



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

**JAMILE DE JESUS MOREIRA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia*  
*origanoides* KUNTH NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM  
PLANTAS DE ALFACE**

Cruz das Almas - BA

2017

**JAMILE DE JESUS MOREIRA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia  
origanoides* KUNTH NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM  
PLANTAS DE 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: Dr<sup>a</sup> Franceli da Silva

Co-orientador: Fábio de Jesus Nascimento

Cruz das Almas – BA

2017

**JAMILE DE JESUS MOREIRA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia  
origanoides* KUNTH NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM  
PLANTAS DE ALFACE**

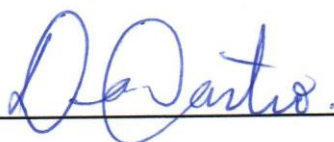
Monografia defendida e aprovada pela banca examinadora

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

A Deus pela onipresença durante toda escalada, iluminando meus passos, dando-me força e coragem para enfrentar as dificuldades, com a certeza de que tudo posso  
naquele que me fortalece.

A minha mãe, Maria de Jesus, pelo amor incondicional, pelo exemplo de conduta, pela dedicação, pelos conselhos dados e todo suporte para concretização desse  
sonho.

Ao meu avô e Prof. Raimundo Nonato (*in memoriam*), meu maior incentivador e defensor, apoiou-me até o último dia de vida, nessa caminhada, quanta saudade!

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela benção da vida, por permitir amadurecer com os obstáculos que nos move e nos tira da zona de conforto.

À minha família: minha mãe Maria, meu pai Jurandir, meus irmãos Péricles e Jean, testemunhas do quando esperei por esse momento, que confiaram e torceram por essa vitória.

Aos meus Tios Dinha e Antônio que sempre me apoiaram e trataram-me como uma filha, mostrando se disponíveis e carinhosos.

Aos meus Tios Juleca e Juvanildo, por terem sido peças chaves para minha mudança, acolhendo-me em seu lar, fazendo da minha adaptação a menos dolorosa possível.

A minha amiga de todas as horas Rosimar Neri e sua família, pelo acolhimento, pelas dificuldades, pelas perdas e ganhos, choros e risos que vivemos, levarei vocês para sempre em meu coração.

À Prof<sup>a</sup>. Franceli da Silva pela orientação, disponibilidade e principalmente por confiar e acreditar que seria possível concluir esse trabalho.

Ao Co-orientador, Fábio Jesus, por toda monitoria, pela paciência e disposição na condução do trabalho.

Á Prof<sup>a</sup>. Cintia Armond, pela disposição e paciência ao me auxiliar, pela contribuição significativa para minha formação.

As Prof<sup>as</sup>. Thaís Emanuelle e Nara Eloy, exemplos de ética e profissionalismo que com carisma e sensibilidade transmitiram verdade e segurança.

Ao Prof. Carlos Ramos, ao qual admiro pela bagagem de conhecimento que carrega e pelas informações que transmite, sinto me honrada em ter sido sua aluna.

Ao Grupo de Pesquisa em Plantas Aromáticas e Medicinais (GEPLAM), em especial a Daniele Vasconcelos e Sara Samanta, que sempre estiveram solícitas a

prestarem qualquer tipo de esclarecimentos, tirar dúvidas, são pessoas generosas que me enriqueceram, sem falar da alegria e descontração que possuem.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia, em especial a Josilda Damasceno e Maria Conceição pela concessão do laboratório, pelo suporte para realização do experimento, por cederem equipamentos, utensílios, em nome da Prof. Ana Firmino.

As Dr<sup>a</sup>. Simone Teles e Zuleide Carvalho, que honra trabalhar e aprender de forma leve e concisa, competentes em tudo que se propõem a fazer, exemplos de ser humano.

Aos funcionários da limpeza, cantina, xerox, segurança, carpintaria, oficina e técnicos, Adriana, Joicelene, Valdelice, Celina, Jair, Geovane, Hélio, Juliana, Ailton, Fernanda, Lene, Pedro, Raimundo, Fabricio, Valdir, Romulo, em fim, a todos que prestam serviços a essa instituição, dando todo suporte para o bom funcionamento das atividades.

Aos amigos que mesmo distante, torceram e amigos e colegas que fiz durante a graduação, obrigada pelos momentos de companheirismo e carinho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (IC).

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), por fomentar a pesquisa e a extensão, formando profissionais qualificados.

A todos o meu muito obrigada!

## RESUMO

Compostos bioativos presentes nos óleos essenciais (OE) de plantas medicinais, têm demonstrado propriedades que os tornam eficazes no controle de pragas e doenças. A *Lippia origanoides* Kunth, está entre as espécies com potencial antimicrobiano, portanto o objetivo no trabalho foi testar a ação do óleo essencial de *L. origanoides* sobre o *M. javanica*, que atualmente representa perdas significativas na agricultura mundial, acometendo as principais culturas de interesse econômico. O objetivo no estudo foi avaliar o efeito, *in vitro* e *in vivo* do O.E de *L. origanoides* sobre a mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. javanica*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado nas concentrações (4; 8; 16 e 32  $\mu\text{L}/\text{ml}$ ) mais o controle, com quatro repetições. Para verificar a atividade nematicida *in vitro* foram utilizados 1000  $\mu\text{L}$  de uma solução aquosa contendo, 10%(v/v) de Tween®20, utilizado para solubilização do óleo, 1000  $\mu\text{L}$  de J2 de *M. javanica*, contendo 50 indivíduos. Este material foi levado a BOD a 28°C, sendo a avaliação da nematostática e nematicida verificada após 24 e 48 horas, respectivamente. Para o teste *in vivo*, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado nas concentrações (4; 8; 16 e 32  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) mais o controle, com oito repetições, após 30 dias do transplantio das mudas, realizou se a inoculação, com 357 indivíduos (ovos/ juvenis J2) de *M. javanica* por planta, distribuídos em dois orifícios de dois centímetros de profundidade equidistantes ao redor da planta. Foram incorporados ao solo, 100 ml da solução contendo 10% (v/v) de tween®, 990 ml de água deionizada foram utilizadas as mesmas concentrações contendo oito repetições. Na segunda avaliação (48 horas) *in vitro* o O.E foi retirado da solução para confirmar a atividade nematicida. O OE de *L. origanoides* apresentou atividade nematostática e nematicida. 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, sendo a concentração de 32  $\mu\text{L L}^{-1}$  responsável por causar a imobilidade de 97% dos juvenis. O efeito nematicida foi comprovado, com a segunda avaliação (48 horas), que confirmou que os 84% dos nematoides imóveis após 24 horas estavam de fato mortos, já o número de galhas até a concentração 16  $\mu\text{L L}^{-1}$  propiciou uma redução de 44% e o número de galhas por gramas de raízes, apresentou o mesmo comportamento com redução de 60% no número de galhas, A concentração 16  $\mu\text{L L}^{-1}$  também foi a mais eficiente reduzindo 52 % o número de massas de ovos por planta e o número de massa de ovos por gramas de raízes proporcionou uma redução de 69%. O O.E de *L. origanoides* apresenta atividade nematicida sobre juvenis do segundo estágio de *M. javanica* *in vitro* e *in vivo*.

