

Eclosão e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raça 2 em óleos essenciais¹

Hatching and mortality of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* race 2 in essential plant oils

Francisco José Carvalho Moreira^{2*}, Carmem Dolores Gonzaga Santos³ e Renato Innecco³

Resumo - Os nematóides do gênero *Meloidogyne* afetam seriamente a produção de diversas culturas em todo o mundo. A busca pelo controle alternativo do patógeno com produtos naturais está bastante avançada, contudo, é essencial a comprovação científica da ação nematicida dos mesmos para sua validação como método eficiente de controle. Assim, tornou-se objetivo deste trabalho investigar, *in vitro*, o efeito dos óleos essenciais de seis espécies medicinais (alfavaca, alecrim pimenta, capim santo, capim citronela, cidreira e eucalipto) em sete concentrações (0; 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 ml L⁻¹) sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* raça 2. Para tanto, no Laboratório de Fitopatologia, CCA/UFC, conduziu-se um ensaio em arranjo fatorial 6 x 7, disposto no delineamento inteiramente casualizado, empregando-se 42 tratamentos com seis repetições constituídas de 60 ovos cada. Utilizaram-se ovos do fitonematóide extraídos de raízes infestadas do tomateiro ‘Santa Clara’, incubando-os em placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro, em temperatura ambiente (27±3 °C). As avaliações iniciaram-se 24 horas após a montagem do ensaio, prolongando-se por 16 dias, com a contagem de J2 eclodidos e, ou, mortos em intervalos de 48 horas. Constatou-se que todos os óleos essenciais afetaram a eclosão ou a sobrevivência dos J2 nas concentrações de 5,0 e 10,0 ml L⁻¹, porém, em diluições mais elevadas (<1,25 ml L⁻¹), apenas os óleos de alecrim pimenta e capim citronela apresentaram ação nematostática e nematicida, sendo assim, considerados promissores para posteriores ensaios visando o controle desses fitoparasitos no solo.

Palavras-chave - Controle alternativo. Nematóide das galhas. Plantas medicinais.

Abstract - The nematodes of the genus *Meloidogyne* seriously affect the production of various cultures throughout the world. The search for alternative control of the pathogen with natural products is well advanced, however, is essential the scientific proof of nematicidal activity of them for their validation as efficient method of control. So it became objective of this research, *in vitro*, the effect of essential oils of six medicinal species (*Ocimum gratissimum*, *Lippia alba*, *L. sidoides*, *Cymbopogon citratus*, *C. winterianus*, and *Eucaliptus terenticornis*) in seven concentrations (0; 0.3125; 0.625; 1.25; 2.5; 5.0 and 10.0 ml L⁻¹) on the outbreak the hatching of mortality second-stage juveniles (J2) of *M. incognita* race 2. With this purpose at the Laboratory of Phitopathology, CCA/UFC, was done a trial in a factorial arrangement 6 x 7, prepared in a completely randomized design, using 42 treatments with six repetitions consisting of 60 eggs each. Were used eggs extracted from nematode infested roots of “Santa Clara” tomato plants, incubating them in Petri dishes of acrylic of 3.5 cm in diameter, at room temperature (27±3 °C). The ratings started at 24 hours after mounting the test, extending up to 16 days, with the counting of J2 and hatched, or killed in intervals of 48 hours. It appeared that all essential oils affected the outbreak or the survival of J2 at concentrations of 5.0 and 10.0 ml L⁻¹. However, at higher dilutions (<1.25 ml L⁻¹), only the oils of *L. sidoides* and *C. winterianus* had nematostatic and nematicidal activity, thus, considered promising for tests at green-house for control plant parasitic nematode in the ground.

Key words - Alternative control. Root-knot nematode. Medicinal plants.

* Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 02/10/2008; aprovado em 24/07/2009

Parte da Dissertação do primeiro autor, apresentada ao Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará

²EMATER-CE, Rua Valdemar de Alencar Lima, 66, Bairro Vila Alta, 63100-000, Crato-CE, Brasil, franzecm@gmail.com

³Departamento de Fitotecnia do CCA/UFC, Fortaleza-CE, Brasil, carmelo@ufc.br, inneco@ufc.br

Introdução

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), formadores de galhas em raízes, constituem um dos maiores grupos de parasitos de plantas em razão de sua disseminação mundial e por possuírem uma elevada gama de hospedeiros. Em regiões de clima tropical o *M. incognita*, espécie mais comumente associada às culturas, encontra condições ideais de umidade e temperatura para sua reprodução (FREITAS et al., 2004; TIHOHOD, 1993). Tais fatores tornam-se agravantes para o eficiente controle desse fitopatógeno, o qual, após ter se estabelecido em uma área, tem a sua erradicação dificultada, exigindo a adoção de diversas medidas para a redução populacional e, assim, possibilitar o cultivo de determinadas culturas (FREITAS et al., 2004; TIHOHOD, 1993).

