



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO – UEMA
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE BALSAS - CESBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE - PPGAA**

MÁRCIA ALDEANY ALMEIDA DE SOUSA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE FITOTÓXICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Lippia organoides* EM PLANTAS DANINHAS**

MÁRCIA ALDEANY ALMEIDA DE SOUSA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE FITOTÓXICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Lippia organoides* EM PLANTAS DANINHAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador (a): Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Mesquita.

Coorientador (a): Prof. Dr. José Fábio França Orlanda.

Sousa, Márcia Aldeany Almeida de.

Composição química e atividade fitotóxica do óleo essencial de *Lippia organoides* em plantas daninhas / Márcia Aldeany Almeida de Sousa. – Balsas, 2019.

57 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agricultura e Ambiente, Centro de Estudos Superiores de Balsas, Universidade Estadual do Maranhão, 2019.

Orientador: Prof. Mário Luiz Ribeiro Mesquita

Co-orientador: José Fábio França Orlanda.

1.Alelopatia. 2.Fitotoxicidade. 3.Plantas daninhas. 4.Bioherbicida. I.Título

CDU: 632.9

MÁRCIA ALDEANY ALMEIDA DE SOUSA

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE FITOTÓXICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Lippia origanoides* EM PLANTAS DANINHAS

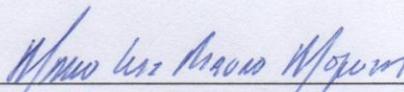
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente - PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador (a): Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Mesquita.

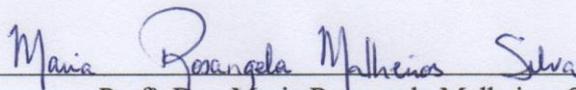
Coorientador (a): Prof. Dr. José Fábio França Orlanda.

Aprovada em 28/03/19

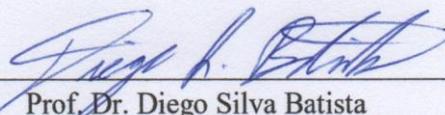
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Mesquita
Universidade Estadual do Maranhão
(Orientador)



Prof.ª Dra. Maria Rosângela Malheiros Silva
Universidade Estadual do Maranhão
(Membro)



Prof. Dr. Diego Silva Batista
Universidade Estadual do Maranhão
(Membro)

Dedico esta Dissertação a Deus e a todas as pessoas (professores, parentes, amigos, colegas e familiares) que contribuíram de forma direta ou indireta para elaboração desse trabalho.

“Quanto mais eu aprendo, mais eu percebo o tamanho da minha ignorância”.

Sergio Roberto Zullo

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e amparo em todos os momentos difíceis durante o mestrado.

Aos meus pais, Antônio Pereira de Sousa e Maria José Almeida Sousa, pelo apoio durante toda a vida acadêmica.

Ao meu companheiro, Vanderson Campelo dos Santos, pela ajuda na execução de todas as etapas desse trabalho, além do suporte emocional para dar continuidade a pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Mesquita (UEMA), pela paciência, apoio, confiança, esclarecimento de dúvidas e conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. José Fábio França Orlanda (UEMASUL), pelo apoio na execução desse trabalho e conhecimentos compartilhados desde da graduação.

Ao Prof. Dr. Francisco Eduardo Aragão Catunda-Júnior (UEMASUL) pela identificação da composição química do óleo essencial, e ao Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, pela realização da análise cromatográfica.

Ao Prof. Dr. Heder Braun (UEMA), pelo auxílio na análise estatística. E também ao Prof. Murilo Barros Alves (UEMASUL) pelo esclarecimento de algumas dúvidas.

Ao Prof. Dr. Tiago Massi Ferraz (UEMA), pelo empréstimo do aparelho de SPAD para medição de clorofila.

A Prof^ª. Dra. Rafaela Carvalho Tigre (UFMA), pelos esclarecimentos sobre os métodos em alelopatia.

A Prof^ª. Dra. Anatercia Ferreira Alves, pela confiança e disponibilidade do Laboratório de Sementes da UEMASUL para realização de parte desse trabalho.

