incidência de nematoide quando comparadas com as do tipo crespa e americana.

DIAS-ARIEIRA et al. (2015) procura outros métodos de controle, com exceção dos químicos e destaca a importância da utilização dos materiais orgânicos, no controle de dos nematoide de galhas. Avaliou a aplicação de diferentes materiais orgânicos no controle de *M. incognita* em alface, tendo como resultados que os compostos bokashi e crambe bolo efetivamente reduzir a população de *M. incognita* e aumentou a desenvolvimento de culturas de alface em condições controladas. SILVA et al. (2006) obteve em seus resultados que a solarização apresenta-se como uma alternativa viável para o controle desses fitopatógenos, podendo contribuir para a redução do uso de agrotóxicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio *in vitro* foi conduzido no laboratório de Fitoquímica e o ensaio *in vivo*, em casa de vegetação, ambos localizados na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no Município de Cruz das Almas – BA.

4.1 Extração do óleo

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, as plantas foram adquiridas no laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, foram utilizados 100 gramas da parte aérea da *L. alba*, foi colocada no balão de vidro de 1 L contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal acoplados em mantas térmicas elétricas com termostato. O processo de extração ocorreu durante 02 (duas) horas, contadas a partir da condensação da primeira gota (figura 1. anexo).

Adicionou-se ao óleo retirado do aparelho sulfato de sódio anidro, com o objetivo de evitar perdas por hidrólise durante o armazenamento. Em seguida, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi acondicionado em frasco de vidro de 2 mL, etiquetado, envolvido com papel laminado e armazenado em congelador comercial a -11 °C até a realização da análise química. (Metodologia adaptada de TELES et al. 2014).

4.2 Obtenção dos ovos e juvenis

Os juvenis de *M. javanica* foram multiplicados em planta de tomate. As mudas de tomate cultivar “Santa Cruz Kada”, foram transplantada para vasos contém 2kg de solo e areia, a proporção 1:1, sendo este previamente esterilizado, mantido em casa de vegetação. Foram inoculados 1000 ovos e/ou juvenis de *M. javanica* em cada vaso contendo uma planta de tomateiro. Após 50 dias de inoculação foram coletados e realizou-se a extração das galhas nas de raízes infestadas (Metodologia adaptada de DAMASCENO et al. 2015), (Figura 2. anexo).

Na obtenção dos ovos e/ou juvenis, as raízes de tomateiro foram lavadas com água potável e trituradas em liquidificador por 20 segundos com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, conforme técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981). Em seguida, as suspensões de raízes trituradas foram transferidas para um conjunto de peneiras, constituído por uma peneira superior de 400 mesh e uma peneira inferior de 500 mesh. O material retido na peneira inferior foi transferido para um becker coberto com papel toalha poroso. Após 4 dias, os ovos e/ou

juvenis obtidos foram coletados e utilizados no ensaio na cultura da alface, variedade regina tipo lisa (CHEN e DICKSON 2000).

4.3 Avaliação, *in vitro*, do efeito do óleo essencial de *Lippia alba* sobre juvenis (J2) de *Meloidogyne javanica*

O ensaio *in vitro* foi conduzido no Laboratório de Fitoquímica da UFRB, seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Instalou-se um bioensaio utilizando 1000 μL de uma solução aquosa contendo, 10 % (v/v) Tween[®] 20, utilizado para promover a solubilização do óleo, 1000 μL de J2 de *M. javanica*, contendo 50 indivíduos. (Metodologia adaptada de BORGES et al. 2013).

Foram testadas as concentrações de 4, 8, 16 e 32 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de óleo essencial de *L. alba*, mais o controle. Os tubos de eppendorf foram mantidos a 28°C em câmara de crescimento e, após 24 horas, os nematoides retirados dessa suspensão, foram lavados com água esterilizada, realizando-se a contagem dos indivíduos imóveis com auxílio de microscópio e lâmina de Peters, posteriormente os nematoides foram colocados em água por mais 24 horas, o óleo essencial foi retirado da solução para confirmar a atividade nematicida, em seguida, contados. Os nematoides que permanecerem imóveis após este período serão classificados como mortos (figura 3. anexo).