O controle de fitonematóides, em geral, pode ser feito por diferentes estratégias, com emprego de métodos químicos, físicos, culturais ou biológicos, onde se observa a viabilidade em cada caso (AMARAL et al., 2002; DIAS et al., 1998; DIAS et al., 2000; NEVES et al., 2005; SALGADO; CAMPOS, 2003). O emprego de nematicidas sintéticos, em razão de seu preço elevado, não é utilizado em culturas de menor valor econômico ou em pequenas áreas cultivadas. Outro aspecto desfavorável ao controle químico é a contaminação ambiental causada pela utilização destes produtos nas áreas tratadas. Os métodos físicos, as práticas culturais e o controle biológico não são poluentes, contudo geralmente demandam mais tempo e pessoal especializado para a obtenção do controle eficaz (FREITAS et al., 2004; TIHOHOD, 1993).

A busca de novas alternativas de controle de fitonematóides é, atualmente, uma preocupação mundial, dando-se prioridade à utilização de substâncias naturais biologicamente ativas (SILVA, 2006). Diversos produtos naturais, incluindo extratos de raiz, sementes, folhas, óleos essenciais obtidos de diferentes espécies vegetais com propriedades nematicidas ou nematostáticas, têm sido isolados e caracterizados quimicamente, com promissores resultados para utilização prática (GOMMERS, 1981). Nesse contexto, os óleos essenciais representam uma ótima alternativa à proteção de plantas e são potencialmente úteis no manejo de doenças de plantas cultivadas, especialmente na agricultura orgânica, pois são importantes na defesa das plantas contra microrganismos e predadores (OKA et al., 2000; SALGADO et al., 2003).

Alguns estudos têm avaliado a ação nematostática ou nematicidas de óleos essenciais. Em ensaios conduzidos por Gonçalves et al. (2000), o óleo essencial de *Capparis flexuosa* L., tanto inibiu a eclosão de J2 de *M. incognita* como apresentou atividade nematicida. Bauske et al. (1994), conseguiram

controlar, efetivamente, *M. incognita* em algodão, em casa de vegetação, quando aplicaram no solo os óleos essenciais de *Cymbopogon* spp., *Litsea cubeba* L., *Pinus plaustris* Mill. e *Prunus dulcis* Mill. Freitas et al. (2000), verificaram redução no número de galhas e de ovos de *M. javanica* com óleos essenciais de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e mostarda (*Brassica campestris* L.) em tomateiros, em casa-de-vegetação.

Visando contribuir com os estudos direcionados para o controle alternativo de fitonematóides, realizou-se este trabalho que teve por objetivo avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de seis espécies medicinais, em sete concentrações, na eclosão e mortalidade de juvenis (J2) de *M. incognita* raça 2.

Material e métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia, Setor de Fitossanidade, do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE.

Obtenção e multiplicação do inóculo de *Meloidogyne incognita* raça 2

O inóculo foi multiplicado a partir de massas de ovos individuais obtidas de população monoespecífica de *M. incognita* raça 2. Mudanças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. Santa Clara foram empregadas para a contínua multiplicação do patógeno em vasos de 2 kg de capacidade mantidos em condições de casa-de-vegetação, a uma temperatura de 28±2 °C.

Os ovos do fitonematóide empregados nos ensaios foram extraídos de tomateiros infestados, pela técnica de Hussey e Barker (1973) apud Tihohod (1993). Para melhorar o procedimento e a visualização dos ovos extraídos, a suspensão obtida foi submetida ao método de Flotação e Centrifugação, proposto por Jenkins (1964) apud Tihohod (1993), acrescida de caolim (COOLEN; D'HERDE, 1972 apud TIHOHOD, 1993). A contagem do número de ovos foi realizada com o auxílio de câmara de Peters, em microscópio estereoscópio.

Obtenção e preparo das concentrações dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), capim santo (*Cymbopogon citratus* D. C. Strapf.), cidreira (*Lippia alba* Mill) e eucalipto (*Eucalyptus tereticornis* Sm.) foram adquiridos juntos ao Horto de Plantas Medicinais da Fazenda Experimental Vale do Curu do CCA/UFC, em

Pentecoste-CE. Os óleos essenciais foram extraídos pela técnica de arraste a vapor, conforme metodologias descritas por Alencar et al. (1984) e Craveiro et al. (1981).