**Palavras chave:** Plantas medicinais, metabolismo secundário e nematoide.

## ABSTRACT

Bioactive compounds present in essential oils (OE) of medicinal plants, have demonstrated properties that make them effective in controlling pests and diseases. *Lippia origanoides* Kunth is among the species with antimicrobial potential, therefore the objective of this work was to test the action of *L. origanoides* essential oil on *M. javanica*, which currently represents significant losses in world agriculture, affecting the main crops of interest economic. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* effect of O.E from *L. origanoides* on juvenile mortality of the second stage of *M. javanica*. The experimental design was completely randomized at concentrations (4, 8, 16 and 32  $\mu\text{L}/\text{ml}$ ) plus the control, with four replications. To verify nematicidal activity *in vitro*, 1000  $\mu\text{L}$  of an aqueous solution containing 10% (v / v) Tween<sup>®</sup>20, used for oil solubilization, was used, 1000  $\mu\text{L}$  of *M. javanica* J2, containing 50 individuals. This material was taken to BOD at 28°C, and the nematode and nematicide evaluation was verified after 24 and 48 hours, respectively. For the *in vivo* test, the experimental design was completely randomized at concentrations (4, 8, 16 and 32  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) plus the control, with eight replicates, after 30 days of transplanting of the seedlings, if the inoculation was carried out with 357 Individuals (eggs / juveniles J2) of *M. javanica* per plant, distributed in two holes two centimeters deep equidistant around the plant. 100 ml of the solution containing 10% (v / v) tween<sup>®</sup>, 990 ml of deionized water were added to the soil, the same concentrations containing eight replicates were used. In the second evaluation (48 hours) *in vitro* the OE was withdrawn from the solution to confirm the nematicidal activity. O.E of *L. origanoides* presented nematode and nematicidal activity. It was observed that immobility and mortality of juveniles from the second stage of *M. javanica* increased with increasing concentrations of oil, with a concentration of 32  $\mu\text{L L}^{-1}$  responsible for causing immobility of 97% of juveniles. The nematicidal effect was confirmed by the second evaluation (48 hours), which confirmed that 84% of the nematodes immobile after 24 hours were actually dead, whereas the number of galls up to the 16  $\mu\text{L L}^{-1}$  concentration provided a reduction of 44 and the number of galls per grams of roots, showed the same behavior with a reduction of 60% in the number of galls. The concentration 16  $\mu\text{L L}^{-1}$  was also the most efficient reducing 52% the number of egg masses per plant and the number of galls per grams of roots. Number of egg mass per gram of roots provided a 69% reduction. The O.E. of *L. origanoides* shows nematicidal activity on juveniles of the second stage of *M. javanica* *in vitro* and *in vivo*.

**Keywords:** Medicinal plants, secondary metabolism and nematoid.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>Plantas medicinais na agricultura</b> .....	<b>4</b>
<b>3.2</b>	<b>Óleos essenciais</b> .....	<b>5</b>
<b>3.3</b>	<b><i>Lippia origanoides</i> Kunth.</b> .....	<b>7</b>
<b>3.4</b>	<b>Alface (<i>Lactuca sativa</i> L.)</b> .....	<b>10</b>
<b>3.5</b>	<b>Gênero <i>Meloidogyne</i> Goeldi, 1887</b> .....	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>19</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	
	<b>ANEXOS</b>	



# 1 INTRODUÇÃO

O Brasil dispõe de uma grande variedade de espécies vegetais com propriedades bioativas, assim torna-se cada vez mais necessário estudos nessa área. Dentre as espécies presentes na flora brasileira, a *Lippia origanoides* Kunth. pertencente a família *Verbenaceae* que é composta de 75 gêneros com cerca de 3000 espécies, sendo que o gênero *Lippia* tem cerca de 221 espécies espalhadas em países da Américas Central, na América do Sul e na África tropical (BARRETO et al. 2014; SOARES et al. 2017).

O Brasil e o México são países que possuem diversidade do gênero *Lippia*, no Brasil são encontrados nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás abrigam um maior número de espécies. Aproximadamente 120 espécies de *Lippia* encontram-se no Brasil, distribuídas no cerrado e caatinga, seu período de florescimento chama a atenção pelo aroma geralmente agradável que exala (GOMES et al. 2011).

Para SOARES e TAVARES-DIAS (2013), às espécies de *Lippia* vêm sendo empregadas há tempos por populações tradicionais pelas ações biológicas e terapêuticas observadas. Dessa forma várias espécies, do gênero *Lippia*, estão sendo estudadas, pelo potencial bioativo, que pode ser empregado no tratamento de distintas enfermidades do homem e animais. QUEIROZ et al. 2014 enfatizam que o óleo essencial extraído das folhas da *L. origanoides* é bastante estudado pelas propriedades antimicrobiana e antiparasitária. VICUNÃ et al. (2010) acrescenta que esses óleos essenciais geralmente obtidos das folhas, são estudados para conhecer a composição química.

Segundo PASCUAL et al. (2001) a cromatografia gasosa é o método utilizado para identificação dessa composição química das espécies de *Lippia*, principalmente os constituintes voláteis. Assim como, GOMES et al. (2011), comprovarão que na composição química da *L. origanoides*, estão os compostos majoritários, timol e carvacrol que possuem forte atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias. OOTANI et al. (2013), evidencia que os óleos essenciais e os extratos de plantas medicinais e plantas silvestre, tem demonstrado propriedades eficazes no controle de microrganismos patogênicos, o que tem despertado o interesse da indústria de defensivos agrícola, destacando se principalmente como promissora no controle de

patógenos de importância agrícola, como é o caso dos nematoides. De acordo com MONTEIRO et al. (2014) apontam que, os nematoides representam perdas significativas na agricultura mundial, acometendo as principais culturas de interesse econômico com a alface. Para HOLVOET et al. (2015) é uma hortaliça de estrutura suscetível a sobrevivência de microrganismos, o que a torna vetor de doenças associadas à contaminação alimentar.

Segundo GONÇALVES et al. (2016), explicam que o gênero *Meloidogyne*, causadora das galhas acarreta maiores prejuízos, pela vasta distribuição desses parasitas ser facilitada, devido à capacidade de adaptação sobre diversas condições, hospedeiros e a interação com outros organismos patogênicos. Para MARINO et al. (2012) a prática de manejo que faz uso de nematicidas acarreta elevado custo o produtor, riscos contra sua sanidade e danos ambientais, contaminação do solo e dos lençóis freáticos, propiciadas pelos resíduos.

Diante do exposto, surge à necessidade da adoção de novas práticas de manejo, que vise o controle desses fitonematoides, em razão disto, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth, sobre a mortalidade de juvenis de *Meloidogyne javanica*, bem como verificar a sua infectividade sobre a cultura da alface, do tipo babá de verão manteiga (*Lactuca sativa* L.).

