

ERIKA LOIOLA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Tetradenia riparia* CONTRA *Meloidogyne javanica***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Eduardo Vinícius Vieira Varejão

Coorientadora: Jodieh Oliveira Santana Varejão

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586c
2023
Silva, Erika Loiola, 1997-
Caracterização química e avaliação da atividade do óleo
essencial de *Tetradenia riparia* contra *Meloidogyne javanica*. /
Erika Loiola Silva. – Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (59 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Eduardo Vinícius Vieira Varejão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2023.

Referências bibliográficas: f. 41-52.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.431>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Nematoda. 3. Plantas -
Doenças e pragas. I. Varejão, Eduardo Vinícius Vieira, 1976-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de
Minas Gerais. III. Título.

CDD 22. ed. 547.71

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz Pinto CRB-6/3317


ERIKA LOIOLA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Tetradenia riparia* CONTRA *Meloidogyne javanica***


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de maio de 2023

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 ERIKA LOIOLA SILVA
Data: 25/07/2023 11:21:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Erika Loiola Silva
Autora

Documento assinado digitalmente
 EDUARDO VINÍCIUS VIEIRA VAREJÃO
Data: 08/08/2023 10:30:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Eduardo Vinícius Vieira Varejão
Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me abençoar com saúde, força e discernimento que me fizeram chegar até aqui;

À minha família, minha mãe Maria Eleni Loiola e irmã Valdirene Loiola Silva por todo o apoio emocional e financeiro que permitiram concluir mais essa etapa em busca dos meus sonhos;

Ao meu noivo Jefferson Bruno Bretas de S. Oliveira por todo o amor, carinho, apoio e conselhos durante a pós-graduação que me fortaleceram a continuar.

Ao meu orientador e coorientadora, Eduardo V.V. Varejão e Jodieh Oliveira Santana Varejão por todos os conselhos e conhecimentos adquiridos durante essa etapa que me fizeram aperfeiçoar e aprender mais sobre a Química;

À minha colega de grupo de pesquisa Cássia Gondim pela paciência e parceria nesse trabalho e por me ensinar sobre o universo dos Fitonematoides;

Aos meus colegas de laboratório: Cristiane Franco, Gabriela Furlani, Guilherme, Rodrigo e estagiárias Beatriz e Thainara por todo o apoio e amizade durante essa etapa;

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Química, Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) e Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides por conceder a utilização de equipamentos que permitiram realizar os testes para o presente trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Eu faço parte dos que pensam que a Ciência é belíssima. Um cientista em um laboratório não é apenas um técnico, ele é também uma criança diante de fenômenos naturais que o impressionam como um conto de fada”

(Marie Curie)

RESUMO

SILVA, Erika Loiola, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2023. **Caracterização Química e avaliação da atividade do óleo essencial de *Tetradenia riparia* contra *Meloidogyne javanica***. Orientador: Eduardo Vinícius Vieira Varejão. Coorientadora: Jodieh Oliveira Santana Varejão.

Cada vez mais o ser humano tem se preocupado com a saúde, bem estar e sustentabilidade ambiental, dessa forma a agricultura orgânica tem ganhado mais espaço na alimentação dos brasileiros. A principal diferença entre a agricultura orgânica e a convencional é a utilização de insumos internos como fertilizantes e pesticidas com base em produtos naturais. Para obter uma boa produtividade é importante utilizar pesticidas contra patógenos, como os fitonematoides, que são animais invertebrados cilíndricos microscópicos que parasitam principalmente as raízes das plantas e tubérculos. Um dos gêneros que mais causam prejuízos na agricultura é o *Meloidogyne* (nematóide das galhas), pois infecta uma grande variedade de culturas. As plantas infectadas se tornam frágeis e desenvolvem alterações nas raízes chamadas de galhas. O principal controle dos fitonematoides são os nematicidas químicos sintéticos, entretanto, boa parte deles são tóxicos para o meio ambiente e as pessoas, por esse motivo metabólitos secundários produzidos por plantas podem ser uma possível alternativa para o controle dos fitonematoides. A planta *Tetradenia riparia* Hochsteter codd. (*Lamiaceae*), mais conhecida no Brasil como “falsa mirra” é uma planta ornamental encontrada em muitos jardins, sendo nativa da África do Sul possui propriedades biológicas reportadas na literatura, como antileishmania, antituberculose, antimalárica, acaricida e larvicida, além do seu uso como planta medicinal. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a composição química e avaliar a possível atividade do óleo essencial de *Tetradenia riparia* contra o fitonematóide da espécie *Meloidogyne javanica*. Foram realizadas extrações do óleo essencial no inverno e na primavera, os mesmos tiveram sua composição química analisada por meio de CG-EM, foram fracionados utilizando coluna cromatográfica de sílica gel e utilizados em bioensaios *in vitro* relacionados a imobilidade de J2 (juvenil infectante) e eclosão de ovos. Foram detectados 44 componentes químicos no óleo essencial, do qual 37 foram identificados, dentre eles os majoritários foram fenchona e cânfora pertencentes a classe dos monoterpenos oxigenados, β -cariofileno e δ -cadineno dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos. Além disso, o óleo essencial extraído no inverno apresentou diferenças na composição química e rendimento em relação ao extraído na

primavera. A partir do fracionamento do óleo essencial não foi possível isolar compostos, entretanto, foram obtidas frações que apresentaram cromatogramas com picos correspondentes a constituintes majoritários que não foram identificados pelo CG-EM. E uma delas com elevado grau de pureza (Fração 5 - (41): 86,62% e (44): 13,38%). Além disso, esses compostos apresentaram em seus espectros de massa um pico de íon molecular m/z 288, sendo relatado na literatura o isolamento de um composto no óleo essencial e outro no extrato da planta com o mesmo valor de razão m/z 288. Há indícios que os compostos não identificados possam ser os relatados na literatura ou da sua mesma classe. Dentre as concentrações testadas do óleo essencial de *T. riparia* extraído na primavera a concentração de 30 mg/mL produziu a maior taxa de imobilidade de J2 com 73,0% e 27,8% de eclosão de ovos. Apesar dos resultados obtidos a respeito da atividade do óleo essencial de *Tetradenia riparia* terem sido menos expressivos em comparação com outros relatados na literatura para ser indicado e explorado como possível nematicida natural, os resultados demonstraram um efeito sobre a imobilidade de J2 e eclosão dos ovos, o que contribuiu para a diminuição do parasitismo. Além disso, esse é o primeiro estudo realizado com o óleo essencial de *T. riparia* contra fitonematoides do gênero *Meloidogyne*. Em trabalhos posteriores será possível identificar e elucidar as estruturas dos compostos resultantes da fração 5 com a possibilidade de identificar novos compostos reportados no óleo essencial, o que contribuiu para a Química de Produtos Naturais. E poderão avaliar o potencial do óleo essencial e dos seus próprios constituintes em suas formas puras, para o controle de outros fitopatógenos, fitonematoides do gênero *Meloidogyne* e de outros gêneros de interesse agrícola.

Palavras-chave: Fitonematoides. *Tetradenia riparia*. *Meloidogyne*. Óleo essencial

ABSTRACT

SILVA, Erika Loiola, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2023. **Chemical characterization and evaluation of the activity of the essential oil of *Tetradenia riparia* against *Meloidogyne javanica*.** Advisor: Eduardo Vinícius Vieira Varejão. Co-advisor: Jodieh Oliveira Santana Varejão.

Increasingly, human beings are concerned about health, well-being and environmental sustainability, thus organic agriculture has gained more space in the diet of Brazilians. The main difference between organic and conventional agriculture is the use of internal inputs such as fertilizers and pesticides based on natural products. To obtain good productivity, it is important to use pesticides against pathogens, such as phytonematodes, which are microscopic cylindrical invertebrate animals that parasitize mainly the roots of plants and tubers. One of the genera that cause most damage in agriculture is *Meloidogyne* (root-knot nematode), as it infects a wide variety of crops. Infected plants become brittle and develop root changes called galls. The main control of phytonematodes are synthetic chemical nematicides, however, most of them are toxic to the environment and people, for this reason secondary metabolites produced by plants can be a possible alternative for the control of phytonematoids. The plant *Tetradenia riparia* Hochsteter codd. (*Lamiaceae*), better known in Brazil as "false myrrh" is an ornamental plant found in many gardens, being native to South Africa, it has biological properties reported in the literature, such as antileishmania, antituberculosis, antimalarial, acaricide and larvicide, in addition to its use as a medicinal plant. The present work aimed to characterize the chemical composition and evaluate the possible activity of the essential oil of *Tetradenia riparia* against the nematode of the species *Meloidogyne javanica*. Essential oil extractions were carried out in winter and spring, their chemical composition was analyzed using GC-MS, they were fractionated using a silica gel chromatographic column and used in in vitro bioassays related to the immobility of J2 (infectious juvenile) and hatching of eggs. 44 chemical components were detected in the essential oil, of which 37 were identified, among them the most common were fenchone and camphor belonging to the class of oxygenated monoterpenes, β -caryophyllene and δ -cadinene of sesquiterpene hydrocarbons. In addition, the essential oil extracted in winter showed differences in chemical composition and yield compared to that extracted in spring. From the fractionation of the essential oil it was not possible to isolate compounds, however, fractions were obtained that showed chromatograms with peaks corresponding to major

constituents that were not identified by GC-MS. And one of them with a high degree of purity (Fraction 5 - (41): 86.62% and (44): 13.38%). In addition, these compounds presented in their mass spectra a molecular ion peak m/z 288, with the isolation of a compound in the essential oil and another in the plant extract with the same ratio value m/z 288 reported in the literature. There are indications that the unidentified compounds may be those reported in the literature or of the same class. Among the tested concentrations of *T. riparia* essential oil extracted in spring, the concentration of 30 mg/mL produced the highest J2 immobility rate with 73.0% and 27.8% of egg hatching. Although the results obtained regarding the activity of the essential oil of *Tetradenia riparia* were less expressive compared to others reported in the literature to be indicated and explored as a possible natural nematicide, the results demonstrated an effect on the immobility of J2 and egg hatching, which contributes to the reduction of parasitism. Furthermore, this is the first study carried out with the essential oil of *T. riparia* against phytonematodes of the genus *Meloidogyne*. In later work it will be possible to identify and elucidate the structures of the compounds resulting from fraction 5 with the possibility of identifying new compounds reported in the essential oil, which contributes to the Chemistry of Natural Products. And they will be able to evaluate the potential of the essential oil and its own constituents in their pure forms, for the control of other phytopathogens, phytonematodes of the genus *Meloidogyne* and other genera of agricultural interest.

Keywords: Phytonematodes. *Tetradenia riparia*. *Meloidogyne*. Essential oil

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Juvenil infectante (J2) de <i>Meloidogyne</i> e galhas radiculares parasitadas.....	15
Figura 2 – Folhas verdes e flores de <i>Tetradenia riparia</i>	16
Figura 3 – Esquema representativo do método Funil de Baermann.....	20
Figura 4- Cromatograma de íons totais (TIC) do óleo essencial das folhas de <i>T. riparia</i> extraído na primavera.....	24
Figura 5- Cromatograma de íons totais (TIC) do óleo essencial de <i>T. riparia</i> extraído no inverno.....	25
Figura 6 – Estruturas Químicas de compostos majoritários identificados pelo fracionamento do óleo essencial de <i>T. riparia</i>	29
Figura 7 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 41 referente a Fração 5.....	31
Figura 8 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 44 referente a Fração 5.....	31
Figura 9 – Estruturas químicas de compostos isolados (A) óleo essencial de <i>T. riparia</i> e (B) extrato de folhas de <i>T. riparia</i>	32
Figura 10 – Efeito na imobilidade de juvenis infectantes de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> em contato com emulsões do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> extraído no inverno.....	33
Figura 11 – Efeito na imobilidade de juvenis infectantes de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> em contato com emulsões do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> extraído na primavera.....	34
Figura 12 – Curva dose-resposta do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> extraído na primavera versus proporção de J2 imobilizados de <i>Meloidogyne javanica</i>	35
Figura 13 – Eclosão de juvenis infectantes de segundo estágio (J2) <i>Meloidogyne javanica</i> a partir de ovos em contato com emulsão do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> extraído na primavera na concentração de 30 mg/mL.....	36
Figura 14 – Estrutura química dos compostos 1,8- cineol e α -terpineol.....	38
Figura 15 – Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 1.....	53
Figura 16- Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 2.....	53
Figura 17 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 3.....	53
Figura 18 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 4.....	54
Figura 19 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 5.....	54
Figura 20 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 6.....	54
Figura 21 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 7.....	55

Figura 22 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 8.....	55
Figura 23 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 9.....	55
Figura 24 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 10.....	56
Figura 25 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 11.....	56
Figura 26 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 12.....	56
Figura 27 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 13.....	57
Figura 28 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 14.....	57
Figura 29 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 16.....	57
Figura 30 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 17.....	58
Figura 31 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 18.....	58
Figura 32 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 19.....	58
Figura 33 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 20.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS

Bioagro	Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	Cromatografia a gás acoplada a Espectrometria de Massas
J2	Juvenil infectante
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OETRI	Óleo essencial de <i>T. riparia</i> extraído no inverno
OETRP	Óleo essencial de <i>T. riparia</i> extraído na primavera
Organis	Associação de Promoção dos Orgânicos
TIC	Contagem total de íons
UFV	Universidade Federal de Viçosa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo Geral	17
2.2. Objetivos Específicos	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1. Material Vegetal e extração de Óleo Essencial	17
3.2. Análise e Identificação Química por Cromatografia a Gás - Espectrometria de Massas (CG -EM) do Óleo Essencial	18
3.3. Fracionamento do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> por cromatografia em coluna.....	19
3.4. Bioensaios de Nematoides	19
3.4.1. Extração e eclosão de ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> de raízes infectadas.....	19
3.4.2. Bioatividade in vitro do Óleo Essencial de <i>Tetradenia riparia</i> contra <i>Meloidogyne javanica</i>	21
3.4.3. Eclosão de ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> na presença de óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i>	21
3.5. Estatística e Análise de dados	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Rendimento e Identificação Química do Óleo Essencial de <i>Tetradenia riparia</i>	22
4.2. Fracionamento do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> por cromatografia em coluna.....	26
4.3. Bioensaios de Nematoides	32
4.3.1. Bioatividade in vitro do Óleo Essencial de <i>Tetradenia riparia</i> contra <i>Meloidogyne javanica</i>	32
5. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE A	53

1. INTRODUÇÃO

As plantas possuem um papel de destaque na alimentação do ser humano que cada vez mais tem se preocupado com a saúde, bem-estar e sustentabilidade ambiental. Como consequência, observa-se uma maior preferência por alimentos orgânicos em relação aos cultivados de forma convencional (RANA e PAUL, 2017). A agricultura orgânica tem ganhado espaço no cardápio dos brasileiros e crescido economicamente. Em 2020, teve um crescimento de aproximadamente 30% e faturamento de R\$ 5,8 bilhões segundo a Associação de Promoção dos Orgânicos (Organis) (MAPA, 2021).

A principal diferença entre a agricultura orgânica e a convencional é que a última utiliza fertilizantes e pesticidas sintéticos, enquanto a agricultura orgânica utiliza insumos internos como fertilizantes e pesticidas com base em produtos naturais (EPULE *et al.*, 2015). Esses produtos no Brasil são regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em destaque a Portaria N° 52, de 15 de março de 2021, consta as listas de substâncias e práticas para o uso nos sistemas orgânicos de produção (BRASIL, 2021). Apesar do crescente uso de produtos naturais na agricultura, o volume de vendas é ainda muito pequeno em comparação ao de produtos sintéticos. Em 2021, as vendas de produtos químicos e bioquímicos chegaram a 719,5 mil toneladas de ingredientes ativos, enquanto para produtos semioquímicos e microbiológicos foram de 22,33 e 1,3 mil toneladas, respectivamente (IBAMA, 2022).

A utilização de pesticidas é de fundamental importância para obtenção de uma boa produtividade em culturas de alimentos, principalmente em grandes culturas. Estes produtos químicos, naturais ou sintéticos, são utilizados no controle de variadas pragas como as plantas daninhas, insetos, fungos, fitonematoides, etc. Os fitonematoides, por exemplo, já causaram perdas estimadas em US\$ 157 bilhões anuais em vários tipos de culturas agrícolas em todo o mundo (ABAD, *et al.*, 2008). No Brasil, estima-se que haja R\$ 65 bilhões em perdas, podendo chegar a R\$ 870 bilhões em 10 anos (SYNGENTA, *et al.*, 2022).

Os nematoides são animais invertebrados cilíndricos, com a forma do corpo variável, mas geralmente em forma de fio, e estão presentes em oceanos, mares, água doce e na película de água existente entre as partículas de solo. Os nematoides parasitas de plantas (fitonematoides) são microscópicos, medindo de 0,2 a 3,0 mm de comprimento e possuem como alvo preferencial as raízes e tubérculos. Por esse motivo, é difícil identificá-los nas culturas, sendo

possível somente após a presença de alguns sintomas nas plantas (SIDDIQUI, 2005; FERRAZ e BROWN, 2016).

Para a sua sobrevivência, os fitonematoides se alimentam dos tecidos vegetais, principalmente das células presentes nas raízes e em diferentes locais. A partir do seu modo de alimentação, podem ser classificados em ectoparasitas, endoparasitas e semiendoparasitas. Ainda, alguns gêneros podem agir facultativamente das duas formas como o *Aphelenchoides*, *Helicotylenchus* e *Hoplolaimus* (BILGRAMI e GAUGLER, 2004 ; FERRAZ e BROWN, 2016).

Os ectoparasitas permanecem na parte superior das raízes e introduzem os seus estiletos bucais na parte interior, porém permanecendo com o corpo para fora, no solo. Alguns exemplos são os gêneros *Belonolaimus*, *Criconemoides*, *Dolichodorus*, *Hemicycliophora*, *Longidorus*, *Helicotylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Trichodorus*, *Tylenchus* e *Rotylenchus*. Já os endoparasitas penetram completamente seus corpos no interior da raiz ou outro órgão vegetal, sendo seus principais representantes os gêneros *Radopholus*, *Pratylenchus* (nematoides das lesões das raízes), *Meloidogyne* (nematoides das galhas), *Globodera* e *Heterodera* (nematoides formadores de cistos). Os semiendoparasitas penetram parcialmente no tecido da planta, como os *Rotylenchulus* e *Tylenchulus*, em que juvenis e/ou fêmeas ficam apenas com a região do pescoço nas raízes (FERRAZ e BROWN, 2016; PERRY e MOENS, 2011).