A Prof^ª. Dra. Ivaneide de Oliveira Nascimento (UEMASUL), pelo empréstimo de vidrarias e equipamentos.

Ao Laboratório de Biotecnologia Ambiental – LABITEC da UEMASUL, em nome do Prof. Dr. José Fábio França Orlanda, que foi o laboratório oficial para realização de todos os experimentos.

A Prof^ª. Dra. Fátima Salimena e ao Herbário Leopoldo Krieger (CESJ) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), pela identificação da espécie *Lippia origanoides*.

Aos técnicos e responsáveis pelo Centro de Difusão Tecnológica (CDT), pela disponibilidade da casa de vegetação e auxílio quando necessário.

Ao meu amigo Bruno Machado Araújo, pela ajuda na execução de algumas etapas desse trabalho.

A minha amiga, Régia Karolyny Lopes Nunes e sua mãe Dona Luzia, pelo acolhimento em suas residências durante algumas disciplinas.

A minha amiga, Mauriana da Rocha Sobrinho, pelo acolhimento em sua residência durante viagens da pós-graduação.

Aos colegas do mestrado, pela ajuda e esclarecimentos de dúvidas.

A Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL, pelo acolhimento e disponibilidade da infraestrutura para realização desse trabalho.

A Universidade Estadual do Maranhão – UEMA e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA, pelo incentivo e suporte para realização desse trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA, pela bolsa concedida.

A todos que não foram citados aqui, mas que contribuíram de forma direta ou indireta na elaboração desse trabalho.

RESUMO

Estudos na área de alelopatia na agricultura tem aumentado devido buscas de métodos alternativos no controle de plantas daninhas em relação aos herbicidas convencionais. *Lippia origanoides* é uma planta nativa da América do Sul e Central que possui diversos quimiótipos e que tem sido grande alvo de pesquisas devido suas propriedades medicinais. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a composição química e a fitotoxicidade do óleo essencial de *Lippia origanoides* em plantas daninhas das espécies *Bidens subalternans*, *Euphorbia heterophylla* e *Macroptilium lathyroides* em condições laboratoriais e casa de vegetação. O óleo essencial foi extraído das folhas de *L. origanoides* por meio de hidrodestilação e diluído nas concentrações de 0,01%; 0,05%; 0,1%; 0,5% e 1%. A composição química foi determinada por cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas. A atividade fitotóxica foi avaliada em pré e pós-emergência por meio de testes de germinação, crescimento de plântulas, teor de clorofila e respiração celular. A análise química demonstrou um óleo essencial rico em monoterpenos, principalmente oxigenados, com cânfora, canfeno e β -Bisaboleno como compostos majoritários. Em geral, tanto a germinação como o desenvolvimento de plântulas foram fortemente inibidos pelo óleo essencial, diminuindo com o aumento das concentrações. As concentrações 0,5 e 1,0% inibiram totalmente a germinação de *B. subalternans*, mas não afetaram a germinação de *M. lathyroides*. O óleo essencial pulverizado sobre as folhas das plantas daninhas não apresentou efeito sobre o teor de clorofila, mas foi capaz de induzir lesões visíveis como necrose e clorose. Somente a respiração celular de *E. heterophylla* foi afetada pelo óleo essencial. Todos os efeitos fitotóxicos observados devem-se ao grande teor de monoterpenos no óleo essencial, principalmente os oxigenados, e também a concentração utilizada.

Palavras-chave: Alelopatia; Fitotoxicidade; Plantas daninhas; Bioherbicida.