# **1 OBJETIVOS**

## **1.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial nematicida *in vitro* e *in vivo* do óleo essencial de *L.origanoides* Kunth sobre juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne javanica*, na cultura da alface.

## **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar o efeito do óleo essencial sobre a mortalidade de juvenis de *Meloidogyne javanica*.

Verificar a supressão do número de galhas e massas de ovos nas raízes na cultura da alface.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Plantas medicinais na agricultura**

A utilização de plantas medicinais é bastante difundida popularmente, sendo uma das práticas mais antigas praticadas por diversas culturas, nos últimos anos vem ganhando destaque entre servidores de saúde, pesquisadores, entre outros SOUZA et al. (2013).

Os estudos sobre plantas medicinais, ao longo dos anos, vêm sendo realizados pelos etnobotânicos, tendo como base a valorização do conhecimento tradicional, passados de geração em geração, fundamentadas nas observações ambientais e experiências dos antepassados, um conhecimento empírico de potencial terapêutico, sem comprovação científica (GONÇALVES e PASA 2015).

Segundo FEIJO et al. (2012), plantas medicinais são vegetais que possuem propriedades bioativas, podendo ser utilizados para fins terapêuticos, sendo cultivadas ou não. MARQUES et al. (2010) dizem que o potencial terapêutico estão sendo estudados na tentativa de encontrar novas substâncias com propriedades medicinais, podendo estas estarem presentes em várias partes da planta, como caules, raízes, folhas, flores, frutos e sementes, produzidos pelo metabolismo secundário, responsável pela interação do vegetal no meio ambiente. SEYFRIED et al. (2016) sendo que esses metabólitos são representados por três grandes grupos que são os terpenos, compostos fenólicos e os alcalóides, que exibem estruturas complexas, baixa massa molecular e distintas atividades biológicas.

Dentre a classe dos terpenos, estão os monoterpenos, sesquiterpenos e os diterpenos que são minoritários, esses foram os principais constituintes dos óleos essenciais das plantas (CASTRO et al. 2004; MARCETIC et al. 2016). Para MARINO et al. (2012) e MOREIRA et al. (2015) os óleos essenciais apresentam princípios bioativos, algumas espécies de plantas têm sido relatadas como atividade nematicida, por possuírem compostos tóxicos, em que alguns constituintes apresentam ação contra determinados tipos de patógenos, surgindo assim um novo controle.

### 3.2 Óleos essenciais

Produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, os óleos essenciais, são misturas voláteis de constituintes complexos encontrados em uma variedade de espécies vegetais MONTEIRO et al. (2014). São resultantes da interação entre diferentes classes de compostos como, fenilpropanóides e terpenóides, ROSA et al. (2016); DIAS, C. N., e MORAES, D. F. C. (2014), entre os terpenóides, destacam principalmente os monoterpenos, que, promove a interação entre os vegetais e o meio ambiente, exercendo funções de atração e proteção dentre outras MIRANDA et al. (2015).

Quanto a sua localização, os óleos podem estar presentes em caules, folhas, flores, frutos e raízes de diversas espécies de vegetais aromáticos, com distintas aplicações, sendo mais ricas em óleos essenciais quando o clima é quente, ensolarado oferecendo as melhores condições para colheita (SILVA et al. 2013)

ANDRADE et al. (2014), descrevem que alguns aspectos influenciam a produção e a constituição dos óleo, estando relacionados a diversos fatores ambientais, o método e o tempo de extração (OLIVEIRA et al. 2012). Outro fator preponderante diz respeito as condições ambientais como o clima, estresse hídrico, luminosidade e etc, que acarretam mudanças morfológicas, caracterizando a interação, deste modo, o entendimento da relação entre a produção e a constituição química dos óleos essenciais de plantas medicinais, condimentares e aromáticas, envolve diversos aspectos que devem ser levados em conta, uma vez que seu potencial ativo encontra se susceptível a alterações da constituição química, (VEGA-VELA et al. 2013).

O Brasil vem se destacando na produção de óleos essenciais e juntamente com a Índia, a China e a Indonésia, está entre os quatro maiores produtores do mundo. A importância da pesquisa com óleos essenciais resulta do fato de apresentarem diversas atividades biológicas relatadas na literatura, usadas, por exemplo, no controle de fitopatógenos responsáveis por doenças de plantas que levam a perdas de produção significativas (OLIVEIRA et al. 2017).

Os óleos essenciais são vistos como uma excelente forma de substituição aos produtos sintéticos (agrotóxicos), que durante anos vem sendo utilizados pela agricultura de forma indiscriminada no controle de pragas e doenças, ocasionando impactos negativos ao meio ambiente e a saúde humana (OOTANI et al. 2013). Dessa

forma MOREIRA et al. (2015) apontam que o potencial dos óleos essenciais no controle de fitopatógenos, visa garantir a segurança alimentar e a proteção das lavouras. Várias pesquisas estão sendo realizadas a fim de aproveitar o potencial desses óleos essenciais nas ações que exercem sobre as atividades biológicas, seja, antifúngica, antibacteriana, larvicida, ovicida, inseticida, antioxidante e etc (GUIMARÃES et al. 2011; ROSA et al. 2016).

BLANK et al. (2005) destacam a importância de se fazer a análise química dos óleos essenciais, com o objetivo de verificar a caracterização fitoquímica, desta forma pode-se conhecer qual o composto majoritário e a composição como um todo, que promove ação ativa do óleo essencial sobre o patógeno, o que torna os resultados de atividades biológicas mais confiáveis.



### 3.3 *Lippia origanoides* Kunth.

A *Lippia origanoides* Kunth é uma planta nativa da América do Norte, Central e América do Sul, presente também nas regiões tropicais da África, o gênero *Lippia* (família Verbenaceae) inclui 221 espécies DELGADO et al. (2015). São utilizadas comumente no combate a doenças de natureza respiratórias e gastrointestinais, na culinária é utilizada como tempero em consequência da similaridade do aroma com o orégano LORENZI e MATOS, (2008). Acredita-se que este fato inspirou os botânicos, Humboldt, Bonpland e Kunth na escolha do nome *origanoides* (MORAIS et al. 1972).

No entanto, de acordo OLIVEIRA et al. (2004) a *Lippia origanoides* Kunth, popularmente recebe outras denominações como alecrim do campo, Salva de Marajó, alecrim d'Angola e alecrim-pimenta. A *Lippia origanoides* cresce até 3m de altura, sendo um arbusto aromático de folhas simples e opostas, de tamanhos variados, ereto e ramificado, apresentando inflorescências de flores brancas pequenas e pediceladas de até 4 mm (PARRA; RODRIGUEZ, 2007; DE CAMPOS et al. 2011)



Fonte: Teles, 2014.

