

Controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 com óleo essencial de *Lippia Alba*

Control of *Meloidogyne incognita* race 1 with essential oil of *Lippia alba*

R. H. Marino¹; L. A. A. Gomes²; E. M. O. Cruz¹; A. C. Silva¹; F. G. Bianchini¹;
T. N. Meneses¹; H. R. Santos¹; A. F. Blank¹

¹Departamento de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, 49100-00, São Cristóvão-Se, Brasil

²Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, 37200-00, Lavras-MG, Brasil

rehmarino@hotmail.com

(Recebido em 14 de março de 2012; aceite em 02 de abril de 2012)

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de *Lippia alba* em seis concentrações (0, 4, 8, 16 e 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$) sobre a eclosão e mortalidade do segundo estágio juvenil (J2) *in vitro* de *Meloidogyne incognita* raça 1. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições e repetidos uma vez. A concentração de 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo resultou em 98,91% de mortalidade do segundo estágio juvenil (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 e foi significativamente superior em relação as demais concentrações testadas. A porcentagem de eclosão reduziu significativamente a partir da concentração de 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo. A porcentagem de mortalidade de J2 eclodidos foi 96,39% entre as concentrações de 12-20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo. O óleo de *Lippia alba* apresenta efeito nematocida *in vitro* sobre *M. incognita* raça 1.

Palavras-chave: nematocida; nematóide de galhas; controle alternativo

The objective of this research was evaluated the effect of essential oils of *Lippia alba* in six concentrations (0; 4, 8, 16 e 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$) on hatching of mortality second-stage juveniles (J2) *in vitro* of *Meloidogyne incognita* race 1. The experiment was conducted in completely randomized design with eight repetitions and repeated once. The concentration of 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of oil resulted in 98,91% mortality of the second-stage juveniles (J2) the *Meloidogyne incognita* race 1 and was significantly higher than in other concentrations. The hatching rate decreased significantly from the concentration of 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of oil. The percentage of mortality of J2 hatched was 96,39% at a concentration of 12-20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of oil. The oil of *Lippia alba* showed nematocidal activity *in vitro* in *M. incognita* race 1.

Keywords: nematocide; root-knot nematode; alternative control

1. INTRODUÇÃO

Os nematóides das galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne* apresentam ampla distribuição, sendo endoparasitas obrigatórios de plantas de interesse econômico e, principalmente, apresentam interação com outros organismos patogênicos, o que os classificam como um dos principais patógenos responsáveis pela perda de até 90% da produtividade agrícola, dependendo do grau de infestação, nos ecossistemas tropicais e subtropicais (ECHEVERRIGARAY et al., 2010).

O processo de infecção deste nematóide ocorre no sistema radicular, alterando o a absorção e a translocação de nutrientes, o que contribui para entrada de outros fitopatógenos, deficiências nutricionais, além de predispor a planta a estresses ambientais.

Na agricultura, os agrotóxicos vêm sendo utilizado de forma frequente e indiscriminada no controle de pragas, o que pode resultar no acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, em intoxicações de seres vivos, na contaminação do solo e da água, na eliminação de inimigos naturais, no desequilíbrio biológico e na resistência de pragas a produtos químicos. Com intuito de reduzir a utilização de produtos químicos na agricultura, uma alternativa de controle de pragas é a utilização de plantas e compostos vegetais que produzem compostos inseticidas e antimicrobianos (CHITWOOD, 2002). Especificamente para o controle de fitonematóide, o uso de extratos e de óleos essenciais pode representar um mecanismo de controle alternativo por

apresentarem baixa persistência no ambiente e não serem altamente tóxico como os nematocidas (OKA et al., 2000).

