



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

CESAR ELÍAS LEÓN RODRÍGUEZ

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ÓLEOS ESSENCIAS PARA O CONTROLE DE
*Meloidogyne javanica***

GURUPI - TOCANTINS

2025

Cesar Elías León Rodríguez

Potencial biotecnológico de óleos essenciais para o controle de *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de mestre em Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Eugênio Eduardo Oliveira

Coorientadores: Prof. Dra. Dalila Sêni Buonicontro

GURUPI - TOCANTINS

2025

Cesar Elias León Rodríguez

Potencial biotecnológico de óleos essenciais para o controle de *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada à UFT – Universidade Federal de Tocantins – Campus Universitário de Gurupi, Curso de Biotecnologia foi avaliado para obtenção do título de mestre em Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Data de Aprovação: ___ / ___ / 2025

Banca examinadora:

Prof. Dr. Eugênio Eduardo Oliveira, UFT,

Prof. Dra. Wânia dos Santos Neves, EPAMIG

Dra. Elizabeth Bárbara Epalanga Pires, UFT,

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

L585p León Rodríguez, Cesar Elías.
POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ÓLEOS ESSENCIAS PARA O
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*. / Cesar Elías León Rodríguez. –
Gurupi, TO, 2025.

43 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
Biotecnologia, 2025.

Orientador: Eugênio Eduardo de Oliveira

Coorientador: Dalila Sêni Buonicontro

1. Óleos essenciais. 2. Controle biológico. 3. *Meloidogyne javanica*. 4.
Biotecnologia agrícola. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo dom da vida, pela saúde, pela força a cada amanhecer, por nunca me abandonar nos momentos de sofrimento e desespero, e por me sustentar até este momento.

Aos meus pais, Manuel e Rosa, pelo exemplo de dedicação e apoio contínuo aos meus estudos. O amor e o sacrifício de vocês foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e acadêmico. Aos meus irmãos, pelo apoio incondicional e por estarem sempre presentes nos momentos mais importantes da minha vida.

Ao professor Eugênio de Oliveira, por me acolher em seu laboratório e oferecer constante orientação. Aprecio muito seu profissionalismo e dedicação.

À professora Dalila Sêni Buonicontro, por permitir que eu conduzisse minha pesquisa em seu laboratório. Seu apoio e conhecimento enriqueceram muito minha experiência acadêmica.

Ao professor Raimundo Souza Aguiar, por me receber no programa PPG Biotecnologia. Sua orientação e incentivo foram essenciais para o meu desenvolvimento nessa área.

Ao professor Eduardo Valarezo, por sempre me orientar e motivar para aprimorar minha formação. Sua ajuda foi essencial em meu desenvolvimento acadêmico. Não poderia deixar de agradecer à Maria José González e ao professor Luis Viteri, por tornarem possível que eu cursasse meu mestrado. O apoio e a confiança de vocês foram decisivos nesta trajetória.

Ao Jediel Fernandes, por sempre esclarecer minhas dúvidas com paciência e disponibilidade. Sempre que precisei de ajuda com inscrições acadêmicas, você esteve pronto para orientar.

Agradeço ao Professor João Paulo Viana Leite pelo apoio imprescindível que me permitiu concluir esta investigação. Estendo também meus sinceros agradecimentos à Thais, cuja ajuda e amabilidade foram fundamentais para a finalização bem-sucedida deste trabalho.

A todos os colegas do laboratório BrainPhy, especialmente Luis Salinas, Tatiana, Sabrina, Lara, Thiago Svacina, Tiago Luis, Milton, Duván, Gabriel, Lucas, Leonardo, Mathews, Leonardo Bronze, Mariana, Bruna, Yara, Silvana, Joel, Vinicius, Julia, Joshua, Aline, Franklin, Ana Claudia, Daniele, Luis Guilherme e Jonatas, agradeço a amizade, colaboração e apoio constante. Cada um de vocês deixou uma marca significativa em minha trajetória.

À doutora Elizabeth Pires, cuja orientação foi fundamental para o desenvolvimento da minha tese. Sua dedicação e conhecimento técnico foram essenciais neste processo.

À Tarciza Fernandes, minha gratidão mais profunda. Seu auxílio me proporcionou não apenas conhecimento técnico, mas também confiança e motivação nos momentos de incerteza.

Ao Heitor Aguiar, por sua colaboração e apoio no desenvolvimento da minha pesquisa.

A todo o pessoal do laboratório de Fitopatologia, especialmente José Rodrigues, pelo apoio constante e pela disposição em ajudar. Sua contribuição foi inestimável.

Aos amigos que conquistei em Viçosa Sara, Roy, Isabela e Yesid, obrigado pela amizade, apoio e por todos os momentos inesquecíveis que compartilhamos.

À minha namorada Andrea, obrigada por estar sempre ao meu lado, por fazer parte de todo esse processo, com você ao seu lado, você torna tudo mais fácil, você até me faz esquecer que estamos longe de casa, sempre agradecerei a Deus por ter colocado você no meu caminho.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Federal do Tocantins e à Universidade Federal de Viçosa pelo fomento e suporte institucional que possibilitaram este trabalho.

OBRIGADO

RESUMO

Os nematoides do gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoides-das-galhas, são fitoparasitas que afetam diversas culturas de importância econômica, como tomate, soja e algodão. Esses organismos induzem a formação de galhas nas raízes, comprometendo a absorção de nutrientes e água, o que resulta em redução do crescimento e da produtividade das plantas. Devido aos impactos ambientais e riscos à saúde associados ao uso de nematicidas químicos, cresce o interesse por estratégias alternativas, como o uso de produtos derivados de plantas, incluindo extratos e óleos essenciais. Estes são misturas complexas de compostos bioativos, como ésteres, cetonas e álcoois, reconhecidos por sua atividade biológica e potencial para o controle de fitopatógenos. Embora a maioria dos estudos sobre nematicidas tenha se concentrado na aplicação por contato direto, a avaliação da ação volátil desses compostos é fundamental para explorar mecanismos adicionais de controle, baseado na liberação de vapores. Neste estudo, foi avaliada a atividade volátil de óleos essenciais frente a *Meloidogyne javanica* nas fases de ovo e juvenis de segundo estágio (J2). O óleo essencial de *Ruta chalepensis* foi extraído por arraste a vapor e caracterizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Também foram avaliados os óleos essenciais de *Citrus × limonia*, *Pelargonium graveolens* e *Siparuna guianensis*. As concentrações testadas variaram de 0,1 a 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) e água como controles negativos, e um bionematicida comercial, Vigga® SC, como controle positivo. A análise por GC-MS identificou como principais constituintes do óleo essencial de *R. chalepensis* a 2-undecanona (51,94%), 2-nonanona (22,36%) e a 2-acetoxitridencano (7,72%). Na avaliação da atividade volátil, *R. chalepensis* induziu 95,4% de mortalidade em J2 na concentração de 7,16 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar (CL₉₀), enquanto *Citrus × limonia* alcançou 100% a 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar. *P. graveolens* apresentou 65% de mortalidade e *S. guianensis* 16% na mesma concentração. Na inibição da eclosão de ovos, apenas o óleo de *R. chalepensis* foi avaliado, com taxas de mortalidade de 81,7% na concentração de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar e de 95,5% na de 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar. Esses resultados evidenciam o potencial nematicida dos compostos voláteis presentes nos óleos essenciais, especialmente no óleo de *R. chalepensis*, cuja eficácia foi comprovada por meio da exposição dos nematoides aos seus vapores. A técnica de avaliação da atividade volátil demonstrou ser promissora para o controle biológico de *M. javanica*, indicando uma alternativa sustentável e eficaz aos nematicidas convencionais no manejo desses fitopatógenos.

Palavra chaves: Controle biológico. Atividade nematicida. Compostos voláteis

ABSTRACT

Root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* are plant-parasitic organisms that affect a wide range of economically important crops, such as tomato, soybean, and cotton. These nematodes induce the formation of galls on the roots, impairing nutrient and water absorption, which results in reduced plant growth and productivity. Due to the environmental impact and health risks associated with the use of chemical nematicides, there is increasing interest in alternative strategies, such as the use of plant-derived products, including extracts and essential oils. These oils are complex mixtures of bioactive compounds, such as esters, ketones, and alcohols, known for their biological activity and potential in controlling phytopathogens. Although most nematicidal studies have focused on direct-contact applications, the assessment of the volatile action of these compounds is crucial to explore additional control mechanisms based on vapor release. In this study, the volatile activity of essential oils was evaluated against *Meloidogyne javanica* at the egg and second-stage juvenile (J2) stages. The essential oil of *Ruta chalepensis* was extracted by steam distillation and characterized by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). Essential oils from *Citrus × limonia*, *Pelargonium graveolens*, and *Siparuna guianensis* were also evaluated. Tested concentrations ranged from 0.1 to 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of air, using dimethyl sulfoxide (DMSO) and water as negative controls, and a commercial bionematicide, Vigga® SC, as a positive control. GC-MS analysis identified 2-undecanone (51.94%), 2-nonanone (22.36%), and 2-acetoxytridecane (7.72%) as the major components of the *R. chalepensis* essential oil. In the volatile activity assessment, *R. chalepensis* induced 95.4% mortality in J2 at a concentration of 7.16 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of air (CL_{90}), while *Citrus × limonia* reached 100% at 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of air. *P. graveolens* caused 65% of mortality and *S. guianensis* 16% at the same concentration. Regarding egg hatch inhibition, only the essential oil of *R. chalepensis* was evaluated, showing mortality rates of 81.7% at the concentration of 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of air and 95.5% at 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of air. These findings highlight the nematicidal potential of volatile compounds present in essential oils, especially that of *R. chalepensis*, whose effectiveness was demonstrated through the exposure of nematodes to its vapors. The volatile activity evaluation technique proved to be a promising tool for the biological control of *M. javanica*, offering a sustainable and effective alternative to conventional nematicides in the management of these plant pathogens.