Em razão da viscosidade apresentada pelos óleos essenciais, tornou-se necessária a solubilização dos mesmos antes do preparo de cada concentração. Para tanto, em um recipiente, colocaram-se partes iguais de óleo essencial e do detergente Texapon N-40® (lauril éter sulfato de sódio) que, depois de misturados, constituíram a solução padrão. A maior concentração (10 ml L⁻¹, óleo:água) foi a primeira a ser preparada a partir daquela mistura, usando água destilada na diluição. As demais concentrações (5,0; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 ml L⁻¹) foram obtidas por meio de diluição, em partes iguais, de água e alíquotas da concentração imediatamente anterior. A testemunha do ensaio consistiu de ovos incubados em água destilada (0,0 ml L⁻¹).

Avaliação da eclósão de J2 de *M. incognita* raça 2 nos óleos essenciais

Para cada óleo e concentração, foram utilizadas placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro como câmaras de eclósão, nas quais foram colocados 60 ovos de *M. incognita* raça 2, em 4,0 ml de solução de cada óleo, em cada concentração a ser testada. As câmaras de eclósão foram postas em bandejas de polietileno forradas com papel de filtro umedecido e mantidas em temperatura ambiente durante o período de 16 dias. Esse tempo é requerido para formação e eclósão dos J2 que estejam ainda no início do desenvolvimento embrionário (CAMPOS et al., 2006).

A contagem dos J2 eclodidos, realizada com o auxílio de microscópio estereoscópio, iniciou-se 24 horas após a montagem do ensaio e prosseguiu pelos 16 dias subsequentes de incubação, com intervalos de 48 horas entre as avaliações, totalizando oito contagens. Em cada avaliação, registrou-se o número de J2 eclodido nas placas, obtendo-se a quantidade total pela soma dos J2 aos 16 dias de observação.

A análise da eclósão dos J2 foi feita por meio da área abaixo da curva de progresso da eclósão (AACPE), calculada pela equação proposta por Campbell e Madden (1990) apud Salgado et al. (2003):

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

Os valores percentuais de J2 eclodidos foram aplicados na equação (1), considerando: Y_i = percentagem de eclósão na i -ésima avaliação; T_i = tempo em dias na i -ésima avaliação; n = número de avaliações.

Avaliação da mortalidade de J2 de *M. incognita* raça 2 nos óleos essenciais

A avaliação da mortalidade dos J2 foi realizada concomitantemente às observações de eclósão, iniciando-se 24 horas após a montagem do ensaio e transcorrendo até se completarem os 16 dias determinados. Nas avaliações foram contados todos os J2 imóveis em cada período de 48 horas. Para a confirmação de ocorrência de mortalidade, transferiram-se os exemplares para água examinando-os, em seguida, em lâminas, ao microscópio ótico no aumento de 40x, para verificar alguma mínima atividade nos exemplares. O número final de J2 mortos no ensaio foi obtido pela soma das oito contagens até o 16º dia de observação.

Delineamento Estatístico Empregado

Para a realização deste ensaio, utilizou-se o esquema fatorial 6 x 7, sendo seis óleos essenciais de plantas medicinais (alfavaca, alecrim pimenta, capim santo, capim citronela, cidreira e eucalipto) e sete concentrações de óleo (0; 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 ml L⁻¹), dispostos no delineamento inteiramente casualizado (DIC). Cada um dos 42 tratamentos foi constituído de seis repetições que consistiam de placas (câmaras de eclósão) contendo 60 ovos cada, totalizando 360 ovos por tratamento. No total, foram empregadas 252 placas.

Os dados obtidos nesse ensaio foram submetidos à verificação da homogeneidade das variâncias pelo teste de Hartlet, conforme Banzato e Kronka (1989). Observada a normalidade dos dados, procedeu-se à análise de variância, a qual foi realizada no programa estatístico Assistat, versão 7,4 beta, sendo as variâncias comparadas pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade. A comparação das médias entre os tratamentos com os óleos essenciais foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade. Já para os tratamentos de concentrações dos óleos essenciais, utilizou-se da análise de regressão visando o ajuste do modelo mais apropriado para descrever o fenômeno biológico.

Resultados e discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados sumarizados dos quadrados médios e coeficientes de variação da análise de variância a que foram submetidos os dados de eclósão de juvenis (J2), para as variáveis: percentagem de eclósão, área abaixo da curva de progresso da eclósão (AACPE) e mortalidade de J2. De acordo com os dados, pode-se verificar que todos os tratamentos mostraram-se significativos ($P \leq 0,01$), tanto para os efeitos principais como para a interação.

