

DEISY XAVIER AMORA

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE
Meloidogyne javanica EM TOMATEIRO**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A524p
2010

Amora, Deisy Xavier, 1982-
Potencial de óleos essenciais no controle de
Meloidogyne javanica em tomateiro / Deisy Xavier Amora.
– Viçosa, MG, 2010.
viii, 38f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Silamar Ferraz.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 30-38.

1. Essências e óleos essenciais. 2. *Meloidogyne javanica* -
Controle. 3. Tomate - Doenças e pragas - Controle.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 632.6257

DEISY XAVIER AMORA

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE
Meloidogyne javanica EM TOMATEIRO**

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

Aprovada em: 23 de fevereiro de 2010.

Prof. Everaldo Antônio Lopes
(Coorientador)

Prof. Leandro Grassi de Freitas
(Coorientador)

Dr. Hudson Teixeira

Prof. Luiz Antônio Maffia

Prof. Silamar Ferraz
(Orientador)

“Existe uma única estrada e somente uma, e essa é a estrada que eu amo. Eu a escolhi. Quando trilho nessa estrada as esperanças brotam, e, o sorriso se abre em meu rosto. Dessa estrada nunca, jamais fugirei.”

(Daisaku Ikeda)

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante o curso.

Ao professor Silamar Ferraz, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos, pelo respeito e pela paciência durante todos estes anos, desde a iniciação científica.

Ao Dr. Everaldo Antônio Lopes, pela amizade e por todos os ensinamentos e conselhos ao longo destes anos no laboratório de Nematologia.

Ao Professor Luis Antônio Maffia e ao Dr. Hudson Teixeira pelas valiosas contribuições para melhoria do trabalho.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos transmitidos.

Aos amigos e colegas do laboratório de Nematologia, Wânia, Rosângela, Ronaldo, Déborah, Érica, Murilo, Marilene, Vanessa e Alessandro, pelo convívio, pela amizade, pelas colaborações e pelas alegrias, no trabalho ou nas festas do laboratório. E um agradecimento especial ao Guilherme, Leonardo, Fernanda e Paulo Afonso, por toda ajuda que me deram sempre que precisei.

Aos meus pais José Egídio Amora e Maria das Graças Xavier Amora e à minha irmã Denise Xavier Amora pelo amor, carinho, compreensão, e apoio incondicional.

À Cristina, Ana Paula, Susana, Isabel, Eduardo, Roque, Filipe, Marcela e Ana Bárbara, por serem a minha família viçosense.

Aos funcionários das casas de vegetação pelos serviços prestados.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, em especial ao Délio, por todas as informações e pela gentileza com que sempre me trataram.

Aos meus colegas do Departamento, principalmente aqueles que conseguiram transformar coleguismo em amizade.

A todos que, diretamente ou indiretamente, contribuíram por mais esta conquista.

BIOGRAFIA

DEISY XAVIER AMORA, filha de José Egídio Amora e Maria das Graças Xavier Amora, nasceu em 12 de março de 1982, no Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Em janeiro de 2008 graduou-se em Agronomia, pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais – Brasil. Em março de 2008 ingressou no curso de Mestrado em Fitopatologia nessa mesma universidade.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
MATERIAL E MÉTODOS.....	6
EXPERIMENTOS <i>IN VITRO</i>	6
Obtenção e preparo das soluções dos óleos essenciais.	7
Efeito de óleos essenciais na eclosão de J ₂ de <i>Meloidogyne javanica</i>	7
Efeito de óleos essenciais na mortalidade de J ₂ de <i>Meloidogyne javanica</i>	8
EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	9
Preparo das mudas	9
Preparo do solo	10
Multiplicação e preparo do inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i>	10
Pulverização dos óleos essenciais em folhas de tomateiro.....	10
Aplicação dos óleos essenciais no solo	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
EXPERIMENTOS <i>IN VITRO</i>	13
Efeito de óleos essenciais na eclosão de J ₂ de <i>M. javanica</i>	13
Efeito de óleos essenciais na mortalidade de J ₂ de <i>M. javanica</i>	17
EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	18
Avaliação da pulverização dos óleos essenciais em folhas de tomateiro.....	18
Avaliação da aplicação dos óleos essenciais no solo.....	24
CONCLUSÕES	29
LITERATURA CITADA.....	30

RESUMO

AMORA, Deisy Xavier, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Potencial de óleos essenciais no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro.** Orientador: Silamar Ferraz. Coorientadores: Everaldo Antônio Lopes e Leandro Grassi de Freitas.

As plantas possuem substâncias denominadas metabólitos secundários que possuem diversas funções, dentre elas a de proteger a planta contra o ataque de organismos patogênicos. O emprego de plantas com propriedades nematicidas para o controle de fitonematoides vem sendo muito estudado e o uso de óleos essenciais representa mais uma alternativa no controle de fitonematoides em pequenas áreas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos óleos essenciais de losna, hortelã-pimenta, orégano e tomilho no controle de *Meloidogyne javanica*. Inicialmente avaliou-se o potencial nematicida *in vitro* destes óleos sobre a eclosão e a mortalidade de juvenis do nematoide. Os óleos essenciais foram solubilizados em dimetil sulfóxido 2% e aplicados nas concentrações 0,05%, 0,25% ou 0,5%, nos testes de eclosão e de mortalidade dos juvenis. Todos os óleos testados reduziram a eclosão e aumentaram a mortalidade dos juvenis de *M. javanica* em relação à testemunha, nas três concentrações analisadas. Posteriormente, o potencial destes mesmos óleos foi testado em casa de vegetação na supressão do número de galhas radiculares e de ovos do nematoide. Dois métodos foram testados: pulverização foliar de tomateiros e adição direta ao solo das soluções dos óleos essenciais. Os óleos essenciais foram solubilizados em dimetil sulfóxido 2% e aplicados nas concentrações 0,05%, 0,25% ou 0,5%, quando aplicados via pulverização foliar, e 0,25% e 0,5%, quando adicionados ao solo. Os óleos foram aplicados semanalmente por oito semanas. Sessenta dias após o transplântio, as plantas foram avaliadas quanto à massa de parte aérea, massa de raiz, número de galhas e número de ovos. Nenhum dos óleos suprimiu o número de galhas ou de ovos quando foram aplicados via pulverização foliar nem quando foram adicionados diretamente ao solo

ABSTRACT

AMORA, Deisy Xavier, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2010.
Potential of essential oils in the control of *Meloidogyne javanica* in tomato.
Advisor: Silamar Ferraz. Co-advisors: Everaldo Antonio Lopes and Leandro Grassi de Freitas

Plants have substances known as secondary metabolites which have diverse functions, among them to protect the plant against attack by pathogens. The use of plants as nematicides for nematode control has been extensively studied and the use of essential oils is an alternative for controlling nematodes in small areas. This study aimed to evaluate the effect of essential oils of wormwood, peppermint, oregano and thyme on the control of *Meloidogyne javanica*. Initially was assessed *in vitro* the nematicidal potential of these oils on hatching and mortality of juvenile nematodes. The essential oils were solubilized in dimethyl sulfoxide 2% and applied at the concentrations 0.05%, 0.25% or 0.5% in hatching and juvenile mortality tests. All oils tested reduced hatching and increased mortality of juveniles of *M. javanica* comparing to the control, for the three concentrations analyzed. Subsequently, the potential of these same oils was tested in a greenhouse in the suppression of the number of root galls and nematode eggs. Two methods were tested: foliar spray on tomato plants and direct addition of essential oils solutions into the soil. The essential oils were solubilized in 2% dimethyl sulfoxide and applied at the concentrations 0.05%, 0.25% or 0.5%, when applied by foliar sprays, and 0.25% and 0.5%, when added to soil. The oils were applied weekly for eight weeks. Sixty days after transplanting, plants were evaluated for shoot mass, root mass, number of galls and number of eggs. None of the oils suppressed the number of galls or eggs when they were applied by foliar sprays or when they were added directly into the soil.