4.4 Avaliação dos juvenis (J2) *M. javanica* em mudas de alface

A semeadura ocorreu na casa de vegetação, em tubetes com solo autoclavado. As mudas foram transplantadas para sacos de polietileno com capacidade de 2 kg de solo misturado com areia na proporção de 1:1 (v/v). Essa mistura foi esterilizada em autoclave a 120 °C por 1 hora e 30 minutos, por duas vezes, em dias alternados. Após 30 dias do trasplante das mudas, realizou-se a inoculação com 357 indivíduos (ovos e juvenis J2) de *M. javanica* por planta, distribuídos em dois orifícios de dois centímetros de profundidade equidistantes ao redor da planta (figura 4. anexo).

As plantas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizados, com cinco concentrações (0, 4, 8, 16 e 32 $\mu\text{L L}^{-1}$) e oito plantas por tratamento (figura 5. Anexo). A parcela experimental foi constituída de uma planta por saco. Foram incorporados ao solo, 100 ml da solução contendo 10% de tween[®] (v/v), (Figura 6.

anexo) nas respectivas concentrações do óleo de *Lippia alba*, por planta metodologia adaptada de BORGES et al. (2013).

Realizou-se a irrigação diariamente mantendo o solo constantemente úmido. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, após 45 dias de inoculação, as plantas foram coletadas, (figura 7. anexo), sendo realizada a avaliação da presença ou ausência de galhas e massa de ovos. Constatou-se a presença dos mesmos, as amostras de raízes frescas foram separadas e coloridas por imersão em solução com corante alimentício a base de ponceau a 1%, conforme metodologia proposta por DAMASCENO et al. (2016).

Para avaliação das raízes, procedeu-se a lavagem e imersão das mesmas em corante alimentício (1 ml para 1L água) por 15-20 minutos. Após isso é feita uma nova lavagem em água corrente para a retirada do corante residual das raízes tornando as massas de ovos avermelhadas, facilitando assim a contagem e visualização DAMASCENO et al. (2016) (figura 8. anexo).

Para determinação da massa seca das raízes e parte aérea, após a contagem das galhas e massa de ovos, as raízes foram colocadas em sacos de papel, devidamente identificados, e levadas à estufa a 40°C, até que a alcançar massa constante e depois pesada.

4.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e em seguida a análise de regressão para avaliar o efeito das concentrações. Foi utilizado o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O O.E de *L. aba* apresentou atividade nematostática e nematicida, quando comparadas ao controle. Observou-se que a imobilidade e a mortalidade dos juvenis do segundo estágio de *M. javanica* se elevaram com o aumento das concentrações do óleo. Observa-se que a concentração de 8 µL/ml diminuiu em 70% a infestação e a concentração de 32 µL/ml foi responsável por causar a imobilidade de 100% dos juvenis. O efeito nematicida foi comprovado, com a segunda avaliação após 48 horas, verificou-se que 70% e 100%, respectivamente, dos juvenis permaneceram paralisados, apresentando ação nematostática após a retirada do óleo (Figura 1).

MARINO et al. (2012) em ensaios *in vitro* utilizando o óleo essencial de *L. alba* sobre *M. incognita* raça 1 observaram que as concentrações de 16 e 20 µL mL⁻¹, destacaram-se entre as demais concentrações testadas, sendo a concentração de 20 µL mL⁻¹ superior às demais concentrações testadas no parâmetro mortalidade do estágio juvenil J2. Indicando que óleo essencial de *L. alba* apresenta ação nematicida, como comprovado nesse trabalho.

Por outro lado, em estudos *in vitro*, sobre o efeito de extratos aquosos de dez plantas medicinais, agrião-do-brejo (*Eclipta alba* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum*), artemísia (*Artemisia vulgaris*), capim citronela (*Cymbopogon winteranus*), chambá (*Justicia pectoralis*), confrei (*Symphytum officinale*), hortelã (*Mentha x vilosa*), lombrigueira (*Spigelia anthelmia*), mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) e menta (*Mentha arvensis*) sobre juvenis de *M. incognita* raça 2, MARTINS e SANTOS, (2016) constataram que a imortalidade superior a 75% foi observada em extratos de todas as espécies medicinais obtidos por infusão na diluição a 10%. Alguns autores relatam que os compostos majoritários presentes em alguns óleos essenciais são responsáveis pela ação nematicida e nematostática (MOREIRA et al. 2009; MARINO et al. 2012; GONÇALVES et al. 2015).