Tabela 1 - Resumo dos quadrados médios e coeficientes de variação (CV) da análise de variância a que foram submetidos os dados de eclosão de J2 de *M. incognita* raça 2, em função da aplicação de sete concentrações de óleos essenciais de seis espécies medicinais. Fortaleza-CE. UFC, 2007

| Causas da variação | G.L. | Quadrados médios | | |
|----------------------|------|------------------|------------|-----------------|
| | | Eclosão (%) | AACPE* | Mortalidade (%) |
| Óleos essenciais (A) | 5 | 2343,48** | 32189,77** | 2146,35** |
| Concentrações (B) | 6 | 16264,04** | 42375,52** | 13756,11** |
| A x B | 30 | 563,80** | 5328,97** | 772,34** |
| Resíduo | 210 | 9,91 | 131,53 | 39,90 |
| C.V. (%) | - | 18,4 | 30,9 | 7,6 |

* Área abaixo da curva de progresso da eclosão; ** Valor significativo a 1% pelo teste F

A eclosão dos J2 submetidos a baixas concentrações de óleo essencial e a dos que permaneceram em água destilada concentrou-se nos seis primeiros dias de incubação. Contudo, até o décimo dia após o início do ensaio, constatou-se que houve eclosão, mesmo que em taxas mais baixas. Isto ocorreu, provavelmente, em razão da heterogeneidade de estágios de desenvolvimento dos ovos (do início do desenvolvimento embrionário à pré-eclosão) dispostos na mesma placa. Os J2 já completamente formados estariam aptos a eclodir, pois suas reservas nutritivas o capacitam a tal ação (CAMPOS et al., 2006). A temperatura ambiente de 27 °C, constatada durante o ensaio no laboratório, pode ter acelerado o processo de eclosão dos J2 nos primeiros dias do ensaio. Gonçalves et al. (2000) havia constatado que o óleo essencial de

Capparis flexuosa L. foi eficaz tanto na inibição da eclosão de J2 de *M. incognita* como também apresentando atividade nematicida.

Em muitos estudos, tem-se observado resultados satisfatórios com a utilização de produtos naturais, tais como extratos de plantas medicinais (DIAS et al., 1998; NEVES et al., 2005), extratos aquosos (AMARAL et al., 2002; DIAS et al., 2000) e óleos essenciais de várias espécies vegetais (BAUSKE et al. 1994; FREITAS et al. 2000; SALGADO; CAMPOS, 2003), mostrando, com isso, que estes produtos são potenciais fontes de substâncias com atividades nematicidas ou nematostáticas.

Na Tabela 2, estão expostos os valores médios percentuais de eclosão e mortalidade de juvenis J2 de

Tabela 2 - Valores médios percentuais de eclosão e mortalidade de juvenis (J2) em função da aplicação de sete concentrações de óleos essenciais de seis espécies medicinais. Fortaleza-CE. UFC, 2007

| Espécies medicinais | Variáveis analisadas | Concentrações dos óleos essenciais (ml L ⁻¹) | | | | | | |
|---------------------|----------------------|--|----------|----------|----------|----------|--------|--------|
| | | 0 | 0,3125 | 0,625 | 1,25 | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
| Alecrim pimenta | Eclosão | 85,0 aA | 28,0 bC | 0,0 cC | 0,0 cC | 0,0 cB | 0,0 cA | 0,0 cA |
| | Mortalidade | 22,0 bA | 100,0 aA | - | - | - | - | - |
| Capim citronela | Eclosão | 81,0 aA | 0,0 bD | 0,0 bC | 0,0 bC | 0,0 bA | 0,0bA | 0,0bA |
| | Mortalidade | 18,0 aA | - | - | - | - | - | - |
| Capim santo | Eclosão | 90,0 aA | 61,0 bA | 52,0 bA | 24,0 cB | 0,0 dA | 0,0dA | 0,0dA |
| | Mortalidade | 16,0 cA | 52,0 bC | 63,0 bB | 100,0 aA | - | - | - |
| Eucalipto | Eclosão | 82,0 aA | 72,0 aA | 58,0 bA | 44,0 cA | 12,0 dA | 0,0dA | 0,0dA |
| | Mortalidade | 15,0 dA | 43,0 cC | 41,0 cC | 54,0 bB | 100,0 aA | - | - |
| Alfavaca | Eclosão | 86,0 aA | 46,0 aB | 25,0 cB | 18,0 dB | 0,0 dB | 0,0dA | 0,0dA |
| | Mortalidade | 20,0 cA | 72,0 bB | 100,0 aA | 100,0 aA | - | - | - |
| Cidreira | Eclosão | 85,0 aA | 47,0 bB | 36,0 bB | 22,0 cB | 9,0 dA | 0,0dA | 0,0dA |
| | Mortalidade | 20,0 cA | 82,0 bB | 73,0 bB | 100,0 aA | 100 aA | - | - |

* Médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$); - = mortalidade não registrada por não haver eclosão

M. incognita raça 2 submetidos aos tratamentos com os seis óleos essenciais nas sete concentrações.

Na análise da Tabela 2, verifica-se que, para a variável percentagem de eclósão de J2, os valores da testemunha foram bastante superiores (81 a 90%) aos observados nas seis concentrações de óleos empregadas (9 a 72%). Assim, de 360 ovos que foram colocados em água, o menor percentual de eclósão observado (81%) correspondeu a 291 J2 eclodidos. A menor taxa de eclósão de J2 em óleo (9%) foi observada em cidreira a 2,5 ml L⁻¹ e a maior (72%) foi constatada em eucalipto a 0,325 ml L⁻¹. Inibição total de eclósão foi observada nos seguintes casos: em capim citronela, desde a menor concentração usada (0,3125 ml L⁻¹), em alecrim pimenta a partir de 0,625 ml L⁻¹, em capim santo e alfavaca de 2,5 a 10 ml L⁻¹ e no óleo de cidreira com pelo menos 5,0 ml L⁻¹.