Dentre os gêneros apresentados, um dos que mais causam prejuízos na agricultura é o *Meloidogyne* (nematoides das galhas). Por ser polífago, pode infectar várias espécies de plantas (ELLING, 2013), como exemplos as solanáceas (tomate, batata, berinjela, pimenta e tabaco), leguminosas (feijão carioca, feijão-caupi e soja), goiaba, cacau, figo, kiwi, café e hortaliças (BARBARY, *et al.*, 2015; CHARCHAR, *et al.*, 2008; COLLANGE *et al.*, 2011; FOURIE *et al.*, 2015; MAGALHÃES *et al.*, 2021; SAUCET *et al.*, 2016).

As principais espécies do gênero *Meloidogyne* são *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. hapla* (JONES *et al.*, 2013). O parasitismo se inicia com a penetração do juvenil infectante (J2) nas raízes e translocação até o seu local de alimentação, onde irá se reproduzir. Ao sugar nutrientes e água, as plantas infectadas se tornam frágeis, o que resulta em murcha, clorose,

secagem da folha e o desenvolvimento de alterações nas raízes chamadas de galhas, conforme ilustrado na Figura 1 (NGUYEN *et al.*, 2018; PALOMARES-RIUS, *et al.*, 2017).

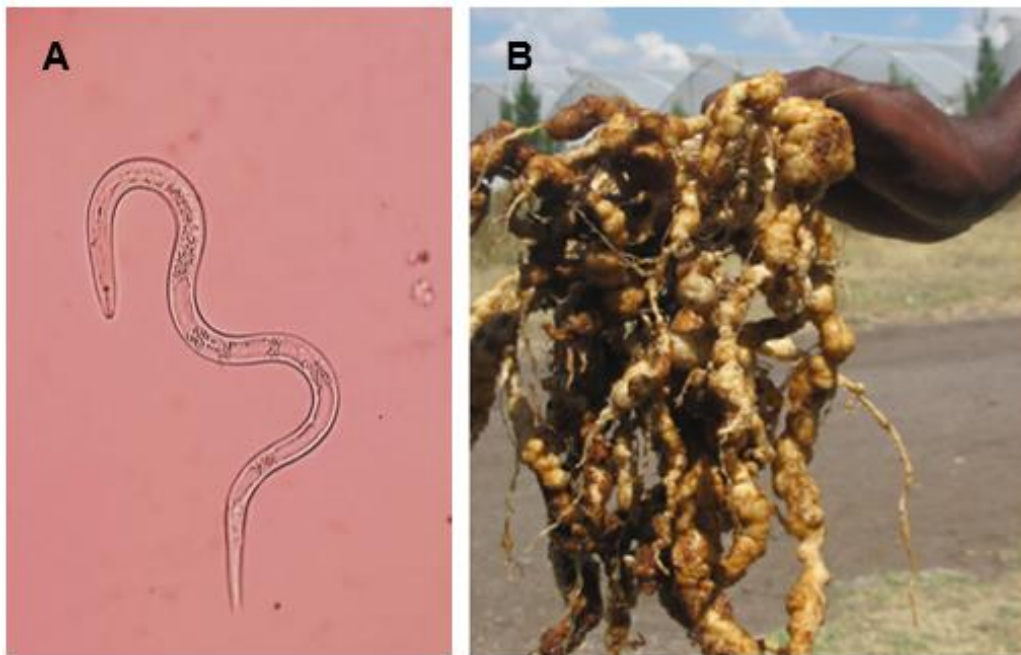


Figura 1- Juvenil infectante (J2) de *Meloidogyne* e galhas radiculares parasitadas. A- Próprio autor, B - JONES, *et al.*, 2013.

A principal forma de controle do *Meloidogyne* consiste no uso de nematicidas químicos sintéticos, que se dividem em fumigantes do solo, com foco nas raízes, e não fumigantes (BAIDOO, *et al.*, 2017). Sobre a primeira categoria, um dos mais utilizados é o brometo de metila. Este composto é altamente tóxico tanto para o ser humano como para o meio ambiente. Apesar da sua utilização ter sido proibida em países da União Europeia, continua sendo comercializado no Brasil. Já os produtos não fumigantes são geralmente carbamatos e organofosforados (BROMISA, 2020; BHOWMIK *et al.*, 2021; HESS *et al.*, 2021; OPPERMAN AND CHANG, 1990.; QIAO *et al.*, 2012). Boa parte dos nematicidas químicos são tóxicos e, quando utilizados de forma indiscriminada, podem provocar problemas significativos ao meio ambiente e aos seres humanos. Dessa forma, o desenvolvimento de estratégias ecológicas e produtos sustentáveis são importantes para diminuir esses impactos (NGUYEN *et al.*, 2018).

Metabólitos secundários produzidos por plantas podem ser uma possível alternativa para o controle dos fitonematoides. Alguns óleos essenciais já são registrados como produtos utilizados na agricultura para o controle de patógenos. Por exemplo, o óleo essencial das sementes de *Azadirachta indica* (Nim) (ingrediente ativo azadiractina) é utilizado como inseticida e fungicida (BIOEXOS, 2022; SEER, *et al.*, 2022; LOKANADHAN *et al.*, 2012) e

o óleo essencial de *Cinnamomum verum* (canela verdadeira) é usado como inseticida contra a mosca-branca (BALLAGRO, 2022). Estudos também relataram o potencial de outros óleos essenciais: espécies do gênero *Eucalyptus* (inseticida, antimicrobiana, antifúngica e herbicida); *Tagetes erecta* L. (herbicida) e hortelã-pimenta e manjeriço (antifúngica) (BATISH *et al.*, 2008; EDRIS e FARRAG, 2003; LAOSINWATTANA *et al.*, 2018; REYES *et al.*, 2019). Dessa forma, outras plantas também podem apresentar potenciais compostos a serem utilizados na agricultura, como a *Tetradenia riparia*.

A *Tetradenia riparia* Hochsteter codd. (*Lamiaceae*), mais conhecida no Brasil como falsa mirra, pluma-de-névoa, incenso ou lavândula, é uma planta ornamental encontrada em muitos jardins (MARTINS, *et al.*, 2009). Nativa da África do Sul, é um arbusto aromático de 1 a 3 m de altura com folhas verdes pecioladas, ovais a redondas e flores de cor branca a levemente rosadas, como observadas na Figura 2. A sua floração ocorre apenas em regiões subtropicais, temperadas e sem geadas (BLYTHE *et al.*, 2020; CODD, 1983).



Figura 2 – Folhas verdes e flores de *Tetradenia riparia*. próprio autor

Em seu continente de origem, a *T. riparia* é muito utilizada em aplicações medicinais para o tratamento de doenças, incluindo malária, angina, boubá, doenças helmínticas, gastroenterite, gonorreia, abscessos dentários, dores de cabeça e febre. Além disso, suas folhas também são utilizadas na conservação de alimentos em silos tradicionais e como repelente de insetos (VAN PUYVELDE, *et al.*, 1986).

Diversos estudos demonstraram várias atividades biológicas do óleo essencial de *Tetradenia riparia*, como antileishmania (CARDOSO *et al.*, 2015), antituberculose (BALDIN

et al., 2018), antimalárica (CAMPBELL *et al.*, 1997), acaricida (GAZIM *et al.*, 2011) e larvicida (FERNANDEZ *et al.*, 2014), sendo essas propriedades atribuídas principalmente aos monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos (hidrocarbonetos ou oxigenados) que constituem o óleo essencial (GAZIM *et al.*, 2010). Dessa forma, o óleo essencial de *T. riparia* pode ser uma possível alternativa sustentável e ecológica para o controle de fitonematoides, em especial do gênero *Meloidogyne*, que infecta vários tipos de culturas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar a composição química e avaliar a possível atividade do óleo essencial de *Tetradenia riparia* contra o fitonematoide da espécie *Meloidogyne javanica*.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar a extração do óleo essencial das folhas verdes de *Tetradenia riparia* utilizando um aparelho do tipo Clevenger.
- Identificar e analisar os componentes químicos presentes no óleo essencial por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massa.
- Realizar ensaio biológico *in vitro* com fitonematoides *Meloidogyne javanica* em contato com o óleo essencial de *Tetradenia riparia*.
- Realizar ensaio biológico *in vitro* de eclosão de ovos de *Meloidogyne javanica* em contato com o óleo essencial de *Tetradenia riparia*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material Vegetal e extração de Óleo Essencial

Folhas verdes de *Tetradenia riparia* foram coletadas entre julho e outubro de 2022 nas cidades de Ponte Nova (-20.4046774, -42.9001061) e Viçosa (-20.7508415, -42.8725268), no Estado de Minas Gerais. Uma exsicata da planta foi preparada e encaminhada para registro no herbário da UFV, permanecendo armazenada sob o número 55842.

O presente trabalho foi realizado no Laboratório do Grupo de Estudos em Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica e no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos, no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Para a extração do óleo essencial, as folhas verdes foram adicionadas em um balão de fundo redondo de 1000 mL contendo 500 mL de água destilada. Em seguida, a amostra foi submetida a hidrodestilação

utilizando um aparelho do tipo Clevenger por 5 horas após início do processo de refluxo. O hidrolato foi coletado em um Erlenmeyer e o óleo essencial foi retirado do aparelho com o auxílio de pentano, sendo armazenado em outro Erlenmeyer. A solução do óleo essencial em pentano foi seca com sulfato de magnésio anidro e filtrada para um balão de fundo redondo. Em seguida, o pentano foi removido em evaporador rotativo sob pressão reduzida e armazenado em um frasco limpo e previamente pesado.

Para retirar o óleo essencial residual, o hidrolato foi submetido a extração líquido-líquido utilizando pentano (proporção de 1:2 v/v de hidrolato e pentano). O procedimento foi realizado 3 vezes. As fases orgânicas foram combinadas e o extrato orgânico foi seco com sulfato de magnésio anidro, filtrado para um balão de fundo redondo e o solvente orgânico foi removido em evaporador rotativo sob pressão reduzida. O óleo essencial assim obtido foi combinado à primeira fração extraída. O rendimento foi avaliado em comparação com a massa de folhas utilizadas na extração.

3.2. Análise e Identificação Química por Cromatografia a Gás - Espectrometria de Massas (CG -EM) do Óleo Essencial

A identificação dos componentes químicos presentes no óleo essencial de *Tetradenia riparia* foi realizada por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), utilizando equipamento Shimadzu GCMS-QP5050A, nas seguintes condições operacionais: coluna capilar SPB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25µm), com temperatura inicial de 40 °C, aquecimento gradual até 240 °C com taxa de 2 °C/min. O gás de arraste utilizado foi o hélio, com fluxo ajustado em 1,8 mL/min, liberação de pressão de 100,2 kPa, modo split (1:10), temperatura do injetor em 220°C e o volume de injeção de 1,0 µL. Para a detecção utilizou-se o método por impacto de elétrons (70 eV), modo scan com tempo de corte de solvente de 5 minutos e os espectros de massas foram obtidos em uma faixa de 35–400 (m/z). Os componentes químicos foram identificados por comparação de seus espectros de massa com dados da biblioteca do equipamento e através do cálculo dos índices de retenção e comparação com valores reportados na literatura. Foram considerados identificados apenas os compostos cujos espectros de massa apresentaram, pelo menos, 90 % de similaridade com os espectros da biblioteca do equipamento.

Os índices de retenção foram calculados utilizando a equação de Van Den Dool e Kratz (equação 1) (ZELLNER *et al.*, 2008), em que se consideram os números de átomos carbonos e os valores de tempos de retenção de uma série de alcanos de cadeia linear, contendo

de 9 a 24 átomos de carbono, utilizados como uma mistura de padrões analisada por CG-EM nas mesmas condições operacionais utilizadas para a análise do óleo essencial. Para isso foi utilizada a equação:

$$IR = 100N + 100 [(t R_i - t R_z) / t R_{z+1} - t R_z] \quad \text{Equação (1)}$$

Onde $t R_i$ é o tempo de retenção do composto avaliado; N é o número de carbonos do hidrocarboneto com tempo de retenção anterior ao tempo de retenção do composto avaliado; $t R_z$ é o tempo de retenção do hidrocarboneto antecessor ao composto avaliado e $t R_{z+1}$ é o tempo de retenção do hidrocarboneto posterior ao composto avaliado.

3.3. Fracionamento do óleo essencial de *Tetradenia riparia* por cromatografia em coluna

O óleo essencial (1,76 g) foi submetido a fracionamento por cromatografia em coluna cromatográfica de sílica gel 60 (70-230 mesh) e eluição por gradiente utilizando hexano:diclorometano 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1 (v/v). As frações foram coletadas em tubos de ensaio e analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica gel 60 G F254 com 0,25 mm de espessura, reveladas com luz ultravioleta (254 e 366 nm) e solução de vanilina. As frações que apresentaram a mesma constituição química, conforme verificado pelas análises em CCD, foram agrupadas para constituir uma mesma fração. Ao todo, foram obtidas 20 frações, que foram submetidas a análises por CG-EM, utilizando os mesmos parâmetros operacionais empregados para a análise do óleo essencial.

3.4. Bioensaios de Nematoides

3.4.1. Extração e eclosão de ovos de *Meloidogyne javanica* de raízes infectadas

As etapas e testes experimentais envolvendo fitonematoides da espécie *Meloidogyne javanica* foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides, localizado no prédio do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (Bioagro) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) cultivadas em casa de vegetação localizadas na Universidade Federal de Viçosa (UFV), infectadas com *M. javanica* e com presença de galhas foram coletadas, cuidadosamente lavadas para remoção do solo e cortadas em pedaços de 1,0 cm, que foram triturados em liquidificador industrial com adição de solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5% v/v e trituradas por 20 segundos. O material obtido com a trituração foi passado em peneira de 200 Mesh acoplada sobre outra de

500 Mesh, onde foi lavado abundantemente com água da torneira. Os ovos retidos na peneira foram recolhidos em um béquer com o auxílio de uma pisseta com água de torneira.

Para facilitar a separação dos ovos da solução (por conter uma grande quantidade de particulados), foi utilizada uma adaptação da metodologia de flotação-centrifugação. Este método se baseia nas diferentes densidades entre água, nematoides, solução de sacarose e solo. Os ovos em solução, recolhidos no béquer, foram transferidos para tubos de centrífuga e centrifugados de 4 a 5 minutos a 1750 rpm. O sobrenadante foi descartado e, em seguida, adicionou-se solução de sacarose (453,59 g em 1000 mL de água). A solução foi centrifugada a 1750 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi passado por peneira de 500 Mesh e lavado abundantemente com água da torneira. O material foi então coletado em um béquer com o auxílio de uma pisseta com água de torneira (MACHADO, *et al.* 2019).

Os ovos coletados foram eclodidos em funis de Baermann modificados a 28°C, como representado na Figura 3. Neste método utilizam-se um funil de plástico contendo água, uma peneira plástica ou papel de filtro e, na parte superior, os ovos, solo ou substrato. No presente trabalho foi utilizado papel de filtro. Os ovos foram dispostos na parte superior e na parte inferior do funil foi conectada uma mangueira de borracha com uma presilha em sua ponta. Após 16 a 72 horas, a suspensão de fitonematoides recém eclodidos (J2) foram coletados para os testes (KALAISELVI *et al.*, 2019; MACHADO, *et al.* 2019).



Figura 3 – Esquema representativo do método Funil de Baermann. Fonte: MACHADO, *et al.* 2019

3.4.2. Bioatividade in vitro do Óleo Essencial de *Tetradenia riparia* contra *Meloidogyne javanica*

Para avaliar a bioatividade do óleo essencial de *T. riparia* sobre fitonematoides J2 de *Meloidogyne javanica* foi realizado um teste *in vitro*. Este teste foi realizado para o óleo essencial de *T. riparia* extraído no inverno (OETRI) (05/07/2022) e o óleo essencial extraído na primavera (OETRP) (28/09/2022). Primeiramente foi preparada uma solução a 60 mg/mL de óleo essencial em solução aquosa de Tween 20 a 0,4% m/v (5 mL de solução). Para isso, 0,3 g do óleo essencial foi pesado em um cadinho de porcelana com 0,02 g de Tween 20. Com o auxílio de um pistilo, ambos foram misturados até que estivessem totalmente incorporados. Em seguida, foram adicionados de forma gradativa 5 mL de água Milli-Q. O conteúdo da emulsão foi transferido para um frasco limpo e armazenado em geladeira protegido da luz.

Para o óleo essencial extraído na primavera foi feito o seguinte procedimento: a partir da solução estoque foram realizadas diluições para a obtenção de emulsões de 1 mL com as concentrações de 2,0 mg/mL, 10,0 mg/mL, 20,0 mg/mL, 30,0 mg/mL, 40,0 mg/mL, 50,0 mg/mL e 60,0 mg/mL. Em seguida, 100 µL de cada emulsão foi transferido para uma célula de uma placa de elisa com 100 µL de solução contendo de 20 a 27 fitonematoides J2. Dessa forma, as concentrações testadas foram 1,0 mg/mL, 5,0 mg/mL, 10,0 mg/mL, 15 mg/mL, 20,0 mg/mL, 25,0 mg/mL e 30,0 mg/mL. Solução de Tween 20 a 0,4% m/v foi utilizado como controle negativo. Em seguida, a placa de elisa foi selada com plástico filme e papel alumínio e deixada sob agitação em uma incubadora shaker (temperatura de 28°C e rotação de 117 rpm). O experimento foi realizado com 5 repetições para cada concentração diferente e foi avaliado o número de fitonematoides que exibiram os corpos retos e imóveis a cada 24 horas durante um período de 72 horas com o auxílio de um microscópio invertido Olympus IX70. O procedimento anterior foi realizado com o OETRI, porém as concentrações testadas foram 15 mg/mL, 18 mg/mL, 20 mg/mL, 25 mg/mL e 30 mg/mL.