ABSTRACT

Studies in the area of allelopathy in agriculture have increased due to searches of alternative methods in weed control over conventional herbicides. *Lippia origanoides* is a plant native to South and Central America that has several chemotypes and has been a major target for research due to its medicinal properties. Thus, the objective of this work was to evaluate the chemical composition and phytotoxicity of the essential oil of *Lippia origanoides* in weeds of the species *Bidens subalternans*, *Euphorbia heterophylla* and *Macroptilium lathyroides* in laboratory conditions and greenhouse. The essential oil was extracted from the leaves of *L. origanoides* by hydrodistillation and diluted at concentrations of 0.01%; 0.05%; 0.1%; 0.5% and 1%. The chemical composition was determined by gas chromatograph coupled to the mass spectrometer. Phytotoxic activity was evaluated in pre and post-emergence by germination, seedling growth, chlorophyll content and cellular respiration tests. The chemical analysis demonstrated an essential oil rich in monoterpenes, mainly oxygenated, with camphor, camphene and β -Bisabolene as major compounds. In general, both germination and seedling development were strongly inhibited by essential oil, decreasing with increasing concentrations. The concentrations 0.5 and 1.0% totally inhibited the germination of *B. subalternans*, but did not affect the germination of *M. lathyroides*. The essential oil sprayed on weed leaves had no effect on chlorophyll content but was able to induce visible lesions such as necrosis and chlorosis. Only the cellular respiration of *E. heterophylla* was affected by the essential oil. All phytotoxic effects observed are due to the high concentration of monoterpenes in the essential oil, mainly oxygenated, as well as the concentration used.

Keywords: Allelopathy; Phytotoxicity; Weeds; Bioherbicide.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01** – *Lippia origanoides* Kunth (exsicata)24
- Figura 02** – Aparelho de Clevenger25
- Figura 03** – Câmara de germinação (Mangelsdorf, MA4000)27
- Figura 04** – Plantas daninhas no estágio de duas folhas em casa de vegetação28
- Figura 05** - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a germinação (A) e o índice de velocidade de germinação (B) em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS)33
- Figura 06** - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre o comprimento de raiz (A) e hipocótilo (B) em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS)35
- Figura 07** - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a área foliar (A) e peso seco (B) em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS)36
- Figura 08** - Plântulas não desenvolvidas nas maiores concentrações de óleo essencial de *L. origanoides*. Plântulas de *B. subalternans* nas concentrações 0,5% (A) e 1,0 % (B). Plântulas de *E. heterophylla* nas concentrações 0,1 (C), 0,5% (D) e 1,0 % (E). Plântulas de *M. lathyroides* nas concentrações 0,5% (F) e 1,0 % (G)38
- Figura 09** - Valores médios do teor de clorofila (Índice SPAD) dos dias 0 a 10 após pulverização em função do aumento da concentração de óleo essencial de *L. origanoides* em *B. subalternans* (A), *E. heterophylla* (B) e *M. lathyroides* (C). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) ...39
- Figura 10** - Lesões visíveis 24 horas após pulverização com o óleo essencial de *L. origanoides*. Necrose na margem das folhas de *E. heterophylla* nas concentrações 0,5% (A) e 1,0 % (B).

Necrose nas margens das folhas e pontuações cloróticas nas folhas de *M. lathyroides* nas concentrações 0,5% (C) e 1,0 % (D)40

Figura 11 - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a respiração celular em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS)41

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Características físicas do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i>	31
Tabela 02 - Composição química do óleo essencial das folhas de <i>L. origanoides</i>	32
Tabela 03 - Valores médios do efeito do óleo essencial de <i>L. origanoides</i> sobre <i>E. heterophylla</i> e <i>M. lathyroides</i>	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 <i>Lippia origanoides</i>	16
2.2 Óleos essenciais.....	17
2.3 Alelopatia.....	19
2.4 Plantas daninhas.....	20
2.4.1 Resistência a herbicidas.....	21
3. OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. METODOLOGIA.....	24
4.1 Material vegetal.....	24
4.2 Extração do óleo essencial.....	24
4.3. Características físicas do óleo essencial.....	25
4.4 Caracterização química do óleo essencial.....	25
4.5 Diluição do óleo essencial.....	26
4.6 Bioensaios.....	26
4.6.1 Efeito fitotóxico do óleo essencial sobre a germinação.....	27
4.6.2 Efeito fitotóxico do óleo essencial sobre o desenvolvimento das plântulas.....	28
4.6.3 Efeito fitotóxico do óleo essencial aplicado em pós-emergência.....	28
4.6.3.1 Efeito no teor de clorofila.....	29
4.6.3.2 Efeito na respiração celular.....	29
4.7 Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS.....	31
5.1 Caracterização física e química do óleo essencial.....	31
5.2 Efeito fitotóxico sobre a germinação.....	33
5.3 Efeito sobre o desenvolvimento de plântulas.....	34
5.4 Estimativa do teor de clorofila.....	38
5.5 Efeito sobre a respiração celular.....	40
6. DISCUSSÃO.....	42
6.1 Caracterização física e química do óleo essencial.....	42
6.2 Efeito sobre a germinação.....	43