INTRODUÇÃO

Os fitonematoides são patógenos agrícolas difíceis de serem controlados, pois infectam praticamente todas as espécies de plantas cultivadas, são responsáveis por grandes perdas na agricultura e podem até inviabilizar o cultivo em determinadas áreas. Calcula-se que as perdas devido ao ataque de nematoides nas principais culturas, em todo o mundo, cheguem a 100 bilhões de dólares anuais (Sasser, 1979).

Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne*, que causam as galhas radiculares, constitui-se em espécie nociva à maioria das culturas de importância econômica, causando danos em nível mundial (Ferraz e Mendes, 1992; Huang, 1992). As espécies *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 são as mais importantes e comuns no Brasil.

A principal preocupação no controle de fitonematoides é evitar sua introdução em áreas ainda não infestadas, pois a erradicação do patógeno é praticamente impossível. Depois de introduzidos, as medidas de controle adotadas visarão apenas à redução na população dos nematoides no solo (Ferraz *et al.*, 2001). O sucesso do controle em áreas infestadas depende de um conjunto de medidas associadas e não de práticas adotadas isoladamente. Os métodos de controle mais usados são o uso de nematicidas químicos, variedades resistentes e a rotação de culturas (Tihohod, 1993).

O emprego de nematicidas sintéticos é limitado em culturas de menor valor econômico ou em pequenas áreas cultivadas, em razão de seu preço elevado. O controle químico, muitas vezes, é a única opção para o produtor que exige resposta imediata para o seu problema, sendo por isso usado de forma indiscriminada. A

utilização excessiva de nematicidas pode acarretar a contaminação de água, alimentos e solo, além intoxicação de animais e do próprio homem (Primavesi, 1997; Pontes, 2000). Assim, o uso destes produtos vem sendo restringido em muitos países (Matielli e Lessi, 1992; Santos, 1993), principalmente a partir da década de 80, com a retirada de vários produtos do mercado (Jatala, 1985).

A sociedade, ao se preocupar com o impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente e a contaminação da cadeia alimentar, estimula a busca por alimentos produzidos sem o uso de produtos químicos. Com isso, métodos alternativos de controle têm atraído a atenção de pesquisadores interessados no manejo de nematoides fitoparasitas em substituição ao emprego de nematicidas sintéticos (Campos *et al.*, 1998; Barker, 2003).

Muitos pesticidas naturais podem ser obtidos a partir de plantas. Algumas espécies vegetais contêm compostos nematicidas pré-formados (Rodríguez-Kábana *et al.*, 1994). Estes compostos podem ser oriundos de vias metabólicas que produzem compostos secundários sintetizados pelas plantas com atividade de fitoproteção, atração de polinizadores e adaptação ambiental (Taiz e Zeigler, 2004). Vários pesquisadores têm estudado o efeito de extratos botânicos, óleos essenciais e resíduos orgânicos de diversas plantas sobre os fitonematoides, descobrindo o potencial de várias destas como matérias-primas para a produção de nematicidas naturais (Mani e Chintra, 1989; Rao e Reddy, 1992; Hussaini *et al.*, 1996; Ferris e Zheng, 1999; Chitwood, 2002).

A utilização de óleos essenciais tem sido relatada na literatura como uma alternativa promissora no controle de nematoides (Lorimer *et al.*, 1996; Oka *et al.*, 2000). Compostos presentes nos óleos essenciais podem atuar diretamente na

eclosão e mortalidade dos nematoides no solo (Abid *et al.*, 1997; Bosenbecker, 2006), ou, caso sejam absorvidos pelas plantas, podem alterar os exsudatos radiculares, interferindo na localização das raízes por parte dos nematoides; tornar as raízes menos atrativas para o patógeno; também podem alterar a fisiologia da planta, impedindo a formação de células especiais de alimentação, ou até mesmo ativar mecanismos de resistência da planta (Hammerschmid e Dann, 1997; Schwan-Estrada *et al.*, 2003).

Vários benefícios podem resultar da identificação dos fitoquímicos envolvidos nestas interações. Estes compostos podem ser diretamente usados como nematicidas ou podem servir como modelo para o desenvolvimento de nematicidas sintéticos, gerando produtos mais eficientes e, possivelmente, menos tóxicos (Chitwood, 2002).

A busca por bioprodutos com ação sistêmica nas plantas deve ser encorajada, explorando melhor o efeito da aplicação de produtos de origem vegetal via pulverização foliar, pois a maioria dos trabalhos visando o controle de nematoides está relacionada ao testes destes produtos *in vitro* ou adicionados ao solo. O mesmo não ocorre no controle de insetos e de outros fitopatógenos. Para estes são encontrados vários trabalhos demonstrando os bons resultados do uso de óleos essenciais via pulverização foliar.

REVISÃO DE LITERATURA

Os óleos essenciais são um dos produtos do metabolismo secundário das plantas. Eles são compostos voláteis que exercem as funções de autodefesa e de atração de polinizadores. O óleo essencial é um produto complexo, podendo conter

mais de 300 componentes químicos diferentes. Tal diversidade e complexidade fazem do óleo essencial puro um produto altamente valorizado, com aplicação nas mais diversas áreas: medicina (potencial terapêutico), perfumaria e cosmetologia (refinada e complexa composição aromática), indústria alimentícia (potencial como aditivo flavorizante, entre outros) (Wolffenbüttel, 2007).

Os componentes químicos dos óleos essenciais apresentam estruturas diversas como terpenos, sesquiterpenos, fenólicos, fenil propanóicos, alifáticos não-terpênicos, heterocíclicos, alcoóis, cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos, ésteres, acetatos, cada qual com sua característica aromática e ação bioquímica. Há registros da utilização dos óleos essenciais desde épocas anteriores ao antigo Egito, passando pela Idade Média e chegando ao início do século XX com a Aromaterapia. As pesquisas científicas atuais têm comprovado a ação dos óleos essenciais como bactericida, analgésico, sedativo, estimulante, antifúngico, antiprurido, antidepressivo, repelente de insetos, entre outros. (Wolffenbüttel, 2007).

Existem relatos da atividade direta de extratos e óleos essenciais de plantas sobre fitopatógenos a exemplo dos fungos, bactérias, vírus e nematoides (Wilson *et al.*, 1997; Fiori *et al.*, 2000; Motoyama *et al.*, 2003; Baldo, 2005;), ou indireta, ativando mecanismos de defesa das plantas aos patógenos (Schwan-Estrada 1997; Stangarlin, 2005). Entre os mecanismos de defesa das plantas destacam-se as fitoalexinas, compostos antimicrobianos de baixa massa molecular sintetizados pelas plantas em resposta a ação de agentes bióticos ou abióticos, também denominados de elicitores (Bonaldo *et al.*, 2004).