Keywords: Biological control. Nematicidal activity. Volatile compounds

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Cromatograma do óleo essencial de *Ruta chalepensis*.23
- Figura 2 – Curva de mortalidade para juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* expostos ao óleo essencial de *Ruta chalepensis*.....246
- Figura 4 – Avaliação das concentrações de CL90 do óleo essencial de *Ruta chalepensis* e controle positivo Vigga® em juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* após 72 horas de exposição volátil aos tratamentos..... 27
- Figura 5 – Mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. javanica* após exposição por 72 horas em na exposição volátil do óleo essencial de *C. limonia* em diferentes concentrações no ar..... 28
- Figura 6 – Mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. javanica* após exposição por 72 horas em na exposição volátil do óleo essencial de *P. graveolens*, em diferentes concentrações no ar.. 29
- Figura 7 – Mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. javanica* após exposição por 72 horas em na exposição volátil do óleo essencial de *P. graveolens*, em diferentes concentrações no ar. A curva representa o ajuste do modelo de regressão não linear exponencial, descrito pela equação: $Y = (a + b \times x) / (c + x)$. O modelo apresentou um ajuste moderado aos dados ($R^2 = 0,36$; $F_{(2,3)} = 0,84$; $P = 0,5$).
..... 30
- Figura 8 – Avaliação da exposição volátil do óleo essencial de *Ruta chalepensis* após 168 horas..31

LISTA DE QUADROS

- Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de *Ruta chalepensis* identificada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)..... 24
- Tabela 2 – Apresenta os efeitos da exposição volátil ao óleo essencial de *Ruta chalepensis* e ao bionemática comercial Vigga® SC sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* após 72 horas de exposição. 27

LISTA DE LISTA DE EQUAÇÕES

- Equação 1 – Equação de desempenho para óleo essencial de *Ruta chalepensis*. 15
- Equação 2 – Equação de rendimento do óleo essencial de *Ruta chalepensis*..... 16
- Equação 3 – Equação do índice de Kovats..... 17
- Equação 4 – Mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*. 20
- Equação 5 – Equação de inibição da eclosão de J2 de *Meloidogyne javanica*..... 21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO GERAL:	14
2.1 <i>Objetivos Específicos:</i>	14
2 METODOLOGIA	15
2.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL E EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL	15
2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>RUTA CHALEPENSIS</i>	15
2.2.1 <i>Caracterização física</i>	15
2.2.3 <i>Caracterização química</i>	16
2.2 OBTENÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO	17
2.2.1. <i>Obtenção e multiplicação do inóculo de Meloidogyne javanica</i>	17
2.2.3 <i>Extração de ovos</i>	18
2.3 ATIVIDADE BIONEMATICIDA	19
2.3.1 <i>Efeito do óleo essencial na mortalidade de Meloidogyne javanica</i>	19
2.3.2 <i>Efeito do óleo essencial na inibição da eclosão de J2 de Meloidogyne javanica</i>	20
2.3.3 <i>Análise estatística dos dados</i>	22
3 RESULTADOS	22
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>RUTA CHALEPENSIS</i>	22
3.2 ATIVIDADE NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>RUTA CHALEPENSIS</i> CONTRA <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	24
3.3 EXPOSIÇÃO À TOXICIDADE DO CONTROLE POSITIVO BIONEMATICIDA COMERCIAL VIGGA® CONTRA <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	25
3.4 VALIDAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CL ₉₀ DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>RUTA CHALEPENSIS</i> E DO CONTROLE POSITIVO VIGGA® CONTRA J2 DE <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	26
3.6 ATIVIDADE NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CITRUS X LIMONIA</i> CONTRA <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	27
3.7 ATIVIDADE NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>PELARGONIUM GRAVEOLENS</i> CONTRA <i>MELOIDOGYNE</i>	29
3.7 ATIVIDADE NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>SIPARUNA GUIANENSIS</i> CONTRA <i>MELOIDOGYNE</i>	29
3.8 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL NA ECLOSÃO DE OVOS DE <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	30
4 DISCUSSÃO	32
5 CONCLUSÃO	37
6 REFERÊNCIAS	38
7 APÊNDICE	42

1 INTRODUÇÃO

A agricultura representa um pilar essencial para a segurança alimentar e o desenvolvimento sustentável em nível global (Pawlak; Kołodziejczak, 2020). No entanto, sua produtividade é constantemente ameaçada por fatores bióticos, como o ataque de insetos, proliferação de plantas daninhas e presença de patógenos, os quais podem reduzir em até 40% da produção anual de culturas agrícolas (Angon et al., 2023). Entre os patógenos mais relevantes destacam-se os nematoides fitoparasitas, com mais de 4.100 espécies descritas, que causam perdas econômicas superiores a 125 bilhões de dólares anualmente na agricultura mundial (Mesa-Valle et al., 2020).

Dentro desse grupo, o gênero *Meloidogyne* apresenta destaque devido à sua alta capacidade de adaptação, ciclo de vida curto e ampla gama de hospedeiros. Mais de 100 espécies já foram descritas, sendo *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* e *M. arenaria* as de maior importância agrônômica por sua ampla distribuição e impacto em culturas como soja, arroz, milho, trigo e diversas hortaliças (Khan et al., 2023; Lopes-Caitar; Pinheiro; Fc, 2019; Pun; Neupane; Koech, 2021). Esses nematoides parasitam o sistema radicular das plantas, prejudicando a absorção de água e nutrientes, e consequentemente comprometendo seu desenvolvimento (Martins et al., 2022).

No Brasil, 18 espécies do gênero *Meloidogyne* foram relatadas, com impacto sobre culturas de alto valor econômico, como cana-de-açúcar, cafeeiro, soja e tomate. As perdas causadas por essas espécies são estimadas em aproximadamente 6,5 bilhões de dólares por ano, sendo que cerca de 3 bilhões correspondem exclusivamente à cultura da soja (Gabriel et al., 2020; Martins et al., 2022). Entre elas, *M. javanica* destaca-se pela sua agressividade e elevado potencial de dano, sendo considerada uma das espécies mais importantes de nematoides fitoparasitas no contexto agrícola brasileiro (Carmona et al., 2020; Sarri et al., 2024a).

Diante desse cenário, os nematicidas têm sido empregados como estratégia para reduzir esses prejuízos, sendo os sintéticos, como os carbamatos e os organofosforados, ainda os mais amplamente utilizados no controle desses patógenos. (Ajith et al., 2020). Contudo, os riscos à saúde humana e os impactos ambientais associados a esses compostos têm levado à sua crescente restrição (Abebew et al., 2022). Em consequência, há um interesse crescente em alternativas mais sustentáveis, como os óleos essenciais e extratos botânicos. Esses produtos são ricos em compostos bioativos, especialmente os

derivados de plantas medicinais e aromáticas, os quais têm demonstrado eficácia no controle biológico de nematoides devido à presença de metabólitos secundários com atividade nematicida comprovada (Kirgiafina et al., 2024; Santos; Martinelli; Calderoni, 2022).

Entre as espécies vegetais com potencial biotecnológico, *Ruta chalepensis* (arruda) tem despertado crescente interesse científico. Tradicionalmente utilizada na medicina popular no tratamento de infecções, distúrbios reumáticos e problemas respiratórios (Qahtan et al., 2021), essa planta possui um óleo essencial rico em compostos como 2-undecanona, 2-nonanona, linalol, nonanal e geraniol. Esses metabólitos apresentam atividade nematicida contra espécies como *M. javanica*, atuando sobre seu sistema nervoso e penetrando na matriz gelatinosa dos ovos, onde induzem a mortalidade e modificam o status redox (Nahar et al., 2021; Sarri et al., 2024a).

O interesse por *R. chalepensis* também se deve ao seu amplo espectro de atividades biológicas. Estudos recentes demonstraram que seu óleo essencial apresenta atividade citotóxica contra células cancerígenas humanas (Al-Zaytoonah; Oran; Bustanji, 2022), efeito antifúngico contra *Trichophyton rubrum* e *Candida albicans* (Khoury et al., 2014), além de ação antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (Arámbula; Diaz; Garcia, 2019). Apesar dos avanços no uso desses óleos, sua atividade sobre os nematoides tem sido explorada predominantemente por meio de aplicações por contato, o que evidencia uma lacuna científica relevante.

Além disso, é possível aplicar outros óleos essenciais como por exemplo as do gênero *Citrus* (limão-cravo) para o controle de *Meloidogyne javanica*, uma vez que diversos estudos evidenciaram sua atividade nematicida, além de propriedades antibacterianas, antifúngicas e inseticidas (Oro; Popović; Krnjajić, 2021). Da mesma forma, o óleo essencial de *Pelargonium graveolens* (gerânio) foi avaliado em solos infectados por *Meloidogyne graminicola*, apresentando atividade nematicida promissora comparável à de pesticidas comerciais (Ajith et al., 2022). Por outro lado, o óleo essencial de *Siparuna guianensis* (negramina) demonstrou atividade ovicida e larvicida significativa contra o nematoide modelo *Strongyloides venezuelensis* em estudos in vitro, embora até o momento não tenha sido constatada sua eficácia contra nematoides fitopatógenos do gênero *Meloidogyne* (Carvalho et al., 2020).

Assim, a avaliação da atividade nematicida por meio da ação volátil, ou seja, pela exposição aos vapores emitidos pelos compostos, pode revelar mecanismos adicionais de controle, mais eficientes e menos invasivos. Este estudo visa então preencher essa lacuna ao investigar, em condições controladas,

a eficácia do óleo essencial de *R. chalepensis* na forma volátil contra *M. javanica*, com foco na indução de mortalidade em juvenis de segundo estágio (J2) e na inibição da eclosão de ovos. Os resultados obtidos podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias de controle mais sustentáveis, em comparação ao uso de nematicidas sintéticos.

2 Objetivo Geral:

Caracterizar fisicoquimicamente o óleo essencial de *Ruta chalepensis* e avaliar seu potencial nematocida, juntamente com os óleos essenciais de *Citrus × limonia*, *Pelargonium graveolens* e *Siparuna guianensis*, contra nematoides da espécie *Meloidogyne javanica*.

2.1 Objetivos Específicos:

1. Caracterização físico-química e composição química do óleo essencial de *Ruta chalepensis*.
2. Avaliar a atividade nematocida do óleo essencial de *Ruta chalepensis* sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*.
3. Avaliar a atividade nematocida do óleo essencial de *Ruta chalepensis* na inibição da eclosão de J2 de *Meloidogyne javanica*.
4. Avaliar a atividade nematocida dos óleos essenciais de *Citrus × limonia*, *Pelargonium graveolens* e *Siparuna guianensis* sobre J2 de *Meloidogyne javanica*.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção do material vegetal e extração de óleo essencial

A coleta das plantas de *Ruta chalepensis* foi realizada nos terrenos da Unidade de Aplicação e Inovação (UAI), localizada no campus da Universidade Federal de Viçosa (20°45'46" S, 42°51'36" O), em Minas Gerais, Brasil, no mês de agosto de 2023. Após a coleta, as plantas foram submetidas a um processo de limpeza para remoção de impurezas, sendo selecionadas apenas folhas e caules para a extração do óleo essencial (Elyemni et al., 2019). O material vegetal foi então submetido ao processo de extração por arraste a vapor, conforme o protocolo descrito por Terkmane et al., (2017). Ao término do processo, a mistura obtida, composta por água, hidrolato e óleo essencial, foi transferida para um funil de decantação para separação das fases. Devido à diferença de densidade entre os componentes, o óleo essencial permaneceu na camada superior, o hidrolato na camada intermediária e a água na inferior (Murrieta-Dionicio et al., 2023).