Com relação à mortalidade dos juvenis, observa-se que os todos os óleos essenciais testados foram eficientes, acarretando taxas de mortalidade (Tabela 2) variando de 41% (óleo de eucalipto a 0,625 ml L⁻¹) a 100% (óleo de alecrim pimenta a 0,325 ml L⁻¹, óleo de alfavaca em 0,625 ml L⁻¹ e óleos de capim santo e cidreira na concentração mínima de 1,25 ml L⁻¹). No óleo de eucalipto, a total mortalidade ocorreu em 2,5 ml L⁻¹. No capim citronela, a mortalidade não pôde se avaliada em razão da não eclósão de J2. Em água, observaram-se de 15 a 22% de mortalidade. A maior taxa (22%), em um dos casos, significou a sobrevivência final de 239 J2 em água. Tomando como exemplo o óleo essencial de cidreira na menor concentração (0,3125 ml L⁻¹), observou-se que dos 169 J2 eclodidos (47%), sobreviveram apenas 31, em razão de uma mortalidade de 82% (Tabela 2). Assim, quando as concentrações dos óleos não demonstraram boa ação nematostática, provocaram a morte de J2 eclodidos de forma expressiva e, já nos primeiros dias, indicando haver uma ação tóxica dos óleos testados sobre os juvenis infestantes de *M. incognita* raça 2. Estes resultados sugerem que nestes óleos essenciais há presença de compostos com distintas atividades metabólicas sobre os juvenis de segundo estágio da espécie do nematóide estudada.

Pandey et al. (2000), estudando o efeito de óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* Hooker e *Ocimum basilicum* L. sobre *M. incognita*, verificaram 100% de mortalidade de J2 na concentração de 250 ppm, enquanto que o óleo de *Cymbopogon martinii* (Roxb) só provocou a mesma mortalidade na concentração de 1.000 ppm. Segundo os autores, os óleos das espécies estudadas possuem compostos com visível atividade nematicida. Estes valores correspondem aos estudados em nosso trabalho com resultados satisfatórios, para as concentrações de 1,25 e 2,50 ml L⁻¹.

Salgado et al. (2003) observaram elevada mortalidade de J2 de *M. exigua* 24 horas após imersão em óleos essenciais de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn, *E. saligma* Smith, *E. urophylla* S. T. Blake, *Bixa orellana* L., *Cymbopogon nardus* L., *Xylopiopsis brasiliensis* Sprengel e *Melia azedarach* L. Contudo, nos ensaios conduzidos para observar a inibição de eclósão dos J2, os autores não constataram inibição significativa da eclósão ($P \leq 0,01$) e atribuíram o insucesso do ensaio à possível volatilização das substâncias bioativas, o que teria ocorrido em decorrência de um extenso período (14 dias) de incubação. No presente trabalho, o ensaio teve duração de 16 dias e as placas fechadas sob papel de filtro umedecido, dispostas em bandejas plásticas, evitaram a volatilização dos compostos e possibilitaram melhores resultados.

De acordo com Oka et al. (2000) e Salgado et al. (2003), os óleos essenciais são constituídos de uma miscelânea de substâncias químicas cuja interação pode resultar em compostos que podem interferir no metabolismo do nematóide, desorganizando ou inibindo funções vitais desde as fases iniciais do desenvolvimento embrionário, bem como nos mecanismos de movimentação, em razão da possível desestruturação do sistema nervoso. Segundo Oka (2001), óleos essenciais podem ainda promover a ruptura das membranas celulares dos juvenis e a consequente alteração de sua permeabilidade, fato esse muito comum em fungos expostos a óleos essenciais. Para Campos et al., (2006) e Salgado et al., (2003) a presença de substâncias de diferentes grupos químicos em óleos essenciais podem efetivamente atuar de forma sinérgica sobre nematóides, com ruptura de membranas ou afetando o sistema nervoso ou serem catalisadoras de reação adversas aos nematóides, desde o início do desenvolvimento embrionário até a eclósão do J2, propriamente dita. Este tipo de ação poderia explicar a ausência de eclósão e, ou, a mortalidade dos juvenis.