6.3 Efeito sobre o desenvolvimento de plântulas.....	45
6.4 Teor de clorofila e lesão visível.....	47
6.5 Respiração celular.....	48
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1. INTRODUÇÃO

Lippia origanoides Kunth é uma espécie da família Verbenaceae nativa da América do Sul e de alguns países América Central (VICUÑA et al., 2010), comumente usada como tempero culinário ou remédio para distúrbios gastrointestinais (PASCUAL et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2014). Seu óleo essencial possui ampla variação na composição química, e atualmente é classificado em 5 quimiótipos (A, B, C, D e E) de acordo com seus principais constituintes (DOS SANTOS et al., 2004; SILVA et al., 2009; STASHENKO et al., 2010; VEGA-VELA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2014).

Os óleos essenciais são compostos naturais, voláteis e complexos que normalmente são extraídos de plantas encontradas em países dos trópicos e do mediterrâneo, onde representam parte fundamental dos fitoterápicos. Grande parte das plantas medicinais produzem óleos essenciais como resultado do metabolismo secundário das plantas. A principal característica dos óleos essenciais é o forte odor (BAKKALI et al., 2008).

A utilização de óleos essenciais na agricultura é uma alternativa aos métodos convencionais de controle de pragas, fitopatógenos e plantas daninhas (OOTANI et al., 2013). As plantas daninhas causam sérios danos econômicos na agricultura, por meio da competição com as culturas pelos recursos disponíveis, incluindo a radiação solar, os nutrientes, a água e o espaço no solo. As plantas daninhas reduzem a produção e prejudicam a qualidade do produto final (OLIVEIRA JR. et al., 2011; OOTANI et al., 2013).

O controle químico das plantas daninhas feito por meio da aplicação de herbicidas é o método mais utilizado devido suas vantagens de eficiência, seletividade e custo benefício (OLIVEIRA JR. et al., 2011). No entanto, com a intensificação da utilização de herbicidas tem aumentado a resistência de plantas daninhas a estes produtos (OLIVEIRA JR. et al., 2011; OOTANI et al., 2013).

No cenário atual da agricultura no Brasil, com o número crescente de espécies de plantas daninhas resistentes a herbicidas, estudos relacionados à alelopatia tornam-se cada vez mais necessários. Segundo Ferreira e Aquila (2000), a atividade dos aleloquímicos tem sido utilizada como método alternativo a alguns defensivos agrícolas como, inseticidas, nematicidas e herbicidas.

A alelopatia é o processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, impedindo a germinação de sementes ou o desenvolvimento de outras plantas (ALVES et al., 2004). Pesquisas na área da alelopatia são cada vez mais

necessárias para que se compreenda melhor a ação dos aleloquímicos, visto que investigar plantas com atividade alelopática podem ser úteis na busca de compostos fitotóxicos com potencial para compor novos defensivos agrícolas (ROSADO et al., 2009; AMRI et al., 2013). Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* e sua atividade fitotóxica em *Bidens subalternans*, *Euphorbia heterophylla* e *Macroptilium lathyroides* em laboratório e casa vegetação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Lippia origanoides*

L. origanoides é uma espécie da família Verbenaceae e popularmente conhecida como “orégano do monte” na Colômbia (VICUÑA et al., 2010), e salva-de-Marajó ou alecrim-d’Angola no Nordeste do Brasil (OLIVEIRA et al., 2007). É um arbusto aromático que pode chegar a 3 metros de altura, nativo da América do Sul e de alguns países da América Central (VICUÑA et al., 2010).