2.2 Caracterização físico-química dos óleos essenciais de *Ruta chalepensis*

2.2.1 Caracterização física

O rendimento do óleo essencial foi determinado com base na relação entre a massa de óleo obtida e a massa de material vegetal seco utilizada no processo de extração. Esse cálculo permite estimar a eficiência do procedimento, ao comparar a quantidade de óleo recuperado com a biomassa inicial empregada. O resultado é expresso pela Equação 1: (Equação 1).

Equação 1 – Equação de desempenho para óleo essencial de *Ruta chalepensis*.

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\text{Massa do óleo essencial obtida (g)}}{\text{Massa do material vegetal (g)}} \right) * 100$$

Onde;

Massa de óleo essencial: Massa de óleo essencial obtida (g).

Massa do material vegetal: Peso da matéria vegetal total utilizada (g).

O óleo essencial foi acondicionado em frascos de vidro âmbar, hermeticamente selados, para protegê-lo da luz e prevenir sua contaminação ou evaporação. Além disso, cada frasco foi etiquetado com informações relevantes, incluindo a data de extração. Posteriormente, foi armazenado a uma temperatura de aproximadamente ± 4 °C para preservar sua estabilidade e propriedades. O controle de temperatura é um fator-chave para evitar a degradação do óleo e garantir sua qualidade a longo prazo (Valarezo et al., 2021).

Para determinar a densidade do óleo essencial, pesou-se sua massa utilizando uma balança analítica e mediu-se seu volume com uma proveta graduada. Em seguida, aplicou-se a (Equação 2) para calcular a densidade, expressa em gramas por mililitro (g/mL).

Equação 2 – Equação de rendimento do óleo essencial de *Ruta chalepensis*.

$$\rho = \frac{\text{Massa (g)}}{\text{Volume (mL)}}$$

Onde:

Massa: Refere-se à massa do óleo essencial medida em gramas (g).

Volume: Refere-se ao volume do óleo essencial medido em mililitros (mL).

Finalmente foi calculado o índice de refração, para isso foi utilizado um refratômetro, instrumento que não altera as propriedades do líquido medido, uma vez que não possui dimensões próprias. Este dispositivo mede a mudança na velocidade da luz à medida que ela passa pelo óleo essencial (Valarezo et al., 2023).

2.1.3 Caracterização química

Para a caracterização dos compostos presentes no óleo essencial de *Ruta chalepensis*, foi preparada uma solução diluindo-se 10 μL do óleo em 990 μL de diclorometano (CH_2Cl_2). A solução foi então injetada em um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS), modelo GCMS-QP2010C. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna capilar de sílica fundida SPB-5 (30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme), utilizando-se hélio como gás de arraste, com fluxo de 1,60 mL min^{-1} . A temperatura do injetor foi ajustada para 220 °C, enquanto a do detector foi mantida constante em 300 °C. A análise foi iniciada com uma temperatura de coluna de 40 °C, que foi elevada à taxa de 5 °C por minuto até atingir 300 °C (Cartuche et al., 2022).

Durante a identificação dos compostos presentes no óleo essencial de *R. chalepensis*, os espectros de massas obtidos por cromatografia foram comparados com os dados da biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology), integrada ao equipamento. As identificações foram confirmadas por meio de referências bibliográficas especializadas e pela comparação dos índices de retenção aritméticos (IA), calculados segundo o método de Van den Dool e Kratz (Van Den Dool; Kratz, 1963), com os valores descritos na literatura (Adams, 2012).

Equação 3 – Equação do índice de Kovats.

$$RI = 100C + 100 \frac{(RT_x - RT_n)}{(RTN - RT_n)}$$

Onde:

C: Número de carbonos do n-alcano

RTx: Tempo de retenção do composto em estudo

RTn: Tempo de retenção do n-alcano com menos carbonos

RTN: Tempo de retenção do n-alcano com mais carbonos.

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Federal de Viçosa (UFV).

2.2 Obtenção de material biológico

2.2.1. Obtenção e multiplicação do inóculo de *Meloidogyne javanica*

A população de *M. javanica* utilizada nos ensaios in vitro foi obtida da coleção de fitonematoides do Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). O inóculo foi multiplicado em tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar Santa Clara, mantido por 60 dias em condições controladas na casa de vegetação. Quando as mudas apresentaram desenvolvimento de dois a três pares de folhas, foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 2 litros, previamente preenchidos com uma mistura de solo e areia na proporção de 1:1 (v/v), esterilizada a 120 °C por 20 minutos, conforme a metodologia descrita por Bettiol et al., (2004).

Cada planta foi inoculada com 5.000 ovos de *M. javanica*, distribuídos em dois pontos do substrato, sendo 2.500 ovos por ponto, posicionados de forma assimétrica ao redor da base do caule, a uma profundidade aproximada de 2 cm. Em seguida, foi incorporada ao substrato uma mistura em

proporção 1:1 (v/v) com o substrato comercial Tropstrato HT 16 Hortaliças®, composto por casca de pinus, vermiculita, fertilizante PG Mix 14-16-18, nitrato de potássio, superfosfato simples e turfa (Brasil). As plantas foram cultivadas até que as fêmeas gerassem ovos de *M. javanica*, que foram posteriormente extraídos para os ensaios.

2.2.3 Extração de ovos

As raízes de tomateiro foram lavadas, cortadas e trituradas em um liquidificador por aproximadamente 20 segundos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % de cloro ativo. A suspensão obtida foi vertida sobre uma peneira de 200 mesh (abertura de 0,075 mm) apoiada sobre outra peneira de 500 mesh (abertura de 0,025 mm). O material retido na segunda peneira foi transferido para tubos de centrífuga, aos quais foram adicionados 1,9 g de caulim, e então centrifugado a 500 RCF (força centrífuga relativa) por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se solução de sacarose (454 g L⁻¹ de açúcar cristal), com o pellet ressuspensionado no fundo dos tubos. Foi realizada uma segunda centrifugação na mesma força centrífuga por 1 minuto. O sobrenadante resultante foi vertido sobre uma peneira de 500 mesh, onde os ovos de *M. javanica* ficaram retidos.

A quantificação dos ovos foi realizada com o auxílio de uma câmara de contagem de Peters, sob microscópio óptico. Esses ovos foram utilizados tanto para a obtenção de juvenis de segundo estágio (J2) quanto para a montagem de bioensaios *in vitro* destinados à avaliação do efeito de extratos vegetais e do óleo essencial sobre a eclosão. A metodologia aplicada foi uma adaptação do protocolo descrito por Boneti e Ferraz (1981), originalmente desenvolvido para *M. paranaensis* e adaptado no presente estudo para sua aplicação em *M. javanica*.

Para obtenção dos J2, a suspensão contendo os ovos foi colocada em uma câmara de eclosão Sarri et al., (2024). A câmara foi incubada em estufa incubadora B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 25 °C durante 6 horas. Após esse período, a suspensão foi descartada para homogeneizar a idade dos juvenis a serem recuperados e eliminar possíveis nematoides de vida livre. Em seguida, a câmara de eclosão permaneceu na estufa incubadora B.O.D. a 25 °C por mais 72 horas. Posteriormente, a suspensão contendo os J2 foi recolhida em um béquer, os juvenis foram quantificados e a suspensão calibrada para uso nos ensaios *in vitro*.

2.3 Atividade bionematicida

2.3.1 Efeito do óleo essencial na mortalidade de *Meloidogyne javanica*

Esta metodologia avaliou a capacidade dos compostos voláteis do óleo essencial de *R. chalepensis*. No presente estudo, foi utilizada uma modificação do sistema experimental, baseada em metodologias adaptadas de Ntalli et al., (2011), Pedroso et al., (2020); Sarri et al., (2024a), na qual o óleo essencial, previamente preparado em diferentes concentrações, foi colocado em tubos plásticos abertos, inseridos em frascos hermeticamente fechados, com volume interno de 15 cm³. Após o fechamento do sistema, os compostos voláteis do óleo são liberados e se dispersam, ocupando de forma homogênea todo o espaço aéreo do frasco. Após essa expansão inicial, os voláteis começam a descer, podendo parte deles se condensar progressivamente até atingir a superfície da água. Nessa interface, forma-se naturalmente uma película entre o ar e a água, que gera uma resistência à difusão. Essa barreira físico-química retarda a passagem dos voláteis para o meio aquoso, permitindo uma liberação mais lenta e controlada. Uma vez superada essa película, os compostos voláteis entram em contato com os nematoides presentes no sistema.

O efeito nematicida do óleo essencial de *R. chalepensis* foi avaliado por meio de um bioensaio adaptado para medir a toxicidade de compostos voláteis sobre *M. javanica*. As concentrações testadas foram 0,1; 0,5; 1; 2; 4 e 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, preparadas a partir de uma solução diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) a 2,4%. Como controle positivo, utilizou-se o nematicida comercial Vigga® SC, em concentrações de 0,04; 0,19; 0,35; 0,5; 0,65 e 0,8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar. Os controles negativos foram água destilada e a solução de DMSO. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, tanto para as concentrações avaliadas quanto para os controles.

A partir dessas soluções-mãe, foram retiradas alíquotas de 200 μL e transferidas para microtubos de 600 μL . Simultaneamente, prepararam-se as suspensões contendo os J2 necessários para cada unidade experimental, por meio da transferência de alíquotas de 1 mL (contendo aproximadamente 60 indivíduos) para frascos de penicilina de 15 mL previamente esterilizados. Os microtubos com os tratamentos foram colocados na posição vertical dentro dos frascos contendo a suspensão aquosa com os juvenis de segundo estágio (J2), permitindo sua exposição indireta aos compostos voláteis liberados pelo óleo essencial. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar para evitar contaminações. Em seguida, os frascos foram hermeticamente selados e cobertos com filme plástico para evitar a evaporação do óleo essencial, sendo incubados por 72 horas em estufa tipo B.O.D. a 25 °C.

Após esse período, as amostras foram cuidadosamente transferidas para placas Elisa de 48 poços para avaliação. Sob microscópio óptico, registrou-se o número total de nematoides por poço, e adicionou-se 50 µL da solução de NaOH (1 mol L⁻¹, pH = 10), seguindo a metodologia de Chen e Dickson (2000), para facilitar a determinação da mortalidade. Os nematoides que apresentaram movimento após a adição do hidróxido de sódio foram considerados vivos, enquanto os imóveis foram contabilizados como mortos. Para o cálculo do percentual de mortalidade induzida em cada tratamento, utilizou-se a Equação 4.

Equação 4 – Mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*.

$$\text{Mortalidade (\%)} = \frac{(\text{Juvenis mortos})}{(\text{Juvenis totais})} * 100$$

Onde:

Juvenis mortos: Indivíduos sem movimento ou resposta ao toque após o período de exposição

Juvenis totais: Soma dos juvenis vivos e mortos observados após o tratamento.