Na literatura são relatados vários exemplos de plantas com potencial para a produção de nematicidas naturais por conterem princípios ativos com propriedades

nematicidas ou nematostáticas (Lewis e Papavizas, 1971; Gommers, 1981; Lazzeri *et al.*, 1993; Mayton, *et al.*, 1996; Ferris e Zheng, 1999;). Tais produtos, caso sejam absorvidos pelas plantas e ajam de forma sistêmica, podem alterar o exsudato radicular, interferindo na localização das raízes por parte dos nematoides; tornar as raízes menos atrativas para o patógeno; alterar a fisiologia da planta, impedindo a formação de células especiais de alimentação, a exemplo das células gigantes ou sincícios; ou até mesmo ativar mecanismos de resistência da planta

Muitas plantas são conhecidas por serem antagonistas a nematoides. Os casos mais conhecidos são: cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.) crotalária (*Crotalaria* spp.), mamona (*Ricinus communis*), neem (*Azadirachta indica*), e mucuna (*Mucuna pruriens*) (Duke, 1990; Winder e Datalto, 1991; Wang *et al.*, 2002; Jourand *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005, Lopes *et al.*, 2005; Kong *et al.*, 2006). Vários trabalhos com extratos vegetais já foram desenvolvidos e com alguns resultados promissores para o controle de nematoides, contudo, os óleos essenciais de plantas são tão disponíveis quanto os extratos vegetais e apresentam composição mais complexa, podendo representar também uma importante fonte de compostos nematicidas. Assim como estas, existem relatadas na literatura várias outras plantas que apresentam algum potencial nematicida, como por exemplo, artemísia (*Artemisia* spp.), hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*).

Em revisão feita por Chitwood (2002), foi descrito o potencial de várias plantas e alguns dos seus compostos nematicidas, já isolados e identificados. A família Asteraceae, do qual artemísia é representante, é geralmente rica em poliacetilenos que possuem amplo espectro de atividade biológica, e muitos deles

possuem atividade nematicida. *Mentha piperita* por sua vez, é rica em alcalóides (linalol, mentol, cineol, geraniol e eugenol). Estes compostos geralmente possuem atividade contra predadores e patógenos. Malik et al. (1987) e Sangwan et al. (1990) analisaram o óleo essencial de *Mentha piperita*, na inibição da atividade de juvenis de *Anguina tritici*, *Meloidogyne javanica*, *Tylenchulus semipenetrans*, e *Heterodera cajani*. A aplicação destes alcalóides ao solo inibiu a reprodução de *M. javanica*, *M. incognita* e *H. schachtii* (Viglierchio e Wu, 1989; Bauske et al. 1994, Osman e Viglierchio, 1998). O orégano tem como constituintes os compostos timol e carvacrol que inibiram a eclosão de juvenis de *M. incognita* em experimentos realizados por Oka et al. (2000). Portanto, estas plantas produzem substâncias que podem representar importante alternativa no manejo dos fitonematoides nas mais diversas culturas.

Diante do exposto, o presente trabalho teve os seguintes objetivos:

1. Avaliar *in vitro* o efeito de óleos essenciais extraídos de losna, hortelã-pimenta, orégano e tomilho sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. javanica*;
2. Investigar o potencial desses óleos essenciais no controle de *M. javanica*, em tomateiro, quando aplicados via pulverização foliar ou adicionados ao solo em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

EXPERIMENTOS IN VITRO

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de

Viçosa, localizado no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO).

Obtenção e preparo das soluções dos óleos essenciais.

Os óleos essenciais de losna (*Artemisia absinthium*), hortelã-pimenta (*Menta piperita*), orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) empregados nos ensaios foram adquiridos da Laszlo Aromaterapias, localizada em Belo Horizonte - MG.

Para a montagem dos experimentos, foram preparadas soluções dos óleos essenciais nas concentrações de 0,05%, 0,25% e 0,5%. Para tal, os óleos essenciais foram solubilizados em DMSO a 2%.

Efeito de óleos essenciais na eclosão de J2 de *Meloidogyne javanica*.

Para o teste de eclosão, 1 ml de suspensão contendo aproximadamente 300 ovos de *M. javanica* foi colocado em placa de Petri de 5,5 cm de diâmetro. Em cada placa foram adicionados 4,0 ml da emulsão de cada óleo nas respectivas concentrações.

As placas foram seladas com filme plástico, postas em bandejas de polietileno forradas com papel de filtro umedecido com água e mantidas em BOD a 26°C durante o período de 10 dias. A contagem dos J₂ eclodidos, realizada com o auxílio de microscópio estereoscópico, iniciou-se 48 h após a montagem do ensaio e prosseguiu pelos 10 dias subsequentes à incubação, com intervalos de 48 h entre as avaliações, totalizando cinco contagens. Em cada avaliação, registrou-se a média de J₂ eclodidos em três placas de cada tratamento.

A análise da eclosão dos J_2 foi feita por meio da área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE), calculada pela equação proposta por Campbell e Madden (1990).

$$AACPE = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{Y_i + Y_{i+1} + 1}{2} \right) \times (T_{i+1} + T_i)$$

Os valores percentuais de J_2 eclodidos foram aplicados na equação acima, considerando: Y_i = percentagem de eclosão na i -ésima avaliação; T_i = tempo em dias na i -ésima avaliação; n = número de avaliações.

Foram montados dois experimentos, em diferentes épocas, sendo no primeiro avaliado o efeito dos óleos essenciais na concentração de 0,05% e no segundo avaliadas as concentrações de 0,25% e 0,5% (todos em delineamento inteiramente casualizado).

Efeito de óleos essenciais na mortalidade de J_2 de *Meloidogyne javanica*.

Os juvenis foram obtidos a partir de uma suspensão de ovos de *M. javanica* extraídos de raízes de tomateiro e incubados em funil de Baermann a 26 °C.

Para o teste de mortalidade, 1 ml de suspensão contendo aproximadamente 300 juvenis de *M. javanica* foram colocados em placas de Petri de 5,5 cm de diâmetro. Em cada placa foram adicionados 4,0 ml da solução de cada óleo, nas respectivas concentrações. Em seguida, as placas foram seladas com filme plástico e colocadas em incubadora BOD a 26 °C no escuro. Após 24 h de incubação o conteúdo das placas foi enxaguado em água corrente e recolhido em um béquer, em seguida foi recolocado nas placas e posteriormente em incubadora BOD por mais 24

h. Decorrido este tempo, as placas foram analisadas com auxílio de microscópio estereoscópico para avaliar a percentagem de J₂ mortos.

Foram montados dois experimentos, em diferentes épocas, sendo no primeiro avaliado o efeito dos óleos essenciais na concentração de 0,05% e no segundo avaliadas as concentrações de 0,25% e 0,5% (todos em delineamento inteiramente casualizado).

EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Após serem avaliados *in vitro*, os óleos essenciais foram testados em experimentos conduzidos em casas de vegetação pertencentes ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Nesta etapa foram averiguados os efeitos dos tratamentos diretamente sobre o patógeno via aplicação dos óleos essenciais no solo, e indiretamente, via pulverização na parte aérea das plantas.

Preparo das mudas

Mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da variedade 'Santa Clara' foram utilizadas para a multiplicação e manutenção do inóculo de *M. javanica* e para a montagem dos experimentos. As sementes de tomateiro foram semeadas em bandejas de isopor multicélulas contendo substrato organo-mineral inerte (Plantmax[®]). As mudas de tomateiro foram transplantadas 21 dias após o semeio.

Preparo do solo

O substrato destinado ao crescimento das plantas de tomate foi constituído de uma mistura de solo e areia, na proporção 1:1, previamente tratada com brometo de metila.

Multiplicação e preparo do inóculo de *Meloidogyne javanica*

Estudos de padrões de isoenzimas em eletroforese foram realizados para a confirmação da ausência de contaminação do inóculo de *M. javanica* por outros nematoides. Para a extração dos ovos foi empregado a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981), em que raízes do tomateiro foram trituradas em solução de hipoclorito de sódio 0,5 %, por 30 segundos, em baixa rotação. A contagem dos ovos e a calibração da sua concentração foram feitas utilizando a câmara de contagem (Câmara de Peters) e microscópio estereoscópico.