Freire et al. (2003), avaliando a ação de óleos essenciais de três espécies de *Ocimum* sobre *M. incognita*, constataram 100% de mortalidade de J2 após 24 horas de exposição. Os autores atribuíram a forte atividade nematicida dos óleos ao eugenol (4-alil-2-metoxifenol), composto aromático presente nos óleos das três espécies usadas em percentuais superiores a 55%.

Segundo Matos et al. (2004), o eugenol tem ação inibidora sobre as atividades metabólicas em fungos e bactérias, ocasionando, com isso, redução na capacidade parasitária desses microrganismos. Oka et al. (2000) atribuíram ao eugenol, componente ativo majoritário presente no óleo essencial de alfavaca, o efeito nematicida observado em seus ensaios sobre *M. incognita*, *M. exigua* e *M. javanica*. Contudo, o mecanismo de ação dos óleos essenciais e seus constituintes ainda são pouco elucidados (OKA, 2001; PANDEY et al., 2000; PÉREZ

et al., 2003). Acredita-se que a ação nematicida observada pode ter ocorrido devido à presença de substâncias como o timol e o cravacrol (alecrim pimenta) e o citronelal (capim citronela), os quais apresentam ação antimicrobiana contra fungos e bactérias (MATOS et. al, 2004; MARCO et al., 2006).

Na Tabela 3, estão expostos os valores médios referentes à área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE) de juvenis (J2) de *M. incognita* raça 2 submetidos aos tratamentos com os seis óleos essenciais em sete concentrações. Pela análise dessa Tabela verificou-se que a AACPE dos tratamentos que envolveram os óleos essenciais foi significativamente inferior à das testemunhas constituídas de água.

A AACPE foi igual a zero para todas as concentrações do óleo de capim citronela e, desde a concentração mínima de 0,625 ml L⁻¹, para o óleo de alecrim pimenta. Para os óleos de capim santo e de alfavaca a AACPE foi nula somente com 2,5 ml L⁻¹ em diante, o mesmo ocorrendo com eucalipto e cidreira apenas na diluição correspondente a 5,0 ml dos óleos solubilizados dissolvidos em 1,0 L de água. Percebe-se, portanto, nesta análise, a maior eficiência na inibição da eclosão de J2 nos óleos essenciais de capim citronela e de alecrim pimenta.

Na Figura 1, estão dispostas as curvas de progresso da eclosão dos juvenis de *M. incognita* raça 2 geradas para os seis óleos essenciais, nas sete concentrações empregadas.

Em todas as curvas (A-F) observa-se a redução nos valores percentuais de eclosão de acordo com o aumento da concentração dos óleos, sendo mais acentuado para os óleos de alecrim pimenta e do capim citronela (Figuras 1A e 1B), conforme já mencionado.

Na Figura 1C, observa-se o efeito inibitório quase linear, diretamente proporcional às concentrações de óleo essencial do capim santo de 0,3125 até 2,5 ml L⁻¹, alcançando, daí em diante, a inibição total da eclosão. Na Figura 1D, percebe-se a acentuada inibição da eclosão de J2 nas três primeiras concentrações utilizadas do óleo essencial de alfavaca, como também a inibição total da eclosão ocorrida a partir de 2,5 ml L⁻¹. Observa-se na Figura 1E, o efeito inibitório moderado do óleo essencial de eucalipto nas concentrações de 0,3125 a 2,5 ml L⁻¹, com a inibição total da eclosão a partir da concentração de 5,0 ml L⁻¹. Finalmente, em 1F, a curva exibe a elevada redução da eclosão ocorrida com o óleo essencial de cidreira nas menores concentrações de 0,3125 e 0,625 ml L⁻¹ percebendo-se a inibição total a partir de 1,25 ml L⁻¹.

Diante dos resultados obtidos neste ensaio, constatou-se que os óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela, em razão dos valores elevados observados na inibição de eclosão e mortalidade de juvenis de *M. incognita* raça 2, apresentaram-se como os mais promissores e que há potencial de sua utilização no manejo integrado de nematóide das galhas, principalmente em pequenas áreas, como é o caso dos cultivos de plantas ornamentais, medicinais e olerícolas. Contudo, torna-se necessária a condução de ensaios em casa-de-vegetação para avaliar a eficácia dos óleos no solo uma vez que nesse sistema há a interação com muitos outros fatores, tais como: insolação, chuvas, textura do solo, níveis de matéria orgânica, microfauna do solo, temperatura, entre outros. Informações adicionais, tais como: concentrações ideais, formas de aplicação, custo, tipo adequado de solo, necessidade de veículo para melhor ação do produto, entre outras, devem ser obtidas para validar o seu uso, visando, com