Após a obtenção dos dados de mortalidade dos juvenis de segundo estágio (J2) expostos às diferentes concentrações do óleo essencial de *R. chalepensis*, procedeu-se à construção da curva dose-resposta utilizando o software SAS. A partir dessa curva, estimaram-se as concentrações letais, com destaque para a CL₉₀, que foi posteriormente avaliada. Para a representação gráfica das concentrações, utilizou-se o software SigmaPlot, onde foram plotados os percentuais de mortalidade observados após 72 horas de exposição.

Além do óleo essencial de *R. chalepensis*, avaliou-se a capacidade volátil dos óleos essenciais de *C. limonia*, *P. graveolens* e *S. guianensis*, com o objetivo de comparar seu potencial nematicida. Para isso, empregaram-se as mesmas concentrações (0,1; 0,5; 1; 2; 4 e 8 µL mL⁻¹ de ar) utilizadas para induzir mortalidade em juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*, sob as mesmas condições experimentais aplicadas a *R. chalepensis*. É importante ressaltar que, para esses óleos essenciais, não foram construídas curvas dose-resposta nem estimadas concentrações letais, limitando-se a análise ao registro dos percentuais de mortalidade observados.

2.3.2 Efeito do óleo essencial na inibição da eclosão de J2 de *Meloidogyne javanica*

O efeito nematicida do óleo essencial de *R. chalepensis* foi avaliado por meio de um sistema de bioensaio adaptado para analisar a toxicidade de compostos voláteis sobre *M. javanica*, tomando como

referência a metodologia utilizada para juvenis de segundo estágio (J2), de acordo com as modificações propostas por Ntalli et al., (2011), e (Pedroso et al., 2020; Sarri et al., 2024a). Foram avaliadas duas concentrações do óleo essencial 0,1 e (4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar), previamente diluídas em uma solução aquosa de dimetilsulfóxido (DMSO) a 2,4%, que também foram utilizadas nos ensaios com J2. Como controle positivo, utilizou-se o nematicida comercial Vigga® SC, preparado nas concentrações de 0,1 e 2 ($\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar), dissolvido em água destilada. A água destilada e a solução de DMSO a 2,4% foram utilizadas como controles negativos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, tanto para as concentrações avaliadas quanto para os controles.

Inicialmente, calibrou-se uma suspensão-mãe para conter aproximadamente 200 ovos por ensaio. Para isso, pipetou-se 1,5 mL da suspensão, que foi depositada em uma câmara de Peters, onde os ovos foram quantificados sob microscópio estereoscópico, assegurando que a amostra contivesse cerca de 200 ovos. Em seguida, essa suspensão foi transferida para um frasco de vidro de 15 cm^3 . Posteriormente, adicionaram-se 0,5 mL de água destilada à câmara de Peters com o objetivo de recuperar possíveis ovos aderidos, completando assim um volume final de 2 mL no frasco.

Sobre essa suspensão, aplicaram-se as concentrações previamente preparadas do óleo essencial de *R. chalepensis*, bem como os controles: o nematicida comercial Vigga® SC como controle positivo e água destilada e DMSO a 2,4% como controles negativos.

Os frascos foram cuidadosamente selados com filme plástico para evitar a evaporação e incubados por 168 horas em uma estufa do tipo B.O.D. Ensaios preliminares confirmaram que a quantidade de oxigênio disponível nos frascos era suficiente para permitir a eclosão ao longo de todo o período experimental. Finalizada a incubação, procedeu-se à quantificação dos ovos eclodidos mediante o mesmo procedimento descrito na calibração inicial.

Por fim, com o objetivo de avaliar o efeito inibitório sobre a eclosão, procedeu-se à quantificação do número de juvenis eclodidos (J2) após 168 horas de incubação, considerando tanto os tratamentos quanto os controles. Posteriormente, o percentual de eclosão foi calculado pela aplicação da Equação 5.

Equação 5 – Equação de inibição da eclosão de J2 de *Meloidogyne javanica*.

$$\text{Eclosão de ovos (\%)} = \frac{(\text{Ovos não eclacionados})}{(\text{Ovos totais})} \% 100$$

Onde:

Ovos não eclodidos: Ovos que não eclodiram em juvenis durante o período de incubação

Ovos totais: Número total de ovos avaliados, incluindo tanto os que eclodiram quanto os que não eclodiram após o período de incubação.

É importante destacar que, no presente estudo, avaliou-se apenas o efeito inibitório do óleo essencial de *R. chalepensis* sobre a eclosão dos ovos, sem estimar concentrações letais ou outros parâmetros toxicológicos.

2.3.3 Análise estatística dos dados

As análises estatísticas dos resultados obtidos após a aplicação do óleo essencial de *R. chalepensis* contra *M. javanica* foram realizadas por meio de um modelo de regressão probit, utilizando o software SAS (versão 9.0), com um nível de confiança de 95 %. A representação gráfica dos parâmetros de resposta, assim como dos respectivos intervalos de confiança, foi feita com o software SigmaPlot (versão 15). Adicionalmente, a comparação entre médias foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, utilizando o programa GraphPad

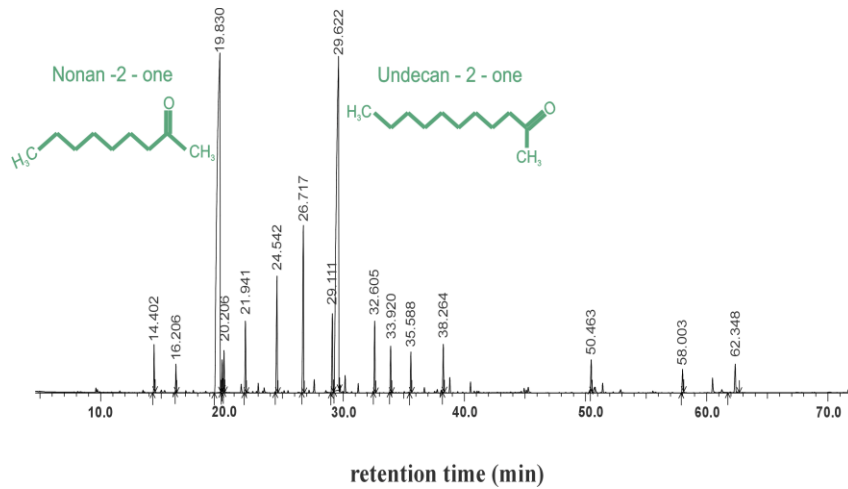
Prism (versão 8.1). Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas aquelas com valores de $P < 0,05$ (Toledo et al., 2024).

3 RESULTADOS

3.1 Caracterização físico-química do óleo essencial de *Ruta chalepensis*

A extração do óleo essencial foi realizada por arraste a vapor, utilizando uma massa média de 2516 g de folhas de *R. chalepensis*. O rendimento obtido foi de $0,17\% \pm 0,013$ (m/m) em relação à massa do material vegetal utilizado. O óleo apresentou índice de refração de $1,42967 \pm 0,0013$ e densidade relativa de $0,82 \pm 0,003$ g mL⁻¹. A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) revelou a presença de 13 compostos majoritários, que juntos correspondem a 89,26% da composição total do óleo, conforme representado no cromatograma da Figura 1. Os picos mais expressivos indicam os compostos em maior concentração. O principal componente identificado foi o 2-undecanona, com 51,94%, seguido pelo 2-nonanona (22,36%) e o 2-acetoxitridecano (7,72%). Outros compostos foram detectados em menores proporções, sendo que alguns não puderam ser identificados, conforme detalhado na Tabela 1.

Figura 1– Cromatograma do óleo essencial de *R. chalepensis*, obtido por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Foram identificados 13 compostos majoritários, totalizando 89,26% da composição do óleo. Os picos de maior intensidade correspondem aos principais constituintes: 2-undecanona (51,94%), destacado em verde; 2-nonanona (22,36%), em azul; e 2-acetoxitridecano (7,72%), em verde.



Fonte: O autor, (2025).

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de *R. chalepensis* identificada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

Tempo de retenção (min)	Área calculada	Área de referência	Compostos	Fórmula molecular	Área de referência (%)
Cetonas					
18,77	1090	1087	Nonan-2-one	C ₉ H ₁₈ O	22,36
23,72	1188	1190	Decan-2-one	C ₁₀ H ₂₀ O	2,16
25,94	1234	-	2- Acetoxytridecane	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	7,72
26,85	1252	-	Undecanone -Isômero*	-	0,42
28,80	1293	1293	Undecan-2-one	C ₁₁ H ₂₂ O	51,94
31,88	1360	-	Dodecanone - Isômero*	-	3,13
33,21	1389	1388	Dodecan-2-one	C ₁₂ H ₂₄ O	1,84
37,60	1490	1495	Tridecan-2-one	C ₁₃ H ₂₆ O	2,10
Álcoois					
19,3	1097	1907	n-Nonan-2-ol	C ₉ H ₂₀ O	0,72
Ésteres					
25,94	1234	-	2- Acetoxytridecane	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	7,72
29,43	1306	1311	Pelargonyl acetate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0,42
49,87	1803	-	1-Ethyl-2-butynyl 2-methoxybenzoate		1,35
Outros compostos					
21,07	1135	-	3-Methyl-3,4- divinyl-1-cyclohexene	-	2,58
28,29	1282	-	1,5- Cyclooctadiene, 3-(1-methyl-2-propenyl)	-	3,26
Total					89,26

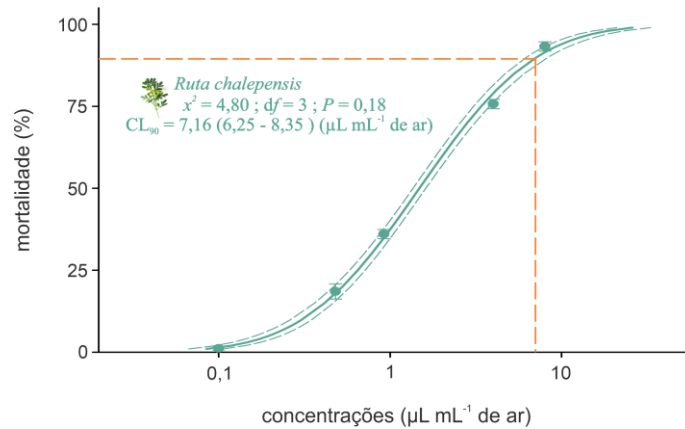
Fonte: O autor, (2025).