O gênero *Lippia* é composto por arbustos, ervas e pequenas árvores, e possui cerca de 200 espécies. Espécies desse gênero são comumente utilizadas no tratamento de distúrbios respiratórios, gripes, resfriados e tosse. *L. origanoides*, além do uso já relatado anteriormente, é usada como tempero culinário e como remédio para desordens gastrointestinais (PASCUAL et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2014).

Recentemente, *L. origanoides* foi relatada com 28 sinônimos com base no conceito filogenético de espécie (O’LEARY et al., 2012). Alguns desses sinônimos são: *L. affinis* Schauer, *L. glandulosa* Schauer, *L. graveolens* Kunth, *L. microphylla* Cham, *L. rígida* Schauer, *L. schomburgkiana* Schauer e *L. sidoides* Cham.

Devido a sua grande quantidade de sinônimos, essa espécie também pode ser conhecida vulgarmente como alecrim-pimenta, alecrim-bravo, alecrim-do-nordeste e estrepacavalo no nordeste do Brasil (LORENZI; MATOS, 2008; SANTOS et al., 2015), e orégano México (OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2014).

O óleo essencial de *L. origanoides* apresenta grande diversidade na sua composição química, e pode ser classificado em quimiótipos (ZAMORA et al., 2018). Atualmente são relatados 5 quimiótipos diferentes para a espécie, classificadas pelas letras A, B, C, D e E com base nos seus principais constituintes (DOS SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007;

SILVA et al., 2009; STASHENKO et al., 2010; VEGA-VELA et al., 2013; STASHENKO et al., 2013; TELES et al., 2014b; RIBEIRO et al., 2014; SARRAZIN et al., 2015).

Os tipos químicos mais relatados para *L. origanoides* na literatura são os quimiótipos “B” composto principalmente por carvacrol que possui aroma de orégano (DOS SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; TELES et al., 2014b; SARRAZIN et al., 2015), e o tipo químico “C”, composto por timol e possui aroma semelhante ao carvacrol (ROJAS et al., 2006; STASHENKO et al., 2010; ARANGO-BEDOYA et al., 2013; VEGA-VELA et al., 2013).

O quimiótipo “A”, relatado para a Colômbia, possui aroma cítrico forte. É caracterizado por p-cimeno, α - e β -felandreno, limoneno e 1,8 - cineol (STASHENKO et al., 2010). O quimiótipo “D” foi relatado para o estado do Maranhão, no Brasil, com aroma de cânfora tendo como composto principal o 1,8 – cineol (SILVA et al., 2009). O quimiótipos “E” foi citado recentemente, com ocorrência para o estado do Pará, Brasil, com odor frutado de madeira, rico em (E) -metilcinamato e (E) -nerolidol (RIBEIRO et al., 2014).

A grande variação quimiótípica encontrada para os óleos essenciais dessa espécie pode ser devido a diversos fatores ambientais e genéticos como, por exemplo, em função do local, época do ano, idade da planta e horário de coleta (STASHENKO et al., 2010; TELES et al., 2014b; RIBEIRO et al., 2014). Além disso, foram encontrados grandes níveis de diversidade genética para essa espécie, comparando-as até a outras espécies do mesmo gênero (VEGA-VELA et al., 2013).

Devido a todos esses fatores, o óleo essencial de *L. origanoides* tem sido amplamente pesquisado nas mais diversas áreas, como, atividade antioxidante (TELES et al., 2014ab; DAMASCENO et al., 2018), acaricida, inseticida e larvicida (MAR et al., 2018), antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2007; BALDIM et al., 2019), antiparasitária (SOARES et al., 2017) e alelopática (ALVES et al., 2004; MAGALHÃES et al., 2013; ALVES et al., 2014).

2.2 Óleos essenciais

Desde os primórdios da humanidade, as plantas com características medicinais são utilizadas como fonte para o desenvolvimento de novos agentes fitoterápicos (TOMAZZONI et al., 2006). As toxinas naturais e seus derivados têm sido amplamente utilizadas nas pesquisas de fármacos e têm levado ao desenvolvimento de diversos agentes terapêuticos (VIEIRA et al., 2008). A utilização de produtos naturais tem apresentado resultados significativos, pois além

de sua facilitada manipulação e disponibilidade, não causam impactos ao ambiente e também possuem baixo custo de produção (OOTANI et al., 2013).