Os óleos essenciais são compostos voláteis resultantes do metabolismo secundário das plantas, cujos principais componentes são os terpenos e terpenóides. Estes compostos são derivados de fenol e atuam na oxidação de membranas celulares e no interior de organelas citoplasmáticas, tais como as mitocôndrias. Essa atividade oxidante dos óleos essenciais é utilizada como um mecanismo de defesa natural de plantas contra bactérias, vírus, fungos e insetos e depende da composição química, que pode apresentar dois ou três compostos majoritários, em alta concentração e outros elementos traços (BAKKALI et al., 2008).

Bruni et al. (2004) e Moreira et al. (2009) relataram que os óleos essenciais extraídos de algumas espécies de plantas têm sido relatadas com atividade nematocida e podem ser utilizadas como uma alternativa ecologicamente benéfica ao controle de fitonematóides.

O mecanismo de ação dos óleos essenciais pode ser diretamente sobre a eclosão e mortalidade dos nematóides (BOSENBECKER, 2006), ou na indução de resistência, envolvendo mecanismos de defesa pré-existentes nas plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

O óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, popularmente conhecida no Brasil como erva-cidreira ou alecrim do campo ou ainda verbena brasileira, é constituída por sesquiterpenos e monoterpênicos, monocíclicos ou acíclicos, com variações qualitativas e quantitativas dos teores de carvona, limoneno, mircenolol, linalol, neral e geraniol (AGUIAR e COSTA, 2005). A composição química do óleo essencial de plantas se associa às características morfológicas e organolépticas do óleo essencial, dependendo do genótipo (TAVARES et al., 2005), da época de colheita associada às condições climáticas (SANTOS e INNECCO, 2005) e da origem geográfica do material (SILVA et al., 2006), assim como está relacionado com sua atividade biológica específica.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de *L. alba* sobre a eclosão e mortalidade do segundo estágio juvenil (J2) *in vitro* de *M. incognita* raça 1.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Departamento de Engenharia Agrônômica, da Universidade Federal de Sergipe. Foram realizados dois experimentos. No primeiro, avaliou-se o efeito nematocida do óleo de *L. alba* sobre o J2 e no segundo avaliou-se o efeito do óleo sobre a eclosão e mortalidade de J2 de *M. incognita* raça 1.

O óleo essencial de *L. alba* utilizado foi o comercial de marca Herbia. A composição química do óleo é de 0,05 % de alfa-tujeno, 1,46% de sabineno, 0,28% mircenolol, 0,33% de limoneno, 7,79% de eucaliptol, 0,15% de terpinoleno, 60,63% de linalol, 1,12% de alfa-humuleno, 3,53% de germacreno D e 3,34% de germacreno B (HERBIA, 2011).

O inóculo de nematóide de *M. incognita* raça 1 foi obtido por doação do Departamento de Agricultura, pertencente à Universidade Federal de Lavras e multiplicado em tomate 'Santa Clara', por 90 dias, em estufa agrícola. Em seguida, realizou-se a coleta das raízes e submetidas à lavagem em água parada. Posteriormente, as raízes foram coradas com Floxina B por 20 minutos. As massas de ovos foram coletadas com auxílio de uma pinça sob microscópio estereoscópico e usadas como inoculante.

A atividade nematocida do óleo essencial de *L. alba* foi avaliada contra J2 de *M. incognita* raça 1 e o experimento foi conduzido em placas tipo Elisa, segundo a metodologia de Pérez et al. (2003) com modificações. Em cada poço da placa foram adicionados 100 µL de solução A, constituída por 100 mL de água destilada, 10% de etanol (v/v) e 0,3% de Tween 20 (v/v). Em seguida, em cada poço, foi adicionado uma massa de ovos e incubado em BOD a 25±1°C, por 24 horas, no escuro, para eclosão do J2. Após este período, foram testadas as concentrações de 0 (controle - somente solução A), 4, 8, 16 e 20 µL de óleo essencial de *L. alba* por mL de solução A. A incubação foi realizada por 24h a 25±1°C, no escuro. O número de J2 mortos foi avaliado com auxílio de microscópio estereoscópico com aumento de até 40x. Os nematóides foram considerados mortos quando imóveis (CAYROL et al., 1989). A porcentagem de mortalidade

foi calculada pela equação: J2 mortos (%) = (J2 mortos x 100)/ (J2 mortos + J2 vivos). Foram realizadas oito repetições por concentração. Para confirmar a atividade nematicida do óleo, os indivíduos J2 imóveis foram coletados e transferidos para placas de Petri contendo água destilada e monitorado por 12 h. O experimento foi repetido uma vez.