3.2 Atividade nematicida do óleo essencial de *Ruta chalepensis* contra *Meloidogyne javanica*

A exposição dos juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* ao óleo essencial de *R. chalepensis* resultou em mortalidade significativa após 72 horas de contato, evidenciando a eficácia nematicida do extrato (Tabela 2). A análise da curva dose-resposta permitiu estimar a concentração letal para 90% da população (CL₉₀) em 7,16 µL mL⁻¹ de ar. Esse valor está respaldado por um intervalo de

confiança de 95%, com limites inferior de 6,25 e superior de 8,35 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, o que indica alta confiabilidade estatística na estimativa da CL_{90} (Figura 2).

Figura 2 – Curva de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* expostos ao óleo essencial de *R. chalepensis*. A concentração letal (CL_{90}), estimada com intervalo de confiança de 95%, corresponde à dose necessária para causar 90% de mortalidade. O modelo probit aplicado demonstrou bom ajuste aos dados experimentais ($\chi^2 = 4,80$; $df = 3$; $P = 0,18$).

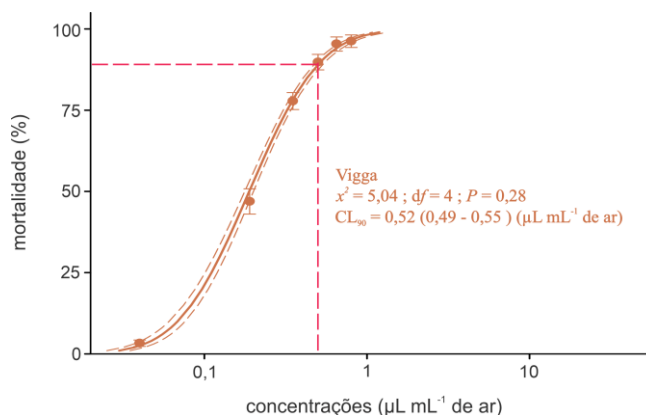


Fonte: O autor, (2025).

3.3 Exposição à toxicidade do controle positivo bionematicida comercial Vigga® SC contra *Meloidogyne javanica*

A exposição volátil ao bionematicida comercial Vigga® SC resultou em mortalidade significativa dos juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* (Tabela 2). A análise dose-resposta indicou que a concentração letal para 90% da população (CL_{90}) foi de 0,52 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, com intervalo de confiança de 95% entre 0,49 e 0,59 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, evidenciando alta precisão na estimativa (Figura 3).

Figura 3 – Curva de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* expostos à ação volátil do bionemático comercial Vigga® SC. A concentração letal (CL₉₀), responsável por causar 90% de mortalidade, foi estimada com intervalo de confiança de 95%. O modelo probit aplicado aos dados demonstrou bom ajuste estatístico ($\chi^2 = 5,04$; $df = 4$; $P = 0,28$).



Fonte: O autor, (2025).

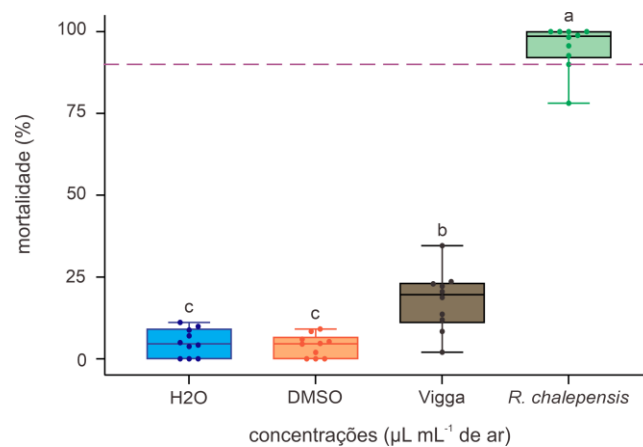
3.4 Validação da concentração de CL₉₀ do óleo essencial de *Ruta chalepensis* e do controle positivo Vigga® SC contra J2 de *Meloidogyne javanica*

A exposição volátil do óleo essencial de *R. chalepensis* na concentração letal para 90% dos indivíduos (CL₉₀ = 7,16 µL mL⁻¹ de ar) resultou em uma mortalidade média de 97,36% após 72 horas, valor próximo ao estimado pelo modelo probit. Em contraste, o controle positivo Vigga® SC, na concentração CL₉₀ (0,52 µL mL⁻¹ de ar), apresentou mortalidade média significativamente menor, de 17,83%. Os controles negativos exibiram mortalidades baixas e semelhantes, de 5,96% para água e 5,76% para DMSO (2,4 µL mL⁻¹ de ar).

A análise estatística revelou diferenças significativas entre os tratamentos, com um coeficiente de determinação elevado ($R^2 = 0,97$; $F_{(3,36)} = 470,4$; $P < 0,0001$). A mortalidade observada em cada tratamento foi representada graficamente por meio de diagramas de caixa (box plot), facilitando a visualização da variabilidade dos dados e das diferenças entre os grupos (Figura 4). O teste de comparações múltiplas de Tukey indicou ausência de diferenças significativas entre os controles negativos (água e DMSO) ($P = 0,9856$). Entretanto, ambos os controles negativos diferiram significativamente do controle positivo Vigga® SC ($P = 0,0004$ para a água e $P = 0,0001$ para o DMSO), assim como do óleo essencial de *R. chalepensis*, com ambos os valores de $P < 0,0001$. A comparação direta entre as concentrações CL₉₀ do Vigga® SC e do óleo essencial também mostrou

diferença significativa ($P < 0,0001$), confirmando a maior eficácia do óleo essencial na concentração testada.

Figura 4 – Avaliação comparativa das concentrações letais (CL_{90}) do óleo essencial de *R. chalepensis* e do controle positivo Vigga® SC sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*, após 72 horas de exposição volátil. Os dados são apresentados como diagramas de caixa (box plot), representando a variação, mediana e possíveis outliers das concentrações efetivas estimadas. ($R^2 = 0,97$; $F_{(3,36)} = 470,4$; $P < 0,0001$)



Fonte: O autor, (2025).

Tabela 2 – Curva dose-resposta apresentando diferentes concentrações do óleo essencial de *R. chalepensis* e do controle positivo Vigga® SC após 72 horas de exposição volátil.

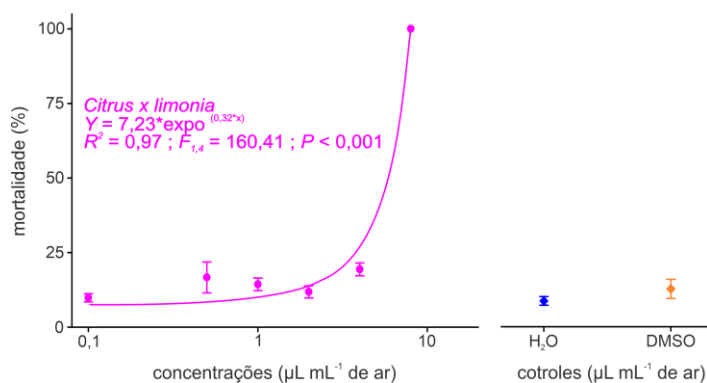
Tratamentos	Concentração letal	($\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar)	χ^2	df	P
<i>Ruta chalepensis</i>	CL ₁	0,08 (0,06 – 0,10)	4,80	3	0,18
	CL ₂₅	0,64 (0,58 – 0,71)			
	CL ₅₀	1,48 (1,36 – 1,61)			
	CL ₉₀	7,16 (6,25 – 8,35)			
Vigga® SC	CL ₁	0,02 (0,02 – 0,03)	5,04	4	0,28
	CL ₂₅	0,11 (0,10 – 0,12)			
	CL ₅₀	0,18 (0,17 – 0,20)			
	CL ₉₀	0,52 (0,49 – 0,55)			

Fonte: O autor, (2025).

3.6 Atividade nematocida do óleo essencial de *Citrus x limonia* contra *Meloidogyne javanica*

O óleo essencial de *C. limonia* apresentou eficácia significativa na indução de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* por meio da exposição volátil (Figura 5). Na maior concentração testada ($8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar), foi observada mortalidade de 100% após 72 horas de exposição, valor estatisticamente superior ($P < 0,0001$) em relação às demais concentrações e aos controles negativos (água e DMSO). Na concentração de ($4 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar), a mortalidade foi reduzida para aproximadamente 16,7%, enquanto nas concentrações inferiores (0,1 a $2 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar) os valores foram ainda menores e estatisticamente semelhantes aos controles. Diferenças significativas foram detectadas a partir da concentração de ($4 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar) ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças entre os controles negativos ($P = 0,9939$), indicando que a mortalidade observada é atribuída exclusivamente à ação do óleo essencial. A validação das análises estatísticas foi assegurada pela confirmação da normalidade dos dados (teste de Shapiro-Wilk, $P = 0,9784$) e da homogeneidade das variâncias (teste de homocedasticidade de Spearman, $P = 0,0600$).

Figura 5 – Mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* após 72 horas de exposição volátil ao óleo essencial de *C. limonia* em diferentes concentrações no ar. A curva representa o ajuste do modelo de regressão não linear exponencial, descrito pela equação: $Y = a \cdot \exp(b \cdot x)$. O modelo apresentou bom ajuste aos dados, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,97$; $F_{(1,4)} = 160,41$; $P = 0,0002$.

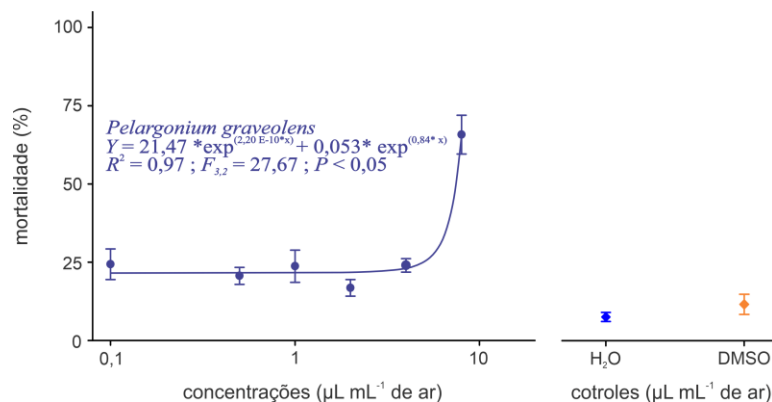


Fonte: O autor, (2025).

3.7 Atividade nematicida do óleo essencial de *Pelargonium graveolens* contra *Meloidogyne*

O óleo essencial de *P. graveolens*, avaliado em exposição volátil, apresentou atividade significativa contra juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* (Figura 6). Na concentração de $8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, foi observada mortalidade de 65,8% após 72 horas de exposição, percentual estatisticamente superior ($P < 0,05$) em comparação às demais concentrações testadas e aos controles negativos (água destilada e DMSO). Em $4 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, a mortalidade registrada foi de 24,0%, mantendo-se em níveis semelhantes nas concentrações inferiores. Diferenças estatisticamente significativas foram detectadas apenas na concentração de $8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar ($P < 0,05$), enquanto os controles negativos não diferiram entre si ($P > 0,05$). A normalidade dos dados foi confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk ($P = 0,4300$), e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Spearman ($P = 0,0600$), validando a aplicação das análises estatísticas adotadas.