3.4.3. Eclosão de ovos de *Meloidogyne javanica* na presença de óleo essencial de *Tetradenia riparia*

Para avaliar a taxa de eclosão dos ovos, 500 µL da emulsão a 30,0 mg/mL de óleo essencial de *T. riparia* (extraído na primavera) e 500 µL de suspensão aquosa contendo 2914 ovos de *M. javanica* foram adicionados em um microtubo tipo eppendorf com capacidade de 1,5 mL. Como controle negativo foi utilizada uma solução de Tween 20 a 0,4% m/v. Após incubação a 28°C e agitação por 7 dias, as amostras foram transferidas para uma placa de petri

e avaliado o número de J2 eclodidos, móveis ou imóveis, com o auxílio de um microscópio invertido Olympus IX70. O experimento foi realizado com 5 repetições para cada tratamento utilizado (BARROS, *et al.*, 2019).

3.5. Estatística e Análise de dados

Para testar a influência do aumento da concentração do óleo de *T. riparia* na proporção de fitonematoides imobilizados, tanto com o óleo extraído com plantas da primavera quanto do inverno, foi utilizada a proporção de fitonematoides imobilizados como variável resposta e o aumento das concentrações (tratamento) como variável explicativa com significância estabelecida em $p < 0,05$. Os dados foram submetidos a testes de normalidade através da função *qqplot* e também através do teste de Shapiro-Wilk por meio da função *shapiro.test*. Além disso, os dados foram submetidos a um teste de homogeneidade de variância através do teste de Levene. A significância dos modelos foi testada por meio do teste ANOVA e os resultados foram submetidos a teste de normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk e de homogeneidade por meio do teste de Barlett com a função *barlett.test*. O teste de Tukey foi realizado para comparação das médias entre os tratamentos quando o modelo se mostrava significativo.

Já para analisar a ocorrência da EC50 entre as concentrações, foi utilizada a função *dose.p* do pacote MASS (PENG, *et al.* 2021; RIPLAY, *et al.* 2023). Este teste consiste no ajuste de um modelo dose-resposta para estimar a inclinação da EC50, ou seja, para determinar em que ponto da curva do modelo é alcançada 50% da resposta. Para o teste de EC50, foi utilizado GLM's com família de distribuição quasibinomial. Todas as análises foram feitas no software R versão 4.2.2 (R Core Team 2022).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento e Identificação Química do Óleo Essencial de *Tetradenia riparia*

O óleo essencial apresentou rendimentos de 0,31% para o extraído no inverno e 0,19% para o extraído na primavera. Pesquisadores brasileiros analisaram a composição química do OETR (óleo essencial de *Tetradenia riparia*) cultivadas no sul do Brasil em diferentes estações do ano e obtiveram diferenças no rendimento do óleo essencial (GAZIM *et al.*, 2010). Naquele estudo, os maiores rendimentos foram obtidos quando a planta foi coletada durante o inverno

(0,265% \pm 0,0) e os menores na primavera (0,168% \pm 0,02), assim como observado na nossa pesquisa.

A análise química por CG-EM do óleo essencial de *T. riparia* detectou 44 componentes, dos quais 37 foram identificados. Na Tabela 1 estão representados os componentes químicos e seus respectivos índices de retenção e, na Figura 4, o cromatograma referente a análise por CG-EM da amostra de óleo essencial analisada. Dentre os compostos identificados, a classe predominante foi dos monoterpenos oxigenados (23,84% de área) tendo como compostos majoritários fenchona e cânfora; a classe seguinte mais comum foi dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (16,36% de área) com β -cariofileno e δ -cadineno como representantes principais. É importante destacar que os compostos cujos picos que aparecem com tempos de retenção 43,867, 44,917, 54,942 e 61,425 min. (Tabela 1, compostos 39-41 e 44) apresentam elevada porcentagem relativa e que os compostos correspondentes a estes picos não puderam ser identificados por comparação dos seus espectros de massas com os dados da biblioteca do equipamento utilizado.

Tabela 1 – Composição Química do óleo essencial de folhas de *Tetradenia riparia*

Pico	Compostos	% Area OETRI	% Area OETRP	IR Calculado	IR Literatura
<i>Hidrocarbonetos</i>					
<i>Monoterpenos</i>					
1	α - Pineno	0.51	1.66	934	932 ^a
2	Canfeno	0.40	1.20	948	946 ^a
3	Sabineno	0.54	2.76	976	969 ^a
4	β - Mirceno	-	0.75	977	988 ^a
5	β - Mirceno	-	0.15	996	988 ^a
6	Limoneno	0.34	1.63	1031	1024 ^a
7	β - Ocimeno	-	0.56	1043	1032 ^a
8	γ - Terpineno	-	0.13	1061	1054 ^a
<i>Monoterpenos</i>					
<i>Oxigenados</i>					
9	Hidrato de cis- Sabineno	-	0.16	1079	1065 ^a
10	Fenchona	4.35	17.20	1096	1083 ^a
11	Fenchol	-	1.06	1122	1114 ^a
12	Cânfora	1.01	2.84	1148	1141 ^a
13	Endo- Borneol	0.23	1.13	1173	1165 ^a
14	Terpinen-4-ol	-	0.46	1184	1174 ^a
15	α - Terpineol	-	0.99	1151	1186 ^a
<i>Hidrocarbonetos</i>					
<i>Sesquiterpênicos</i>					
16	α - Copaene	0.27	0.70	1380	1374 ^a
17	β - Elemene	0.13	0.35	1397	1389 ^a
18	α -Gurjuneno	0.65	1.31	1414	1409 ^a

19	β - Cariofileno	2.78	4.71	1427	1417 ^a
20	Trans- α -Bergamoteno	0.32	0.66	1442	1432 ^a
21	α - Humuleno	0.15	0.25	1459	1452 ^a
22	Aromandendreno	0.16	0.23	1465	1439 ^a
23	β - Sesquifelandreno	0.10	0.21	1491	1521 ^a
24	Aloaromadendreno	-	0.42	1494	1458 ^a
25	(Z,E) - α - Farneseno	-	2.45	1504	1498 ^b
26	Germacreno B	2.45	1.88	1505	1506 ^c
27	α - Muuroleno	0.18	0.27	1508	1500 ^a
28	N. I	0.10	0.22	1512	-
29	γ - Cadineno	0.15	0.26	1521	1513 ^a
30	δ - Cadineno	1.03	2.66	1533	1522 ^a
<i>Sesquiterpenos</i>					
<i>Oxigenados</i>					
31	6 – epi- Shyobunol	0.18	0.48	1536	1517 ^d
32	Germacreno D-4-ol	-	3.66	1589	1574 ^a
33	Globulol	0.47	0.61	1596	1590 ^a
34	Viridiflorol	0.13	0.23	1603	1592 ^a
35	Ledol	0.29	0.39	1613	1602 ^a
36	Tau - Cadinol	0.76	1.00	1656	1642 ^c
37	N.I	1.19	0.91	1661	-
38	α - Cadinol	2.06	2.43	1679	1652 ^a
39	N.I	11.85	11.71	1689	-
40	N.I	15.94	14.84	1617	-
41	N.I	7.74	3.48	2002	-
<i>Outros</i>					
42	Ácido Oleico	-	1.51	2071	2141 ^a
43	N.I	1.70	0.75	2082	-
44	N.I	32.13	8.74	2808	-

Compostos: listados em ordem de eluição na coluna SPB-5; N.I.: não identificado; **% Área OETRI:** porcentagem da área ocupada pelos compostos dentro do cromatograma do óleo essencial extraído no inverno; **% Área OETRP:** porcentagem da área ocupada pelos compostos dentro do cromatograma do óleo essencial extraído na primavera; **IR Calculado:** Índice de Retenção calculado utilizando n-alcenos C9 - C24 em uma coluna SPB-5; **IR Literatura:** Índice de Retenção encontrado na literatura com eluição em uma coluna DB-5 (ADAMS, 2007)^a, coluna HP-5MS (AHMED e AL-ZUBAIDY, 2020)^b, coluna HP-5 (SONG *et al.*, 2000)^c, coluna CP-SIL-5CB (WEYERSTAHL *et al.*, 2000)^d, coluna DB-5 (FLAMINI *et al.*, 2007).

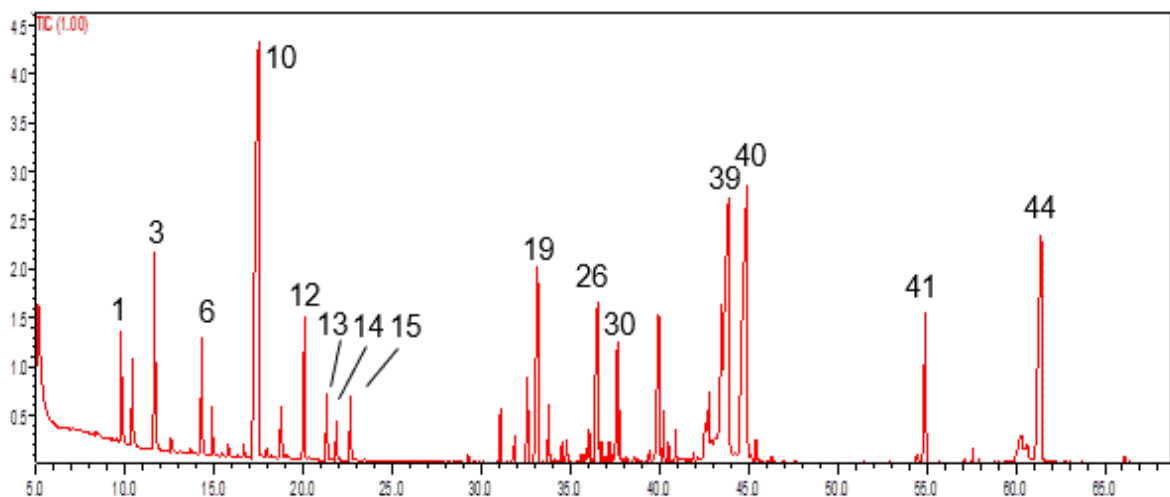


Figura 4- Cromatograma de íons totais (TIC) do óleo essencial das folhas de *T. riparia* extraído na primavera. Os números dos compostos referem-se aos relatados na Tabela 1

Além das alterações no rendimento do óleo essencial em diferentes estações do ano, a composição química também sofreu alterações. O óleo essencial extraído no inverno obteve compostos com concentrações menores que o extraído na primavera (cromatograma exibido acima). Os compostos que foram majoritários como a fenchona (10), cânfora (12), β -cariofileno (19) e δ -cadineno (30) tiveram diminuição em seus teores. Alguns compostos não estiveram presentes, tais como β -ocimeno (7), γ -terpineno (8), hidrato de *cis*-sabineno (9), terpinen-4-ol (14) e α -terpineol (15). Entretanto, os compostos que não foram identificados pelo CG-EM tiveram aumento em suas concentrações. Na figura 5 está representado o cromatograma do óleo essencial extraído no inverno.

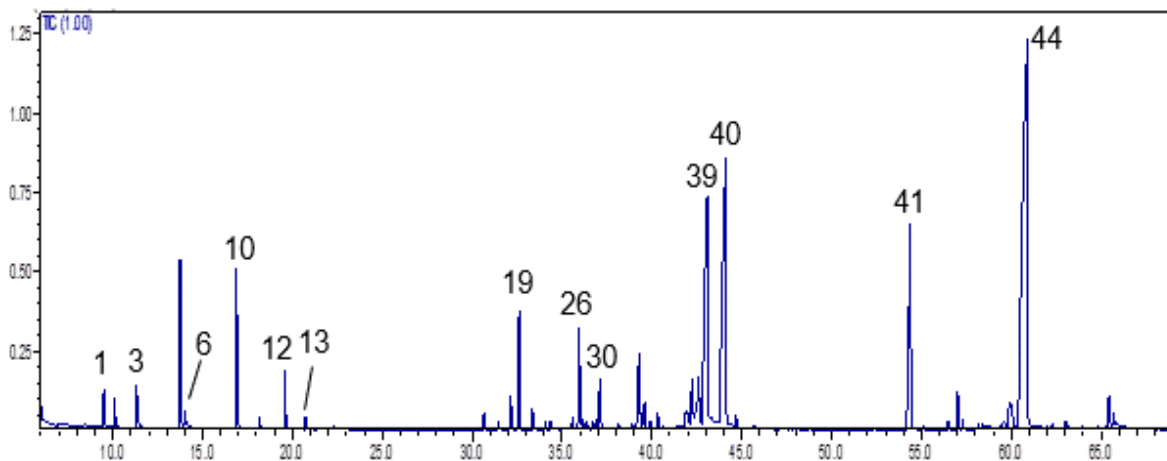


Figura 5- Cromatograma de íons totais (TIC) do óleo essencial de *T. riparia* extraído no inverno. Os números dos compostos referem-se aos relatados na tabela 1.

Um estudo adicional analisou a composição química do óleo essencial de *T. riparia* em diferentes estações do ano e obteve variações nas concentrações de compostos como fenchona, β -cariofileno e δ -cadineno. Observou-se que esses compostos apresentaram teores maiores no verão (13,52%, 0,97% e 0,30%, respectivamente) e na primavera (6,01%, 0,83% e 0,22%, respectivamente) em relação ao inverno (2,93%, % < 0,05) (FERNANDEZ *et al.*, 2014).

Diversos estudos relataram composições químicas diferentes para o óleo essencial de *Tetradenia riparia*. Exemplos da planta cultivadas nos Estados Unidos produziram um óleo essencial com compostos majoritários como a fenchona (14,8%), δ -cadineno (10,6%), 14-hidroxi- β -cariofileno (7,9%) e tau-cadinol (6,9%). A classe predominante foi dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos, seguida pelos sesquiterpenos oxigenados e monoterpenos oxigenados (BLYTHE *et al.*, 2020). Em outro estudo, o óleo essencial de *T. riparia* cultivada

no Quênia apresentou monoterpenos oxigenados e hidrocarbonetos como principais constituintes, em destaque a fenchona (64,82%), limoneno (2,02%) e 1,8-cineol (1,5%) (OMOLO *et al.*, 2004). Em outro trabalho, análises de óleo essencial de *T. riparia* coletada no sul do Brasil revelaram como compostos majoritários o α -cadinol (13,81%), o 14-hidroxi-9-*epi*-cariofileno (12,70%) (pertencentes à classe dos sesquiterpenos oxigenados) e a 6,7-dehidrooileanona (12,51%) (diterpeno oxigenado). Este último foi ainda isolado por fracionamento cromatográfico (BALDIN *et al.*, 2018).

Essas alterações na composição química e rendimento do óleo essencial ocorrem devido aos mecanismos de defesa realizados pelas plantas medicinais e aromáticas. O estudo realizado por Aqeel *et al.*, (2023) demonstrou que a produção de óleos essenciais e dos seus metabólitos secundários são influenciados por fatores bióticos e principalmente abióticos, como temperatura, radiação UV-B, composição do solo (com alta ou baixa salinidade ou metais pesados) e estresse por seca.

A alta temperatura do ambiente é um fator que facilita a liberação de terpenos em plantas aromáticas, no qual a combinação com a radiação UV-B estimula e regula a atividade de enzimas responsáveis pela produção de compostos orgânicos (BUSTAMANTE *et al.*, 2020; JAMLOKI *et al.*, 2021; MONSON *et al.*, 2012). Por exemplo, óleos essenciais de *T. riparia* apresentaram variações nas concentrações de compostos para plantas cultivadas em diferentes níveis de sombreamento, como a verbenona produzida em indivíduos cultivados a sol pleno e a fenchona, que foi encontrada em porcentagens relativas de 7,90%, 9,93%, 7,78% e 3,59% para plantas cultivadas em 0%, 30%, 50% e 80% de sombreamento, respectivamente (ARAÚJO *et al.*, 2018).

Dessa forma, a planta *Tetradenia riparia* possui variações em seu rendimento de óleo essencial e composição química dependendo da localidade onde foi cultivada, do nível de radiação solar que está sendo exposta, da temperatura, da época em que foi colhida e outros fatores abióticos. Por esse motivo, o óleo essencial extraído na primavera e no inverno tiveram concentrações diferentes de metabólitos secundários (principalmente terpenos) e níveis de rendimento.

4.2 Fracionamento do óleo essencial de *Tetradenia riparia* por cromatografia em coluna

Como as análises por CG-EM não possibilitaram a identificação de alguns constituintes majoritários do óleo essencial de *T. riparia*, o óleo foi submetido a fracionamento por

cromatografia em coluna com o objetivo de isolar esses constituintes. E as frações obtidas foram, inicialmente, analisadas por CG-EM. Na Tabela 2 estão reportadas as frações obtidas bem como os compostos majoritários detectados em cada uma delas. As estruturas químicas destes compostos estão representadas na Figura 6. Compostos que foram majoritários no óleo essencial (fenchona, β -cariofileno e δ -cadineno) foram identificados nas frações F1, F4, F8, F9, F11 e F12. Entretanto, alguns compostos não foram identificados, sendo necessário posteriormente outras técnicas para confirmar a identificação. Os cromatogramas das frações obtidas (F1-F20) estão apresentados no apêndice A.