Estudos com moluscicida, larvicida e nematicidas dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare subsp Vulgare var. Vulgare* (funcho ou erva doce) e dois compostos fenilpropanóides (transaneto e estragole) foram avaliados contra três espécies: *R. peregra*, *A. atroparvus* e *M. javanica*. Dentre os resultados, foram observadas atividades nematicidas satisfatórias obtendo-se 50% de mortalidade antes de 48 h SOUSA et al. (2014).

AULAR et al. (2016) relata que a *L. alba* tem muitos quimiotipos descritos. No Brasil três quimiotipos foram descritos, classificados pelos compostos extraídos das folhas, sendo fundamentais citral (neral e geranial), carvona e linalol. MUKHERJEE e SINHABABU (2013) em estudos descrevem a atividade nematicida de citral e mentol contra infecção por *M. incognita*. Entre os seus resultados destaca-se que havia menor número de galhas e ovos nas raízes das plantas tratadas com citral e mentol do que em plantas inoculadas e não tratadas. Assim, as ações do óleo com a imobilidade e mortalidade dos nematoides podem estar relacionadas à ação dos inúmeros compostos contidos no óleo essencial.

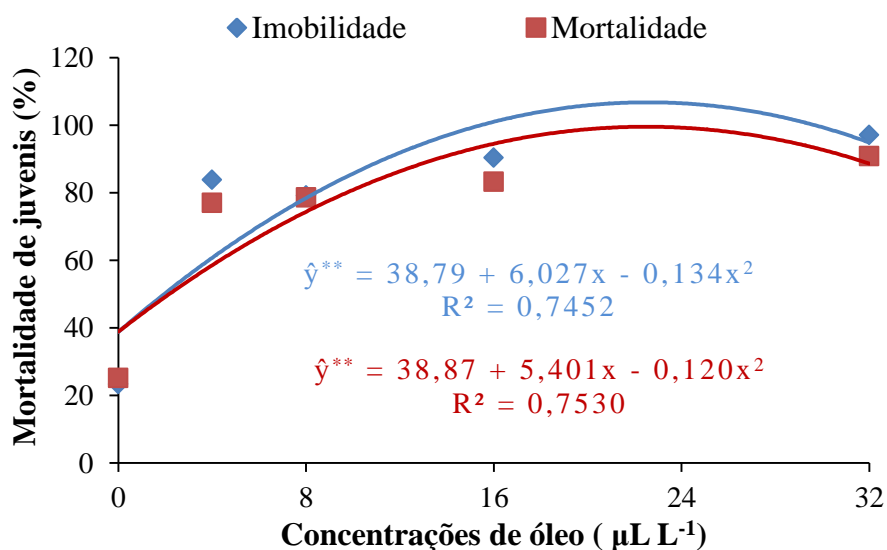


Figura 1. Imobilidade e Mortalidade de juvenis de *M. javanica* submetidos ao óleo essencial de *L. alba* *in vitro*.

O efeito da aplicação do óleo essencial causou redução significativa no número de galhas por planta. Foi possível observar uma redução acentuada a partir da concentração de 8 µL L⁻¹ do óleo essencial. Nota-se que a maior média foi encontrada na concentração de 0% (controle) que apresentou 257 galhas e 87% galhas na concentração 16 µL L⁻¹, quando comparados ao controle (Figura 2A).

Para as concentrações de 8 µL L⁻¹ e 32 µL L⁻¹ houve uma redução no número de galhas por planta de 80 e 87%, respectivamente, quando comparadas ao controle, demonstrando efeito nematicida do óleo essencial no controle *M. javanica* (Figura 2). Com o aumento das concentrações, eleva-se a toxicidade do óleo reduzindo o número de galhas.