ANDRADE et al. 2014, entre as espécies vegetais produtoras de óleo essencial com potencial antimicrobiano e antisséptico esta *L. origanoides*. Destaca, STASHENKO et al. (2008) que a *L. origanoides* registrada na Amazônia brasileira e colombiana, apresentou como constituintes majoritários do óleo essencial, o p-cimeno,  $\alpha$ -pineno,  $\gamma$ -terpineno, timol, carvacrol,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -felandreno e  $\delta$ -careno As

diferentes espécies de *Lippia*, apresentam como principais constituintes voláteis encontrados nos óleos essenciais, o timol, carvacrol, 1,8-cineol, limoneno, p-cimeno, linalol,  $\alpha$ -pineno, e  $\beta$ -cariofileno.

Sendo que muitas das espécies de *Lippia* apresentam variações fitoquímicas levando a classificação em quimiotipos, os compostos majoritários que demonstram ações antimicrobianas, monoterpenos oxigenados são, o timol e o carvacrol, OLIVEIRA et al. (2014); ALMEIDA et al (2016).

MORÃO, et al. 2016 a *L. origanoides* apresenta na sua constituição atividade antimicrobiana no controle de vários patógenos, incluindo bactérias, fungos, vírus e formas evolutivas de protozoários.

Segundo MORAIS et al. (1972), é a espécie brasileira onde foi identificado o primeiro quimiotipo, timol, nos óleos essenciais. O mesmo apresenta propriedades bactericidas, utilizadas na concepção de creme dental ou colutórios, que controla o alastramento do biofilme dentário em humanos (MORÃO, et al. 2016).

Outros trabalhos com a *L. origanoides* apresentaram perfis químicos amplamente divergentes. O timol, o carvacrol e o p-cimeno foram relatados como compostos majoritários (CAVALCANTI et al. 2010; OLIVEIRA et al. 2007; STASHENKO et al. 2010, 2013). No entanto TOZIN et al. (2015), encontrou o timol e carvacrol e o p-cimeno foi detectado em pequenas quantidades. As variações que afetam a qualidade, quantidade e composição de óleos essenciais, podem se dá em função de fatores externos, como: temperatura, irrigação, incidência solar, nutrientes do solo, horário de coleta, idade da planta, entre outros. Desta forma, é preciso um estudo aprofundado destas características com objetivo de se obter a qualidade da matéria-prima vegetal, de forma a garantir a qualidade do produto final (STASCHENKO et al. 2004; ANGIONI et al. 2006; OSPINA et al. 2016)

O potencial do óleo essencial e de extratos de *Lippia origanoides*, na atividade antimicrobiana, contra fungos, bactérias e outros microrganismos, tem sua comprovação em diversos autores VEGA-VELA et al. (2013); QUEIROZ et al. (2014), inúmeros trabalhos constataram a ação dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas. SANTOS et al. (2013) observaram que os óleos essenciais de citronela, bálsamo de limão, hortelã-pimenta e nim podem ser uma alternativa aos fungicidas sintéticos e uma ferramenta proeminente para a gestão integrada da doença, uma vez que reduziram

significativamente a mancha foliar na grama da Tanzânia. LORENZETT et al. (2011) os óleos ricos em eugenol, como é o caso do óleo de cravo, mostraram-se eficientes no controle de diversos patógenos pós-colheita de frutas, dentre eles *Botrytis cinerea*, isolado de uva.

### **3.4 Alface (*Lactuca sativa* L.)**

A espécie *Lactuca sativa* L. conhecida como alface é uma hortaliça pertencente à família Asteraceae, tem grande aceitação de mercado sendo bastante consumida *in natura* na forma de salada, o que a torna uma fonte saudável, rica em vitaminas (A e C) e minerais (FERREIRA et al. 2011; FONSECA et al. 2016). Suas folhas do tipo crespas apresentam um crescimento relevante, isso demonstra a importância desse tipo de alface em relação a alface lisa (SILVA et al. 2008). É a hortaliça folhosa mais cultivada em praticamente todas as regiões do Brasil.

Os danos acometidos pelos fitonematóides na cultura da alface, torna a planta sem vigor, uma vez que o sistema radicular é afetado pela formação de densas galhas, estas impedem a passagem de água e nutrientes do solo, como consequência a planta torna se amarelada, com tamanho reduzido, pequeno volume foliar e sem valor comercial (MACHADO et al. 2010).

Segundo, LÉDO et al. (2000); SANTI et al. (2010) as condições ambientais exercem grande influência no desenvolvimento desta cultura, principalmente a temperatura. SILVA et al. (2008) acrescenta que altas temperaturas associada a dias longos, antecipa a fase de florescimento precoce dependendo da espécie cultivada. Já MEDEIROS et al. (2008) relata que essa folhosa apresenta fácil adaptação às variações climáticas e a facilidade de manejo a torna favorita dos pequenos produtores, por apresentar uma produção economicamente viável, pouco susceptível ao ataque de pragas e doenças, sendo assim, uma hortaliça importante tanto do ponto de vista econômico como social. Contudo FERREIRA et al. (2011) relatam que o cultivo da alface vem sendo acometida por nematóides do gênero *Meloidogyne*, conhecida como nematoide-das-galhas, os mais injuriosos são as espécies *M. incognita* e *M. javanica*. Esses fitonematoides tem seu controle dificultado pela elevada reprodução e deposição

de ovos no solo.

### 3.5 Gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887.

Os nematoides das galhas, como são conhecidos o gênero (*Meloidogyne* spp.), são responsáveis pelos principais danos causados à produção de olerícolas, isso se deve a capacidade de adaptação a diversos ambientes, alta capacidade reprodutiva e ampla

gama de hospedeiros. GONÇALVES et al. (2016) as perdas causadas às culturas de interesse econômico podem chegar a bilhões de euros anualmente.

São conhecidas mais de 90 espécies do gênero *Meloidogyne*, um dos maiores grupos de fitonematoides que acomete diversas culturas em todo mundo, dentre as mais expressivas, estão *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, que possuem vasta distribuição, uma gama de hospedeiros ocasionando grandes prejuízos para o agronegócio mundial JESUS et al. (2010); SILVA et al. (2016). A espécie *M. javanica*, é a que acomete uma grande diversidade de hospedeiros levando a danos severos, ficando atrás apenas do *M. incognita* (SHOLEVARFARD et al. 2015; BRIDA et al. 2016).

A espécie *M. javanica*, são endoparasitas obrigatório, seu ciclo de vida compreende os ovos, estágio J1, que são depositados em massas na superfície das raízes por fêmeas adultas, seu ciclo de vida compreende quatro estágios juvenis, J1, J2, J3 e J4 e finalmente adulto (RITZINGER et al. 2010). O processo infeccioso se dá quando o juvenil de segundo estágio (J2), penetra o sistema radicular, atraído pelos exsudados liberados pela planta hospedeira (JESUS et al. 2010).