Pulverização dos óleos essenciais em folhas de tomateiro

Para a montagem do experimento foram utilizados vasos de plástico com capacidade de 1,0 l, onde foi colocada uma mistura de solo e areia na proporção 1:1, e transplantadas mudas de tomateiro com aproximadamente 20 dias de idade. Em seguida, infestou-se o solo de cada vaso com uma suspensão contendo 5000 ovos de *M. javanica*. Depois de uma semana, iniciou-se a pulverização das emulsões dos óleos essenciais na superfície das folhas das plantas de tomateiro, com o auxílio de um borrifador manual de jardim. As emulsões contendo os óleos essenciais foram aplicadas até o ponto de escorrimento. As aplicações foram feitas semanalmente, durante um período de 60 dias. Em cada pulverização, para constatar o suposto efeito sistêmico das substâncias presentes nos óleos essenciais, os vasos foram envolvidos por sacos de plástico, conforme metodologia utilizada por Bala & Sukul (1987). As plantas receberam adubação semanal de NPK + micronutrientes (Ouro Verde[®]), na concentração de 3g adubo/l de água, sendo aplicados 40 ml da mistura/vaso.

No primeiro experimento foi avaliada a pulverização dos óleos essenciais a 0,05% e o delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos (quatro óleos essenciais + testemunha pulverizada com água destilada + testemunha pulverizada com solução de DMSO 2%) e sete repetições. No segundo experimento foi avaliada a pulverização dos óleos essenciais a 0,25% e 0,5% sendo utilizado o delineamento estatístico fatorial em esquema 2x6 (duas doses x seis tratamentos) e sete repetições para cada dose. Os tratamentos foram os mesmos do primeiro experimento. A unidade experimental, nos dois experimentos, foi representada por um vaso com uma planta.

Sessenta dias após a inoculação, foi avaliado o número de ovos e de galhas por sistema radicular, a massa fresca do sistema radicular e da parte aérea e a altura da planta. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa estatístico 'Statistica' (Statsoft, 2004) e as médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Aplicação dos óleos essenciais ao solo

Para a montagem desse experimento foram utilizados vasos de plástico com capacidade de 1 l, onde foi colocada uma mistura de solo e areia na proporção 1:1, previamente tratada com brometo de metila, e em cada vaso foi transplantada uma muda de tomateiro com aproximadamente 20 dias de idade. Em seguida, infestou-se o solo com uma suspensão com 5000 ovos de *M. javanica*. Depois de uma semana, foram adicionados ao solo de cada vaso, por meio de pipeta automática, 10 ml da solução dos óleos essenciais dos respectivos tratamentos. As aplicações foram feitas semanalmente, durante 60 dias. As plantas receberam adubação semanal de

NPK + micronutrientes (Ouro Verde[®]), na concentração de 3g adubo/l de água, sendo aplicados 40 ml da mistura/vaso.

Neste experimento foi avaliada a adição das emulsões dos óleos essenciais a 0,25% e 0,5%, sendo utilizado o delineamento estatístico fatorial em esquema 2x6 (duas doses x seis tratamentos) e sete repetições. Os tratamentos foram: quatro óleos essenciais + testemunha água destilada + testemunha solução de DMSO a 2%. A unidade experimental foi representada por um vaso com uma planta.

Após sessenta dias da inoculação, foram avaliados massa e altura da parte aérea, massa do sistema radicular, número de ovos e número de galhas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa estatístico 'Statistica' (Statsoft,2004), as médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTOS *IN VITRO*

Efeito de óleos essenciais na eclosão de J2 de *M. javanica*

Todos os óleos essenciais reduziram a taxa de eclosão de juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, quando comparados com água em pelo menos uma concentração (Tabela 1). Nas concentrações de 0,05% e 0,25%, os óleos essenciais de hortelã-pimenta, orégano e tomilho tiveram maior efeito sobre a inibição da eclosão dos juvenis que o óleo essencial de absinto. Quando se utilizou a concentração de 0,5%, não houve diferença entre os tratamentos.

Tabela 1 – Taxa final de eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, incubados por 10 dias a 26 °C, em três diferentes concentrações de óleos essenciais de quatro plantas bioativas.

Tratamentos	Taxa de Eclosão *		
	0,05%	0,25%	0,50%
Absinto	11,7 b	17,6 a	9,0 ab
Hortelã-pimenta	2,9 c	2,1 b	2,2 b
Orégano	2,0 c	2,4 b	3,0 b
Tomilho	2,5 c	2,2 b	3,7 b
DMSO	31,4 ab	32,4 a	32,4 a
Água	40,7 a	36,6 a	36,6 a

*Valores transformados para log (x+1). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os óleos essenciais de hortelã-pimenta, orégano e tomilho inibiram, respectivamente, em média, 97,3%, 96,7% e 95,9% a taxa de eclosão de J₂ *in vitro* em relação à testemunha. Oka *et al.*(2000) também observaram o potencial do óleo essencial de orégano na inibição da eclosão de juvenis de *M. javanica*. Eles averiguaram também o potencial dos componentes carvacrol e timol, dos óleos essenciais de orégano e tomilho, na concentração de 125µ/l na redução da taxa de mortalidade e inibição da eclosão.

Na Figura 1 estão representadas as curvas de progresso da eclosão de juvenis de *M. javanica* nas testemunhas água e DMSO, comparado com os óleos essenciais de absinto, hortelã-pimenta, orégano e tomilho, para as três concentrações analisadas, nos 10 dias de incubação dos ovos. O efeito tóxico dos

óleos essenciais testados ocorreu já nos primeiros dias, enquanto que para as testemunhas água e DMSO observou-se uma taxa crescente de eclosão até o último dia de incubação dos ovos.