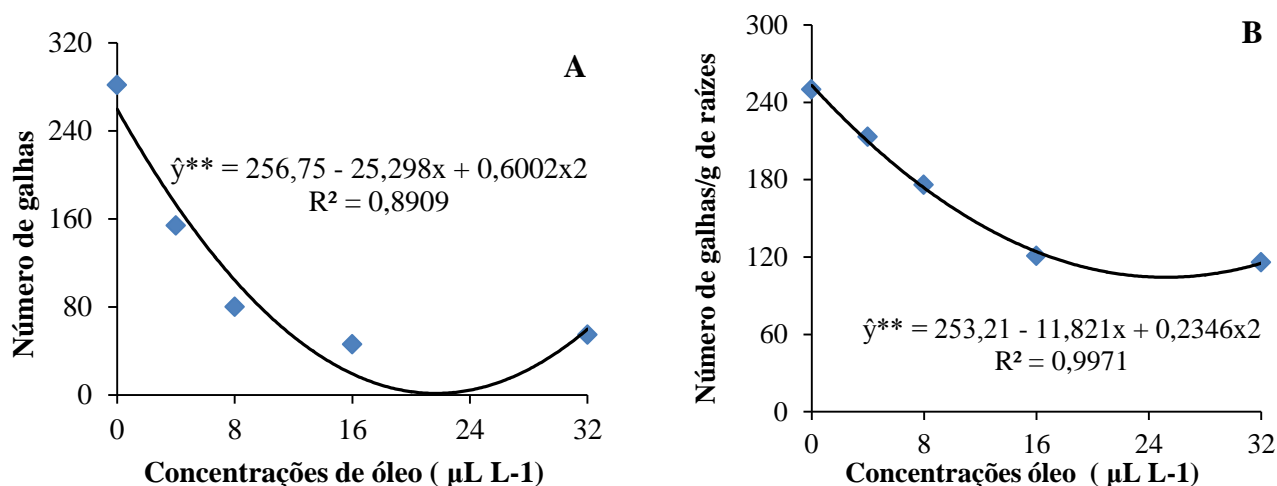


Figura 2. Número de galhas (A) por grama de raízes (B) de alface inoculadas com juvenis do segundo estágio de *M. javanica* submetidos ao óleo essencial de *L. alba*.

O número de J2 reduziu em com o aumento das concentrações. Provocou na alface a formação de menor números de galhas por grama de raiz nas concentrações de $8 \mu\text{L.L}^{-1}$, $16 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $32 \mu\text{L.L}^{-1}$, apresentando uma redução de 54, 83 e 66 %, respectivamente, quando comparados ao controle (Figura 2B).

MOREIRA et al. (2015) avaliaram o potencial nematicida dos óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) e capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) em solo no controle do nematoide das galhas *M. incognita* raça 2. Percebeu-se que houve efeito com os óleos diluídos para a variável de número de galhas (NG), em relação à testemunha, constatando-se uma diminuição desse número na ordem de 83% para o tomateiro. Assim, raízes de tomate tratadas com água apresentaram em média 257 galhas, enquanto que tomateiros tratados com óleos de alecrim pimenta, o NG variou de 36 a 59, e com o capim citronela o NG variou de 32 a 46 galhas.

Nas variáveis massas de ovos por planta e massas de ovos por grama de raiz as duas maiores concentrações (16 e $32 \mu\text{L.L}^{-1}$) reduziram acentuadamente o número de massas de ovos por grama de raízes em 49 e 56% e 51 e 55% em relação à testemunha, respectivamente. (Figura 3A e B). Nas concentrações de 4 e $8 \mu\text{L.L}^{-1}$ houve ligeira redução, de 16 e 30% e 17 e 31%, respectivamente, em relação ao controle. Pode-se aferir que o óleo essencial reduz e inibi a infestação das massas de ovos dos nematoides.