Tabela 3 - Valores médios da área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE) de juvenis (J2) em função da aplicação de sete concentrações de óleos essenciais de seis espécies medicinais. Fortaleza-CE. UFC, 2007

| Espécies | Concentrações dos óleos essenciais | | | | | | |
|-----------------|--|---------|---------|---------|--------|--------|--------|
| | 0,0** | 0,3125 | 0,625 | 1,25 | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
| | Área abaixo da curva de progresso da eclosão | | | | | | |
| Alecrim pimenta | 132,9 aA | 4,6 bC | 0,0 cB | 0,0 cE | 0,0 cB | 0,0 cA | 0,0 cA |
| Capim citronela | 121,5 aA | 0,0 bD | 0,0 bB | 0,0 bE | 0,0 bB | 0,0 bA | 0,0 bA |
| Capim santo | 131,9 aA | 35,3 bB | 20,0 cA | 16,3 cB | 0,0 dB | 0,0 dA | 0,0 dA |
| Eucalipto | 125,6 aA | 26,5 bB | 21,3 bA | 11,1 cC | 7,3 dB | 0,0 dA | 0,0 dA |
| Alfavaca | 135,5 aA | 75,7 bA | 26,5 cA | 21,3 cA | 0,0 cA | 0,0 dA | 0,0 dA |
| Cidreira | 111,2 aA | 7,7 bC | 5,5 bB | 6,3 bD | 5,1 cB | 0,0 cA | 0,0 cA |

* Área abaixo da curva de progresso da eclosão; ** Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre se pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