Figura 6 – Mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. javanica* após 72 horas de exposição volátil ao óleo essencial de *P. graveolens* em diferentes concentrações no ar. A curva representa o ajuste do modelo de regressão não linear exponencial dupla, descrito pela equação: $Y = a \cdot \exp(b \cdot x) + c \cdot \exp(d \cdot x)$. O modelo apresentou bom ajuste aos dados ($R^2 = 0,97$; $F_{(3,2)} = 27,67$; $P = 0,03$).

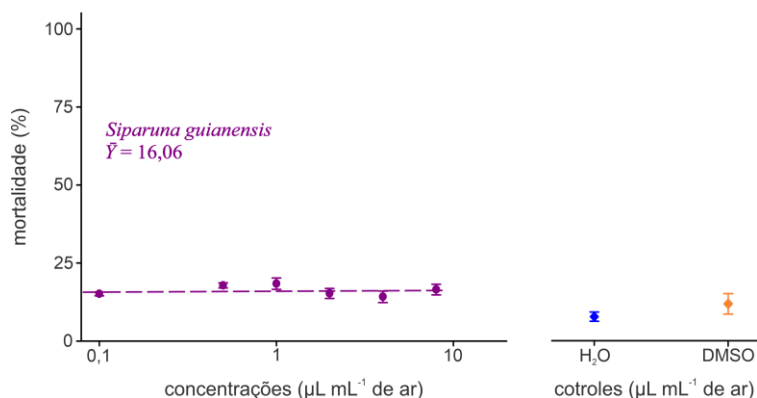


Fonte: O autor, (2025).

3.7 Atividade nematicida do óleo essencial de *Siparuna guianensis* contra *Meloidogyne*

O óleo essencial de *Siparuna guianensis* foi avaliado por exposição volátil. Nessa condição, apresentou eficácia nematicida moderada contra juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*. Após 72 horas de exposição, a mortalidade observada atingiu 16,06 %.

Figura 7 – mostra a mortalidade de los juveniles (J2) de *M. javanica* después de 72 horas de exposición volátil al aceite esencial de *S. guianensis* en diferentes concentraciones en el aire. La curva representa el ajuste del modelo de regresión no lineal presento una mortalidad del 16,06 %



Fonte: O autor, (2025).

3. 8 Efeito do óleo essencial na eclosão de ovos de *Meloidogyne javanica*

Os resultados da exposição volátil ao óleo essencial de *R. chalepensis* sobre a eclosão de ovos de *M. javanica*, após 168 horas, demonstraram um efeito inibitório dependente da concentração (Figura 8). A representação dos dados por meio de boxplots evidenciou variações claras entre os tratamentos, cujas concentrações foram expressas em µL mL⁻¹ de ar.

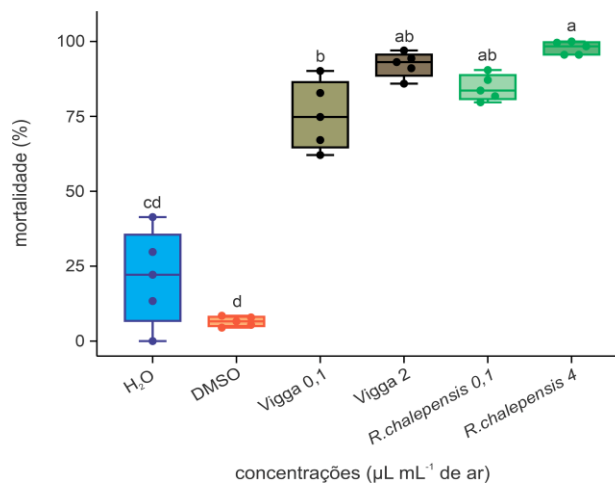
Na menor concentração testada (0,1 µL mL⁻¹ de ar), o óleo essencial promoveu uma inibição média de 81,7%, enquanto na maior concentração avaliada (4 µL mL⁻¹ de ar), a inibição atingiu 95,5%. Em comparação, o nematicida comercial Vigga® SC apresentou inibição de 62,1% na concentração de 0,1 µL mL⁻¹ de ar e de 93,1% na concentração de 2 µL mL⁻¹ de ar. Já o controle negativo com DMSO (2,4 µL mL⁻¹ de ar) apresentou uma inibição mínima de 7,9%, enquanto o controle absoluto com água destilada resultou em eclosão total (0% de inibição).

A análise estatística revelou diferenças significativas entre os tratamentos. O teste de comparações múltiplas de Tukey indicou que não houve diferença significativa entre os controles negativos (água e DMSO) ($P = 0,0949$). No entanto, ao considerar a água destilada como controle absoluto (100% de eclosão) e compará-la com todas as concentrações do óleo essencial de *R. chalepensis* (0,1 e 4 µL mL⁻¹ de ar), bem como com Vigga® SC (0,1 e 2 µL mL⁻¹ de ar), observaram-

se diferenças significativas ($P < 0,0001$). O mesmo padrão foi observado ao comparar o DMSO com os tratamentos positivos e com todas as concentrações do óleo essencial ($P < 0,0001$).

Entre as concentrações de Vigga® SC (0,1 e 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar), houve diferença significativa ($P = 0,0405$). Contudo, a comparação entre 0,1 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar de Vigga® SC e a mesma concentração do óleo essencial de *R. chalepensis* não indicou diferença significativa ($P = 0,5298$). Por outro lado, a comparação entre 0,1 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de Vigga® SC e 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial revelou diferença significativa ($P = 0,0035$). Adicionalmente, não foram observadas diferenças significativas entre Vigga® SC a 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar e o óleo essencial nas concentrações de 0,1 ($P = 0,6889$) e 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar ($P = 0,8983$). Do mesmo modo, a comparação interna entre (0,1 e 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar) do óleo essencial de *R. chalepensis* não demonstrou diferença estatística significativa ($P = 0,1613$).

Figura 8 – Avaliação da inibição da eclosão após 168 horas de exposição volátil ao óleo essencial de *R. chalepensis*. Resultados representados por boxplots, com cores indicando as concentrações testadas: tons de café claro e escuro correspondem a (0,1 e 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar) nos controles positivos, enquanto verde claro e escuro representam (0,1 e 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar) nos tratamentos. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A análise de variância revelou diferenças significativas entre os tratamentos ($R^2 = 0,95$; $F_{(5,24)} = 108,3$; $P < 0,0001$).



Fonte: O autor, (2025).

4 DISCUSSÃO

A crescente busca por alternativas sustentáveis ao controle químico de fitonematoides tem impulsionado o interesse pelo uso de produtos naturais com potencial bionematicida, especialmente aqueles derivados de plantas aromáticas. Entre esses, os óleos essenciais têm se destacado por sua composição rica em compostos voláteis bioativos, capazes de atuar de forma eficaz contra diferentes estágios do ciclo de vida dos nematoides. No entanto, a maioria dos estudos concentra-se em aplicações por contato direto, havendo ainda uma lacuna significativa quanto à investigação de sua eficácia na forma volátil.

Os resultados obtidos neste estudo fornecem evidências significativas sobre o potencial nematicida do óleo essencial de *R. chalepensis* sob condições de exposição volátil, uma abordagem ainda pouco explorada na literatura científica. Diferentemente das metodologias convencionais baseadas no contato direto entre os nematoides e os compostos bioativos, nossos dados demonstram que a ação letal pode ser mantida mesmo na ausência de contato físico direto, ampliando as possibilidades de aplicação em estratégias de biofumigação.

Essa constatação assume especial relevância ao se considerar que a maioria dos estudos disponíveis emprega metodologias de imersão. Por exemplo, Campos et al. (2022) relataram mortalidade de 100 % de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* utilizando 4-etilbenzaldeído a $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto Nasiou e Giannakou (2020a) observaram 99,8 % de eficácia frente a *M. javanica* com aplicação de eugenol a 500 ppm. Embora esses trabalhos evidenciem a elevada eficácia de compostos naturais, seus desenhos experimentais baseados em contato direto limitam a extrapolação dos resultados para contextos de volatilização.

Em contraste, nossos dados confirmam que o óleo essencial de *R. chalepensis* foi capaz de induzir elevada mortalidade (95,35 %) em fase gasosa, sem contato direto com os juvenis suspensos em meio aquoso. Esse resultado está alinhado aos achados de Silva et al. (2020), que observaram mortalidade de até 97 % utilizando macerados de *Dysphania ambrosioides* em condições de fumigação, enquanto *Cymbopogon nardus* apresentou mortalidade inferior, não ultrapassando 21 %. Cabe destacar que, no nosso caso, foi utilizado o óleo essencial puro de *R. chalepensis*, o que pode ter contribuído para uma maior eficácia, possivelmente em razão da maior concentração e volatilidade dos compostos bioativos presentes.

Adicionalmente, nossos resultados são respaldados pelos achados de Ntalli et al., (2011), que identificaram cetonas como 2-nonanona, 2-decanona e, especialmente, 2-undecanona como os principais responsáveis pela atividade nematicida do óleo essencial de *R. chalepensis*, com valores de CL_{50} de ($22,5 \text{ mg L}^{-1}$) e mortalidade de 96,2 % a (125 mg L^{-1}) em meio líquido. A presença dessas mesmas cetonas no perfil cromatográfico obtido neste estudo, em especial a alta concentração de 2-undecanona (51,94 %), sugere a possibilidade de um efeito sinérgico entre os diferentes compostos voláteis, o que reforça o potencial do óleo essencial para aplicações de biofumigação. Esse efeito sinérgico é corroborado por Deng; Wang; Li, (2022), que demonstraram que a 2-nonanona causa sérios danos fisiológicos aos nematoides, incluindo disfunções celulares e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio.

Outro aspecto relevante diz respeito à durabilidade do efeito letal observado. Diferentemente de compostos voláteis como o etanol, que podem induzir efeitos reversíveis sobre *Heterodera glycines*, conforme descrito por Pedroso et al., (2020), o óleo essencial de *R. chalepensis* demonstrou um efeito letal sustentado, mesmo após 72 horas de exposição. Esse padrão de ação é semelhante ao relatado por Wu et al., (2023), que observaram mortalidade de 99,7 % de *M. hapla* com exposição a 3-metil-1-butanol sob condições de volatilização, situando os resultados aqui obtidos dentro do intervalo esperado para compostos com comprovada eficácia fumigante.