O efeito do óleo essencial de *L. alba* sobre a eclosão e mortalidade do J2 de *M. incognita* raça 1 foi realizado segundo a metodologia de Pérez et al. (2003) com modificações. O experimento foi conduzido em placa tipo Elisa. Em cada poço foram adicionados uma massa de ovos, 200 µL de solução A e óleo essencial, nas concentrações finais de 0 (controle - somente solução A), 4, 8, 16 e 20 µL de óleo essencial de *L. alba* por mL de solução A. A incubação foi realizada em BOD a 25±1°C, no escuro, por 10 dias. O número de J2 mortos foi avaliado com auxílio de microscópio estereoscópico, com aumento de até 40x, no primeiro e último dia da incubação. A porcentagem de mortalidade de J2 foi determinada pela equação: J2 mortos (%) = (J2 mortos x 100)/ (J2 mortos + J2 vivos). Para avaliar a porcentagem de eclosão foi determinado o número de ovos, por massas de ovos, por poço, com auxílio de microscópio ótico e estereoscópico, após a avaliação da porcentagem de mortalidade de J2. A porcentagem de eclosão dos ovos foi determinada pela fórmula: J2 eclodidos (%) = número de ovos eclodidos x 100/ número total de ovos. Para confirmar a atividade nematicida do óleo, os indivíduos J2 imóveis foram coletados e transferidos para placas de Petri contendo água destilada e monitorado por 12 horas. O experimento foi repetido uma vez.

A área abaixo da curva do progresso de eclosão (AACPE) de J2 de *M. incognita* raça 1 foi determinada pela equação descrita em Campell e Madden (1990) citados por Salgado & Campos (2003b):

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

Em que: Y_i = porcentagem de eclosão na i -ésima avaliação; T_i = tempo em dias na i -ésima avaliação; n = número de avaliações.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco concentrações de óleo e 8 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias separadas de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os resultados dos dados da curva de progresso (AACPE) foram transformados para log x. Foi realizada a análise correlação entre as concentrações testadas e a porcentagem de eclosão e aplicado o teste t a 1% de probabilidade. A análise estatística foi realizada no programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2002).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade nematicida do óleo essencial sobre J2

O óleo essencial de *L. alba* na concentração de 20 µL mL⁻¹ resultou em mortalidade do estágio juvenil J2 de *Meloidogyne incognita* raça 1 significativamente superior às demais concentrações testadas. Já o emprego das concentrações entre 4 e 8 µL mL⁻¹ de óleo essencial não apresentaram diferença significativa em relação ao controle (Tabela 1).

Tabela 1: Mortalidade de J2 (%) de *M. incognita* raça 1, na presença de óleo essencial de *L. alba*, in vitro, após 24 horas de incubação.

Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	Mortalidade de J2 (%)*
0	0,00 (0,00) d
4	8,85 (10,26) d
8	17,51 (3,99) d
12	51,79 (3,57) c
16	89,03 (3,01) b
20	98,91 (2,17) a
CV (%)	24,35

*Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão da média.