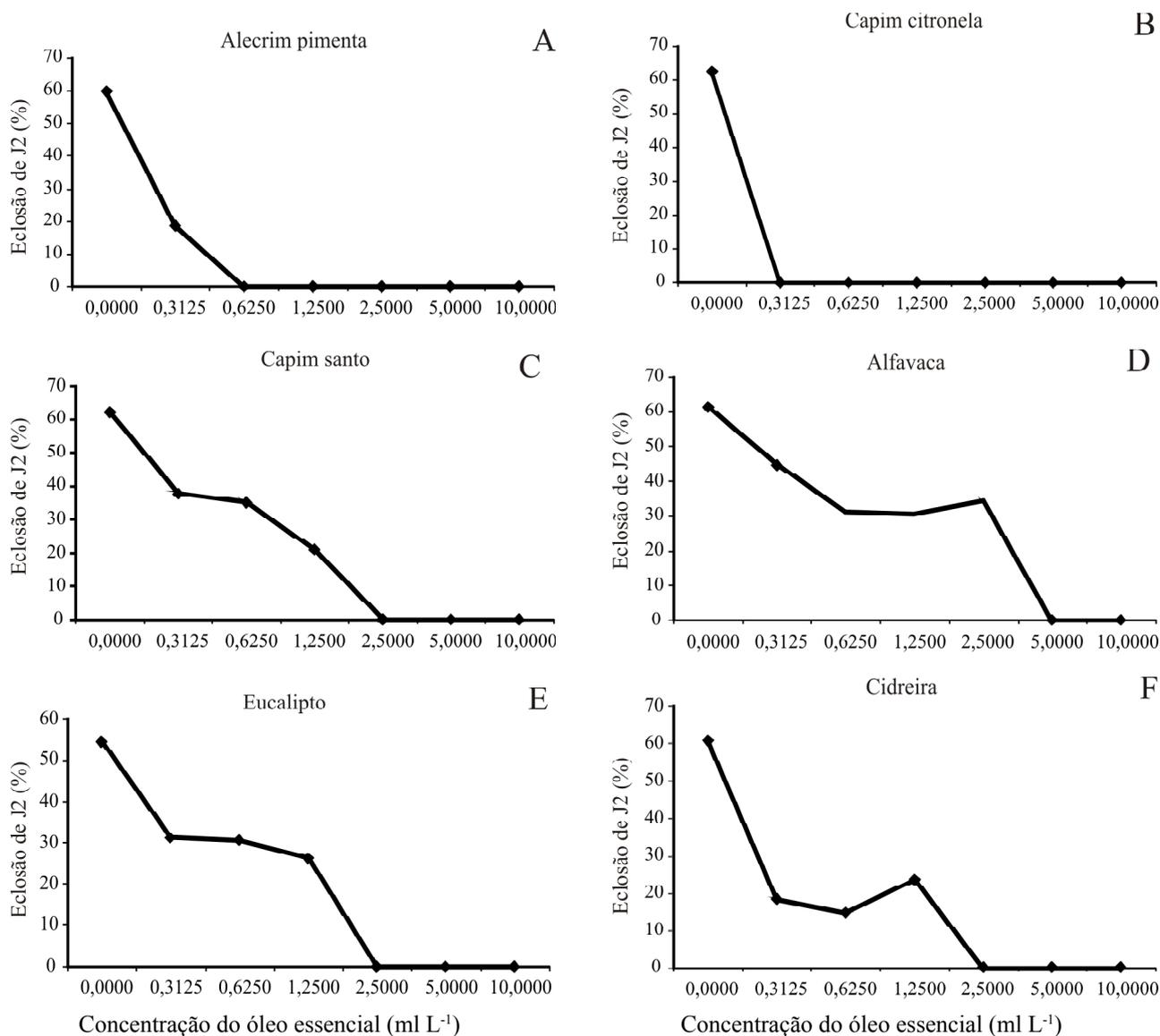


Figura 1 - Curvas de progresso da eclosão de J2 de *M. incognita*, raça 2, nos óleos essenciais de alecrim pimenta (A), capim citronela (B), capim santo (C), alfavaca (D), eucalipto (E) e cidreira (F) em função de sete concentrações (0; 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 ml L⁻¹). Fortaleza-CE. UFC, 2007

isso, uma agricultura sustentável, evitando os efeitos deletérios ao homem, ao meio ambiente e à população de organismos benéficos do solo, provocados pelo uso indiscriminado dos defensivos agrícolas sintéticos.

Conclusões

Nas condições em que este experimento foi realizado, conclui-se que:

1. Todos os óleos essenciais testados são eficazes na inibição da eclosão de J2 de *M. incognita* raça 2, nas concentrações de 5,0 e 10,0 ml L⁻¹;

2. Os óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela são os mais efetivos na inibição da eclosão de J2 de *M. incognita* raça 2;

3. Mesmo havendo eclosão, a ação de todos os óleos essenciais provocam a expressiva mortalidade de J2.

Referências

- ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A. Kovats' indices as a preselection routine in mass spectra library searches of volatiles. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 05, p. 890-892, 1984.

- AMARAL, D. R. et al. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 01, p. 43-48, 2002.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 247 p.
- BAUSKE, E. M. et al. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. **Nematropica**, v. 24, n. 02, p. 143-150. 1994.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito do tempo e da temperatura de incubação de juvenis do segundo estágio (J2) no teor de lipídio corporal e no parasitismo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 04, p. 387-393, 2006.
- CRAVEIRO, A. C. et al. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: UFC, 1981. 210 p.
- DIAS, C. R. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 02, p. 203-210. 2000.
- DIAS, C. R. et al. Efeito de quatro espécies de plantas medicinais sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & Whiye, 1919) Chitwood, 1949, em cultivo protegido. **Nematologia Brasileira**, v. 22, n. 02, p. 58-65, 1998.
- FREIRE, A. R. et al. Avaliação dos óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* L., *Ocimum micranthum* Willd. e *Ocimum tenuiflorum* L. como fitonemático. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2003, Campinas. **Documentos**, IAC, 74. Campinas, 2003. p. 107.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 2004. 84 p. (Cadernos didáticos, 58).
- FREITAS, L. G. et al. Controle de *Meloidogyne javanica* com aplicação de óleos essenciais de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 33., Belém, **Resumos...** Belém: Fitopatologia Brasileira, 2000. p. 336. (Suplemento).
- GOMMERS, F. J. Biochemical interactions between nematodes and plants their relevance to control. Helminthological Abstracts, Series B, **Plant Nematology**, v. 50, n. 01, 1981, p. 9-24.
- GONÇALVES, F. J. T.; FREIRE, F. C. O.; ANDRADE NETO, M. Atividade antagonista do óleo essencial dos frutos de *Capparis flexuosa* em ovos de juvenis de *Meloidogyne incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 1., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: COBRADAN, 2000. p. 35. 1 v.
- MARCO, C. A. et al. Influência do espaçamento, altura e época de corte no rendimento da biomassa e óleo essencial na cultura do capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 01, p. 32-36, 2006.
- MATOS, F. J. A. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. 2. ed. Fortaleza: Editora UFC, 2004. 448 p.
- NEVES, W. S. et al. Atividade de extratos de alho (*Allium sativum*), mostarda (*Brassica campestris*) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 02, p. 273-278, 2005.
- OKA, Y. et al. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Nematology**, v. 90, n. 07, p. 710-715, 2000.
- OKA, Y. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, v. 03, n. 02, p. 159-164, 2001.
- PANDEY, R. et al. Essential oils as potent sources of nematicidal compounds. **Journal of Phitopathology**, v. 148, n. 7-8, p. 501-502, 2000.
- PÉREZ, M. P. et al. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. **Plant Pathology**, v. 52, n. 03, p. 395-401, 2003.
- SALGADO, S. M. et al. Eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* em óleos essenciais. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 01, p. 17-22, 2003.
- SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V. P. Eclosão e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 02, p. 166-170, 2003.
- SILVA, G. S. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 39., 2006, Salvador. **Palestra...** Salvador, 2006.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372 p.