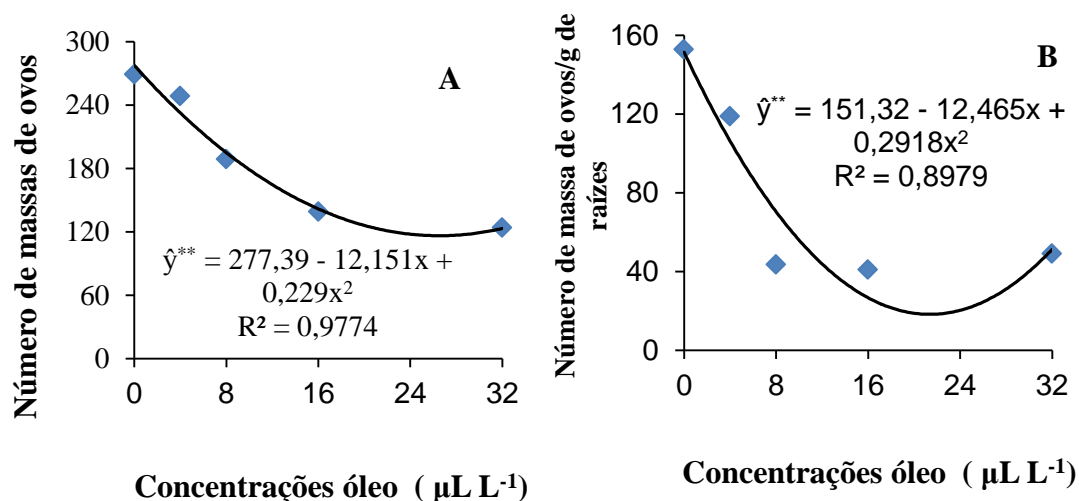


Figura 3. Número de massas ovos por planta (A) e número de massa de ovos por grama de raízes, de *M. javanica* em raízes (B) de alface inoculadas com juvenis do segundo estágio de *M. javanica* submetidos ao óleo essencial de *L. alba*.

MATTEI et al. (2014) em seus experimentos avaliaram a atividade do óleo essencial de alecrim aplicado diretamente ao solo para o controle de *M. Javanica* e *P. brachyurus* na cultura da soja. A maior frequência de tratamento (quinzenal), para *M. javanica*, resultou em menos galhas, mas o número de ovos/g de raiz foi menor para tratamento mensal em comparação com o tratamento quinzenal. Observou-se grande diferença número de ovos/g de raiz. Em ambos a concentração de 3% de óleo essencial produzido os melhores resultados para controlar o nematoide. Conclui-se que óleo essencial de alecrim foi eficaz no corte da população de *M. javanica* em comparação com Controle. Com base nas análise estatísticas, houve diferença significativa quanto à redução do número de massa de ovos por planta e por grama de raiz. A partir da concentração de $8 \mu\text{L.L}^{-1}$ verifica-se a redução acima de 50% comprovando a ação de toxicidade do óleo essencial de *L. alba*.

RIBEIRO et al. (2012) avaliando a eficiência do extrato de pequi na eclosão e mortalidade de juvenis do nematoide das galhas *in vitro*, bem como o efeito de diferentes doses do pó moído de resíduos de pequi no controle do nematoide das galhas em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). Obteve com resultado a redução no número de galhas diminuiu linearmente com o aumento da concentração do pó da casca e mesocarpo externo do pequi. Todas as doses do extrato da casca e do mesocarpo externo do fruto de pequi pré-estabelecidas reduziram a eclosão de juvenis de J2 do

nematóide das galhas, quando comparadas com o controle. Porém as doses de 10 e 20% reduziram a eclosão em 87,71 e 99,9%, respectivamente, comparadas com o controle (água) e foram mais eficazes que as demais.

Em determinadas concentrações o óleo essencial pode ter provocado efeito tóxico ao fitonematóides. Segundo MARINO et al. (2012) os óleos essenciais podem interagir com a membrana citoplasmática, causando a ruptura da estrutura de polissacarídeos, lipídeos e fosfolipídios, ocorrendo a dispersão do material citoplasmático. Do mesmo modo, podem alterar a permeabilidade das membranas. De acordo com os autores supracitados, estes mecanismos de ação poderiam explicar a elevada mortalidade dos juvenis (J2) no presente trabalho e redução nos números de galhas e massa de ovos de *M. javanica*, na presença do óleo de *L. alba*.

6 CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Lippia alba* possui efeitos nematicida na mortalidade e imobilidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne Javanica*, *in vitro* e *in vivo*;

Na concentração 32 $\mu\text{L.L}^{-1}$, *in vitro*, obtendo-se a redução de 100%, de imobilidade e mortalidade dos nematoides.