Neste experimento, o óleo de erva cidreira testado tem como composto majoritário o linalol (60,63%) e provavelmente deve ter influenciado na mobilidade e favorecido a mortalidade de J2 (Tabela 1). Este resultado foi contrário aos citados por Echeverrigaray et al. (2010), em que observaram a ação nematocida de geraniol ou citral e citronelol, em relação ao linalol. É importante ressaltar, que no óleo testado não foi relatada a presença de geraniol ou citral em sua composição. A ocorrência de linalol (89,8%) como composto majoritário também foi observado por Jannuzzi et al. (2010), em quimiotipos de erva cidreira cultivados no Distrito Federal. Da mesma forma Mallavarapu et al. (2000) e Lorenzo et al. (2001) citam o linalol como composto majoritário em *L. alba*, no entanto não há registro sobre o efeito nematocida do linalol da erva cidreira.

Segundo Bakkali et al. (2008), os óleos essenciais interagem com a membrana citoplasmática podendo causar a ruptura da estrutura de polissacarídeos, lipídeos e fosfolipídios, promovendo a despolarização da membrana, como as das mitocôndrias, resultando na liberação de íons de cálcio e proteínas. Já Bruni et al. (2004) citam que ação nematocida dos óleos essenciais deve ser atribuída à presença de fenóis, aldeídos e alcoóis que causam a oxidação de membranas.

Tal como observado por Pérez et al. (2003), o aumento da concentração de óleo essencial contribuiu para o aumento da porcentagem de mortalidade de J2. É importante ressaltar, que nenhum J2 considerado morto (imóvel) conseguiu recuperar a mobilidade quando incubado em água, após o teste com o óleo essencial, demonstrando seu efeito nematocida, tal como citado por Echeverrigaray et al. (2010).

Neste experimento, as concentrações de 16 e 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$, destacaram-se entre as demais, mas há a necessidade da realização de experimentos em campo, para avaliar sua eficiência na redução do fator de reprodução. Além disso, é necessário avaliar o efeito fitotóxico do óleo de *L. alba*. Uma vez que, o emprego do óleo de cravo da Índia por Salgado & Campos (2003a) e com óleo de hortelã citado por Walker e Melin (1996) utilizados como nematocidas apresentaram efeito fitotóxico. Já Echeverrigaray et al. (2010), citam que o uso de óleos essenciais como nematocidas devem ser em baixa concentração, para que seja economicamente viável sua aplicação, em condições de campo.

Atividade do óleo essencial sobre a eclosão e mortalidade do J2, em massas de ovos

O emprego do óleo de *L. alba* em massas de ovos de *M. incognita* raça 1 resultou em redução significativa da eclosão (Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem de eclosão e de mortalidade de J2 de *M. incognita* raça 1, na presença de óleo essencial de *L. alba*, in vitro, após 10 dias de incubação.

Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	Eclosão (%)	Mortalidade de J2 eclodidos (%)	AACPE
0	27,17 (10,73) a	1,00 (0,80) d	753,75 a
4	7,33 (3,97) b	23,89 (14,52) c	198,00 b
8	3,96 (2,89) b	56,13 (24,47) b	106,88 c
12	4,83 (2,16) b	92,22 (15,55) a	130,50 c
16	2,38 (1,99) c	96,96 (6,13) a	64,13 d
20	1,88 (0,83) c	100,00 (0,00) a	33,75 d
CV (%)	21,45	21,89	20,01

*Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão da média.

Comparativamente, a porcentagem de eclosão de J2 com o emprego do óleo essencial de erva cidreira foi, em média, de 7,33% na concentração de $4\mu\text{L mL}^{-1}$ e de 1,88% na concentração de $20\mu\text{L mL}^{-1}$, valores estes próximo aos resultados obtidos por Echeverrigaray et al. (2010). Estes autores citam que a taxa de eclosão com plantas como erva-doce ou funcho (*Foeniculum vulgare*), hortelã-branca (*Mentha rotundifolia*) e cominho (*Carum carvi*), foram 5,8, 2,2 e 2,2% de eclosão, respectivamente. Estes autores citam que sete monoterpenos, como borneol, carvenol, citral, gernaniol, menthol, terpinen-4-ol, e α -terpineol reduziram mais de 90% a eclosão e a mobilidade quando utilizados na concentração de 250mg L^{-1} .