Segundo SANTOS et al. (2011) os sintomas apresentados pelas culturas acometidas por esses patógenos, apresentam redução da parte aérea, causada pela diminuição do sistema radicular, o que promove a desorganização do sistema vascular, mediante a formação de galhas, danificando o sistema de condução e sucção de água e nutrientes pelo vegetal hospedeiro. JESUS et al. (2010) ainda relatam que, além de afetar o desenvolvimento do vegetal e acarretar o murchamento, torna a planta vulnerável a outros patógenos. BRIDA et al. 2016 as causas desses sintomas estão relacionadas a alguns fatores, como: a densidade populacional do nematoide, a idade da

planta, a textura e o tipo de solo, além do pH e das características genéticas da cultivar.

SEIXAS et al. (2011) o uso indiscriminado de agroquímicos no controle de fitopatógenos de forma intensiva, ao longo do tempo, vem gerando uma série de problemas, desde o elevado custo de produção aos danos ambientais (água, solo, produtor e consumidor). Assim, MARTINS et al. (2016) cita que o interesse por pesquisas voltadas para utilização de princípios ativos presentes, seja, nos extratos vegetais ou nos óleos essenciais, está relacionada a presença de resíduos tóxico que as práticas tradicionais promovem ao meio ambiente.

Segundo ANDRÉS et al. (2013); MOREIRA et al. (2015) testes feitos com os óleos essenciais na eclosão e desenvolvimento de fitonematoides tem sido constatado, assim, estudos para descoberta de novas substâncias, no controle efetivo de nematoides são precisos.

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação nos laboratórios de Microbiologia e Fitoquímica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no Município de Cruz das Almas, BA.

#### **4.1 Obtenção dos ovos e juvenis**

Para a realização do estudo mudas de tomateiro cv. ‘Santa Cruz Kada’ cultivadas em bandejas, foram transplantadas para vasos contendo 2 kg de solo e areia, na proporção 1:1, sendo o solo previamente esterilizado. Foram inoculados 1000 ovos e/ou juvenis de *M. javanica* em cada vaso contendo uma planta de tomateiro. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 50 dias para a multiplicação do nematoide. Após esse período, os ovos e/ou juvenis de *M. javanica* foram extraídos das raízes, lavadas com água potável e trituradas em liquidificador (Figura.1 Anexo), por 20 segundos com uma solução de Hipoclorito de sódio a 0,5%, conforme proposto pela 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, com auxílio de jatos de água e de uma piceta, recolheu-se o líquido da peneira de 500 mesh em um becker, coberto com papel toalha, para serem utilizados nos testes após quatro dias (CHEN e DICKSON 2000).

#### **4.2 Avaliação *in vitro* do efeito do óleo essencial de *Lippia origanoides*, sobre juvenis (J2) de *Meloidogyne javanica*.**

O teste *in vitro* realizado no Laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas-Ba, o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. O óleo essencial foi adquirido do Laboratório de Fitoquímica da referida instituição, sobre o método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, onde foi realizada a análise cromatográfica e seus resultados estão apresentados e a metodologia adaptada do trabalho de TELES et al. (2014).

O bioensaio foi instalado utilizando 1000  $\mu\text{L}$  de uma solução aquosa contendo, 10%(v/v) de Tween<sup>®</sup>20, utilizado para solubilização do óleo, 1000  $\mu\text{L}$  de J2 de *M. javanica*, contendo 50 indivíduos. (Metodologia adaptada de BORGES et al. 2013).

As concentrações utilizadas foram de 4, 8, 16 e 32  $\mu\text{L}/\text{ml}$  do óleo essencial de *Lippia origanoides*, mais o controle contendo óleo e Tween<sup>®</sup>20. Os tubos de eppendorf foram mantidos a 28°C em câmara de crescimento e, após 24 horas, os nematoides foram retirados dessa suspensão, lavados com água potável, 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, sendo em seguida contados. Os nematoides que permaneceram imóveis após este período foram classificados como mortos.

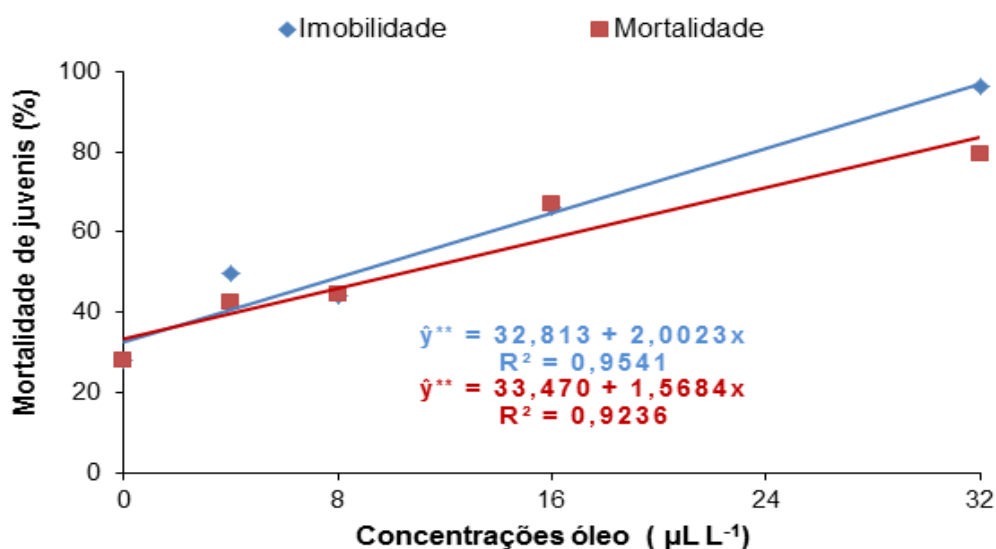
#### **4.3 Avaliação dos juvenis de (J2) de *Meloidogyne javanica* em mudas de alface (*Lactuca sativa* L.)**

As plantas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizados, com cinco concentrações e oito repetições, 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 transplantio das mudas, realizou-se a inoculação, com 357 indivíduos (ovos/ juvenis J2) de *M. javanica* por planta, distribuídos em dois orifícios de 2 cm de profundidade equidistantes ao redor da planta. Foram incorporados ao solo, 100 ml da solução contendo as concentrações (4, 8, 16 e 32  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) mais o controle do óleo de *Lippia origanoides* diluídas em água deionizada e 10% (v/v) de Tween<sup>®</sup>20, por planta metodologia adaptada de (BORGES et al. 2013). A irrigação era realizada diariamente mantendo o solo constantemente úmido, após 45 dias da inoculação as plantas foram coletadas, realizada a contagem do número de galhas e massa de ovos por planta e por gramas de raízes. . Para avaliação das raízes, procedeu-se a lavagem e imersão das mesmas em corante alimentício a base de ponceau a 1%, (1 mL para 1L água) por 15-20 minutos (Figura. 5 Anexo). 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 (metodologia adaptada de DAMASCENO et al. 2016). 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.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *L. origanoides* apresentou atividade nematostática e nematicida. 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, sendo a concentração de 32  $\mu\text{L L}^{-1}$  responsável por causar a imobilidade de 97% dos juvenis. O efeito nematicida foi confirmado, após (48 horas), que confirmou que os 84% dos nematoides estavam de fato mortos (Figura 1).