Em relação aos demais óleos essenciais avaliados contra *M. javanica*, observaram-se diferenças marcantes quanto à eficácia nematicida em fase volátil, o que reforça a singularidade do comportamento observado para *R. chalepensis*. O óleo essencial de *C. limonia*, por exemplo, atingiu 100 % de mortalidade apenas na concentração mais elevada ($8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar), mas apresentou eficácia substancialmente reduzida em concentrações intermediárias, a ($4 \mu\text{L mL}^{-1}$), a mortalidade foi de apenas 29 %. Esse padrão de resposta mais abrupto sugere um limiar de eficácia associado à saturação do espaço aéreo com compostos voláteis, sendo plausivelmente influenciado pela predominância de monoterpenos como limoneno e β -pineno, que, embora voláteis, tendem a apresentar efeitos menos persistentes ou menor sinergismo entre si (D'addabbo et al., 2020).

Para o óleo essencial de *P. graveolens*, foi observada uma curva de resposta crescente, com mortalidade máxima de 65 % a ($8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar) e redução significativa da eficácia nas concentrações inferiores, com apenas 24 % a ($4 \mu\text{L mL}^{-1}$ de ar). Essa resposta gradual sugere uma ação dose-dependente, mas com potência inferior à observada para *R. chalepensis*. Por sua vez, *S. guianensis*

apresentou uma eficácia nematicida moderada de 16,06. Esse baixo desempenho pode estar relacionado a uma menor volatilidade dos compostos majoritários ou à ausência de moléculas com ação nematicida relevante em fase gasosa.

Essas comparações reforçam não apenas a eficácia superior do óleo essencial de *R. chalepensis* em ambiente volátil, mas também sua consistência em diferentes concentrações, característica que o diferencia dos demais óleos testados e o posiciona como um candidato promissor para estratégias de biofumigação mais eficientes e sustentáveis. Vale destacar ainda, que *R. chalepensis* tem demonstrado atividade bioativa em diferentes organismos-praga, o que reforça seu potencial como agente fitossanitário de amplo espectro. Estudos conduzidos por Yücel et al., (2023a), relataram mortalidade de 100 % em *Sitophilus granarius* com a aplicação de apenas 10 µL do óleo essencial, evidenciando sua eficácia também como inseticida. Esses achados complementam os dados do presente estudo ao indicar que os compostos voláteis de *R. chalepensis* não apenas exercem efeito letal sobre nematoides fitoparasitas, mas também sobre artrópodes, ampliando significativamente suas possibilidades de aplicação no contexto do manejo integrado de pragas (MIP).

Por fim, é importante ressaltar que as concentrações utilizadas neste estudo foram selecionadas com base em protocolos previamente estabelecidos para *R. chalepensis*. No entanto, o aspecto mais relevante reside no fato de que este óleo se destacou não apenas por sua elevada eficácia, mas também por sua estabilidade em fase gasosa. Essas características posicionam o óleo essencial de *R. chalepensis* como um candidato promissor para integração em programas agroecológicos de controle de nematoides fitoparasitas, especialmente por meio de técnicas de biofumigação

Os resultados da inibição da eclosão de ovos de *M. javanica* pelo óleo essencial de *R. chalepensis* corroboram seu forte potencial nematicida, estendendo a ação do óleo para além da mortalidade dos juvenis (J2). A escolha das concentrações de (0,1 e 4 µL mL⁻¹ de ar) baseou-se em dados anteriores de toxicidade contra (J2), o que permitiu avaliar a eficácia do óleo em diferentes estágios do ciclo biológico do nematoide. A inibição expressiva da eclosão, alcançando até 95,5% na maior concentração, confirma a eficiência dos compostos voláteis mesmo em exposição exclusivamente gasosa, sem contato direto, o que reforça sua viabilidade como alternativa para o desenvolvimento de produtos biofumigantes.

Esses valores são comparáveis ou superiores aos obtidos com compostos tradicionais, como o eugenol, que requer concentrações muito maiores para efeitos similares em contato direto (Nasiou;

Giannakou, 2020). Além disso, a similaridade dos resultados com compostos voláteis como o 4-etilbenzaldeído de *Annona muricata* (Campos et al., (2022), indica que os biofumigantes podem atuar eficientemente interrompendo o desenvolvimento embrionário dos nematoides. A presença de cetonas alifáticas (2-nonanona, 2-decanona e 2-undecanona) no óleo essencial de *R. chalepensis*, compostos reconhecidos por sua elevada atividade nematicida e capacidade de penetração em ambientes gasosos (Ntalli et al., (2011), provavelmente contribui para esses resultados. Esses compostos, devido à sua lipofilicidade, podem difundir-se facilmente através das paredes dos ovos, causando danos internos e inibindo a eclosão.

Por fim, o perfil tóxico promissor do óleo essencial de *R. chalepensis* está em consonância com estudos anteriores que avaliaram a ação de diversos óleos essenciais na eclosão de ovos de nematoides, como demonstrado por Faria et al., (2016), evidenciando o potencial de espécies vegetais ricas em compostos voláteis para o manejo integrado de nematoides fitoparasitas.

A análise cromatográfica por GC-MS do óleo essencial de *R. chalepensis* revelou uma composição química predominada por 13 compostos majoritários, que juntos representaram 89,26% do total do óleo. O principal componente identificado foi a 2-undecanona (51,94%), seguida pela 2-nonanona (22,36%) e 2-acetoxitridecano (7,72%). Esses resultados estão em consonância com outros estudos que destacam a 2-undecanona como o composto predominante, embora em proporções variáveis, dependendo da origem do óleo e das condições de extração Najem et al., 2020; Khoury et al., 2014; Khadhri et al., 2014; Reddy, Al-Rajab, 2016; Youssef et al., 2024; Yücel et al., 2023.

Por exemplo, Najem et al., (2020), também identificaram a 2-undecanona como principal componente, com uma concentração ainda maior (64,35%), além de outros compostos como piperonil piperazina e 2-dodecanona, não detectados em nosso perfil. Diferenças similares foram observadas entre estudos que utilizaram diferentes métodos de extração e partes da planta, ressaltando a influência desses fatores na composição final do óleo essencial. Althaher; Oran; Bustanji, (2020), relataram um perfil distinto, dominado por compostos não terpenoides, evidenciando ainda mais essa variabilidade.

No que tange ao rendimento do óleo, o presente estudo encontrou $0,17 \pm 0,013$ % (m/m), um valor intermediário que supera o rendimento de 0,12 % (m/m) obtido por Khoury et al., (2014), por extração assistida por micro-ondas. Por outro lado, é inferior aos rendimentos alcançados por Najem et al. (2020), que registraram até 2,72 %, e por Althaher et al. (2020), que obtiveram 0,83 %, ambos

utilizando hidrodestilação. Essa variação nos rendimentos pode ser explicada por diferenças nas condições agroclimáticas, estágio fenológico da planta e nas técnicas de extração adotadas.

A predominância das cetonas alifáticas, especialmente a 2-undecanona e 2-nonanona, já relatada por Ntalli et al., (2011) como agentes com forte atividade nematicida, reforça o potencial do óleo essencial de *R. chalepensis* para uso em estratégias de biofumigação. A lipofilicidade e volatilidade desses compostos favorecem sua difusão no ambiente gasoso, possibilitando a ação direta sobre os estágios imaturos do nematoide sem contato físico, característica observada em nossos ensaios. Esses dados ressaltam a importância de se considerar a composição química detalhada para entender e potencializar a eficácia biológica dos óleos essenciais. Além disso, reforçam o posicionamento do óleo de *R. chalepensis* como um candidato promissor para o desenvolvimento de produtos naturais e sustentáveis no manejo integrado de nematoides fitoparasitas.

5 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Ruta chalepensis* demonstrou elevada eficácia nematicida em sua fase volátil contra *Meloidogyne javanica*, promovendo tanto a inibição da eclosão dos ovos quanto a mortalidade dos juvenis de segundo estágio (J2). Essa ação, efetiva mesmo na ausência de contato direto com o meio aquoso, evidencia sua versatilidade e potencial para aplicações práticas em estratégias de biofumigação. Embora os óleos essenciais de *Citrus limonia* e *Pelargonium graveolens* também tenham apresentado atividade nematicida, o óleo de *R. chalepensis* destacou-se pela maior intensidade de resposta e pela consistência dos efeitos entre as diferentes concentrações avaliadas. Em contraste, o óleo de *S. guianensis* demonstrou eficácia significativamente inferior, com mortalidade limitada dos nematoides. Assim, os resultados posicionam o óleo essencial de *R. chalepensis* como um candidato promissor para o controle biológico de nematoides do gênero *Meloidogyne*, com destaque para *M. javanica*, enquanto os demais óleos testados apresentaram efeitos moderados e menos consistentes.

6 Referências

- ABEBEW, Desalegne *et al.* Uncovering Nematicidal Natural Products from Xenorhabdus Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 2, p. 498–506, 19 jan. 2022.
- ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. [S.l.]: **Allured Business Media**, 2012.
- AJITH, M. *et al.* Chemical composition and nematicidal activity of essential oils and their major compounds against *Meloidogyne graminicola* (Rice Root-Knot Nematode). **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 6, p. 526–535, 1 nov. 2020.
- AJITH, M. *et al.* Efficacy of Essential Oils from Geranium (*Pelargonium graveolens*) and Citronella (*Cymbopogon nardus*) and Their Major Compounds Against *Meloidogyne graminicola* in Pots and Field Conditions. **Indian Journal of Nematology**, v. 52, n. 2, p. 149–154, 1 dez. 2022.
- ALTHAHER, Arwa R.; ORAN, Sawsan A.; BUSTANJI, Yasser K. Phytochemical Analysis, In vitro Assessment of Antioxidant Properties and Cytotoxic Potential of *Ruta chalepensis* L. Essential Oil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 23, n. 6, p. 1409–1421, 2020.
- AL-ZAYTOONAH, Arwa R. Althaher; ORAN, Sawsan; BUSTANJI, Yasser. **Induction of apoptosis by *Ruta chalepensis* L. essential oil in human breast cancer cells (MCF-7)**. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<http://jppres.com/jppres>>.
- ANGON, Prodipto Bishnu *et al.* Integrated Pest Management (IPM) in Agriculture and Its Role in Maintaining Ecological Balance and Biodiversity. **Advances in Agriculture** Hindawi Limited, , 2023.
- ARÁMBULA, C. I.; DIAZ, C. E.; GARCIA, M. I. Performance, chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta chalepensis* and *Origanum vulgare*. *In*: Institute of Physics, 29 nov. 2019.
- BETTIOL, Wagner *et al.* Sistemas de cultivo orgânico e convencional de tomateiro. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 3, p. 253–259, 1 maio 2004.
- CAMPOS, Vicente *et al.* 4-Ethylbenzaldehyde from the volatilome of *Annona muricata* against *Meloidogyne incognita*, 9 fev. 2022. Disponível em: <<https://www.researchsquare.com/article/rs-1238618/v1>>
- CARMONA, Paula Andrea O. *et al.* Resistance sources to root-knot nematodes *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* and *M. enterolobii* in sweet potato. **Horticultura Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 126–133, 1 abr. 2020.
- CARTUCHE, Luis *et al.* Chemical and Biological Activity Profiling of *Hedyosmum strigosum* Todzia Essential Oil, an Aromatic Native Shrub from Southern Ecuador. **Plants**, v. 11, n. 21, 1 nov. 2022.