É importante ressaltar que, a porcentagem de eclosão foi inversamente proporcional ao aumento da concentração de óleo pela análise de correlação ($r = -0,75$) e que a redução da porcentagem de eclosão com o aumento da concentração de óleo essencial, também foi observada por Moreira et al. (2009). Segundo estes autores, o óleo essencial de erva cidreira, na concentração a partir de $0,3125\text{ mL L}^{-1}$, resultou em 47,0% de eclosão e 0% de eclosão com a concentração de 5 a 10 mL L^{-1} . A redução a 0% de eclosão também foi citada quando empregado com óleo de citronela, alecrim pimenta, capim santo, eucalipto, alfavaca (MOREIRA et al., 2009).

É importante ressaltar que a porcentagem de eclosão dos ovos de 27,17% no controle foi próximo aos 32% (Oka et al., 2000), com o emprego de controle em água para *M. javanica*. No entanto, a porcentagem de eclosão de *M. incognita* raça 1 foi relativamente baixa em comparação aos 81-90% de eclosão de *M. incognita* citado por Moreira et al. (2009).

De forma geral, houve baixa porcentagem de eclosão entre as concentrações testadas, bem como com o controle. Salgado e Campos (2003b) citam que os ovos com células e embriões em diversos estádios de desenvolvimento são comumente encontrados nas massas de ovos, o que pode promover variações na eclosão ao longo do tempo, tal como observado neste trabalho.

Outro aspecto a ser enfatizado, é que o óleo empregado não chegou a reduzir a 0% de eclosão de *M. incognita* raça 1, tal como observado por Moreira et al. (2009), com óleo de erva cidreira com 5 mL L^{-1} , com *M. incognita* raça 2. Este resultado pode ter sido devido do quimiotipo de *L. alba* utilizado neste experimento, que apresenta 60,63% de linalol e este composto pode ter influenciado na eclosão de forma diferente dos outros quimiotipos de erva cidreira utilizado por Moreira et al. (2009).

Aguiar e Costa (2005), em sua revisão, citam três quimiotipos de erva cidreira: tipo I – com teores elevados de mircenol e citral; tipo II com teores elevados de limoneno e citral e tipo III: com limoneno e carvona e ausência de citral. Já Lorenzo et al. (2001) citam que a parte aérea de *L. alba* apresentou 55% de linalol e se destaca como composto majoritário. Oka et al. (2000) relatam que o limoneno é responsável pela redução da taxa de eclosão de *Meloidogyne*, mas neste óleo comercial, o teor deste composto foi de apenas 0,33%.

Com relação à mortalidade dos juvenis observou-se que as concentrações de 12 a $20\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo de *L. alba* resultaram, em média, 96,39% da mortalidade de J2, sem diferença significativa entre estas concentrações (Tabela 2). Estes valores foram similares aos 100% obtidos por Moreira et al. (2009), com óleo de alecrim pimenta com $0,3125\text{ mL L}^{-1}$. Da mesma forma, Oka et al. (2000) e Echeverrigaray et al. (2010) citam que óleo de manjerição, que apresenta o carvacrol como composto majoritário, resultou entre 80 e 98% de mortalidade de J2, similar aos valores obtidos com o óleo de *L. alba*, que apresenta linalol como composto

majoritário. Tal como observado por estes autores, as concentrações testadas provocaram a morte de J2 eclodidos de forma expressiva, principalmente, nos primeiros dias, indicando haver uma ação tóxica do óleo testado sobre os juvenis infestantes de *M. incognita* raça 1.