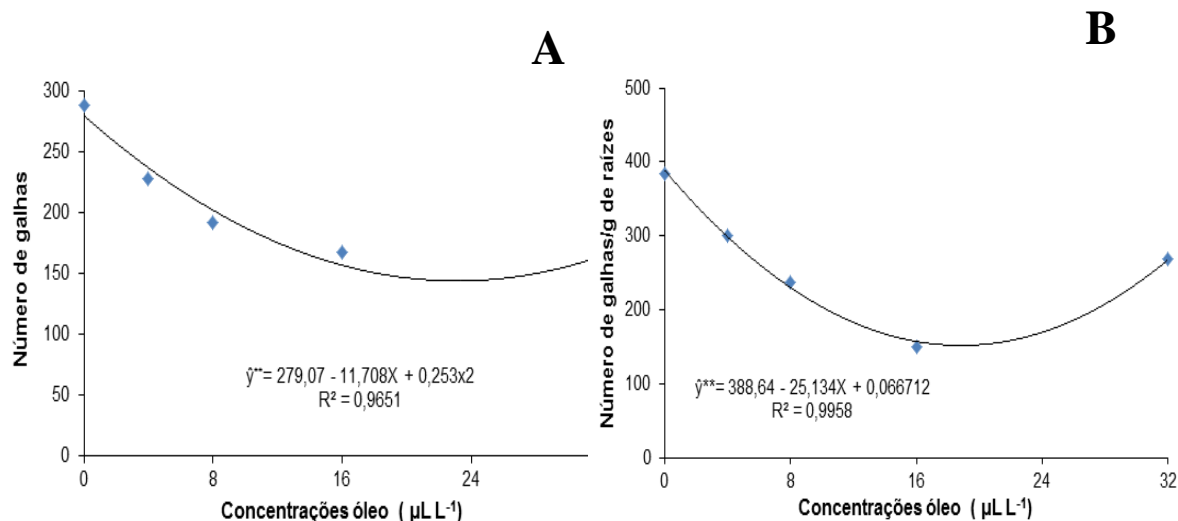


**Figura 1.** Mortalidade de juvenis de *M. javanica* submetidos ao óleo essencial de *Lippia origanoides* *in vitro*.

O óleo essencial de *L. origanoides* aplicado na cultura da alface reduziu de forma significativa os danos nas raízes das plantas. O número de galhas por plantas apresentou um comportamento quadrático com a elevação das concentrações do óleo essencial observando-se que houve uma redução neste parâmetro até a concentração de 16  $\mu\text{L L}^{-1}$  propiciando uma redução de 44% no número de galhas (157 galhas) quando

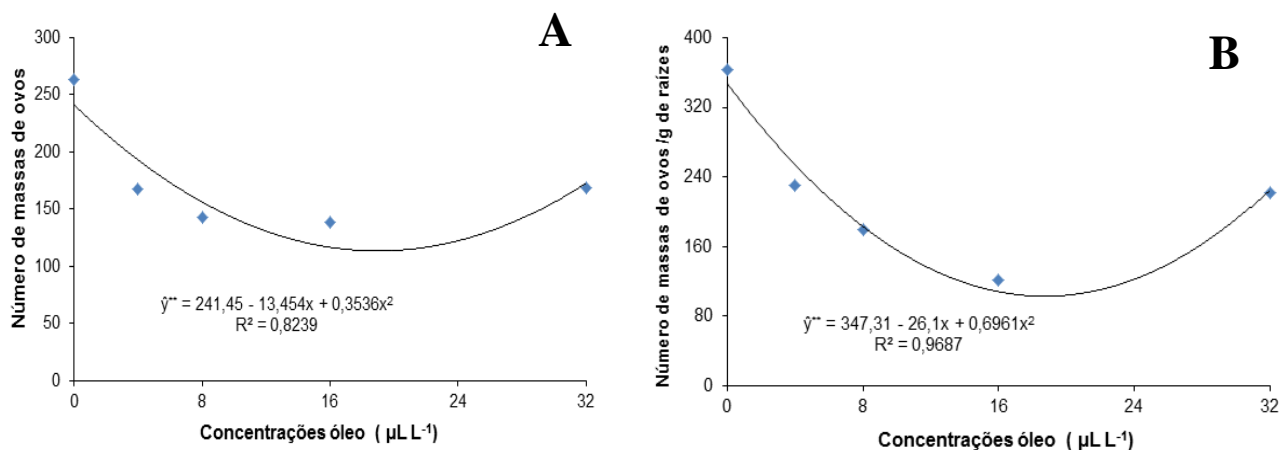


comparado ao controle, evidenciando o potencial para o controle *M. javanica* (Figura 2A). O número de galhas por gramas de raízes apresentou o mesmo comportamento na mesma concentração de (157 galhas/g de raízes) proporcionando uma redução de 60% no número de galhas quando comparado ao controle (347 galhas/g de raízes) (Figura 2B).



**Figura 2.** Número de galhas por planta (A) e por gramas de raízes (B) de alface submetidos ao óleo essencial de *L. origanoides*.

Ao avaliar o número de massas de ovos por plantas observou-se, que houve redução neste parâmetro até a concentração de 16 µL L<sup>-1</sup> que foi a mais eficiente e proporcionou uma redução de 52 % no número de massas de ovos por planta quando comparado ao tratamento controle (Figura 3A). Houve redução no número de massas de ovos de (117 massas de ovos), o número de massa de ovos por gramas de raízes proporcionou uma redução de 69% em relação ao controle (108 massas/g de raízes) (Figura 3B). Em relação a concentração 16 µL L<sup>-1</sup>, quando comparado a concentração 32 µL L<sup>-1</sup>, não apresentou redução, o número de massas de ovos (173 massas de ovos) que foi de 28% e o número de massa de ovos por gramas de raízes foi de 35% (225 massas/g de raízes).



**Figura 3.** Número de massas de ovos por planta (A) e por gramas de raízes (B) de *M. javanica* em raízes de alface submetidos ao óleo essencial de *L. origanoides*.

Foi realizada a análise cromatográfica do óleo essencial utilizado neste trabalho, onde seus resultados estão apresentados no trabalho de TELES et al. (2014). A *L. origanoides* apresentou como compostos químicos o carvacrol (56,53%), p-cimeno (5,92%)  $\alpha$ -terpineno (4,47%), e-Cariofileno (4,73) e timol (4,03%). Teixeira et al. (2014) encontrou resultados semelhantes na identificação dos componentes: carvacrol (41,51%), p-cimeno (18,36%),  $\gamma$ -terpineno (17,03%) e timol (4,86%).