Tabela 2- Fracionamento do óleo essencial de *Tetradenia riparia*

Frações	Compostos Majoritários	Fase Móvel Hexano: Diclorometano (v/v)	Massa (g)
F1	β - Cariofileno α - Bergamoteno Óxido de Cariofileno	10:0	0,2013g
F2	Espatuleno N.I Óxido de Cariofileno	10:0	0,0149g
F3	Espatuleno N.I	10:0	0,024g
F4	δ - Cadineno Espatuleno N.I	9:1 8:2	0,0043g
F5	N.I N.I	8:2	0,074g
F6	N.I N.I Dotriacontano	8:2	0,0033g
F7	N.I N.I Dotriacontano	8:2	0,0232g

F8	δ - Cadineno N.I Dotriacontano	8:2	0,0009g
F9	N.I δ - Cadineno Óxido de Manofla Tetrapentacontano	8:2	0,0093g
F10	Humulano-1,6-dien-3-ol N.I N.I	8:2	0,0018g
F11	Fenchona N.I Dotriacontano	8:2	0,0345g
F12	Fenchona δ - Cadineno Palustrol	8:2	0,0307g
F13	N.I N.I Ferruginol	7:3	0,0011g
F14	N.I N.I N.I N.I	6:4	0,2412g
F15	N.I*	6:4	0,0523g
F16	δ - Cadinol N.I N.I	6:4	0,0352g
F17	α - Cadinol N.I N.I	6:4	0,1718g

F18	α - Cadinol	6:4	0,5222g
	N.I	1:1	
	N.I		
F19	α - Cadinol	1:1	0,0076g
	N.I		
F20	N.I		0,0007g
	Diisobutil ftalato	1:1	
	Heneicosano		
	2- Metiloctacosano		

N.I: Compostos não identificados, N.I*: Compostos não identificados pelo método utilizado no CG-EM.

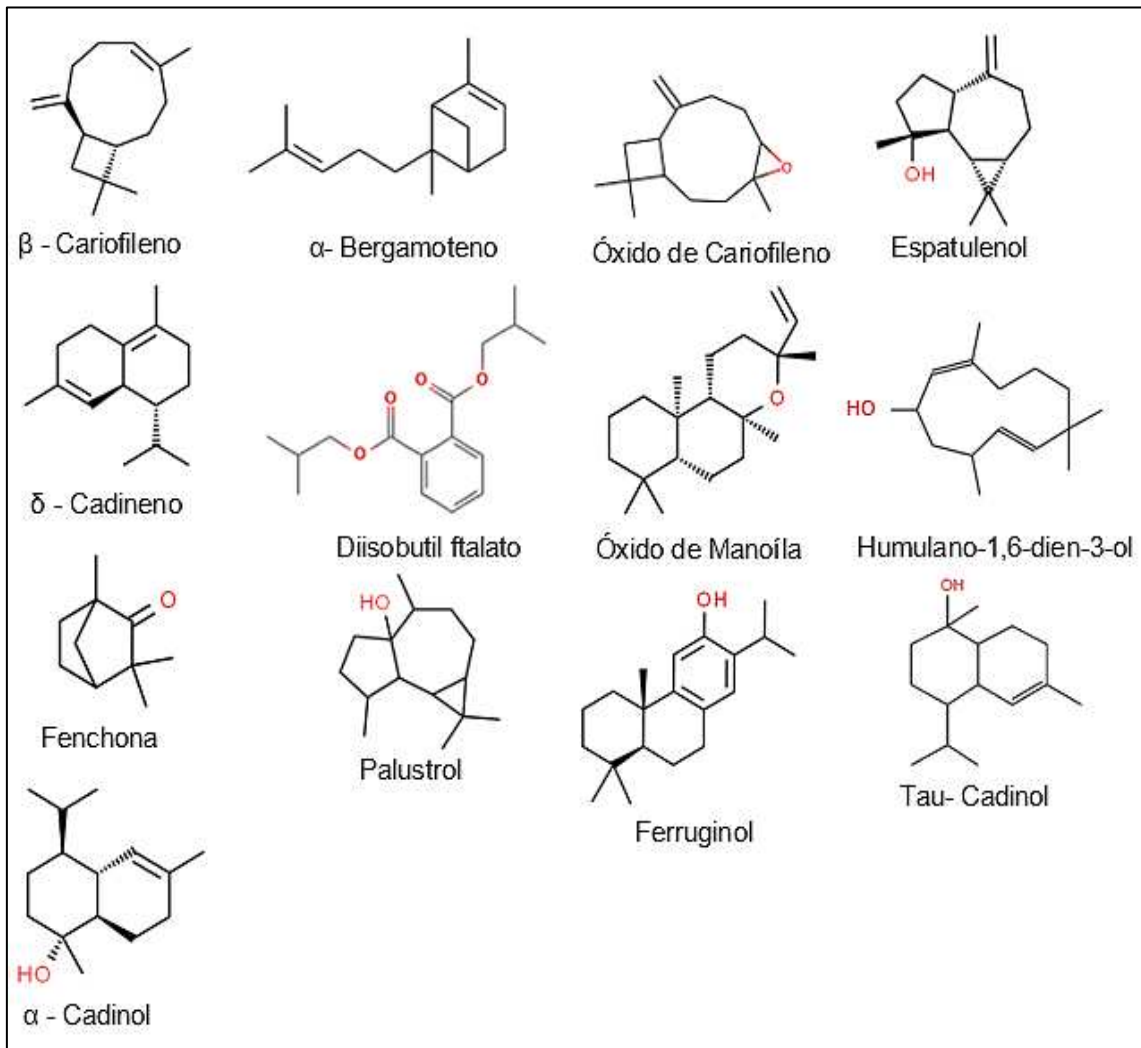


Figura 6 – Estruturas Químicas de compostos majoritários identificados pelo fracionamento do óleo essencial de *T. riparia*.

O fracionamento do óleo essencial de *T. riparia* não possibilitou o isolamento dos compostos majoritários não identificados. Entretanto, as frações 5, 6 e 7 apresentaram cromatogramas com picos correspondentes a esses compostos (Apêndice A), tendo uma a Fração 5, particularmente, apresentado elevado grau de pureza em relação a dois compostos (Fração 5 - (41): 86,62% e (44): 13,38%).

Os espectros de massas de ambos os compostos mostraram o pico de íon molecular em m/z 288 (Figuras 7 e 8). Em estudo anterior, o fracionamento do óleo essencial de *T. riparia* levou ao isolamento de um diterpeno do tipo abietano, até então, que foi identificado como 9 β ,13 β -epoxi-7-abietenol. Naquele trabalho, a análise do composto por espectrometria de massas também mostrou um pico de íon molecular em m/z 288 (GAZIM *et al.*, 2014). Outro estudo mais recente (FERNANDEZ *et al.*, 2017) levou ao isolamento de um composto a partir do extrato das folhas de *T. riparia*, que foi identificado como abieta-7,9 (11)-dien-13- β -ol, que também apresentou o pico em m/z 288, e corresponde a um isômero constitucional do composto isolado por Gazim *et al.*, (2014) a partir do óleo essencial da mesma planta. Na figura 9 estão representadas as estruturas químicas do 9 β ,13 β -epoxi-7-abietenol e abieta-7,9 (11)-dien-13- β -ol.

Portanto, os dados espectrais obtidos para os dois compostos presentes nas frações 5, 6 e 7 obtidas no presente trabalho permitem sugerir que tais compostos possam corresponder aos dois diterpenos identificados nos trabalhos de Gazim *et al.*, (2014) e Fernandez *et al.*, (2017) ou podem ser novos isômeros destes abietanos já conhecidos. Em se confirmando que um dos compostos não identificados nas referidas frações corresponda ao abieta-7,9 (11)-dien-13- β -ol, este será o primeiro relato da identificação deste composto no óleo essencial da planta, uma vez que o mesmo foi isolado apenas a partir de extratos das folhas da planta. A elucidação da estrutura destes dois compostos será realizada pelo grupo de pesquisa em trabalho subsequente, após isolamento e caracterização química dos mesmos.

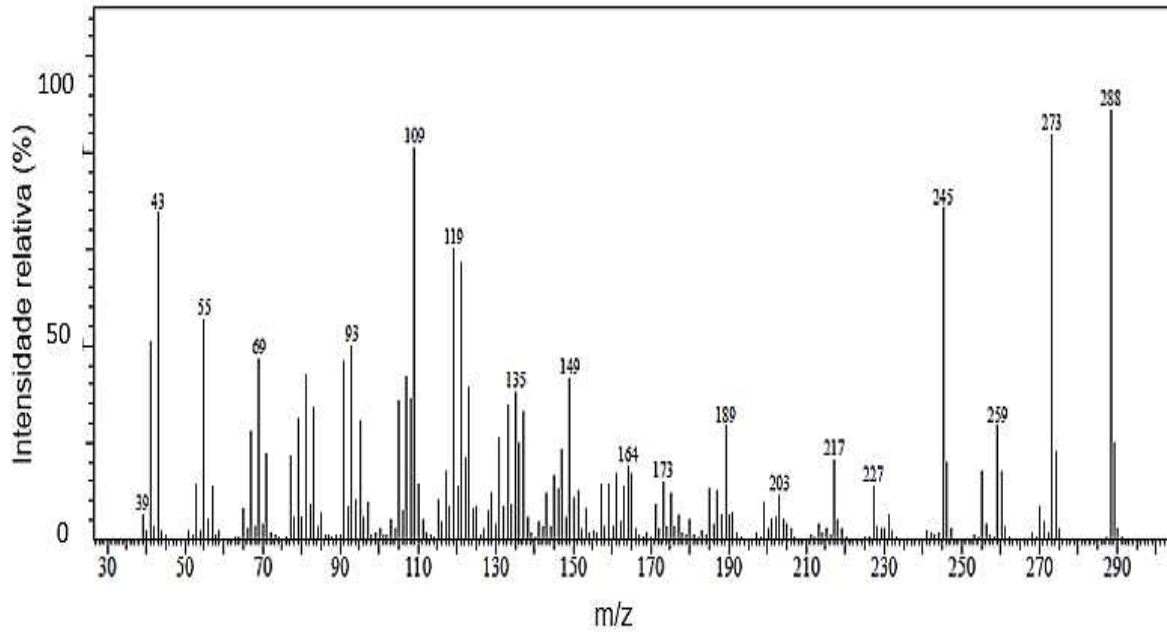


Figura 7 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 41 referente a Fração 5. O número 41 é referente ao relatado na Tabela 1.

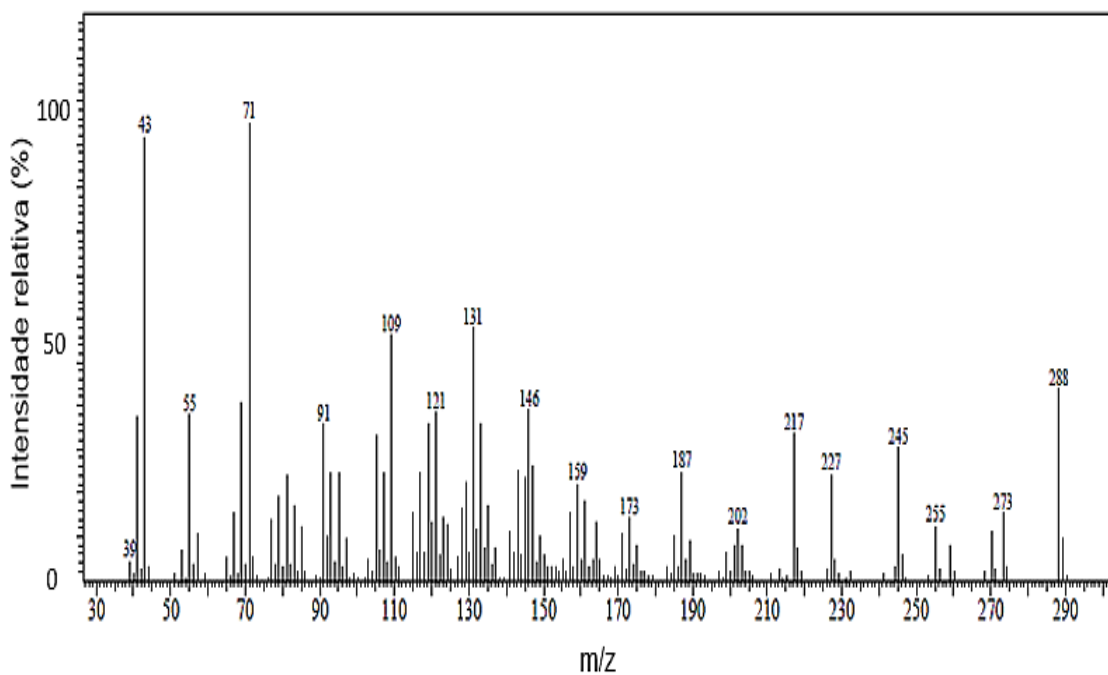


Figura 8 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 44 referente a Fração 5. O número 44 é referente ao relatado na Tabela 1.

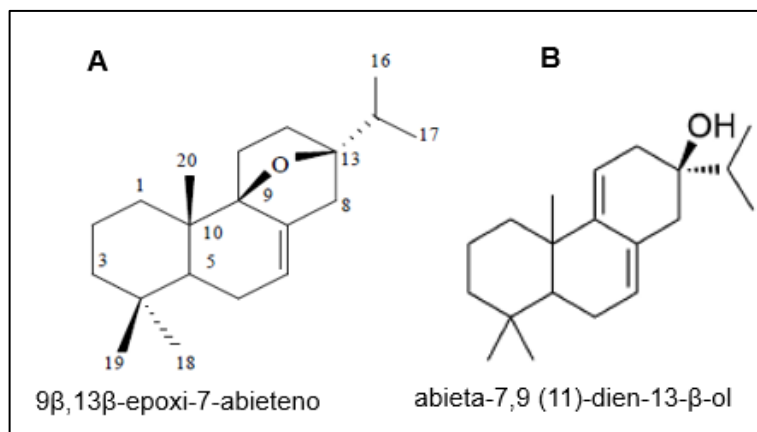


Figura 9 – Estruturas químicas de compostos isolados (A) óleo essencial de *T. riparia* e (B) extrato de folhas de *T. riparia*. (A) Fonte: GAZIM, *et al.*, 2013 e (B) Fonte: FERNANDEZ, *et al.*, 2017.

Além disso, com o fracionamento do óleo essencial de *T. riparia* foi possível identificar e separar compostos que geralmente fazem parte da composição do óleo essencial, como o Espatuleno e Óxido de Manoíla (BALDIN *et al.*, 2018; BLYTHE *et al.*, 2020). Esses compostos não foram detectados na análise por CG-EM dos óleos essenciais devido a presença de picos sobrepostos e/ou coeluídos, o que dificultou a sua detecção. O software utilizado quantifica os compostos com base na área e altura dos picos utilizando a contagem total de íons (TIC) e essa abordagem é suscetível a presença de compostos coelúntes e sobrepostos (JOHNSON *et al.*, 2017).

4.3 Bioensaios de Nematoides

4.3.1. Bioatividade *in vitro* do Óleo Essencial de *Tetradenia riparia* contra *Meloidogyne javanica*

Após a caracterização química do óleo essencial de *T. riparia*, a solução produzida com Tween 20 foi submetida a ensaio biológico para avaliação da sua atividade nematicida. As concentrações testadas foram avaliadas quanto a capacidade de produzir imobilidade de fitonematoides J2 em relação ao controle Tween 20 a 0,4% durante 72 h, sendo comparada a porcentagem média de J2 imóveis entre os tratamentos.

Foram testados o óleo essencial extraído no inverno e na primavera. Para o primeiro óleo, os resultados obtidos de imobilidade pelas concentrações testadas não diferiram significativamente do controle negativo ($F(5,23) = 1.2152$, $p = 0.342$), como representado pelo gráfico na Figura 10. Na concentração de 30 mg/mL, o óleo essencial produziu a maior média de J2 imobilizados (33,5%) em comparação com os outros tratamentos, o que pode ser considerado um valor baixo, que indica pouco efeito paralisante.

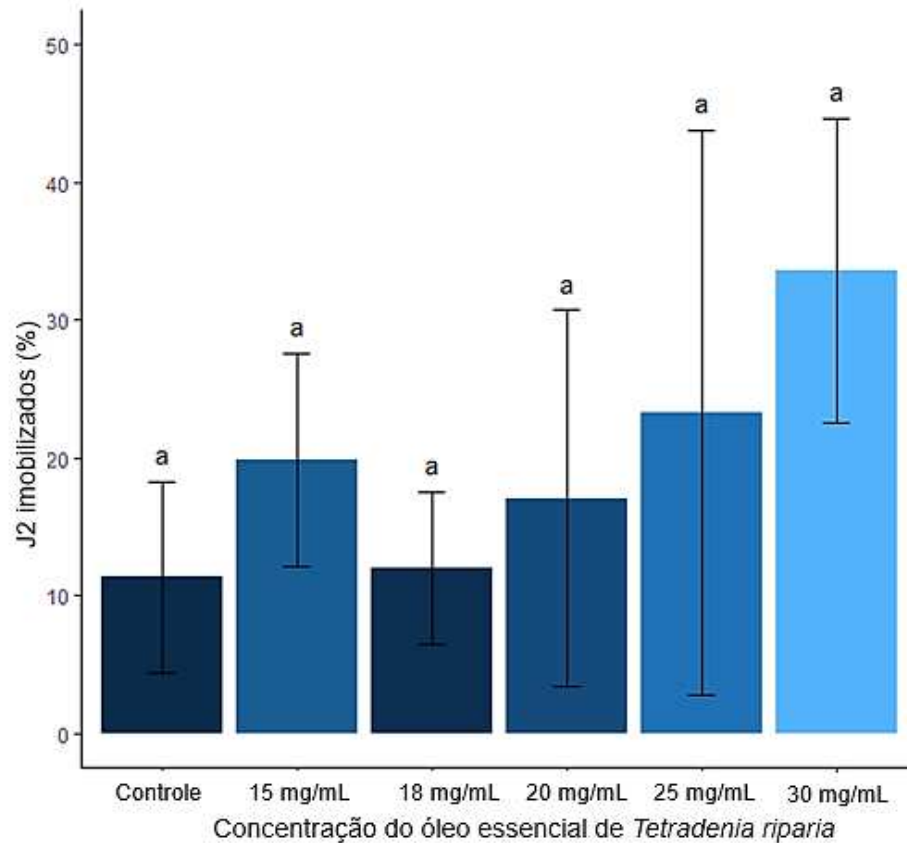


Figura 10 – Efeito na imobilidade de juvenis infectantes de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* em contato com emulsões do óleo essencial de *Tetradenia riparia* extraído no inverno. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para o óleo essencial extraído na primavera, as porcentagens de imobilidade produzida pelo óleo nas concentrações entre 1,0 mg/mL e 30 mg/mL foram maiores e diferiram estatisticamente do efeito causado pelo controle negativo, ($F(7,39) = 38,38$, $p < 0,008$), indicando um efeito paralisante (Figura 11). Foi possível perceber um aumento no número de J2 imobilizados com o aumento da concentração do óleo essencial. A concentração de 30 mg/mL produziu a maior taxa de imobilidade com 73,0%, o que corresponde a 23,5% a mais de inibição que a concentração de 25 mg/mL.