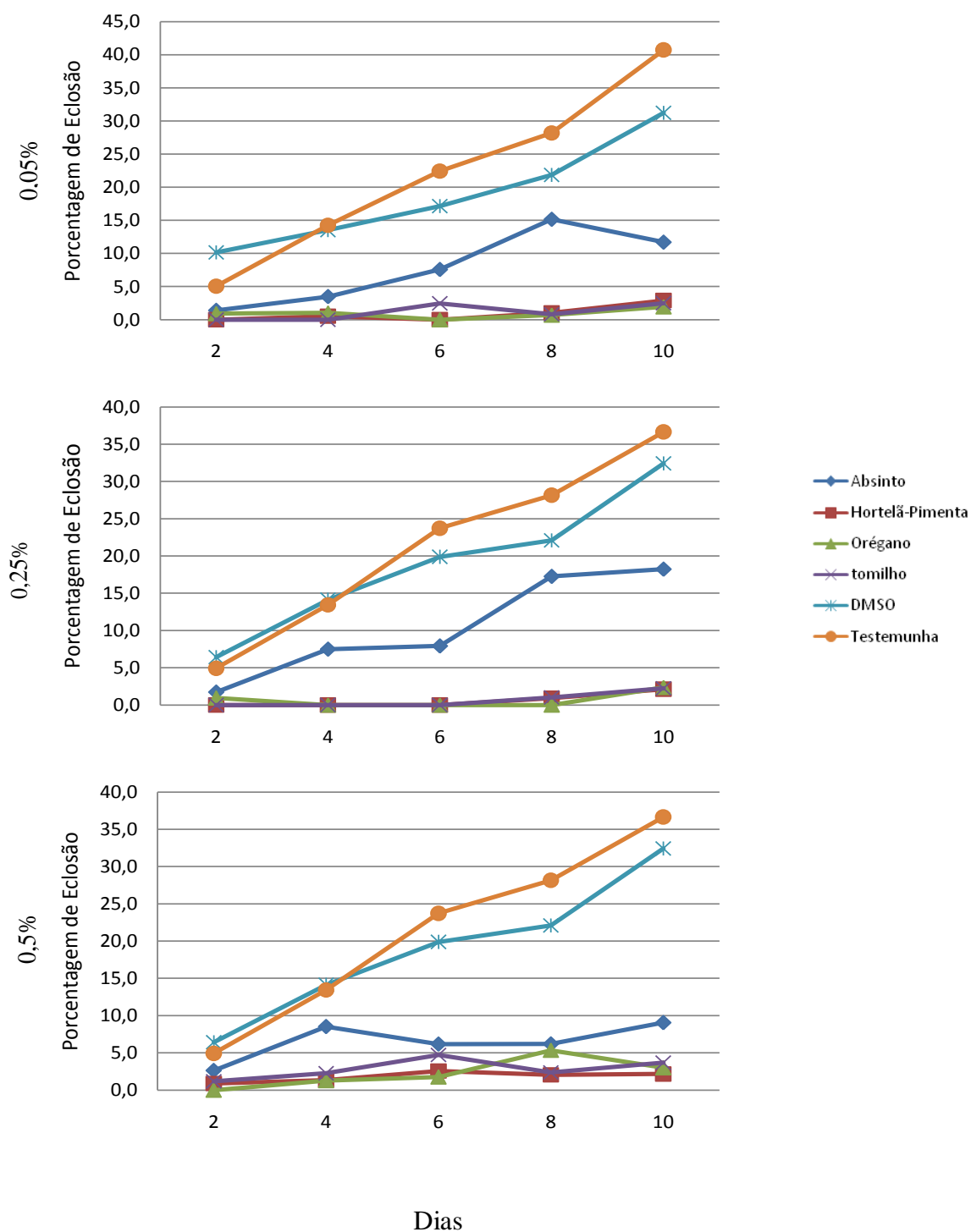
Nos óleos essenciais de hortelã-pimenta, orégano e tomilho, foram observadas as menores taxas de eclosão durante os 10 dias de incubação para as três concentrações. No entanto, o óleo essencial de absinto nas concentrações de 0,05% e 0,25% se tornou menos efetivo a partir do sexto dia de incubação, permitindo maior eclosão dos juvenis. Com o decorrer do tempo de incubação e a temperatura à qual foram expostos (26 °C), os compostos nematicidas do óleo essencial de absinto podem ter sido volatilizados ou oxidados, visto que são sensíveis a altas temperaturas e à exposição ao ambiente. O absinto pode ter em sua constituição compostos nematicidas em menor concentração, pois quando maior dose foi utilizada, observou-se a inibição da eclosão dos juvenis do nematoide, não tendo ocorrido esta suposta perda de efetividade. Menores concentrações do óleo essencial de absinto serviriam, portanto, para retardar o tempo de incubação dos ovos de *M. javanica*.

Tabela 2 - Área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE) de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* em óleos essenciais em três diferentes concentrações.

Tratamentos	AACPE *		
	0, 050%	0, 25%	0, 50%
Absinto	65,49 b	85,3 c	53,43 c
Hortelã pimenta	5,99 c	3,97 d	14,61 d
Orégano	6,32 c	3,31 d	19,79 d
Tomilho	9,04 c	4,25 d	23,55 d
Dmso	146,41 a	151,01 b	151,01 b
Testemunha	175,47 a	172,22 a	172,22 a

*Valores da AACPE seguidos da mesma letra são iguais, respectivamente, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Fig. 1 – Dinâmica temporal da eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*¹, incubados por 10 dias a 26 °C, em três diferentes concentrações de óleos essenciais.



Valores da eclosão são dados originais da porcentagem média de J2 eclodidos de três repetições em cada avaliação (a cada dois dias).

Efeito de óleos essenciais na mortalidade de J2 de *M. javanica*

Todos os óleos essenciais testados causaram a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* (Tabela 3).

Tabela 3 – Taxa de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne javanica* em três diferentes concentrações de óleos essenciais

Tratamentos	Taxa de mortalidade *		
	0,05%	0,25%	0,50%
Absinto	96,78 b	99,37 a	99,45 a
Hortelã Pimenta	96,73 b	99,12 a	99,21 a
Orégano	99,83 ab	99,43 a	99,75 a
Tomilho	97,76 ab	99,47 a	99,57 a
DMSO	25,57 c	60,49 b	60,49 b
Testemunha	12,46 d	28,89 c	28,89 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Comparados com a testemunha (água), os óleos essenciais de losna, hortelã-pimenta, orégano e tomilho provocaram 75,12%, 74,94%, 76,26% e 75,52%, respectivamente, de mortalidade média *in vitro* de juvenis de *M. javanica*. Estes resultados se assemelham aos encontrados por Bosenbecker (2006) que, avaliando o efeito do óleo essencial de hortelã sobre *M. javanica*, encontrou índices de mortalidade de 76,15%. Oka *et al.* (2000) também observaram alta taxa de

mortalidade dos J2 de *M. javanica* quando testaram os óleos essenciais de orégano, tomilho e hortelã-pimenta.

Esta alta taxa de mortalidade observada para os óleos essenciais analisados deve-se aos compostos nematicidas encontrados nestas plantas, sendo que muitas destas substâncias já foram identificadas. Ok-Kong *et al.* (2007) estudaram os componentes do óleo essencial de tomilho e observaram que geraniol, timol e carvacrol são os compostos responsáveis pela atividade nematicida desta planta. Carvacrol e o timol também são os principais componentes do óleo essencial de orégano. Em hortelã-pimenta são encontrados os componentes citronelol, eugenol, geraniol e linalol, todos com propriedades nematicidas. O gênero *Artemisia* é rico no composto artemísia-cetona, que tem demonstrado potencial efeito nematicida (Oka *et al.*, 2000). Este composto, no entanto, não é um dos principais componentes de *A. absinthium* (Silva, 2004), a espécie avaliada neste experimento. Este fato pode explicar a menor taxa de mortalidade e de inibição da eclosão dos juvenis de *M. javanica* nas duas menores concentrações do óleo essencial de absinto. A toxicidade da espécie *Artemisia annua* foi avaliada por Shakil *et al.* (2004) contra juvenis de segundo estágio de *M. incognita* de *Rotylenchulus reniformis* e 100% de mortalidade foi observada para ambos os nematoides nas concentrações de 250 e 500 ppm.

EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Avaliação da pulverização dos óleos essenciais em folhas de tomateiro.

Na concentração de 0,05% observou-se que a massa de parte aérea, a massa de raiz e número de galhas não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 4). No entanto a aplicação do óleo essencial de tomilho incrementou a altura do tomateiro quando comparado com o tratamento água.

A utilização da concentração 0,05% não apresentou resultados satisfatórios, portanto, optou-se por aumentar a dose utilizada nas pulverizações, testando-se as concentrações 0,25% e 0,5%. Mesmo assim não se observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos para quase todas as variáveis analisadas (Tabela 5). Como ocorrido no primeiro experimento, o número de ovos foi influenciado pelo tratamento com o óleo essencial de tomilho, que na concentração 0,25% aumentou o número de ovos quando comparado com a testemunha água. Aumento da produção de massas de ovos também foi observado em experimento conduzido por Cetintas e Yarba (2010) quando trataram tomateiro com óleo essencial de gergelim adicionado ao solo. Isto pode ter sido consequência da presença de algum composto favorável ao nematoide. Shepherd e Clarke (1971) relataram que a parte aérea das plantas.