O óleo essencial possui ação nematicida na cultura da alface.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, J. S.; COSTA, M. C. C. D. *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 79-84, 2005.
- AULAR, Y. et al. Composición química y toxicidad aguda oral del aceite esencial de *Lippia alba* en ratones. **Salus**, Valencia, v. 20, n. 1, p. 43-51, abr. 2016 .
- 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**, v. 6, p. 533, 1981.
- BORGES, D.I. et al. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 325-331, 2013.
- BRIDA, A. L. De et al. Spatial variability of *Meloidogyne javanica* in soybean. **Summa phytopathol.**, Botucatu, v. 42, n. 2, p. 175-179, 2016.
- CAMPOS, F. G. et al. Characterization of the chemical composition of the essential oils of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer 'terra-fria' and *Annona squamosa* L. **Rev. Bras. Frutic.** , Jaboticabal, v. 36, n. Spe1, p. 202-208, 2014.
- CHEN, S.Y. & DICKSON, D.W. A technique for determining live second-stage juveniles of Heterodera glycines. **Journal of Nematology** v. 32, p. 117-121. 2000.
- CORREIA, É. C.S.S. et al. Reproduction of *Meloidogyne enterolobii* in lettuce cultivars of the American group. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 33, n. 2, p. 147-150, June 2015.
- CORTEZ, L. E. R. et al. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) e *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Poaceae). **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 4, n. 39, p.433-440, 2015.
- CRUZ, T.P. et al. Avaliação da atividade de extratos aquosos de canela, cravo e alho sobre *Fusarium oxysporum*f. sp. *zingiberi*. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.237-247, 2012.
- DAMASCENO, J. C. A.; SOARES, A. C. F.; JESUS, F. N.; CASTRO, J. M. C. Root-knot nematode staining with artificial food dyes. **Nematoda**, v.3, p. 1-5, 2016.
- DAMASCENO, J. CA et al. Sisal leaf decortication liquid residue for controlling *Meloidogyne javanica* in tomato plants. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 33, n. 2, p. 155-162, 2015 .

- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Reaction of plants and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 30, n. 2, p.322-326, 2012.
- EHLERT, P. A. D. et al. Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) NE Br.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 72-77, 2013.
- FERREIRA, P. I. et al. Potencial Terapêutico de Espécies Arbóreas em Fragmentos de Floresta Ombrófila Mista. **Floresta Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 1, p. 21-32, 2016.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- GONCALVES, F.J.T. et al. Atividade antagonista do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 149-156, 2016.
- HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Report**. v. 57, p. 1025-1028, 1973.
- JANNUZZI, H. et al. Agronomic and chemical evaluation of seventeen accessions of "erva-cidreira"[*Lippia alba* (Mill.) NE Brown]-citral chemotype, cultivated at the Federal District, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 3, p. 258-264, 2011.
- JEZLER, C. N. et al. *Lippia alba* morphotypes cidreira and melissa exhibit significant differences in leaf characteristics and essential oil profile. **Revista Brasileira de farmacognosia**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 217-223, abr. 2013.
- KOEFENDER, J. et al. Consorciação entre alface e cebola em diferentes espaçamentos. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 34, n. 4, p. 580-583, 2016.
- LÉDO, F.J.S.; SOUSA, J.A.; SILVA, M.R. Desempenho de cultivares de alface no Estado do Acre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 225-228, novembro 2.000.
- LIMA, I.E.O.; NASCIMENTO, L.A.M.; SILVA, M.S. Comercialização de Plantas Mediciniais no Município de Arapiraca-AL. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 18, n. 2, p. 462-472, 2016.
- LINDE, G.A. et al. Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 191-200, 2016.

MACHADO, T. F.; PEREIRA, R. C. A.; BATISTA, V. C. V. Seasonal variability of the antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia alba*. **Rev. Ciênc. Agron.**, Fortaleza , v. 45, n. 3, p. 515-519, 2014.

MARCHESE, J.A. et al. Estacas de diferentes diâmetros na propagação de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. - Verbenaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, vol.12, n.4, pp.506-509, 2010.

MARINO, R.H. et al. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 com óleo essencial de *Lippia Alba*. **Scientia Plena**, v.8, n.4, p.1-8, 2012.

MATTEI, D. et al. ESSENTIAL OIL OF *Rosmarinus officinalis* IN THE CONTROL OF *Meloidogyne javanica* AND *Pratylenchus brachyurus* IN SOYBEAN. **Biosci. J**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 469-476, 2014.

MARTINS, M. C. B. e SANTOS, C. D. G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Rev. Ciênc. Agron.**, Fortaleza , v. 47, n. 1, p. 135-142, 2016.

MESSIAS, M.C.T.B. et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 76-104, 2015.

MIORANZA, T. M. et al. Potencial nematicida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita*. **Revista De Ciências Agroambientais**, v. 14, n. 1, 2016.

MONTEIRO, T. S. A. et al. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria , v. 44, n. 7, p. 1149-1154, 2014.