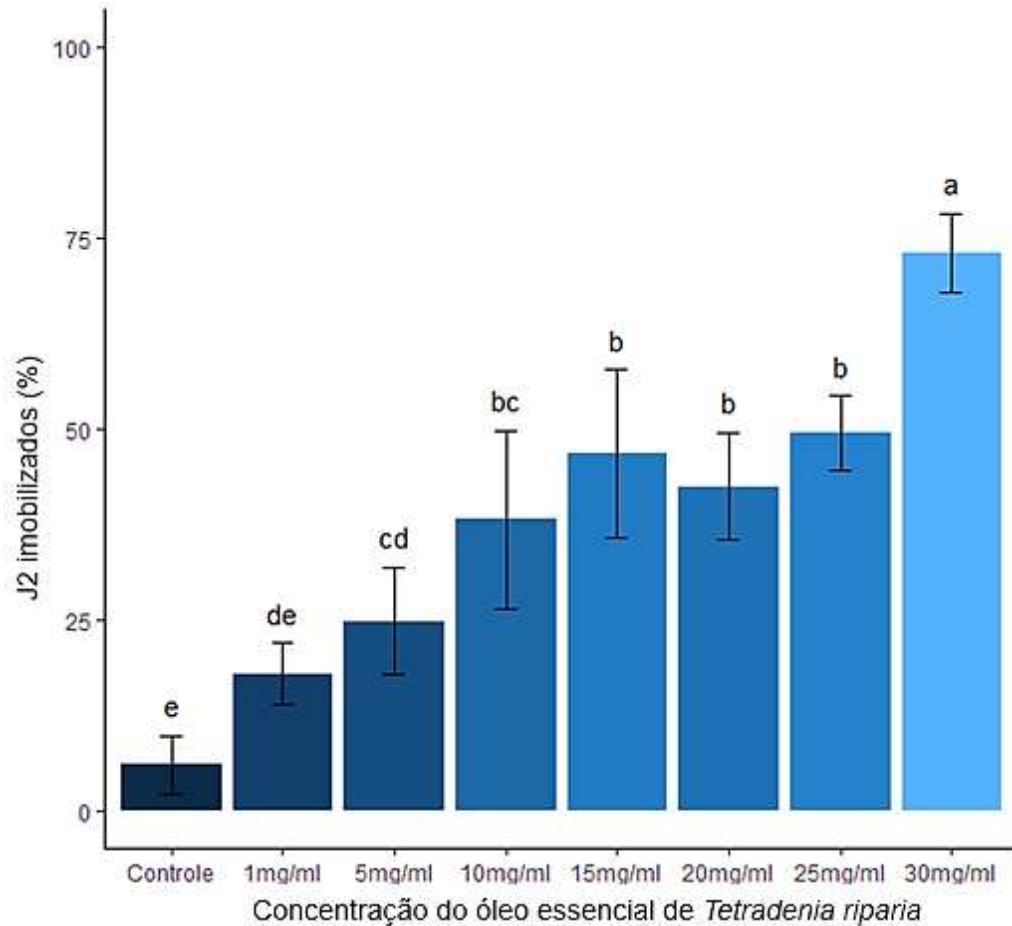


Figura 11 – Efeito na imobilidade de juvenis infectantes de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* em contato com emulsões do óleo essencial de *Tetradenia riparia* extraído na primavera. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com base nos resultados obtidos de imobilidade, foi possível determinar um valor de EC_{50} de 20,74 mg/mL e estimar o valor de EC_{90} em 47,84 mg/mL. Na Figura 12 está representada a curva dose-resposta e o ponto exato do valor de EC_{50} determinado. Já na Tabela 3, estão representadas as porcentagens de imobilidade de J2 de *Meloidogyne javanica* em contato com os dois óleos essenciais testados.

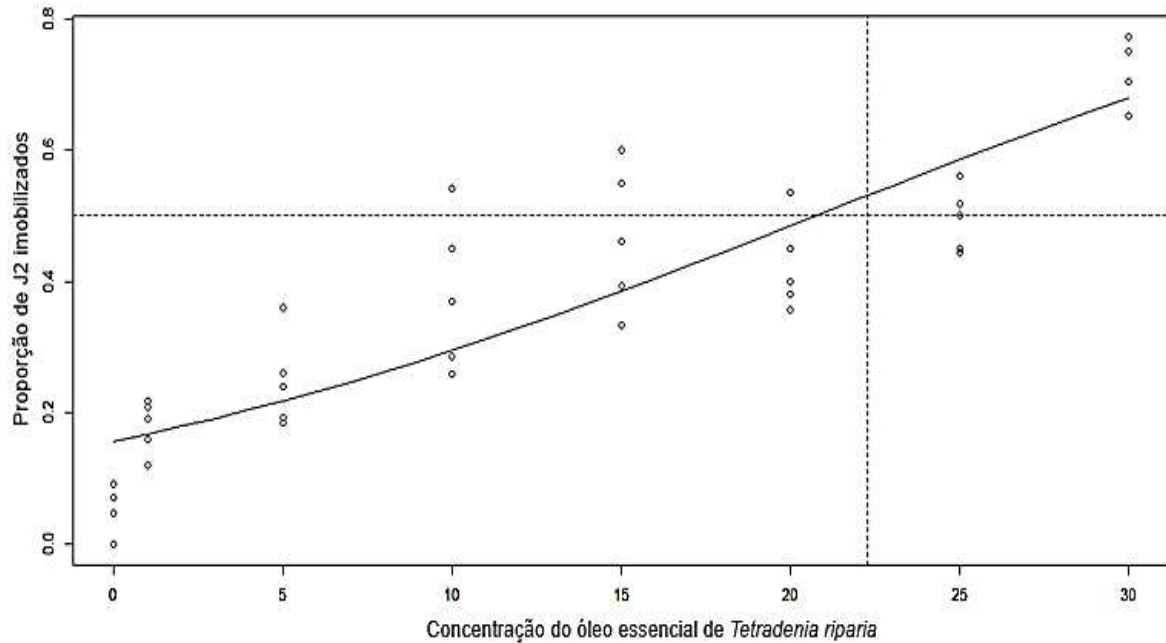


Figura 12 – Curva dose-resposta do óleo essencial de *Tetradenia riparia* extraído na primavera versus proporção de J2 imobilizados de *Meloidogyne javanica*.

Tabela 3- Efeito dos óleos essenciais de *Tetradenia riparia* na imobilidade de J2 de *Meloidogyne javanica*

Tratamento	Concentração (mg/mL)	Imobilidade de J2 (%)
Controle		11,3 ± 6,9
OETRI	15,0	19,8 ± 7,7
	18,0	12,0 ± 5,5
	20,0	17,1 ± 13,6
	25,0	23,3 ± 20,5
	30,0	33,6 ± 11,0
Controle		6,0 ± 3,8
OETRP	1,0	17,9 ± 3,9
	5,0	24,8 ± 7,0
	10,0	38,1 ± 11,7
	15,0	46,8 ± 11,0
	20,0	42,5 ± 7,0
	25,0	49,5 ± 4,8
	30,0	73,0 ± 5,1

Controle: Solução de Tween 20 (0,4%); OETRI: Óleo Essencial de *Tetradenia riparia* extraído no Inverno; OETRP: Óleo Essencial de *Tetradenia riparia* extraído na Primavera.

De acordo com os resultados de imobilidade de J2, a concentração de 30 mg/mL (OETRP) foi escolhida para ser testada em relação ao efeito na eclosão de ovos. A porcentagem de J2 eclodidos na presença do óleo essencial na concentração testada foi estatisticamente menor que a porcentagem de J2 eclodidos na presença apenas da solução aquosa de Tween 20 (controle negativo) ($F(1,9) = 13.892$, $p = 0.005812$) (Figura 13). A concentração de 30 mg/mL inibiu a eclosão dos ovos em 12% em relação ao controle negativo.

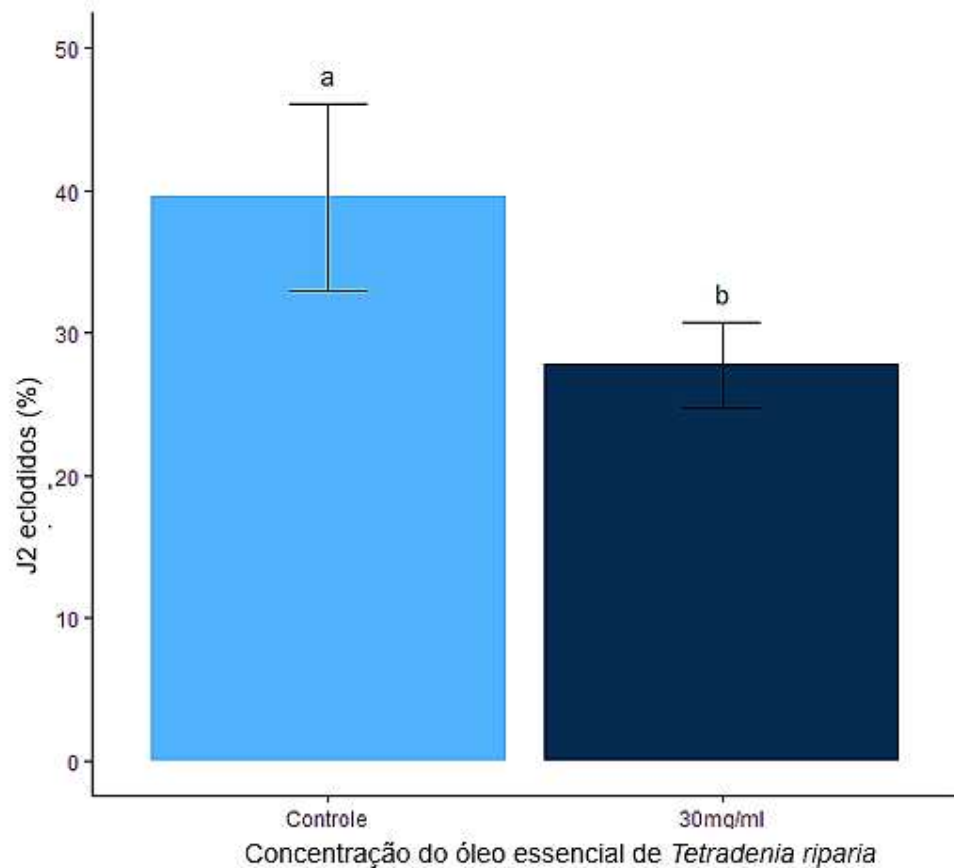


Figura 13 – Eclosão de juvenis infectantes de segundo estágio (J2) *Meloidogyne javanica* a partir de ovos em contato com emulsão do óleo essencial de *Tetradenia riparia* extraído na primavera na concentração de 30 mg/mL. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para efeito de comparação de resultados, estudos para avaliação da atividade antinematóide de óleos essenciais de plantas são realizados há muitos anos. Um exemplo é o trabalho desenvolvido por Oka *et al.*, (2000), em que foi observado que óleos essenciais de *Carum carvi*, *Foeniculum vulgare*, *Mentha rotundifolia* e *Mentha spicata* produziram altos índices de imobilidade de J2 (100%) e inibição de eclosão de ovos ($< 95\%$) de *M. javanica* na concentração de 1000 $\mu\text{L/L}$. Entretanto, alguns óleos essenciais como o de *Laurus nobilis*

tiveram baixa imobilidade de J2 (7,8%) e alta taxa de eclosão de ovos (29,4%) em comparação com os outros óleos essenciais.

Na literatura já foram reportados outros óleos essenciais com efeitos em outra espécie do gênero *Meloidogyne* (*M. incognita*). Em um estudo recente, o óleo essencial de mostarda preta (*Brassica nigra*) apresentou aumento do efeito paralisante em J2 proporcional ao aumento das concentrações (1,0 a 100 µg/mL), com 100% de imobilização em até 24h nas concentrações de 75 e 100 µg/mL (DUTTA *et al.*, 2021). O óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) produziu diminuição na eclosão dos ovos em uma concentração de aproximadamente 0,1 % v/v com valores de $EC_{50} = 0,097$ % v/v para ovos eclodidos e $EC_{50} = 0,145$ % v/v para imobilidade de J2 (MEYER *et al.*, 2008). O óleo essencial de *Dysphania ambrosioides* produziu inibições na eclosão dos ovos que variaram de 27% a 43% em relação ao controle negativo, com eclosão de J2 entre 30 a 45% para as concentrações de 300, 600 e 900 µg/mL (BARROS *et al.*, 2019).

No presente trabalho, observamos que o óleo essencial de *T. riparia* produziu efeito importante sobre a mobilidade de J2 (73,0 %) e sobre a inibição da eclosão de ovos (27,8 %) de *M. javanica* em concentrações mais elevadas (30 mg/mL) que as observadas na maioria dos trabalhos aqui citados. Embora estes achados indiquem que o óleo essencial de *T. riparia* não apresenta atividade suficientemente elevada para ser utilizado para o controle efetivo de fitonematóides em agricultura, o trabalho reporta, pela primeira vez, a atividade do óleo desta espécie contra nematoides das galhas (*Meloidogyne* sp). Segundo nossos levantamentos bibliográficos, até a presente data, apenas um trabalho avaliou a atividade anti-helmíntica de um metabólito isolado de extratos de folhas de *T. riparia*, o composto 8(14), 15-sandaracopimaradieno-7 α , 18-diol. Entretanto, o composto foi avaliado apenas contra o nematoide de vida livre da espécie *Caenorhabditis elegans*. No trabalho citado foi comprovado atividade anti-helmíntica com $IC_{50} = 5,4 \pm 0,9$ µg /ml (VAN PUYVELDE *et al.*, 2018).

A maioria dos trabalhos sobre efeitos antinematóide de óleos essenciais atribui tal atividade, principalmente, à presença de terpenos. Ntalli *et al.*, (2010) avaliaram a atividade nematicida de óleos essenciais de 8 plantas diferentes e 13 componentes terpênicos contra *M. incognita* de forma individual. Dentre as espécies testadas, os óleos essenciais potentes foram de *Origanum vulgare* e *Origanum dictamnus* com valores de EC_{50} de 2,11, 1,55, 2,47 e 1,72 µL/mL, respectivamente, após 24 e 96 hrs. Os compostos oxigenados tiveram um desempenho melhor que os hidrocarbonetos quando testados individualmente, enquanto *L*-carvona,

pulegona, *trans*-anetol, eugenol e carvacrol tiveram 100% de imobilidade de J2 em 24 h, com concentrações de 239 a 533 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Os compostos *p*-cimeno, limoneno e β -cariofileno não chegaram a imobilizar 50% dos J2 com a maior concentração testada. Já os compostos geraniol, timol e terpinen-4-ol tiveram uma bioatividade moderada com paralisa de 100% de J2 em 24 h, nas concentrações de 439, 1000 e 969 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e valores de EC_{50} = 237, 390 e 392 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente.

Resultados anteriores demonstraram o efeito dos monoterpeinoides na mobilidade de J2 e eclosão de ovos. Dentre os 22 monoterpeinoides testados (nas concentrações de 250 e 500 mg/L), os compostos terpinen-4-ol, α -terpineol, citronelol, citral, carveol, borneol e geraniol foram os mais eficientes. Além disso, perceberam que compostos com grupos hidroxila ou carbonila foram mais potentes do que outros monoterpenos oxigenados. Por exemplo, o éter cíclico 1,8-cineol apresentou baixa atividade quando comparado com o α -terpineol, do qual é derivado, o que indica que o grupo funcional é muito importante para a atividade nematicida (Figura 14) (ECHEVERRIGARAY *et al.*, 2010).

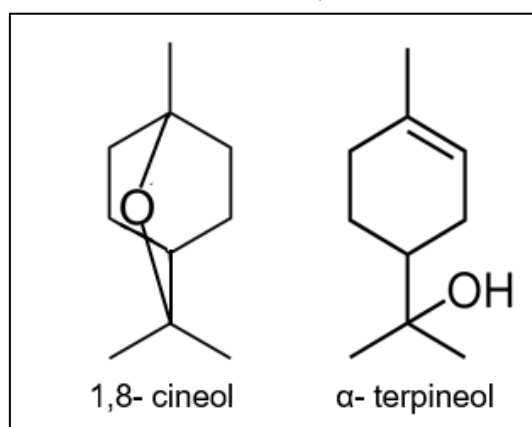


Figura 14 – Estrutura química dos compostos 1,8- cineol e α -terpineol.

Em relação aos compostos majoritários identificados no óleo essencial de *T. riparia* (fenchona, cânfora e β -cariofileno), estudos reportaram uma baixa atividade antinematode em comparação com outros compostos quando avaliados de forma individual, pois necessitaram de concentrações maiores para atingirem 50% de J2 imobilizados e inibição na eclosão de ovos de *M. incognita*. Entretanto, compostos minoritários como terpinen-4-ol e α -terpineol tiveram uma boa ação nematicida e o limoneno, em um dos trabalhos, teve porcentagem de eclosão de ovos em 28,6% (ABDEL RASOUL, 2013; ECHEVERRIGARAY, *et al.*, 2010; NTALLI, *et al.*, 2010).

Os óleo essenciais são constituídos por substâncias químicas complexas que podem interagir de forma sinérgica, aditiva e/ou antagônica, o que contribuem para suas atividades

biológicas que podem ser desempenhadas por seus componentes majoritários ou minoritários (LAHLOU, 2004; VERDEGUER, *et al.*, 2020). Além disso, a atividade biológica de um óleo essencial pode estar relacionada com a interação sinérgica entre os compostos inativos e ativos e que alguns embora não sejam ativos individualmente, a presença de todos os constituintes pode ser necessária para a toxicidade total do óleo essencial (JIANG, *et al.*, 2009).