Segundo Echeverrigaray et al. (2010), a mobilidade dos nematóides de galhas foi reduzida provavelmente devido a presença de citral, geraniol. Enquanto que, neste experimento provavelmente deve ter sido o linalol e/ou ação conjunta dos compostos presentes no óleo que deve ter influenciado na mobilidade de *M. incognita* raça 1. Além disso, é importante destacar que nenhum J2 recuperou a mobilidade após a passagem em água, tal como observado com outros tipos de óleos essenciais por Echeverrigaray et al. (2010), indicando que o óleo de erva cidreira apresenta ação nematicida.

A redução da taxa de eclosão e elevada mortalidade de J2 de nematóide pode ser devido à composição química dos óleos essenciais. Uma vez que, Oka et al. (2000) citam que os óleos essenciais são formados por vários compostos, que podem se interagir e atuar em processos vitais do metabolismo do nematóide, como na fase embrionária, bem como nos mecanismos de movimentação, decorrente de uma possível desestruturação do sistema nervoso. Já Bakkali et al. (2008) citam que os óleos essenciais podem interagir com a membrana citoplasmática podendo causar a ruptura da estrutura de polissacarídeos, lipídeos e fosfolipídios, promovendo a despolarização da membrana, como as das mitocôndrias, resultando na liberação de íons de cálcio e proteínas, além de alterar a permeabilidade das membranas. Estes mecanismos de ação poderiam explicar a redução da taxa de eclosão e mortalidade dos juvenis de nematóides, na presença do óleo de erva cidreira.

Para avaliar o efeito nematicida de um produto é importante também considerar a área abaixo da curva de progresso de eclosão (AACPE), em que avalia a eclosão dos J2 ao longo do período de incubação dos ovos (SALGADO e CAMPOS, 2003b; MOREIRA et al., 2009).

A análise da área abaixo da curva de progresso de eclosão (AACPE) de juvenis (J2) de *M. incognita* raça 1, com o emprego de 4 a 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ reduziu significativamente o valor de AACPE em comparação com o tratamento controle (Tabela 2).

Ao contrário dos valores obtidos por Moreira et al. (2009), não houve nenhuma concentração de *L. alba* que reduzisse a AACPE a zero, como o óleo de citronela e o capim santo testados por estes autores. No entanto, as concentrações de 16 e 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ devem ser testadas em condições de campo, com o intuito de se avaliar sua eficiência e se há efeito fitotóxico.

4. CONCLUSÃO

O óleo de *Lippia alba* apresenta efeito nematicida in vitro, por reduzir a taxa de eclosão de *M. incognita* raça 1 e favorece a mortalidade do estágio juvenil J2 eclodido.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC-SE), pelo apoio financeiro.

-
1. AGUIAR, J.S.; COSTA, M.C.C.D. *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 8(1): 79-84 (2005).
 2. AGUIAR, J.S.; COSTA, M.C. C. D.; NASCIMENTO, S.C.; SENA, K.X.F.R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 18(3): 436-440 (2008).
 3. BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—A review. *Food and chemical toxicology*. 46(4): 446-475 (2008).
 4. BLANK, A.F.; SOUZA, E.M. de.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; PAULA, J.W.A. de; ALVES, P. B; Maria Bonita: cultivar de manjerição tipo linalol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 42(12):1811-1813 (2007).