- CARVALHO, V. F. *et al.* In vitro anthelmintic activity of Siparuna guianensis extract and essential oil against Strongyloides venezuelensis. **Journal of Helminthology**, v. 94, 2020.
- D'ADDABBO, Trifone *et al.* Relationship between chemical composition and nematicidal activity of different essential oils. **Plants**, v. 9, n. 11, p. 1–19, 1 nov. 2020.
- DENG, Xiaotong; WANG, Xin; LI, Guohong. Nematicidal Effects of Volatile Organic Compounds from Microorganisms and Plants on Plant-Parasitic Nematodes. **MicroorganismsMDPI**, , 1 jun. 2022.
- ELYEMNI, Majda *et al.* Extraction of Essential Oils of Rosmarinus officinalis L. by Two Different Methods: Hydrodistillation and Microwave Assisted Hydrodistillation. **Scientific World Journal**, v. 2019, 2019.
- FARIA, Jorge Miguel Silva *et al.* First report on Meloidogyne chitwoodi hatching inhibition activity of essential oils and essential oils fractions. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 207–217, 1 mar. 2016.
- GABRIEL, Márcia *et al.* Reaction of a heterozygous tomato hybrid bearing the Mi-1.2 gene to 15 Meloidogyne species. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 944–952, 1 jun. 2020.
- KHADHRI, Ayda *et al.* Chemical Variability of Two Essential Oils of Tunisian Rue: Ruta montana and Ruta chalepensis. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 17, n. 3, p. 445–451, 2014.
- KHAN, Arshad *et al.* Root-Knot Nematodes (Meloidogyne spp.): Biology, Plant-Nematode Interactions and Their Environmentally Benign Management Strategies. **Gesunde Pflanzen** Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 1 dez. 2023.
- KHOURY, Madona *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Ruta chalepensis L. growing wild in Lebanon. **Chemistry and Biodiversity**, v. 11, n. 12, p. 1990–1997, 2014.
- KIRGIAFINI, Dimitra *et al.* Nematicidal trans-Anethole Blends Paralyzing Meloidogyne incognita. **Agriculture (Switzerland)**, v. 14, n. 6, 1 jun. 2024.
- LOPES-CAITAR, V. S.; PINHEIRO, J. B.; FC, Marcelino-Guimarães. Nematodes in Horticulture: An Overview. **J Horti Sci & Crop Res.** [S.l.: S.n.]. Disponível em: <www.annepublishers.com>.
- MARTINS, Felipe *et al.* Interactions between Soil Bacterial Diversity and Plant-Parasitic Nematodes in Soybean Plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, n. 17, 1 set. 2022.
- MESA-VALLE, Concepción M. *et al.* Global research on plant nematodes. **Agronomy**, v. 10, n. 8, 1 ago. 2020.
- MURRIETA-DIONICIO, Ulises *et al.* Composition of essential oil of Schinus molle L. leaves affected by extraction time and scale-up process. **Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente**, v. 29, n. 2, p. 25–40, 2023.

NAHAR, Lutfun *et al.* Ruta essential oils: Composition and bioactivities. **Molecules** MDPI AG, 2 ago. 2021.

NAJEM, Mariame *et al.* Ruta chalepensis L. Essential Oil Has a Biological Potential for a Natural Fight against the Pest of Stored Foodstuffs: *Tribolium castaneum* Herbst. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

NASIOU, Eleni; GIANNAKOU, Ioannis O. The potential of eugenol as a nematicidal agent against *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Journal of Nematology**, v. 52, p. 1–10, 1 nov. 2020.

NTALLI, Nikoletta G. *et al.* Aliphatic ketones from *Ruta chalepensis* (Rutaceae) induce paralysis on root knot nematodes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 13, p. 7098–7103, 13 jul. 2011.

ORO, Violeta; POPOVIĆ, Tatjana; KRNJAJIĆ, Slobodan. **Nematicidal investigations of some essential oils from citrus plants.** [*S.l.: S.n.*].

PAWLAK, Karolina; KOŁODZIEJCZAK, Małgorzata. The role of agriculture in ensuring food security in developing countries: Considerations in the context of the problem of sustainable food production. **Sustainability (Switzerland)**, v. 12, n. 13, 1 jul. 2020.

PEDROSO, Luma A. *et al.* Nematicidal activity of ethanol solutions on soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. **Nematology**, v. 22, n. 1, p. 111–121, 2020.

PUN, Top Bahadur; NEUPANE, Arjun; KOECH, Richard. Quantification of root-knot nematode infestation in tomato using digital image analysis. **Agronomy**, v. 11, n. 12, 1 dez. 2021.

QAHTAN, Ahmed A. *et al.* High-frequency plant regeneration, genetic uniformity, and flow cytometric analysis of regenerants in *Ruta chalepensis* L. **Plants**, v. 10, n. 12, 1 dez. 2021.

SANTOS, Rodrigo; MARTINELLI, Paulo; CALDERONI, Miguel. REAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS A *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (Nematoda). **Agrotrópica (Itabuna)**, v. 34, n. 2, p. 147–152, 31 ago. 2022.

SARRI, Konstantia *et al.* Recent Advances and Developments in the Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components against Root-Knot Nematodes. **Agronomy** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 jan. 2024a.

SARRI, Konstantia *et al.* Recent Advances and Developments in the Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components against Root-Knot Nematodes. **Agronomy** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 jan. 2024b.

TERKMANE, S. *et al.* Chemical composition, antioxidant, and anticancer effect of *Ruta chalepensis*'s extracts against human leukemic cells. **Phytothérapie**, 4 set. 2017.

TOLEDO, Pedro F. S. *et al.* Potential of *Ocotea indecora* Essential Oil for Controlling *Drosophila suzukii*: Molecular Predictions for Toxicity and Selectivity to Beneficial Arthropods. **Neotropical Entomology**, v. 53, n. 2, p. 189–199, 1 abr. 2024.

VALAREZO, Eduardo *et al.* Chemical constituents of the essential oil from ecuadorian endemic species *croton ferrugineus* and its antimicrobial, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity. **Molecules**, v. 26, n. 15, 1 ago. 2021.

VALAREZO, Eduardo *et al.* A Study of the Essential Oil Isolated from *Ageratina dendroides* (Spreng.) R.M. King & H. Rob.: Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, and Antimicrobial, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities. **Plants**, v. 12, n. 15, 1 ago. 2023.

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, n. C, p. 463–471, 1963.

WU, Wentao *et al.* Volatile Organic Compounds of *Bacillus velezensis* GJ-7 against *Meloidogyne hapla* through Multiple Prevention and Control Modes. **Molecules**, v. 28, n. 7, 1 abr. 2023.

YOUSSEF, Abdelghany A. *et al.* Chemical Composition of the Essential Oil from *Ruta chalepensis* L. Growing Wild and its Acaricidal Activity Against the Cattle Tick *Rhipicephalus annulatus* (Acari: Ixodidae). **Egyptian Journal of Veterinary Science(Egypt)**, v. 55, n. 4, p. 955–964, 1 jul. 2024.

YÜCEL, Yasemin Yücel *et al.* Fumigant and contact toxicity of *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) essential oil against five coleopteran stored product pests and its effects on cholinesterases. **Plant Protection Bulletin (Turkey)**, v. 63, n. 4, p. 52–65, 31 dez. 2023.

7 APÊNDICES

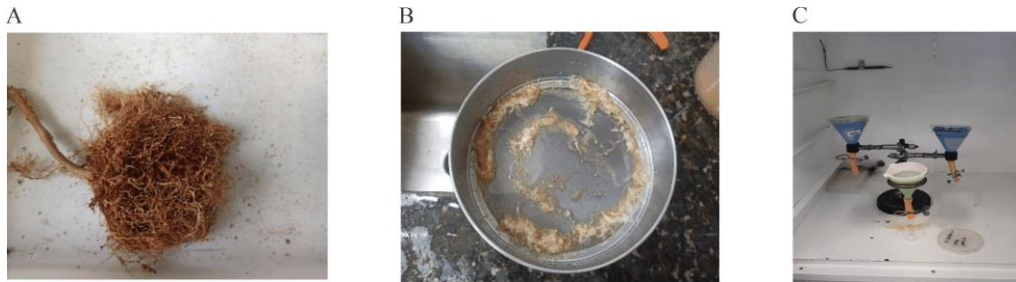
APÊNDICE A - Preparação das diferentes concentrações do óleo essencial de *Ruta chalepensis* para exposição em bioensaios. As concentrações testadas foram de 0,1; 0,5; 1; 2; 4 e 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, preparadas em frascos de penicilina com volume de 15 mL. A equação de preparo considerou a multiplicação da concentração desejada pelo número de repetições e pelo volume do frasco, somando-se volumes de DMSO e água destilada até completar 1 mL final da solução a ser aplicada ($0,1 \times 5 \times 15 + 180 + 812,5 = 1\text{mL}$).



APÊNDICE B - Equipamento utilizado para a extração do óleo essencial de *Ruta chalepensis*. A extração foi feita utilizando um sistema de arraste a vapor com um equipamento Marconi composto por um tanque cilíndrico com fundo plano, uma resistência, uma malha onde é depositado o material vegetal, um condensador onde o vapor se transforma em fase líquida, e, por fim, um separador de óleos essenciais.



APÊNDICE C – Extração de ovos de *Meloidogyne javanica* a partir de raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). (A) Raízes infectadas com galhas visíveis, indicativas da presença do nematoide. (B) Processo de filtração em peneiras com malhas de 200 a 500 μm , utilizado para separar os ovos do material radicular. (C) Câmara de incubação contendo os ovos coletados, mantidos em água destilada para eclosão dos juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*.



APÊNDICE D – Etapas do bioensaio com óleos essenciais sobre *Meloidogyne javanica*. (A) Tubo contendo óleo essencial preparado para aplicação. (B) Frascos experimentais com diferentes concentrações do óleo em contato com a suspensão de nematoides. (C) Avaliação da mortalidade após exposição. (D) Visualização dos ovos de *M. javanica* sob microscópio. (E) Detecção dos juvenis de segundo estágio (J2), utilizados para análise da viabilidade após o tratamento.