Tabela 4 – Efeito da pulverização de óleos essenciais na concentração de 0,05% sobre altura da planta, peso de parte aérea, peso de raiz, número de galhas, número de galhas/g de raiz, número de ovos e número de ovos/ g de raiz de *Meloidogyne javanica* por sistema radicular

Tratamentos	Altura da Planta (cm)	Massa de Parte Aérea (g)	Massa de Raiz (g)	Número de galhas	Número de galhas/g de raiz ¹	Número de ovos	Número de ovos/g de Raiz ¹
Absinto	71,29 ab	35,8 ns	11,29 ns	1.312,14 ns	104,62 ab	35.390,8 ab	35.390,8 ab
Hortelã-Pimenta	60,57 ab	32,76	6,85	599,43	75,17 b	58.285,7 c	11.198,9 bc
Orégano	59,86 ab	31,88	6,15	920, 714	166,83 a	78.857,1 bc	12.822,3 abc
Tomilho	75,14 a	36,23	12,21	1.441, 143	104,02 ab	597.333,3 a	52.475,2 a
Água	58,29 b	30,6	8,29	798,27	102,65 ab	55.714,3 c	16.671,6 c
DMSO	73,14 ab	34,51	10,99	720,29	69,37 b	52.571,4 c	10.260,1 c

Média de sete repetições. ^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade.

¹ Valores obtidos pela divisão do número de galhas ou de ovos pelo peso da raiz.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 5 – Efeito da adição de óleos essenciais nas concentrações de 0,25% e 0,5% sobre altura da planta, massa de parte aérea e massa de raiz de plantas de tomate infectadas com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Altura de parte aérea (cm)			Massa de parte aérea (g)			Massa de raiz (g)		
	Dose			Dose			Dose		
	0,25%	0,50%	Média	0,25%	0,50%	Média	0,25%	0,50%	Média
Absinto	43,8	49,2	46,5 ^{NS}	28,7	31,2	30,0 ^{NS}	7,6	8,1	7,9 ^{NS}
Tomilho	42,9	48	45,5	25,6	28,3	27	7,1	7,8	7,5
Hortelã-Pimenta	47,7	46,6	47,2	28,8	28,7	28,8	8,1	7,5	7,8
Orégano	43,7	40,5	42,1	24,8	26,1	25,5	7,5	5,7	6,6
DMSO	44,3	44,3	44,3	27,7	27,7	27,7	7,6	7,6	7,6
Testemunha	49,4	49,4	49,4	28,3	28,3	28,3	8,4	8,4	8,4
Média	45,3 ^{NS}	46,3		27,3 ^{NS}	28,4 ^{NS}		7,7 ^{NS}	7,5 ^{NS}	

Média de sete repetições. ^{NS} Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade. *

¹ Valores obtidos pela divisão do número de galhas ou de ovos pelo peso da raiz.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6- Efeito da adição de óleos essenciais nas concentrações de 0,25% e 0,5% sobre número de galhas e número de ovos de *Meloidogyne javanica* por sistema radicular.

Tratamentos	Nº de galhas			Nº de ovos		
	Dose		Média	Dose		Média
	0,25%	0,50%		0,25%	0,50%	
Absinto	454,3	642,5	548,4 ^{NS}	27.939,1 bA	24.348,2 aA	26.143,6
Tomilho	524,0	550,0	537,0	213.090,3 aA	33.632,0 aB	123.361,20
Hortelã-Pimenta	501,4	561,8	531,6	42.565,5 bA	37.730,9 aA	40.148,2
Orégano	533,8	601,9	567,9	81.137,2 bA	38.211,4 aA	59.674,30
DMSO	580,4	580,4	580,4	40.673,7 bA	40.673,7 aA	40.673,7
Testemunha	669,6	669,6	669,6	46.619,4 bA	46.619,4 aA	46.619,4
Média	543,9 ^{NS}	601 ^{NS}		75.337,50	36.869,30	

Média de sete repetições. ^{NS} Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

pode produzir substâncias que estimulam a eclosão de nematoides. Segundo Khan (1990), em alguns casos, elementos minerais liberados após a aplicação de produtos vegetais ao solo podem favorecer o aumento na população de nematoides. O óleo essencial de orégano a 0,05% causou fitotoxidez às plantas de tomate.

Os óleos essenciais vêm sendo utilizados como alternativa no controle de várias doenças de plantas, na proteção pós-colheita, em grãos armazenados, no controle de pragas e até mesmo no controle de ervas daninhas (Bastos e Albuquerque, 2004; Restello *et al.*, 2009; Lima *et al.* 2009; Filho *et al.*, 2009;). As plantas utilizadas como matéria-prima para a produção dos óleos essenciais avaliados nestes experimentos possuem em sua composição algum composto nematicida. O controle de *M. javanica* através da aplicação dos óleos essenciais via pulverização foliar, no intuito de conferir resistência à planta ou até mesmo permitir que compostos nematicidas sejam translocados para o sistema radicular pode ter enfrentado algumas barreiras. A cutícula da folha pode ter dificultado a absorção e a radiação solar pode ter atuado na volatilização e degradação dos compostos dos óleos essenciais, visto que estes são muito sensíveis ao calor e à luz.

Bosenbecker *et al.* (2008) conseguiram redução no número de galhas quando pulverizaram óleos essenciais de alfazema (*Lavandula officinalis*) e capim cidrão (*Cymbopogon citratus*) em plantas de arroz infestadas com *M. graminicola*, indicando que alguma alteração na planta pode ter induzido algum tipo de resistência a este nematoide. Bosenbecker (2006), em estudos quanto à ação de óleos essenciais em batata (*Solanum tuberosum*), verificou que o óleo de funcho (*Foeniculum vulgare*) aplicado na parte aérea das plantas proporcionou redução de 85 % na população final de *M. javanica*.

O eugenol, um dos principais constituintes do óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), e também presente no óleo essencial de hortelã-pimenta possui comprovada atividade sistêmica. Em estudo realizado por Bala e Sukul (1987), a aplicação foliar da emulsão de eugenol em quiabeiros infestados com *M. incognita*, reduziu o número de galhas e de juvenis encontrados na rizosfera e ainda promoveu maior crescimento das plantas. Este resultado não foi observado neste experimento, o que pode ter ocorrido pela baixa concentração de eugenol presente no óleo essencial de hortelã-pimenta, pela ineficiência do modo de aplicação ou das condições da aplicação, como já discutido anteriormente.

A eficiência da aplicação dos óleos essenciais pode ser melhorada pela adição de adjuvantes à solução, o que poderá aumentar a eficiência biológica dos ingredientes ativos, melhorando sua aderência sobre a superfície foliar e aumentando a absorção do ingrediente ativo. Existem vários adjuvantes disponíveis no mercado, mas a aplicação deles também deve ser estudada, pois a adição de componentes químicos aos óleos essenciais pode causar interações entre os produtos aplicados e afetar negativamente o resultado da aplicação.

Avaliação da aplicação dos óleos essenciais ao solo.

Quando os óleos essenciais foram adicionados ao solo não se notou diferença entre as variáveis analisadas em nenhum dos tratamentos (Tabela 6).