Sendo assim, é possível que o óleo essencial de *Tetradenia riparia* possua componentes que, individualmente, possam apresentar boas atividades nematicidas e outros que não possuem efeitos expressivos. Também, a diferença na ação entre o óleo essencial extraído no inverno e na primavera pode estar relacionada com a diminuição e falta de compostos terpênicos importantes que tiveram ação nematicida reportada em outros trabalhos (por exemplo terpinen-4-ol e α -terpineol). Estes resultados poderão servir de ponto de partida para trabalhos futuros para a avaliação do efeito dos compostos identificados no óleo essencial de *T. riparia*, isoladamente, sobre a mobilidade de J2 e eclosão de ovos de nematoides das galhas.

5. CONCLUSÃO

Os óleos essenciais da planta *Tetradenia riparia* extraídos no inverno e na primavera apresentaram diferenças em sua composição química. Para o óleo extraído na primavera, foi observado um aumento na concentração dos compostos terpênicos majoritários e a presença de compostos com atividades nematicidas já relatadas na literatura. Foram obtidas frações do óleo essencial por cromatografia em coluna, sendo identificados os compostos majoritários fenchona, β -cariofileno e δ -cadineno. Alguns compostos majoritários não foram identificados por CG-EM. O fracionamento do óleo por cromatografia em coluna permitiu uma separação eficiente, levando à obtenção de algumas frações com elevado grau de pureza. Sendo confirmado que algum destes compostos não foi previamente identificado no óleo essencial desta espécie, o trabalho resultará em maior contribuição para a caracterização dos constituintes químicos produzidos pela planta. No caso de alguns destes compostos for inédito, uma contribuição substancialmente maior será dada à Química dos Produtos Naturais. Apesar dos resultados obtidos a respeito da atividade antinematóide do óleo essencial de *Tetradenia riparia* terem sido menos expressivos em comparação com outros relatados na literatura para ser indicado e explorado como possível nematicida natural, os resultados demonstraram um efeito sobre a imobilidade de J2 e eclosão dos ovos, o que contribui para a diminuição do parasitismo. Além disso, esse é o primeiro estudo realizado com o óleo essencial de *T. riparia* contra fitonematoides do gênero *Meloidogyne*. Em trabalhos posteriores os constituintes químicos de

algumas das frações obtidas poderão ser isolados por fracionamento subsequente ou recristalização, permitindo elucidar suas estruturas químicas. E poderão avaliar o potencial do óleo essencial e dos seus próprios constituintes em suas formas puras, para o controle de outros fitopatógenos, fitonematoides do gênero *Meloidogyne* e de outros gêneros de interesse agrícola.

REFERÊNCIAS

1. Abad, P., Gouzy, J., Aury, J.-M., Castagnone-Sereno, P., Danchin, E.G.J., Deleury, E., Perfus-Barbeoch, L., Anthouard, V., Artiguenave, F., Blok, V.C., Caillaud, M.-C., Coutinho, P.M., Dasilva, C., De Luca, F., Deau, F., Esquibet, M., Flutre, T., Goldstone, J.V., Hamamouch, N., Hewezi, T., Jaillon, O., Jubin, C., Leonetti, P., Magliano, M., Maier, T.R., Markov, G.V., McVeigh, P., Pesole, G., Poulain, J., Robinson-Rechavi, M., Sallet, E., Ségurens, B., Steinbach, D., Tytgat, T., Ugarte, E., van Ghelder, C., Veronico, P., Baum, T.J., Blaxter, M., Bleve-Zacheo, T., Davis, E.L., Ewbank, J.J., Favery, B., Grenier, E., Henrissat, B., Jones, J.T., Laudet, V., Maule, A.G., Quesneville, H., Rosso, M.-N., Schiex, T., Smant, G., Weissenbach, J., Wincker, P., 2008. **Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita***. *Nat Biotechnol* 26, 909–915.
<https://doi.org/10.1038/nbt.1482>

2. Abdel Rasoul, M., 2013. EVALUATION OF NEMATICIDAL EFFECTS OF MONOTERPENES AGAINST ROOT-KNOT NEMATODE, ***Meloidogyne incognita***. *Journal of Plant Protection and Pathology* 4, 445–456.
<https://doi.org/10.21608/jppp.2013.87391>

3. Ahmed, H.M., Al-Zubaidy, A.M.A., 2020. **Exploring natural essential oil components and antibacterial activity of solvent extracts from twelve *Perilla frutescens* L. Genotypes**. *Arabian Journal of Chemistry* 13, 7390–7402.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.08.016>

4. Aqeel, U., Aftab, T., Khan, M.M.A., Naeem, M., 2023. **Regulation of essential oil in aromatic plants under changing environment**. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 32, 100441.
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100441>

5. Araújo, L.L.N., Melo, H.C., Paula, J.R., Alves, F.R.R., Portes, T.A., 2018. **Yield and Composition of the Essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd (Lamiaceae)**

- Cultivated Under Different Shading Levels.** *Planta daninha* 36. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582018360100066>
6. Baidoo, R., Mengistu, T., Mcsorley, R., Stamps, R.H., Brito, J., Crow, W.T., 2017. **Management of Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) on *Pittosporum tobira* Under Greenhouse, Field, and On-farm Conditions in Florida.** *Journal of Nematology* 49, 133–139. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-057>
 7. BALLAGRO AGRO- TECNOLOGIA. **TARSSUS.** 2022. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_con. Acesso em: 17 de abr. 2023
 8. Baldin, V.P., Scodro, R.B. de L., Lopes-Ortiz, M.A., de Almeida, A.L., Gazim, Z.C., Ferarrese, L., Faiões, V. dos S., Torres-Santos, E.C., Pires, C.T.A., Caleffi-Ferracioli, K.R., Siqueira, V.L.D., Cortez, D.A.G., Cardoso, R.F., 2018. **Anti-Mycobacterium tuberculosis activity of essential oil and 6,7-dehydroroyleanone isolated from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae).** *Phytomedicine* 47, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.043>
 9. Barbary, A., Djian-Caporalino, C., Palloix, A., Castagnone-Sereno, P., 2015. **Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: from genes to the field: Host genetic resistance to root-knot nematodes in Solanaceae.** *Pest. Manag. Sci.* 71, 1591–1598. <https://doi.org/10.1002/ps.4091>
 10. Barros, A.F., Campos, V.P., de Paula, L.L., Oliveira, D.F., de Silva, F.J., Terra, W.C., Silva, G.H., Salimena, J.P., 2019. **Nematicidal screening of essential oils and potent toxicity of *Dysphania ambrosioides* essential oil against *Meloidogyne incognita* in vitro and in vivo.** *J Phytopathol* 167, 380–389. <https://doi.org/10.1111/jph.12803>
 11. Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., Kaur, S., 2008. **Eucalyptus essential oil as a natural pesticide.** *Forest Ecology and Management* 256, 2166–2174. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>
 12. Bhowmik, B., Ghosh, S., Dutta, S., Dey, B., 2021. **NEMATICIDAL EFFICIENCY OF SOME ETHNOMEDICINAL PLANTS AGAINST *Meloidogyne incognita*: A**

- REVIEW 10.** UTTAR PRADESH JOURNAL OF ZOOLOGY. 42(24): 1021-1029.
Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Shubham-Ghosh-2/publication/359155725_NEMATICIDAL_EFFICIENCY_OF_SOME_ETHNOMEDICINAL_PLANTS_AGAINST_Meloidogyne_incognita_A_REVIEW/links/622aae4ba39db062db9204a9/NEMATICIDAL-EFFICIENCY-OF-SOME-ETHNOMEDICINAL-PLANTS-AGAINST-Meloidogyne-incognita-A-REVIEW.pdf.
Acesso em: 17 out. 2022.
13. BIOEXOS- TOTAL BIOTECNOLOGIA INDÚSTRIA E COMÉRCIO S/A.
Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: 21 out. 2022
14. Bilgrami, A.L, Gaugler, R., 2004. **Feeding Behaviour**. Nematode Behaviour. 91-126. CAB International. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/263424641_Feeding_Behavior. Acesso em: 05 jun. 2023
15. Blythe, E.K., Tabanca, N., Demirci, B., Kendra, P.E., 2020. **Chemical Composition of Essential Oil From *Tetradenia riparia* and Its Attractant Activity for Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata***. Natural Product Communications 15, 1934578X2095395. <https://doi.org/10.1177/1934578X20953955>
16. BIOEXOS- TOTAL BIOTECNOLOGIA INDÚSTRIA E COMÉRCIO S/A.
Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: 21 out. 2022
17. BRASIL - PORTARIA Nº52, DE 15 DE MARÇO DE 2021. 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-52-de-15-de-marco-de-2021-310003720>. Acesso em: 16 mar. 2023
18. BROMISA INDUSTRIAL E COMERCIAL LTDA. **BROMETILA**. 2020.
Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: 18 out. 2022.
19. Bustamante, M.Á., Michelozzi, M., Barra Caracciolo, A., Grenni, P., Verbokkem, J., Geerdink, P., Safi, C., Nogues, I., 2020. **Effects of Soil Fertilization on Terpenoids**

- and Other Carbon-Based Secondary Metabolites in Rosmarinus officinalis Plants: A Comparative Study.** *Plants* 9, 830. <https://doi.org/10.3390/plants9070830>
20. Campbell, W.E., Gammon, D.W., Smith, P., Abrahams, M., Purves, T.D., 1997. **Composition and Antimalarial Activity in Vitro of the Essential Oil of Tetradenia riparia.** *Planta Medica*. 63, 270—272. doi:10.1055/s-2006-957672
21. Cardoso, B.M., Mello, T.F.P. de, Lopes, S.N., Demarchi, I.G., Lera, D.S.L., Pedroso, R.B., Cortez, D.A., Gazim, Z.C., Aristides, S.M.A., Silveira, T.G.V., Lonardoni, M.V.C., 2015. **Antileishmanial activity of the essential oil from Tetradenia riparia obtained in different seasons.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110, 1024–1034. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150290>
22. Charchar, M.J., Eisenback, J., Boiteux, M.E., Charchar, J., 2008. **Meloidogyne phaseoli n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitising bean in Brazil.** *Nematol* 10, 525–538. <https://doi.org/10.1163/156854108784513842>
23. Codd, L.E., 1983. **The genus Tetradenia Benth. (Lamiaceae).** I. African species. *Bothalia* 14, 177–183. <https://doi.org/10.4102/abc.v14i2.1156>
24. Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M., 2011. **Root-knot nematode (Meloidogyne) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis.** *Crop Protection* 30, 1251–1262. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.016>
25. Dutta, A., Mandal, A., Kundu, A., Malik, M., Chaudhary, A., Khan, M.R., Shanmugam, V., Rao, U., Saha, S., Patanjali, N., Kumar, R., Kumar, A., Dash, S., Singh, P.K., Singh, A., 2021. **Deciphering the Behavioral Response of Meloidogyne incognita and Fusarium oxysporum Toward Mustard Essential Oil.** *Front. Plant Sci.* 12, 714730. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.714730>

26. Echeverrigaray, S., Zacaria, J., Beltrão, R., 2010. **Nematicidal Activity of Monoterpenoids Against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita***. *Phytopathology*® 100, 199–203. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-2-0199>
27. Edris, A.E., Farrag, E.S., 2003. **Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase**. *Nahrung* 47, 117–121. <https://doi.org/10.1002/food.200390021>
28. Elling, A.A., 2013. **Major Emerging Problems with Minor *Meloidogyne* Species**. *Phytopathology*® 103, 1092–1102. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW>
29. Epule, E.T., Bryant, C.R., Akkari, C., Daouda, O., 2015. **Can organic fertilizers set the pace for a greener arable agricultural revolution in Africa? Analysis, synthesis and way forward**. *Land Use Policy* 47, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2015.01.033>
30. Fernandez, A.C.A.M., Rosa, M.F., Fernandez, C.M.M., C. Bortolucci, W., Melo, U.Z., Siqueira, V.L.D., Cortez, D.A.G., Gonçalves, J.E., Linde, G.A., Gazim, Z.C., 2017. **Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Extract and Fractions of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) Leaves from Brazil**. *Curr Microbiol* 74, 1453–1460. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1340-9>
31. Fernandez, C.M.M., Barba, E.L., Fernandez, A.C.M., Cardoso, B.K., Borges, I.B., Takemura, O.S., Martins, L. de A., Cortez, L.E.R., Cortez, D.A.G., Gazim, Z.C., 2014. **Larvicidal Activity of Essential Oil from *Tetradenia riparia* to Control of *Aedes aegypti* Larvae in Function of Season Variation**. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 17, 813–823. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.892841>
32. FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. L.C.C.B. Ferraz e D.J.F. Brown (Orgs.). Manaus: NORMA EDITORA, 2016.

33. Flamini, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Bader, A., 2007. **Essential oils of the aerial parts of three Salvia species from Jordan: Salvia lanigera, S. spinosa and S. syriaca.** Food Chemistry 100, 732–735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.032>
34. Fourie, H., De Waele, D., Mc Donald, † Alexander H., Mienie, C., Marais, M., De Beer, A., 2015. **Nematode pests threatening soybean production in South Africa, with reference to Meloidogyne.** S. Afr. J. Sci. 111, 9. <https://doi.org/10.17159/sajs.2015/20140212>
35. Gazim, Z., Rodrigues, F., Amorin, A., Rezende, C., Soković, M., Tešević, V., Vučković, I., Krstić, G., Cortez, L., Colauto, N., Linde, G., Cortez, D., 2014. **New Natural Diterpene-Type Abietane from Tetradenia riparia Essential Oil with Cytotoxic and Antioxidant Activities.** Molecules 19, 514–524. <https://doi.org/10.3390/molecules19010514>
36. Gazim, Z.C., Amorim, A.C.L., Hovell, A.M.C., Rezende, C.M., Nascimento, I.A., Ferreira, G.A., Cortez, D.A.G., 2010. **Seasonal Variation, Chemical Composition, and Analgesic and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from Leaves of Tetradenia riparia (Hochst.) Codd in Southern Brazil.** Molecules 15, 5509–5524. <https://doi.org/10.3390/molecules15085509>
37. Gazim, Z.C., Demarchi, I.G., Lonardon, M.V.C., Amorim, A.C.L., Hovell, A.M.C., Rezende, C.M., Ferreira, G.A., de Lima, E.L., de Cosmo, F.A., Cortez, D.A.G., 2011. **Acaricidal activity of the essential oil from Tetradenia riparia (Lamiaceae) on the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari; Ixodidae).** Experimental Parasitology 129, 175–178. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.06.011>
38. Hess, S.C., Nodari, R.O., Lopes-Ferreira, M., 2021. **Agrotóxicos: críticas à regulação que permite o envenenamento do país.** Desenvolv. Meio Ambiente 57. <https://doi.org/10.5380/dma.v57i0.76169>
39. IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS. Relatórios de comercialização de agrotóxicos (Boletim 2021).

- Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 17 de abr. 2023
40. Jamloki, A., Bhattacharyya, M., Nautiyal, M.C., Patni, B., 2021. **Elucidating the relevance of high temperature and elevated CO₂ in plant secondary metabolites (PSMs) production.** *Heliyon* 7, e07709.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07709>
41. Jiang, Z., Akhtar, Y., Bradbury, R., Zhang, X., Isman, M.B., 2009. **Comparative Toxicity of Essential Oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and Blends of Their Major Constituents against the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni*.** *J. Agric. Food Chem.* 57, 4833–4837. <https://doi.org/10.1021/jf900274r>
42. Johnsen, L.G., Skou, P.B., Khakimov, B., Bro, R., 2017. **Gas chromatography – mass spectrometry data processing made easy.** *Journal of Chromatography A* 1503, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.04.052>
43. Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G.J., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G.K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M.L., Perry, R.N., 2013. **Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology: Top 10 plant-parasitic nematodes.** *Molecular Plant Pathology* 14, 946–961.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
44. Kalaiselvi, D., Mohankumar, A., Shanmugam, G., Thirupathi, G., Nivitha, S., Sundararaj, P., 2019. **Altitude-related changes in the phytochemical profile of essential oils extracted from *Artemisia nilagirica* and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognita*.** *Industrial Crops and Products* 139, 111472.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111472>
45. Lahlou, M., 2004. **Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils.** *Phytother. Res.* 18, 435–448. <https://doi.org/10.1002/ptr.1465>

46. Laosinwattana, C., Wichittrakarn, P., Teerarak, M., 2018. **Chemical composition and herbicidal action of essential oil from *Tagetes erecta* L. leaves.** *Industrial Crops and Products* 126, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.013>
47. Lokanadhan, S., Muthukrishnan, P., Jeyaraman, S. 2012. **Neem products and their agricultural applications.** *JBiopest.* 5, 72-76. Disponível em: http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/vol_5_0_72_76f.pdf. Acesso em: 24 out. 2022.
48. MACHADO, A.C.Z., SILVA, S.A., FERRAZ, L.C.C.B., **Métodos em nematologia agrícola.** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2019.
49. Martins, M. B. G.; Martins, R. G. M.; Cavaleiro, J. A. Histoquímica e atividade antibacteriana de folhas do incenso (*Tetradenia riparia*). 2009. *Revista Biociências.* v.14, n. 2. 127-140. Disponível em: <http://periodicos.unitau.br/ojs/index.php/biociencias/article/view/558>. Acesso em: 15 de out. 2022
50. Magalhães, P.R., Café, F.B. da S., Souza Junior, F.J.C. de, Mesquita, R.O., Santos, C.D.G., 2021. **Effect of salt stress on the parasitism of *Meloidogyne enterolobii* in cowpea.** *RSD* 10, e358101018967. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18967>
51. MAPA- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Orgânicos Contribuem para inovação da produção agropecuária nacional.** Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/organicos-contribuem-para-inovacao-da-producao-agropecuaria-nacional>. Acesso em: 16. março 2023.
52. Meyer, S.L., Lakshman, D.K., Zasada, I.A., Vinyard, B.T., Chitwood, D.J., 2008. **Dose-response effects of clove oil from *Syzygium aromaticum* on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*: Nematicidal effects of clove oil.** *Pest. Manag. Sci.* 64, 223–229. <https://doi.org/10.1002/ps.1502>