5. BOSENBECKER, V. K. Efeitos de óleos essenciais de plantas bioativas no controle de *Phytophthora infestans* e *Meloidogyne javanica* em batata (*Solanum tuberosum* L.). 2006. 65 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
6. BRUNI, R.; MÉDICI, A.; ANDREOTTI, E.; FANTIN, C.; MUZZOLI, M.; DEHESA, M.; ROMAGNOLI, C.; SACCHETTI, G. Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chemical*. 85(4):415-421 (2004).
7. CARYROL, J.C.; DJIAN, C.; PIJAROWSKI, I. Studies on the nematocidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Revista Nematologia*. 12(3):331-336 (1989).
8. CHITWOOD, D.J. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review Phytopathology*. 40(2):221-249 (2002).
9. ECHEVERRIGARAY, S.; ZACARIA, J.; BELTRÃO, R. Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology*. 100(2):199-203 (2010).
10. HERBIA. Óleo essencial de Verbena brasileira (*Lippia alba*). Disponível em: http://www.herbia.com.br/website/produtos_det.php?cod=5&cat=1 Acesso em: 01 jun. 2011
11. JANNUZZI, H.; MATTOS, J.K.A.; VIEIRA, R.F.; SILVA, D.B.; BIZZO, H.R.; GRACINDO, L.A.M. Avaliação agrônômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. *Horticultura Brasileira*. 28(4):412-417 (2010).
12. KISHORE, G. K.; PANDE, S.; HARISH, S. Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut. *Plant Disease*. 91(3):375-379 (2007).
13. KONG, J. O.; PARK, I. K.; CHOI, K. S.; SHIN, S.C.; AHN, Y.J. Nematicidal activities of thyme red and white oil compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). *Journal of Nematology*. 39(2):37-242 (2007).
14. LORENZO, D.; PAZ, D.; DAVIES, P.; VILA, R.; CANIGUERAL, S.; DELLACASSA, E. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) N. E: Brown from Uruguay. *Flavour and Fragrance Journal*. 16(5):356- 359 (2001).
15. MALLAVARAPU, G.R; BANSAT, R.P.; GARG, S.N.; RAMISH, S.; KIMAR, S. Essential oil of *Lippia alba*, a rich source of linalool. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*. 22(1B):765-767 (2000).
16. MOREIRA, F.J.C.; SANTOS, C.D.G.; INNECCO, R. Ecloração e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raça 2 em óleos essenciais. *Revista Ciência Agrônômica*. 40(3):441-448 (2009).
17. OKA, Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; ZOHARA, Y.; SPIEGEL, Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root nematode. *Nematology*. 90(7):710-715 (2000).
18. PÉREZ, M.P.; NAVAS-CORTÉS, J.A.; PASCUAL-VILLALOBOS, M.J.; CASTILLO, P. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. *Plant Pathology*. 52(3):395-401 (2003).
19. PIEROZAN, M. K.; PAULETTI, G.F.; ROTA, L.; SANTOS, A.C.A.; LERIN, L.A.; DI LUCCIO, M.; MOSSI, A.J.; ATTI-SERATINI, L.; CANSIAN, R.L.; OLIVEIRA, J.V. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species. *Ciência, Tecnologia e Alimentos*, v.29, n.4, p. 764-770, 2009.
20. PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; CRAVEIRO, A.A.; OLIVEIRA, A.B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 9(2):193-197 (1998).
21. SALGADO, S.M.L.; CAMPOS, V.P. Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro e de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro. *Nematologia Brasileira*. 27(1):41-48 (2003a).
22. SALGADO, S.M.L.; CAMPOS, V.P. Ecloração e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. *Fitopatologia Brasileira*. 28(2):166-170 (2003b).
23. SANTOS, M.R.A. dos; INNECCO, R. Efeitos de horários de colheita no teor e na composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2005. 12p. (Embrapa Rondônia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 27). Disponível em: <<http://www.cpafrro.embrapa.br/porta/publicacao/220/>>. Acesso em: 25 nov. 2011.
24. SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. *Fitopatologia Brasileira*. 28(1):54-56 (2003).

25. SILVA, F. de A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. 4(1):71-78 (2002).
26. SILVA, N.A.; OLIVEIRA, F.F.; COSTA, L.C.B.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, R.A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*.8(3):52-55 (2006).
27. TAVARES, E.S.; JULIÃO, L.S.; LOPES, D.; BIZZO, H.R.; LAGE, C.L.S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.1, p. 1-5, 2005. WALKER, J.T.; MELIN, J.B. *Mentha* × *piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. *Journal Nematology*. 28(4S):629-635 (1996).