Diversos autores encontraram resultados semelhantes, STASHENKO et al. (2010) analisaram as quantidades relativas dos principais componentes dos óleos de folhas obtidos de plantas de *L. origanoides* de três origens diferentes no Brasil e ressaltaram que o carvacrol foi o principal constituinte de seus óleos essenciais (cerca de 40%), p-cimeno (cerca de 15%), o mesmo pode ser observado por CAVALCANTI et al. (2010) ao quantificar a abundância relativa, onde o carvacrol foi o principal composto encontrado na espécie. Seguido de p-cimeno,  $\alpha$ -terpineno, e-cariofileno e timol. Segundo VICUNÃ et al. (2010); OLIVEIRA et al. (2014) expõem que a *L. origanoides* apresenta alto teor de monoterpênicos oxigenados, sendo os compostos majoritários o timol e o carvacrol, responsáveis pela ação antimicrobiana. Resultado que pode ser comprovado no presente estudo com a ação nematostática e nematicida do óleo essencial da referida cultura, sobre o *Meloidogyne javanica*.

ANDRADE et al. (2014) relatam em seus estudos que o p-cimeno, um isômero de o-cimeno, embora não seja eficazmente bactericida quando usado sozinho, mas quando combinado com carvacrol é eficaz contra *Bacillus cereus in vitro*. Este efeito pode ser devido ao facto de o p-cimeno ser incorporado na bicamada lipídica de

*B. cereus*, facilitando o transporte de carvacrol através da membrana plasmática.

Sendo assim, provavelmente o carvacrol deva ser responsável pela imobilidade e mortalidade do segundo estágio de *M. javanica*, quando associado a outros elementos traços. VEGA-VELA et al. 2013, acreditam que estas substâncias apresentam na sua constituição, compostos que possuem efeitos bactericida, inseticida, anti-sépticos e em outros microrganismos. Acredita-se que essa ação pode ser potencializada pelos vários alvos do óleo essencial na célula (ALMEIDA et al. 2016). Essa ação no nematoide deve ocorrer quando a cutícula ao entra em contato com os compostos químicos do óleo essencial promovam a ruptura da epiderme e do pseudoceloma, ou provoquem uma disfunção no sistema nervo central.

Em estudos *in vitro* sobre a atividade nematicida do óleo essencial de alecrim em uma população *Meloidogyne graminicola* mostrou potencial de controle 78,33% de juvenis J2 após exposição por 48 horas (STEFFEN et al. 2008).

Segundo Moreira et al (2009), com relação à mortalidade dos juvenis, observa que os óleos essenciais testados foram eficientes, acarretando mortalidade variando de 41% (óleo de eucalipto a 0,625 ml L<sup>-1</sup>, óleo de eucalipto, a total mortalidade ocorreu em 2,5 ml L<sup>-1</sup>) a 100% (óleo de alecrim pimenta a 0,325 ml L<sup>-1</sup>, óleo de alfavaca em 0,625 ml L<sup>-1</sup> e óleos de capim santo e cidreira na concentração mínima de 1,25 ml L<sup>-1</sup>). Em estudo semelhante MOREIRA et al. (2015) ao avaliar a mesma espécie de *M. incógnita* obtiveram efeito significativo nos tratamentos com os óleos diluídos na variável número de galhas, em relação à testemunha, constatando-se uma diminuição deste número na ordem de 83% para o tomateiro, as raízes de tomate tratadas com água apresentaram em média 257 galhas, enquanto que tomateiros tratados com óleos de alecrim pimenta, o número de galhas variou de 36 a 59, e com o capim citronela o número de galhas variou de 32 a 46 galhas.

## CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Lippia organoides* possui ação nematostática e nematicida *in vitro*, na concentração  $32 \mu\text{L L}^{-1}$  e *in vivo* na concentração  $16 \mu\text{L L}^{-1}$ , sobre juvenis do segundo estágio de *M. javanica* em plantas de alface.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.C, et al. Atividade antisséptica do óleo essencial de *Lippia origanoides* Cham. (Alecrim-pimenta) na presença de leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2016.

ANDRADE, V. A. et al. Antimicrobial activity and acute and chronic toxicity of the essential oil of *Lippia origanoides*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.34, n.12, p.1153-1161, 2014.

ANDRÉS, M.F et al. Nematicidal activity of essential oils: a review. **Phytochem. Rev.** v.11, p. 371-390, 2013.

BLANK, A.F. et al. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira** n. 3, p.780-784, 2005.

BARRETO, M. H et al. Phytochemical Prospection and Modulation of Antibiotic Activity In Vitro by *Lippia origanoides* H.B.K. in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. **BioMed Research International**. v. 2014, p.7, 2014.

BRIDA, A.L. et al. Variabilidade espacial de *Meloidogyne javanica* em soja. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.2, p.175-179, 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 .

CASTRO, H.G. et al. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de

mentrasto. **Química Nova**. v.27, n.1, p. 55-57, 2004.

CAVALCANTI, S.C.H. et al. Compositions and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresour Technol**. v.101, p. 829-832, 2010.

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.

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.

DELGADO O.J. et al. Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia origanoides* Kunth. **Acta Agron**. v.65, n.2, p.170-175, 2015.

DIAS, C. N. & MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides: review. **Parasitology research**, v.113, n.2, p. 565-592, 2014.

FEIJO, A.M. et al. Medicinal plants used by elderly people with Diabetes mellitus in the treatment of the disease symptoms. **Revista brasileira de plantas medicinais**. v.14, n.1, p.50-56, 2012.

FONSECA, M. C. M. et al. Lettuce and marigold intercropping: crops productivity and marigold's flavonoid content. **Ciencia Rural**. v.46, n.9, p.1553-1558, 2016.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L. and MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclet. Quím**. v.36, n.1, p.64-77, 2011.

GONÇALVES, 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 Planta Medicinai**s. Campinas, v.18, n.1, p.149-156, 2016.

GONCALVES, K. G. & PASA, M. C. A etnobotânica e as plantas medicinais na Comunidade Sucuri, Cuiabá, MT, Brasil. **Interações (Campo Grande)**. v.16, n.2, p.245-256, 2015.

GUIMARÃES, L.G.L, et al. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr-jun, 2011.

HOLVOET, K. et al. Agricultural and Management Practices and Bacterial Contamination in Greenhouse *versus* Open Field Lettuce Production. **Int. J. Environ. Res.** v.12, p.32-63, 2015.

JESUS, A.M. & WILCKEN, S.R.S. Reprodução de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus coffeae* em diferentes cultivares de bananeira. **Nematologia Brasileira Piracicaba** (SP) 2010.

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 2000.

LORENZETTI, E.R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira Plantas Medicinal**. Botucatu, v.13, especial, p.619-627, 2011.

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

MACHADO, J.C., B.S. VIEIRA, E.A. LOPES & E.J. CANEDO. *Paecilomyces lilacinus* e esterco bovino para o controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro e

alface. **Nematologia Brasileira Piracicaba** (SP) Brasil, 2010.

MARCETIC, M. et al. Habitat-related variation in composition of the essential oil of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae). **Phytochemistry**. 2016.

MARINO, et al. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 com óleo essencial de *Lippia alba*. **Scientia Plena**. v.8, 2012.

MARTINS, M. C. B. & SANTOS, C. D. G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v. 47, n. 1, p. 135-142, 2016.