Tabela 7 – Efeito da adição de óleos essenciais nas concentrações de 0,25% e 0,5% sobre altura da planta, massa de parte aérea e massa de raiz de plantas de tomate, aos 60 dias após o transplântio das mudas, infectadas com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Altura de Parte Aérea (cm)			Massa de Parte Aérea (g)			Massa de Raiz (g)		
	Dose			Dose			Dose		
	0,25%	0,50%	Média	0,25%	0,50%	Média	0,25%	0,50%	Média
Absinto	41,3 ns	48,0 ns	44,7 ns	18,3 ns	18,8ns	18,6 ns	4,6ns	6,2 ns	5,4 ns
Tomilho	43,0	43,0	43,0	20,2	17,8	19,0	4,9	5,3	5,1
Hortelã-Pimenta	48,0	39,4	43,7	21,9	18,2	20,1	5,7	6,1	5,9
Orégano	47,6	49,3	48,5	20,7	20,8	20,8	5,1	5,7	5,4
DMSO	50,2	50,2	50,2	21,8	21,8	21,8	5,3	5,3	5,3
Testemunha	47,7	47,7	47,7	21,6	21,6	21,6	6,8	6,8	6,8
Média	46,3 ^{NS}	46,3		20,8 ^{NS}	19,8		5,4 ^{NS}	5,9	

Média de sete repetições. ^{NS} Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade. *

Tabela 8- Efeito da adição de óleos essenciais nas concentrações de 0,25% e 0,5% sobre número de galhas, número de ovos, número de galhas/g de raiz e número de ovos/g de raiz de *Meloidogyne javanica* por sistema radicular, aos 60 dias após o transplântio das mudas.

Tratamento	Nº de galhas			Nº de ovos			Nº de galhas/g de raiz ¹			Nº de ovos/g de raiz ¹		
	Dose		Média	Dose		Média	Dose		Média	Dose		Média
	0,25%	0,50%		0,25%	0,50%		0,25%	0,50%		0,25%	0,50%	
Absinto	695,0 ns	614,3 ns	654,7 ns	57.069,30 ns	69.891,50 ns	63.480,40 ns	102,4 ns	72,1 ns	87,3 ns	7.342,90 ns	8.134,70 ns	7.738,80 ns
Tomilho	689,4	793,5	741,5	66.888,60	60.958,00	63.923,30	89,0	105,0	97,0	9.912,3	7.959,60	8.935,90
Hortelã-Pimenta	751,4	728,8	740,1	68.164,90	65.950,30	67.057,70	92,8	90,6	91,7	8.437,10	8.328,70	8.392,90
Orégano	798,4	498,0	648,2	58.705,90	79.876,00	69.290,90	104,3	87,1	95,7	7.800,00	13.969,30	10.884,70
DMSO	731,3	731,3	731,3	55.327,60	55.327,60	55.327,60	95,2	95,2	95,2	7.427,90	7.427,90	7.427,90
Testemunha	930,3	930,3	930,3	69.140,80	69.140,80	69.140,80	110,9	110,9	110,9	8.458,40	8.458,40	8.458,40
Média	765,9	716,0		62.549,5	66.857,40		99,1	93,5		8, 229,8	9.046,40	

Média de sete repetições. ^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade. *

¹ Valores obtidos pela divisão do número de galhas ou de ovos pelo peso da raiz.

Estes resultados diferiram dos apresentados por Oka *et al.* (2000) que observaram redução do número de galhas em raízes de plantas de tomateiro infestadas com *M. javanica* testando óleos essenciais na concentração de 0,01%, ou seja, menor do que a testada neste experimento. Porém, esses pesquisadores utilizaram areia como substrato, ao contrário do solo utilizado neste trabalho, com teor médio de argila. Solos com maiores teores de argila apresentam maior capacidade tamponante. A atividade microbiana também é maior nos solos argilosos que arenosos, podendo ter sido estes os motivos da diferença entre os resultados nos experimentos.

Cetintas e Yarba (2010) testando alguns óleos essenciais visando ao controle de *M. incognita* raça 2 em tomateiro verificaram que o óleo essencial de tomilho, nas doses de 50 µl/planta e 100 µl/planta, reduziu em 97% o número de galhas e de massas de ovos produzidos em comparação com a testemunha. Estudos feitos por Elbadri *et al.*(2008) revelaram que o óleo essencial de tomilho a 500 ppm foi um dos mais efetivos entre os vários óleos testados no controle de *Bursaphelenchus xylophilus*.

O controle de patógenos de solo é complicado, devido a toda a complexidade oferecida pela microbiota e estrutura do solo que podem interferir na ação dos compostos sobre o nematoide. Estes compostos podem ter sido degradados pelos microrganismos presentes nos solo, podem ter sido adsorvidos às partículas de argila, podem ter sido volatilizados ou até mesmo lixiviados durante as irrigações, geralmente realizadas duas vezes ao dia. Por exemplo, é sabido que o eugenol, um dos constituintes do óleo essencial de hortelã-pimenta pode ser transformado em

ácidos orgânicos comuns pela ação dos microrganismos do solo (Rabenhorst, 1996).

Todos estes fatores podem ter interferido na ação dos óleos essenciais, pois se sabem do sucesso destas plantas no controle de fitonematoides, comprovados em outros estudos.

CONCLUSÕES

Os óleos essenciais testados no presente estudo apresentaram potencial nematicida na inibição da eclosão e na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, quando realizados os testes *in vitro*.

Os resultados dos experimentos realizados em casa de vegetação não foram satisfatórios. Os óleos essenciais, quando aplicados via pulverização foliar ou quando adicionados ao solo, não se mostraram eficientes em reduzir o número de galhas e ovos de *M. javanica*.

LITERATURA CITADA

ABID, M., CHOUDHARY, M.I., MAQBOOL, M.A. e RAHMAN, A.U. 1997. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Mediterranea* 25: 155-157.

BALA, S.K e SUKUL, N.C. 1987. Systemic nematicide effect of eugenol. *Nematropica* 17:219-222.

BALDO, M., SORNBERGER, A., STANGARLIN, J.R., GRISA, S., ECKSTEIN, B., GIESE, C. e SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. 2005. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Cymbopogon nardus* (citronela) no controle in vitro de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. In: Jornada científica da Unioeste, 3., 2005, Marechal Cândido Rondon, PR. *Anais*. Marechal Cândido Rondon: Unioeste

BARKER, K. R. 2003. Perspectives on plant and soil nematology. *Annual Review of Phytopathology* 41: 1-25.

BASTOS, C.N. e ALBUQUERQUE, P.S.B. 2004. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira* 29:555-557.

BAUSKE E.M, RODRIGUÉZ-KÁBANA R, ESTAUN V., KLOEPPER J.W. e ROBERTSON D.G., 1994. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. *Nematropica* 24:143–50.

BONALDO, S.M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R., TESSMANN, D.J. e SCAPIM, C.A. 2004. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. Fitopatologia Brasileira 29:128-134.

BONETI, J.I.S. e FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6: 553(Suplemento).

BOSENBECKER, V.K., GOMES, C.B., GOMES, J.C.C., LIMA, D.L. e ARDUIM, G.S. 2004. Efeito dos óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Foeniculum vulgare* no controle de *Meloidogyne javanica* em batata (*Solanum tuberosum*). Fitopatologia Brasileira 29: 215 (Suplemento).

CAMPOS, V.P., SOUZA, J.T. e SOUZA, R.M. 1998. Controle de fitonematoides por meio de bactérias. Revisão Anual de Patologia de Plantas 6: 285-327.

CETINTAS,R. e YARBA,M.M. 2010. Nematicidal Effects of Five plants essential oils on the southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* race 2. Journal of Animal and Veterinary Advances 9(2): 222-225.

CHITWOOD, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology 40: 221–49.

DUKE, S. O. 1990. Natural pesticides from plants. pp. 511-517. In: *Advances in new crops*. Ed. by J. Jonick and J. E. Simon, pp. 511-517. Timber Press, Portland, USA.

FERRAZ, S. e MENDES, M. L. 1992. O nematoide das galhas. Informe Agropecuário 16 (172): 43 – 45.