53. Monson, R.K., Grote, R., Niinemets, Ü., Schnitzler, J., 2012. **Modeling the isoprene emission rate from leaves**. *New Phytologist* 195, 541–559.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04204.x>
54. Nguyen, L.T.T., Jang, J.Y., Kim, T.Y., Yu, N.H., Park, A.R., Lee, S., Bae, C.-H., Yeo, J.H., Hur, J.-S., Park, H.W., Kim, J.-C., 2018. **Nematicidal activity of verrucarin A and roridin A isolated from *Myrothecium verrucaria* against *Meloidogyne incognita***. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 148, 133–143.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.04.012>
55. Ntalli, N.G., Ferrari, F., Giannakou, I., Menkissoglu-Spiroudi, U., 2010. **Phytochemistry and Nematicidal Activity of the Essential Oils from 8 Greek Lamiaceae Aromatic Plants and 13 Terpene Components**. *J. Agric. Food Chem.* 58, 7856–7863. <https://doi.org/10.1021/jf100797m>
56. Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z., Spiegel, Y., 2000. **Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components Against the Root-Knot Nematode**. *Phytopathology*® 90, 710–715.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.7.710>
57. Omolo, M.O., Okinyo, D., Ndiege, I.O., Lwande, W., Hassanali, A., 2004. **Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae***. *Phytochemistry* 65, 2797–2802. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.08.035>
58. Opperman, C.H., Chang, S. 1990. **Plant-parasitic Nematode Acetylcholinesterase Inhibition by Carbamate and Organophosphate Nematicides**. *Journal of Nematology*. 22(4):481-488. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2619087/>. Acesso em: 19 out. 2022.
59. Palomares-Rius, J.E., Escobar, C., Cabrera, J., Vovlas, A., Castillo, P., 2017. **Anatomical Alterations in Plant Tissues Induced by Plant-Parasitic Nematodes**. *Front. Plant Sci.* 8, 1987. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01987>

60. Peng, X., Lei, C., Sun, X., 2021. **Comparison of Lethal Doses Calculated Using Logit/ Probit–Log(Dose) Regressions With Arbitrary Slopes Using R**. Journal of Economic Entomology. 114(3): 1345–1352. <https://doi.org/10.1093/jee/toab044>
61. Perry, R. N., Moens, M. (2011). **Introduction to Plant-Parasitic Nematodes; Modes of Parasitism**. Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions, 3–20. doi:10.1007/978-94-007-0434-3_1
62. Qiao, K., Liu, X., Wang, H., Xia, X., Ji, X., Wang, K., 2012. **Effect of abamectin on root-knot nematodes and tomato yield: Nematode control using abamectin**. Pest. Manag. Sci. 68, 853–857. <https://doi.org/10.1002/ps.2338>
63. Rana, J., Paul, J., 2017. **Consumer behavior and purchase intention for organic food: A review and research agenda**. Journal of Retailing and Consumer Services 38, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.jretconser.2017.06.004>
64. Reyes, E.I.M., Farias, E.S., Silva, E.M.P., Filomeno, C.A., Plata, M.A.B., Picanço, M.C., Barbosa, L.C.A., 2019. **Eucalyptus resinifera essential oils have fumigant and repellent action against Hypothenemus hampei**. Crop Protection 116, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.09.018>
65. Ripley, B., Venables, B., Bates, D. M., Hornik, K., Gebhardt, A., Firth., D., 2023. **Support Functions and Datasets for Venables and Ripley's MASS**. CRAN. Disponível em: <http://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>.
66. Saucet, S.B., Van Ghelder, C., Abad, P., Duval, H., Esmenjaud, D., 2016. **Resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in woody plants**. New Phytol 211, 41–56. <https://doi.org/10.1111/nph.13933>
67. SEER; DIRPF; CGAA; DSV; DAS; MAPA. **Produtos Fitossanitários com uso Aprovado para a Agricultura Orgânica Registrados**. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/produtos-fitossanitarios/copy8_of_ProdutosFitossanitrioscomusoAprovadoparaaAgriculturaOrganicaRegistradosatualizadoem5.04.2022.pdf. Acesso em: 20 out. 2022

68. Siddiqui, M.A., 2005. **Population changes of nematodes associated with *Citrus reticulata* and *Citrus aurantifolia*** . Archives Of Phytopathology And Plant Protection 38, 165–173. <https://doi.org/10.1080/03235400500094316>
69. Song, H.S., Sawamura, M., Ito, T., Kawashimo, K., Ukeda, H., 2000. **Quantitative determination and characteristic flavour of Citrus junos (yuzu) peel oil**. Flavour Fragr. J. 15, 245–250. [https://doi.org/10.1002/1099-1026\(200007/08\)15:4<245::AID-FFJ904>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1099-1026(200007/08)15:4<245::AID-FFJ904>3.0.CO;2-V)
70. SYNGENTA. **Pesquisa inédita revela mapa de crescimento e danos econômicos causados por nematoides e doenças iniciais nas principais culturas no Brasil**. 2022. Disponível em: <https://www.syngenta.com.br/press-release/institucional/pesquisa-inedita-revela-mapa-de-crescimento-e-danos-economicos-causados#:~:text=Soja%2C%20milho%2C%20algod%C3%A3o%2C%20cana,cada%2010%20safras%20do%20gr%C3%A3o>. Acesso em: 4 out. 2022.
71. Van Puyvelde L., Nyirankuliza S., Panebianco R., Boily Y., Geizer I., Sebikali B., Kimpe, N. de; Schamp, N. (1986). **Active Principles of Tetradenia Riparia. I. Antimicrobial Activity of 8(14),15-sandaracopimaradiene-7 Alpha,18-Diol**. J. Ethnopharmacol. 17 (3), 269–275. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(86\)90115-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(86)90115-7)
72. Van Puyvelde, L., Liu, M., Veryser, C., De Borggraeve, W.M., Mungarulire, J., Mukazayire, M.J., Luyten, W., 2018. **Active principles of Tetradenia riparia . IV. Anthelmintic activity of 8(14),15-sandaracopimaradiene-7 α ,18-diol**. Journal of Ethnopharmacology 216, 229–232. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.01.024>
73. Verdeguer, M., Sánchez-Moreiras, A.M., Araniti, F., 2020. **Phytotoxic Effects and Mechanism of Action of Essential Oils and Terpenoids**. Plants 9, 1571. <https://doi.org/10.3390/plants9111571>
74. Weyerstahl, P., Marschall, H., Splittgerber, U., Wolf, D., Surburg, H., 2000. **Constituents of Haitian vetiver oil**. Flavour Fragr. J. 15, 395–412. [https://doi.org/10.1002/1099-1026\(200011/12\)15:6<395::AID-FFJ930>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1099-1026(200011/12)15:6<395::AID-FFJ930>3.0.CO;2-9)

75. Zellner, B. d'Acampora, Bicchi, C., Dugo, P., Rubiolo, P., Dugo, G., Mondello, L., 2008. **Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review**. *Flavour Fragr. J.* 23, 297–314. <https://doi.org/10.1002/ffj.1887>

APÊNDICE A

Cromatogramas das frações obtidas do fracionamento do óleo essencial de *Tetradenia riparia*

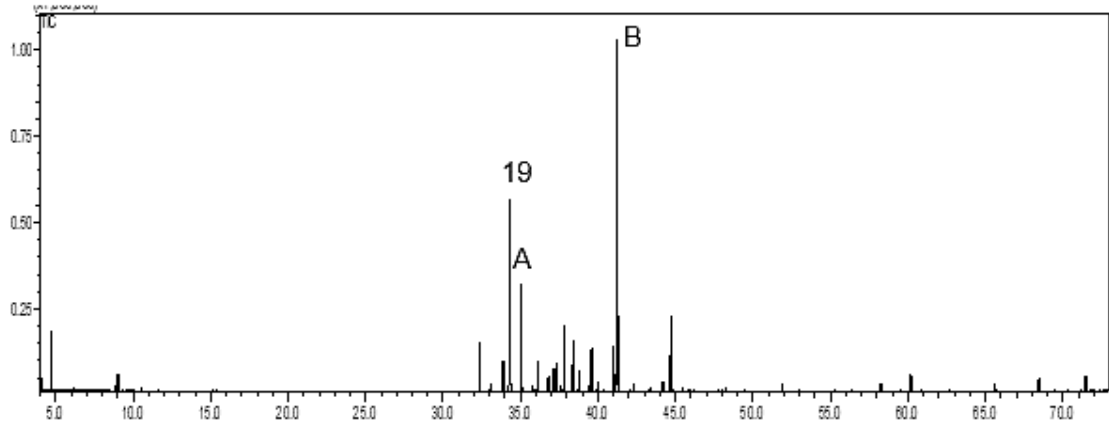


Figura 15 – Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 1. (A): α - Bergamoteno; (B): Óxido de Cariofileno. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

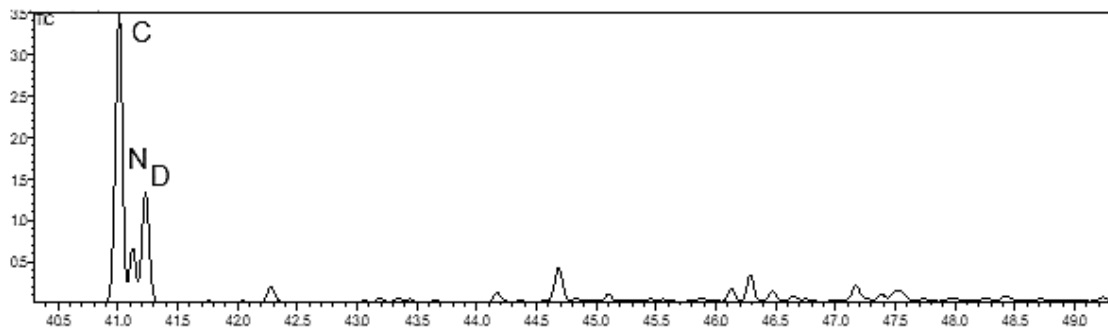


Figura 16- Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 2. (C): Espatuleno; (N): Não identificado; (D): Óxido de Cariofileno

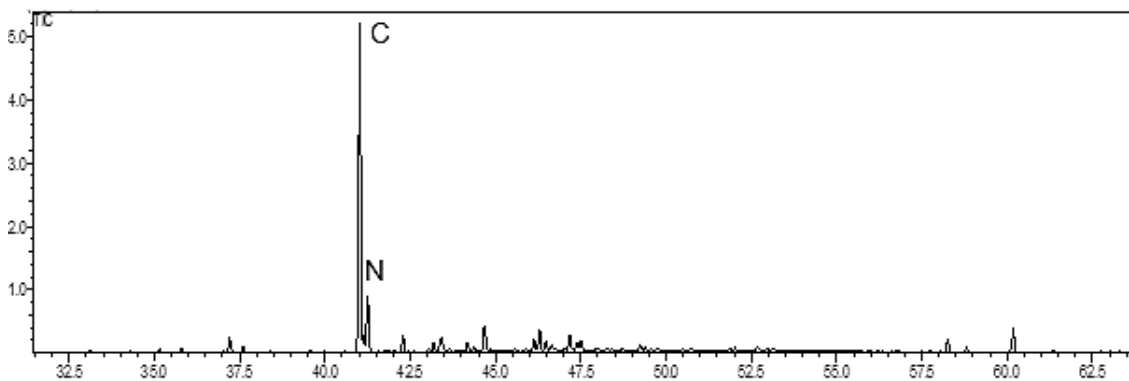


Figura 17 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 3. (C): Espatuleno; (N): Não identificado.

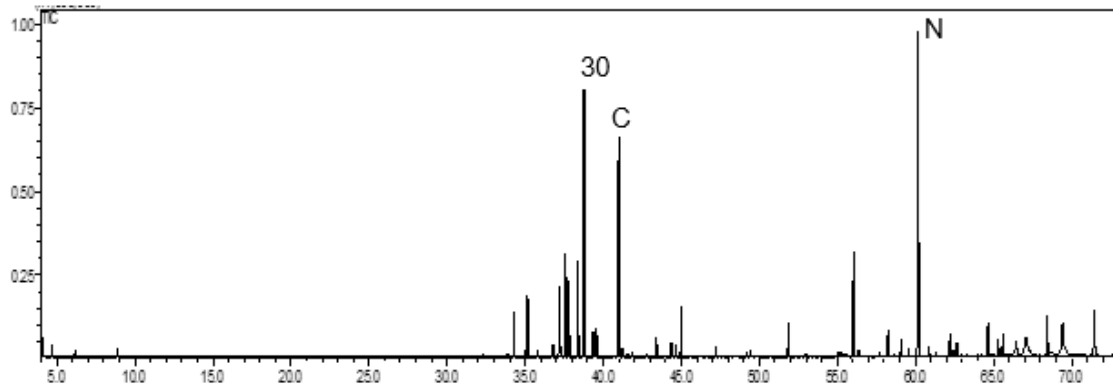


Figura 18 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 4. (C): Espatulenoil; (N): Não identificado. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

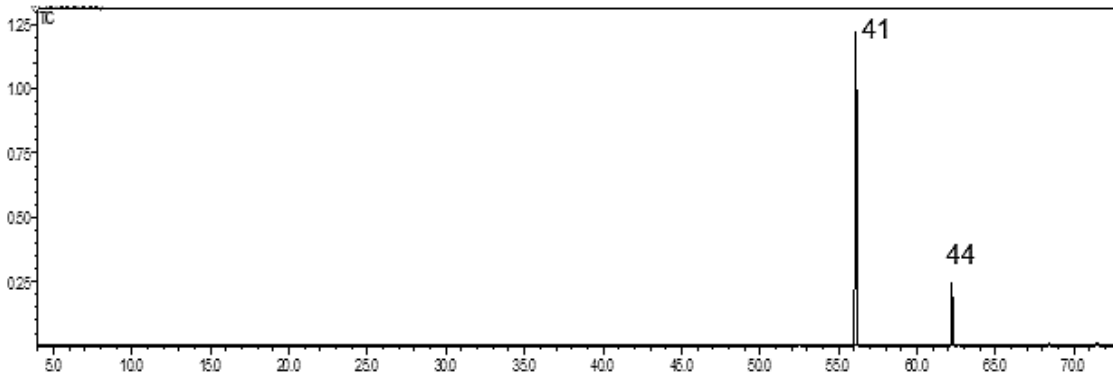


Figura 19 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 5. Os números dos compostos referem-se aos relatados na Tabela 1.

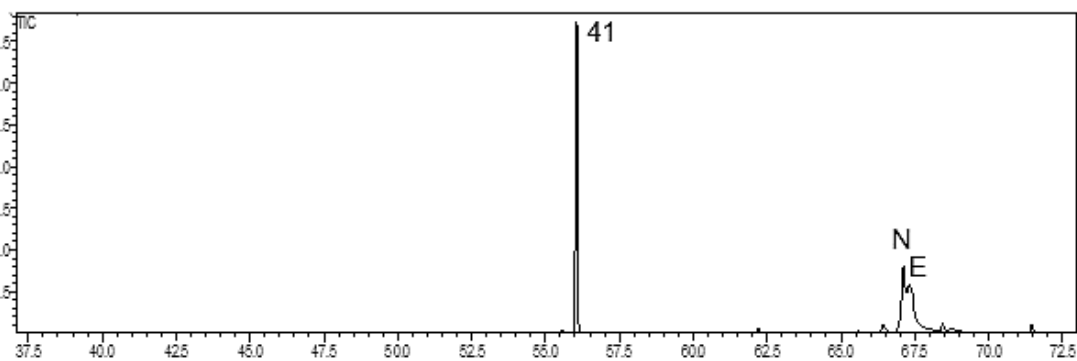


Figura 20 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 6. (N): Não identificado; (E): Dotriacontano. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

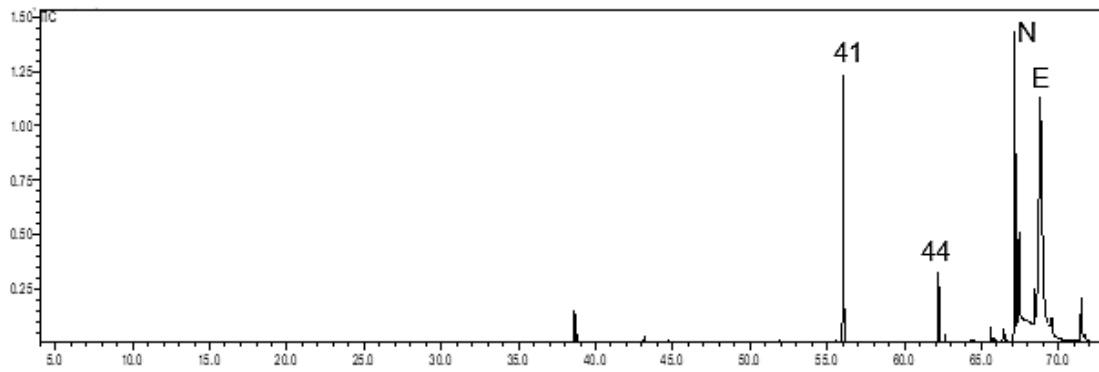


Figura 21 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 7. (N): Não identificado; (E): Dotriacontano. Os números dos compostos referem-se aos relatados na Tabela 1.