MARQUES, L. M. M., MEDEIROS, M. G. F., CITO, A. M. G. L., LOPES, J. A. D. Avaliação da citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia organoides* para tratamento da leishmaniose. **62ª Reunião Anual da SBPC**. 2010.

MEDEIROS, D. C. et al. Qualidade de mudas de alface em função de substratos com e sem biofertilizante. **Horticultura Brasileira**. v.26, n.2, p.186-189, 2008.

MONTEIRO, T. S. A. et al. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. v.44, n.7, p.1149-115, 2014.

MORAIS, et al. Óleos essenciais da Amazônia contendo Timol. In: Simposio Internacional Sobre Plantas De Interes Economico de La Flora Amazonica, Belém . p.145-146, 1972.

MORÃO, R. P, et al. Constituintes químicos e princípios farmacológicos do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia organoides*). **Montes Claros**, v. 18, n.1, 2016.



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

MOREIRA, F.J.C., SANTOS, C.D.G., INNECCO, R., SILVA, G.S. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.3, p.207-213, 2015.

OLIVEIRA, D.R. Levantamento Etnobotânico das Plantas Medicinais Utilizadas pela Comunidade de Oriximina´ (Pará) com enfoque etnofarmacológico para o Gênero *Lippia*. **Master Thesis**. Rio de Janeiro: UFRJ/NPPN, p. 111. 2004.

OLIVEIRA, D.R et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chem.** v.101, p. 236-240. 2007.

OLIVEIRA M.L.M., BEZERRA B.M.O., LEITE L.O., GIRÃO V.C.C. & NUNES-PINHEIRO D.C.S. Topical continuous use of *Lippia sidoides* Cham. essential oil induces cutaneous inflammatory response, but does not delay wound healing process. **J. Ethn.** p.153, 2014.

OLIVEIRA, A.R.M.F. et al. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n.1, p.155-159, 2012.

OLIVEIRA, J. D. , et al. Chemical composition of essential oil extracted from leaves of *Campomanesia adamantium* subjected to different hydrodistillation times. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.47. 2017.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **J. Biotec. Biodivers.** v. 4, n.2, p. 162-175, 2013.

OSPINA, D. J. et al. Relationship between refractive index and thymol concentration in essential oils of *Lippia organoides* Kunth. **Chil. j. agricultura anim. sci.** v.32, n.2,

pp.127-133, 2016.

PASCUAL, M. E. Slowing, K, Carretero, E. Sánchez Mata, D.Villar, J. A. **Ethnopharmacol.** v.76, p. 201, 2001.

PARRA, E.T., RODRIGUEZ, N.L. Plasticidad fenotípica de *Lippia alba* y *Lippia origanoides* (Verbenaceae) em respuesta a la disponibilidad de luz. **Acta Biologica Colombiana.** v.12, p.91–102. 2007.

QUEIROZ, M.R.A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Revista brasileira plantas medicinais.** v.16, n.3, p.737-743, 2014.

RITZINGER, C. H. S. P. FANCELLI, M. RITZINGER, R. Nematoides: Bioindicadores de sustentabilidade e mudanças edafoclimáticas. **Revista Brasileira Frutic.** Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1289-1296, 2010.

ROSA, C.S.et al. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.19-26, 2016.

SANTI, A. et al. Ação de material orgânico sobre a produção e características comerciais de cultivares de alface. **Horticultura Brasileira.** v.28, n.1, pp.87-90, 2010.

SANTOS, A.V. & C.B. GOMES. Reação de cultivares da mamona a *Meloidogyne* spp. e efeito dos exsudatos radiculares sobre *Meloidogyne enterolobii* e *M. graminicola*. **Nematologia Brasileira Piracicaba**, 2011.

SANTOS G. R; BRUM, R.B.C.S; CASTRO H.G; GONÇALVES, G E FIDELIS, R. R; Effect of essential oils of medicinal plants on leaf blotch in Tanzania grass. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 587-593, jul-set, 2013.

SEIXAS, P.T.L. et al. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo

essencial do capimcitroneira (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.13, p.523-526, 2011.

SILVA, F et al. Avaliação do teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em diferentes embalagens durante o armazenamento. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. vol.15, n.1, p.54-58, 2013.

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

SOARES, B. V et al. Antiparasitic, physiological and histological effects of the essential oil of *Lippia organoides* (Verbenaceae) in native freshwater fish *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, v. 469, p. 72-78, 2017.

SOUZA, C.M.P et al. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. . **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v.15, n.2, p.188-193, 2013.

STASHENKO E.E, et al. Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia organoides* H. B. K. grown in Colombia. **Natural Product Communications**, Westerville, v.3, p. 563-566, 2008.

STASHENKO, E.E et al. *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **J Sep Sci** 33: 93-103, 2010.

SEYFRIED, M. et al. Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v.18, n.1, p.201-21, 2016.

STEFFEN, R. B. et al. Avaliação de óleos essenciais de plantas medicinais no controle

de Meloidogyne graminicola em arroz irrigado. **Nematologia Brasileira, Piracicaba**, v. 32, n. 2, p. 126-134, 2008.

TEIXEIRA, M.L., et al. Essential Oils from *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. **American Journal of Plant Sciences**, v.5, p.1181-1190, 2014.

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.

TOZIN, L. R.S, MARQUES, M. O.M. AND RODRIGUES, M. T. Glandular trichome density and essential oil composition in leaves and inflorescences of *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in the Brazilian Cerrado. **An Academia Brasileira Ciencia**, 2015.

VEGA-VELA, N.E., DELGADO, A., WILMAN, A., CHACON SANCHEZ, M. I. Genetic structure and essential oil diversity of the aromatic shrub *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in two populations from northern Colombia. **Agron. Colomb**, v.31, n.1, p. 517, 2013.

VICUÑA G.C. et al. Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. **Fitoterapia** v.81, p.343–349, 2010.

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.

QUEIROZ, M.R.A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s. v.16, n.3, p.737-743, 2014.

## ANEXOS



**Figura 1:** Extração das raízes de



**Figura 3:** Óleo essencial de *Lippia origanoides*.



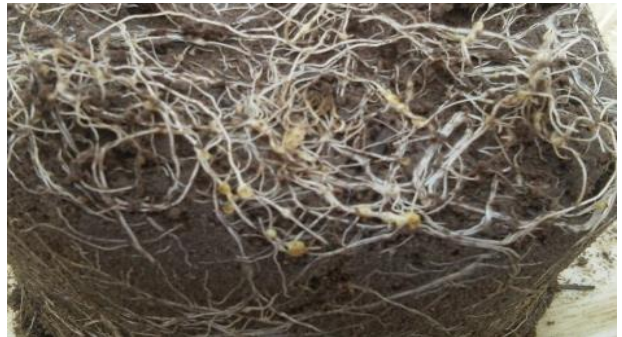
**Figura 5:** Coloração das raízes.



**Figura 2:** Sementeira de alface.



**Figura 4:** Plantas de alface do tipo babá de verão.



**Figura 6:** Sistema radicular com galhas.