FERRAZ, S., DIAS, C.R. e FREITAS, L.G. 2001. Controle de nematoides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed). Manejo Integrado-Fitossanidade: Cultivo protegido, pivô central e plantio direto 1-52.

FERRIS, H. e ZHENG, L. 1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 31 (3): 241-263.

FIORI, A.C.G., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R., VIDA, J.B., SCAPIM, C.A., CRUZ, M.E.S. e PASCHOLATI, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. Journal of Phytopathology, v.148, p.483, 2000.

GOMMERS, F.J. 1981. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. Helminthological Abstracts, Series B, Plant Nematology 50:9-24.

HAMMERSCHMIDT, R. e DANN, E. K. 1997. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N. A. e RECHCIGL, J. E. Environmentally safe approaches to crop disease control. Boca Raton: CRC-Lewis Publishers 177-199.

HASEEB, A.; A.M. KHAN e S.K. SAXENA. 1982. Toxicity of leaf extracts of plants to root-knot and reniform nematodes. *Indian Journal of Parasitology* 6(1): 119-120.

HUANG, S. P. 1992. Nematoides que infectam olerícolas e seu controle. *Informe Agropecuário* 16: 31 – 36.

HUSSAINI, S. S., RAO R. e PANDU, H. K. 1996. Toxicity of water soluble leaf extracts against larvae and eggs masses of three *Meloidogyne* species. *Indian Journal of Nematology* 26: 23-31.

JATALA, P. 1985. Biological control of nematodes. In: Sasser, J. N. e Carter, C. C., (ed.) *An Advanced Treatise on Meloidogyne - Biology and Control*. Raleigh: North Carolina State University Graphics 1: 303 – 308.

JOURAND, P., RAPIOR, S., FAGRGETTE, M. e MATEILLE, T. 2004. Nematicidal effect of a leaf extract from *Crotalaria virgulata* subsp. *grantiana* on *Meloidogyne incognita* and its use to protect tomato roots. *Nematology* 6:79-84.

KONG, J. O., LEE, S. M., MOON, Y. S., LEE, S. G. e AHN, Y. J. 2006. Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 9:173-178.

LAZZERI, L., TACCONI, R. e PALMIERI, S.. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. Journal of Agricultural Food Chemical 41: 825-829.

LEWIS, J. A. e PAPAVIDAS, G.C. 1971. Effect of sulfur containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. Phytopathology 61: 208-214.

LIMA, R.K., CARDOSO, M. G., MORAES, J. C., MELO, B. A., RODRIGUES, V. G. e GUIMARÃES, P. L. 2009. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Acta Amazônica vol. 39(2): 377 – 382.

LOPES, E. A., FERRAZ, S., FREITAS L. G., FERREIRA, P.A., AMORA, D.X. 2005. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. Nematologia Brasileira, 29 (1): 67-74.

MALIK M.S, SANGWAN N.K, DHINDSA K.S, VERMA K.K, BHATTI D.S. 1987. Nematicidal efficacy of some monoterpenes and related derivatives. Pesticides 21:30–32.

MANI, A. e CHITRA, K. C. 1989. Toxicity of certain plant extracts to *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea 1(1):43-44.

MATIELLI, A. e LESSI, R. 1992. Panorama mundial e brasileiro de nematocidas. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA. Lavras. SBN/ESAL (Resumos).

MAYTON, H.S., CLAUDIA, O., VAUGHN, S.F. e LORIA, R. 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isotiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology* 86: 267-271.

MOTOYAMA, M.M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIM, J.R., FIORI, A.C.G., e SCAPIM, C.A.. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. *Acta Scientiarum*, v.25, n.2, p.491-6, 2003.

MOTOYAMA, M.M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIM, J.R., FIORI, A.C.G., e SCAPIM, C.A. 2008. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. In: *Acta Scientiarum. Agronomy, Brasil*.

OKA, Y., NACAR, S., PUTIEVSKY, E., RAVID, U., YANIV, Z., e SPIEGEL, Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology* 90:710-715.

OSMAN, A.A. e VIGLIERCHIO, D.R. 1988. Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. *Rev. Nematol.* 11:93–98

PARK, I. K., PARK, J. Y., KIM, K. H., CHOI, K. S., CHOI, I. H., KIM, S. H. e SHIN, S. C. 2005. Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Nematology* 7:767- 774.

RABENHORST, J. 1996. Production of metoxyphenoltype naturalaroma chemical by biotransformation of eugenol with a new *Pseudomonas* sp.. Applied Microbiology Biotechnology 46:470-474.

RAO, M.S. e REDDY, P. 1992. Studies on the comparative efficacy of certain plant leaves and carbofuran in the management of *Meloidogyne incognita* on tomato. Current Nematology 3:5-6.

RESTELLO, R.M., MENEGATT, C. E MOSSI1, A.J. 2009. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). Revista Brasileira de Entomologia 53(2): 304–307, junho

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., KOKALIS-BURELLE, N., ROBERTSON, D.G., KING, P.S. e WELLS, L.W. 1994. Rotations with coastal bermudagrass, cotton, and bahiagrass for management of *Meloidogyne arenaria* and southern blight in peanut. Journal of Nematology 26: 665-668.

SANGWAN, N.K, VERMA, B.S, VERMA, K.K. e DHINDSA, K.S. 1990. Nematicidal activity of some essential plant oils. *Pestic. Sci.* 28:331–35.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., CRUZ, M.E.S., STANGARLIN, J.R. e PASCHOLATI S.F. 1997. Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. Fitopatologia brasileira 22:346. (Resumo)

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R. e CRUZ, M.E.S. 2003. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. *Fitopatologia Brasileira* 28: 554-556.

SHAKIL, N. A.; D. PRASAD; D. B. SAXENA; A. K GUPTA. 2004. Nematicidal activity of essential oils of *Artemisia annua* against root-knot and reniform nematodes. *Annals of Plant Protection Sciences*, Vol. 12, No. 2. pp. 403-408

SHEPHERD, A.M. e CLARCKE A.1971. Molting and hatching stimuli. In.: ZUCKERMAN, B. M. F. MAI e R.A. ROHDE, (eds). *Plant parasitic nematodes. II Cytogeneticis, host parasite interactions and physiology*. Academic Press, New York, 267-287.

SILVA J.A.T. 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae (Review). *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (12):706-720.

SOUZA FILHO, A.P.S., BAYMA, J.C, GUILHON, G.M.S.P. e ZOGHBI, M.G.B. 2009. Atividade potencialmente alelopática do óleo essencial de *Ocimum americanum*. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 499-505.

STANGARLIN, J. R., FRANZENER, G, FRANZENER, A S Martinez , ASSI, L , CZEPAK, M P e SCHWAN-ESTRADA, K R F . 2005. Atividade antifúngica de hidrolatos sobre *Alternaria brassicae*. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza/CE, v. 30 - S77-S77.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

VIGLIERCHIO D.R, WU F.F. 1989. Selected biological inhibitors for *Heterodera schachtii* control. *Nematropica* 19:75–79.

WANG, K. H., SIPES, P. S. e SCHMITT, D. P. 2002. Crotalaria as cover crop for nematodes management, a review. *Nematropica* 32:35-57.

WILSON, C.L., SOLAR, J.M., EI-GHAOUTH, A., WISNIEWSKI, M.E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, v.81, n.2, p.204-210.

WINDER, L. D. e DADALTO, G. G. 1991. Summer green manure for West Catarena. *Agropecuária Catarinense* 4:36-40.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. 2007. In: Informativo CRQ-V, ano XI, 105: 06-07.