MOREIRA, F. J. C.; Santos, C. D. G. e Innecco³, R. Eclosão e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raça 2 em óleos essenciais. **Revista Ciências Agrônômica**, Fortaleza, v. 40, n. 3, p. 441-448, 2009.

MOREIRA, F. J. C. et al. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo. **Summa phytopathol.**, Botucatu, v. 41, n. 3, p. 207-213, 2015.

MOTA, J. H.; VIEIRA, M. C.; ARAUJO, C. C. e produção de alface e marcação em cultivo solteiro e consorciado. **Acta Sei., Agron.(Online)** , Maringá, v. 33, n. 2, p. 269-273, 2011.

MUKHERJEE, A. & SINHABABU, S. P. Potential of Citral and Menthol for Suppression of *Meloidogyne incognita* Infection of Okra Plants. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 17:3, 359-365, 2014.

NUNES, R.C. et al. Levantamento de raças do agente causador do míldio da alface no Estado de São Paulo em 2012 e 2013. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.1, p.53-58, 2016.

OLIVEIRA, A. R. M. F. de et al. Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 241-245, 2012 .

OLIVEIRA, L. I. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 2, p. 197-201, 2006.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.

PARRA-GARCES, María Isabel et al. Morfología, anatomía, ontogenia y composición química de metabolitos secundarios en inflorescencias de *Lippia alba* (Verbenaceae). **Rev. biol. trop**, San José , v. 58, n. 4, p. 1533-1548, 2010 .

RIBEIRO, H. B et al. Resíduos de frutos de pequi no controle do nematóide das galhas em tomateiro. **Hortic. Bras.**, Vitória da Conquista , v. 30, n. 3, p. 453-458, 2012 .

SANTI, A. et al. Ação de material orgânico sobre a produção e características comerciais de cultivares de alface. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 87-90, 2010.

SANTOS, C. D. G.; SILVA, M. C. L.; SILVA, G. S. DA. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 4, p. 710-719, 2016.

SANTOS, L. N. S. et al. Damage quantification and reaction of bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Meloidogyne incognita* race 3 and *M. javanica*. **Summa phytopathol.**, Botucatu , v. 38, n. 1, p. 24-29, Mar. 2012.

SCHERER, K. et al. Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (*Lactuca sativa* L.). **Rev. Ambiente & Água**, Taubaté, v. 11, n. 3, p. 665-675, Sept. 2016.

SILVA, M. G. et al. Efeito da solarização, adubação química e orgânica no controle de nematóides em alface sob cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 489-494 2006.

SOUSA, R. M. O. et al. Larvicidal, molluscicidal and nematicidal activities of essential oils and compounds from *Foeniculum vulgare*. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**, 2014

SOUSA, D.G. et al. Essential oil of *Lippia alba* and its main constituent citral block the excitability of rat sciatic nerves. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 48, n. 8, p. 697-702, Aug. 2015 .

SOUSA, R. M. S.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012.

SOUZA, D.C.L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 17, n. 3, p. 495-503, Sept. 2015.

TAVARES, I. B.; MOMENTÉ, V. G.; DO NASCIMENTO, I. R. *Lippia alba*: estudos químicos, etnofarmacológicos e agronômicos. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava-PR, v.4, n.1, p.204–220, 2011.

TELES, S. et al. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia origanoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**. v.59, p.169–176, 2014.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 999-1010, June 2016.

TORRENEGRA-ALARCÓN, M. et al. The chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Minthostachys mollis*. **Orinoquia**, Meta, v. 20, n. 1, p. 69-74, 2016.

URIAS-ORONA, V. et al. Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. **Ecosistemas y recur. agropecuarios**, Villahermosa , v. 3, n. 7, p. 43-50, abr. 2016 .

ZARATE, N. A. H. et al. Produção agroeconômica de três variedades de alface: cultivo com e sem amontoa. **Rev. Ciênc. Agron.** Fortaleza, v. 41, n. 4, p.646-653, Dez. 2010.

ANEXOS



Figura 1 – Extração do óleo essencial de *Lippia alba*



Figura 2 – Multiplicação dos nematoides



Figura 3 – Identificação dos ovos e juvenis de *Meloidogyne javanica*.



Figura 4 - Inoculação



Figura 5 – Delineamento



Figura 6 – Aplicação dos tratamentos



Figura 7- A Retirada do experimento; **B** Identificação das galhas



Figura 8 – Coloração das raízes