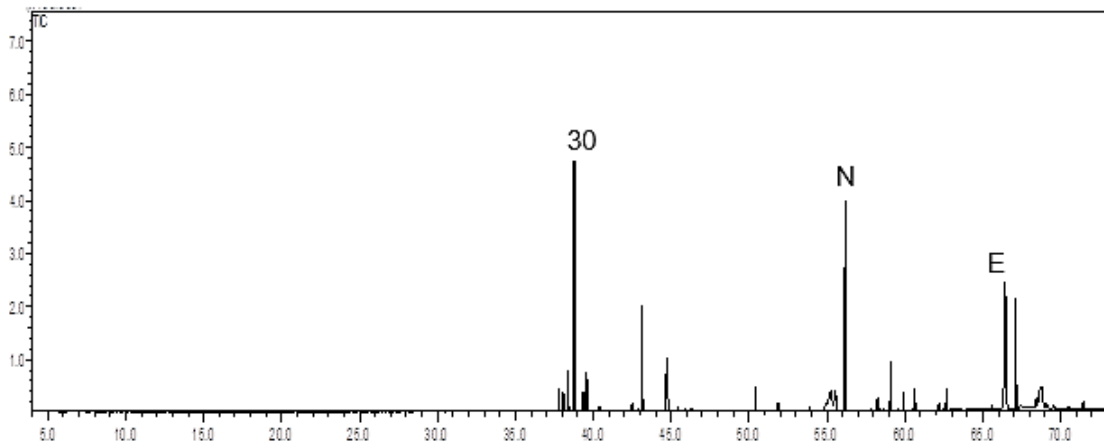


Figura 22 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 8. (N): Não identificado; (E): Dotriacontano. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

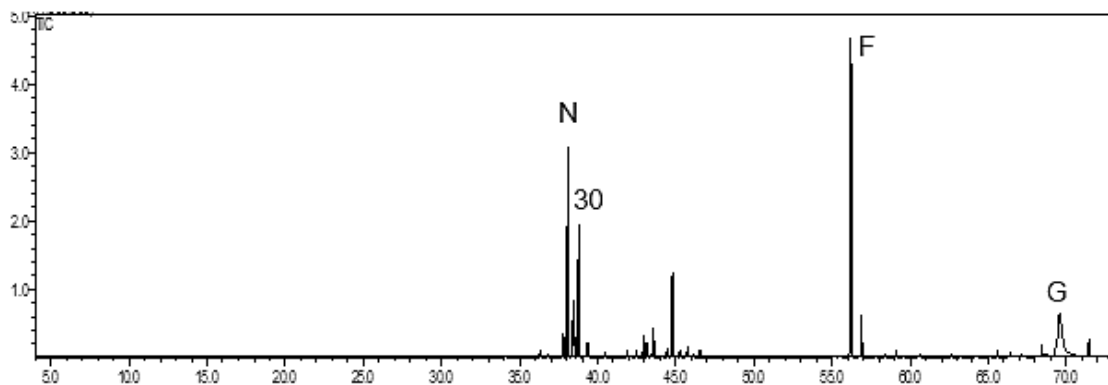


Figura 23 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 9. (N): Não identificado; (F): Óxido de Manóila; (G): Tetrapentacontano. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

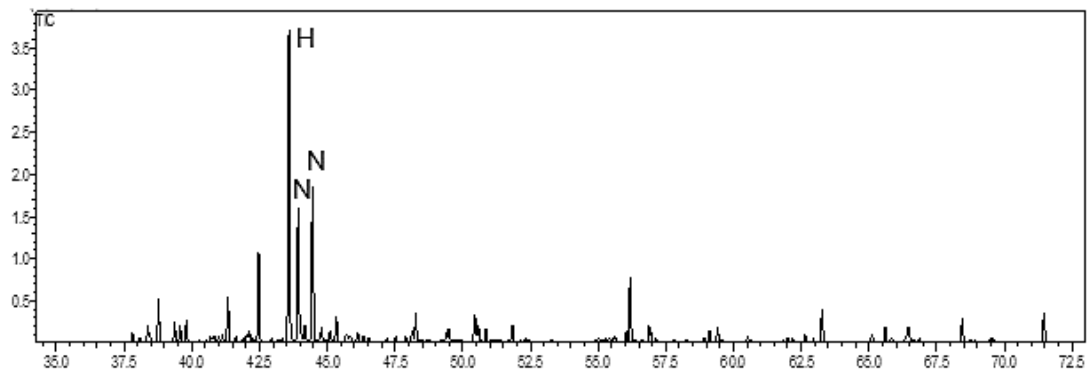


Figura 24 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 10. (N): Não identificado; (H): Humulano-1,6-dien-3-ol.

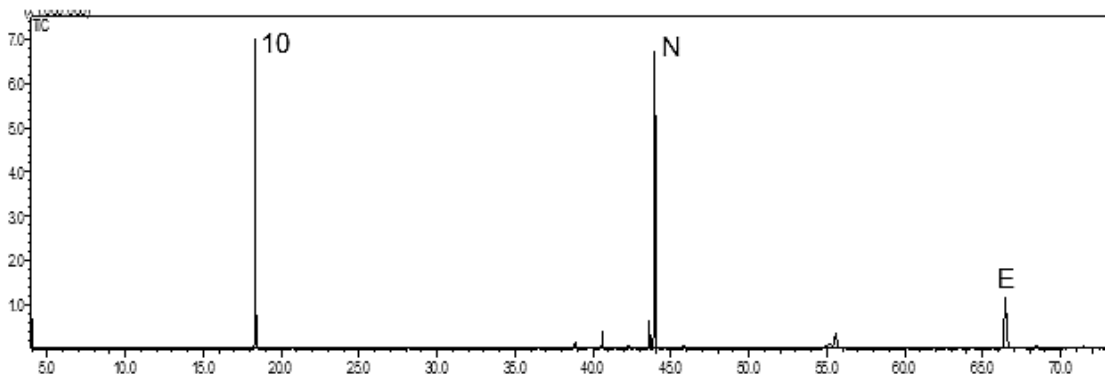


Figura 25 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 11. (N): Não identificado; (E): Dotriacontano. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

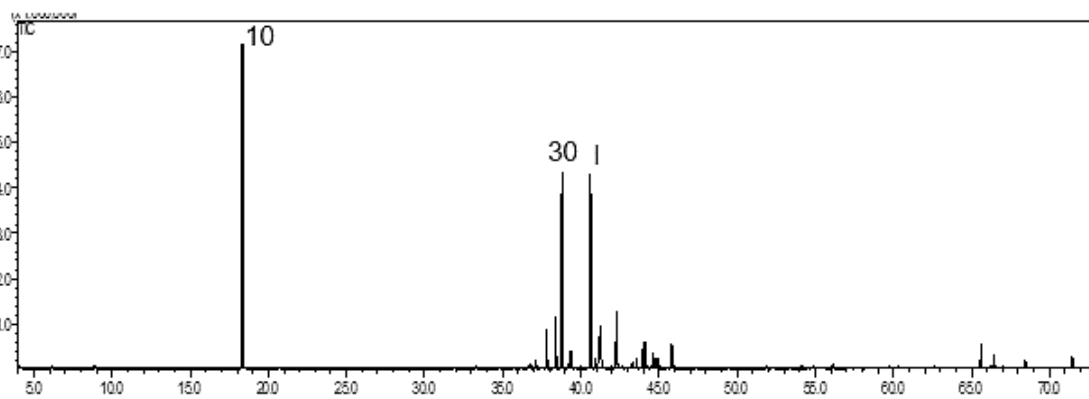


Figura 26 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 12. (I): Palustrol. Os números dos compostos referem-se aos relatados na Tabela 1.

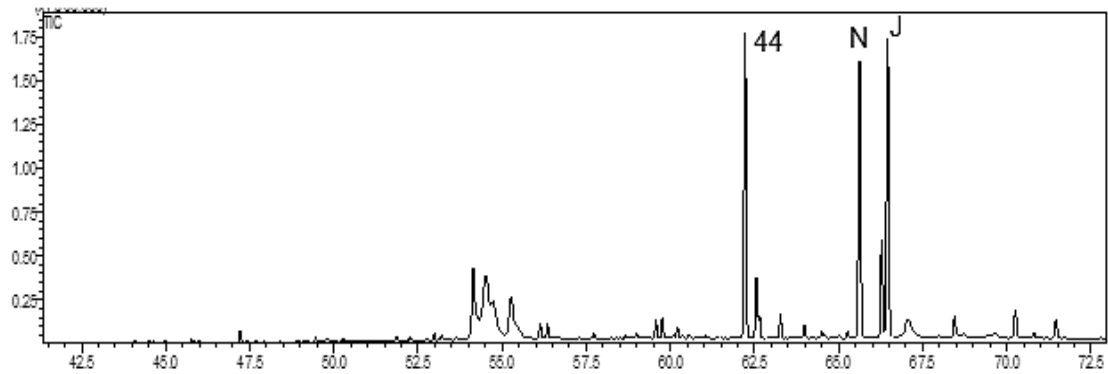


Figura 27 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 13. (N): Não Identificado; (J): Ferruginol. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

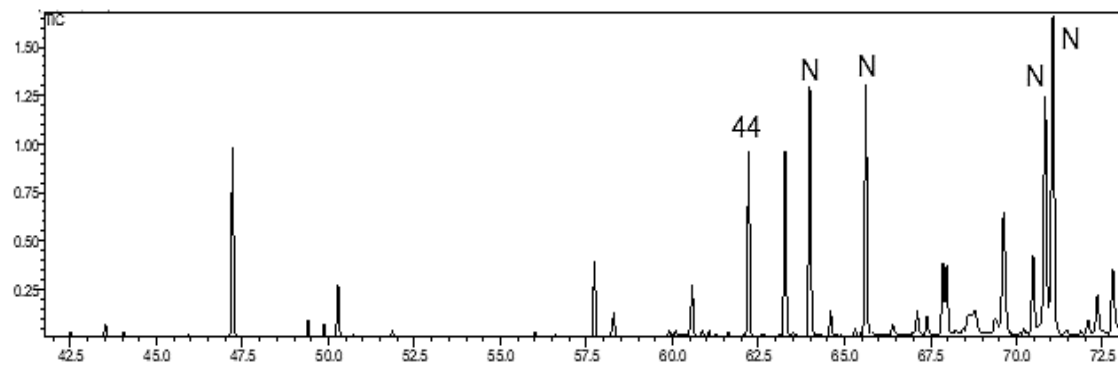


Figura 28 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 14. (N): Não Identificado. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

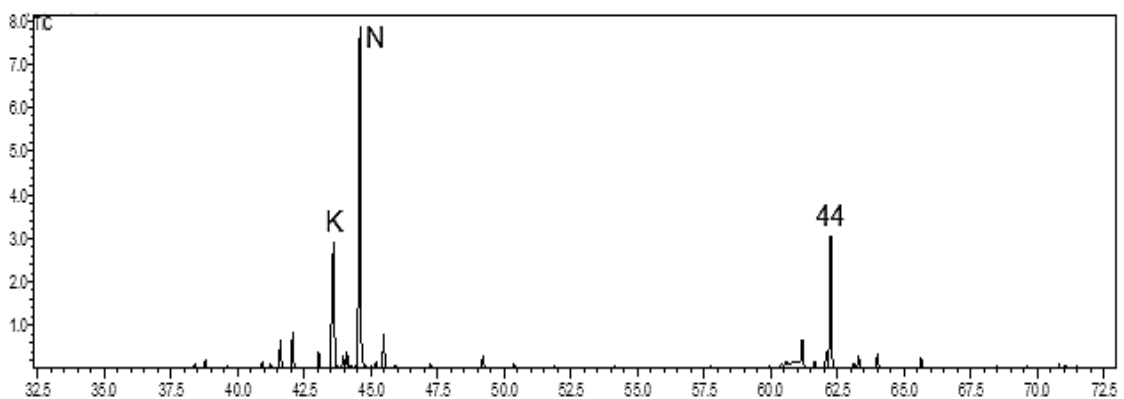


Figura 29 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 16. (K): δ -Cadinol; (N): Não Identificado. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

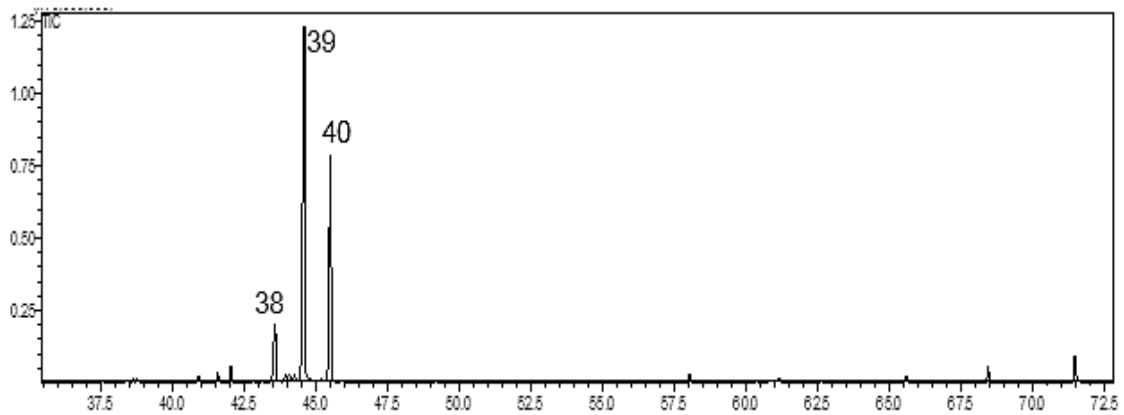


Figura 30 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 17. Os números dos compostos referem-se aos relatados na Tabela 1.

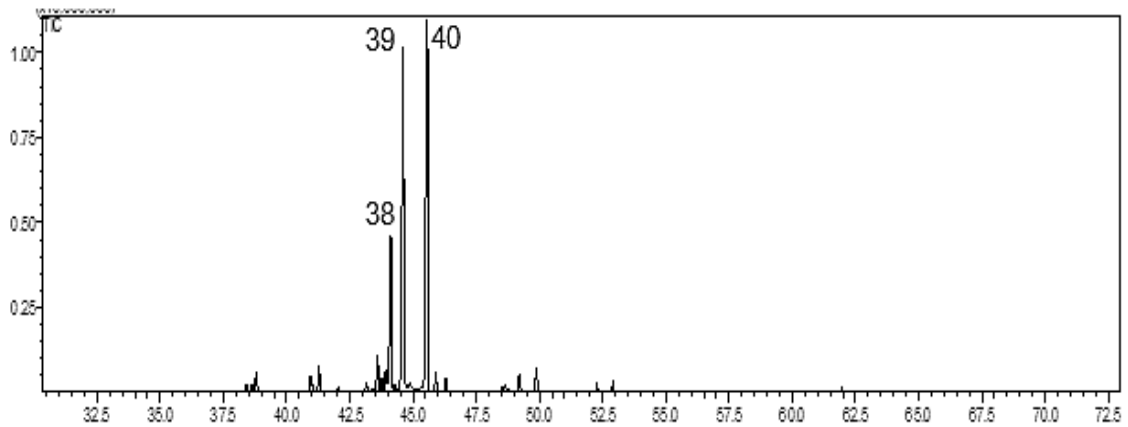


Figura 31 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 18. Os números dos compostos referem-se aos relatados na Tabela 1.

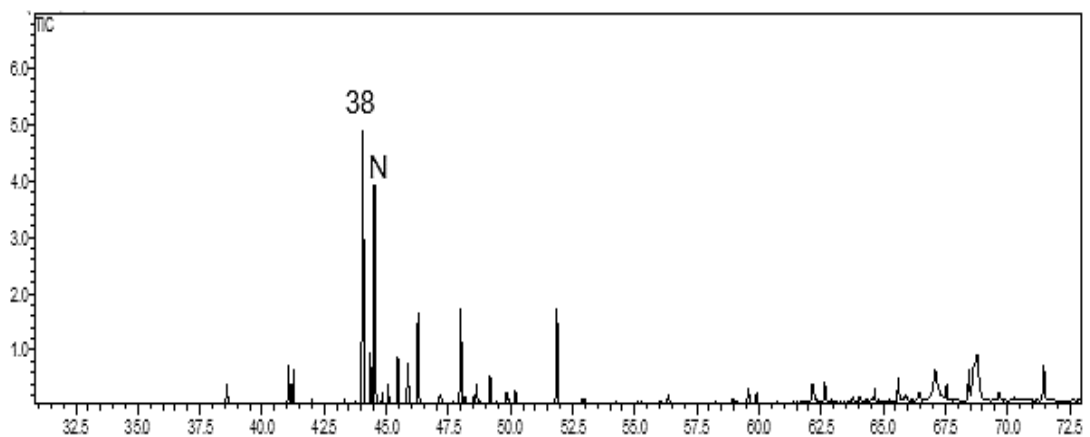


Figura 32 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 19. (N): Não identificado. O número do composto refere-se ao relatado na Tabela 1.

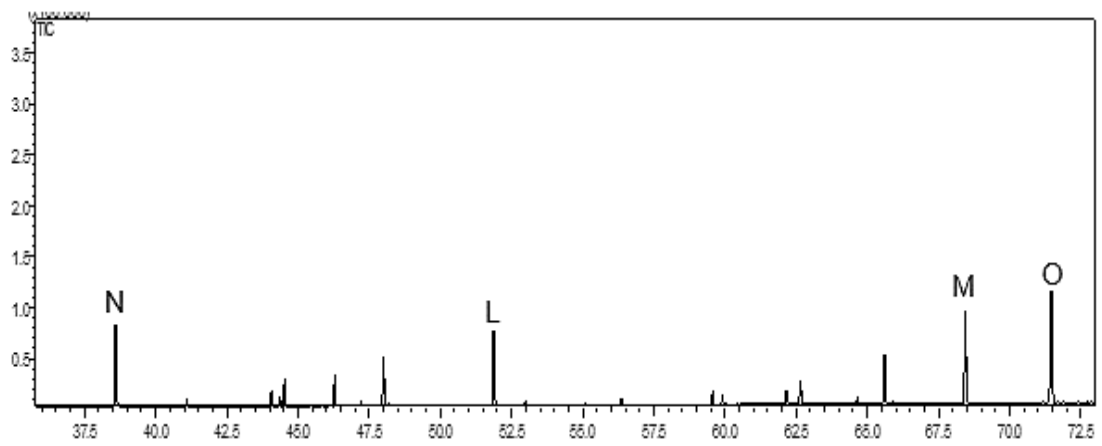


Figura 33 - Cromatograma de íons totais (TIC) da Fração 20. (N): Não identificado; (L): Diisobutil ftalato; (M): Heneicosano; (O): 2- Metiloctacosano