Os óleos essenciais são compostos de origem natural, voláteis, caracterizados por um aroma intenso, sintetizados pelo metabolismo secundário e comumente obtidos de plantas localizadas em países quentes, como dos trópicos e do mediterrâneo, onde representam parte fundamental da farmacopeia tradicional (BAKKALI et al., 2008). Eles também podem ser chamados de óleos etéreos, devido algumas de suas características físico-químicas, como, normalmente serem substâncias líquidas e de aspecto oleoso à temperatura ambiente (SIMÕES et al., 2007).

Os óleos essenciais são biossintetizados e armazenados em estruturas vegetais especializadas, como tricomas, ou no citoplasma de algumas células secretoras (EL ASBAHANI et al., 2015). Estes distribuem-se de forma diferente na planta e podem estar concentrados em órgãos específicos, como folhas (eucalipto), flores (rosa), ramos (alecrim), rizomas (gingibre), entre outros (BAKKALI et al., 2008).

Os compostos químicos produzidos pelos vegetais são agrupados em dois grupos: os metabólitos primários (carboidratos, aminoácidos e lipídeos) e os metabólitos secundários que são compostos produzidos a partir da síntese dos metabólitos primários, tais como compostos fenólicos, alcalóides e óleos essenciais (SIMÕES et al., 2007).

Os óleos essenciais são produtos obtidos tradicionalmente através de destilação por arraste com vapor d'água, também conhecida por hidrodestilação (VITTI; BRITO, 2003). Esse método apresenta a vantagem das moléculas terpênicas dos óleos essenciais que são imiscíveis em água, poderem ser removidas da água por decantação (EL ASBAHANI et al., 2015).

Os componentes encontrados em óleos essenciais possuem uma ampla variação de compostos orgânicos. Na mistura desses compostos orgânicos, que se apresentam em diferentes concentrações, normalmente, o que possui maior quantidade na amostra é chamado de composto majoritário (LUPE, 2007).

Os óleos essenciais, em sua grande maioria, compreendem principalmente hidrocarbonetos terpênicos (monoterpenos e sesquiterpenos) e terpenóides. Dentre estes, os monoterpenos são encontrados em maior quantidade, chegando a representar mais de 80% da composição (BAKKALI et al., 2008; EL ASBAHANI et al., 2015).

O número de estudos relacionados a ação dos terpenos tem ganhado destaque nas últimas décadas (VIEGAS JÚNIOR, 2003). Vários trabalhos têm buscado e destacado as diversas atividades biológicas dos terpenos como, atividade inseticida (HERRERA et al., 2017), antimalárica (SAITO et al., 2016) e antifúngica (XIE et al., 2017).

2.3 Alelopatia

Em 1937 o pesquisador alemão Hans Molisch criou o termo "alelopatia", através da reunião das palavras gregas "*allélon*" e "*pathos*", que significam respectivamente, mútuos e prejuízo. Molisch define "alelopatia" como a capacidade das plantas produzirem substâncias químicas que, liberadas no ambiente, influenciam de forma favorável ou desfavorável o desenvolvimento de outras plantas" (SANTOS, 2012).

Para Severino et al. (2005) a alelopatia pode ser definida como um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, impedindo a germinação ou o desenvolvimento de outras plantas. E esta difere-se de competição, que consiste na disputa de recursos que estão limitados no ambiente.

As substâncias alelopáticas liberadas pelos organismos no ambiente podem ser chamadas de aleloquímicos, produtos secundários ou fitotoxinas. Essas substâncias podem ser liberadas tanto por plantas quanto por micro-organismos, podendo afetar plantas daninhas ou plantas cultivadas. A principal função desses compostos na planta é a defesa contra predadores, doenças e a invasão de outras plantas (OLIVEIRA JR et al., 2011).

Os aleloquímicos ou fitotoxinas podem ser liberados para o ambiente por diferentes formas sendo estas: volatilização, exsudação radicular, lixiviação e decomposição de resíduos. A volatilização ocorre quando compostos voláteis são liberados de partes da planta, podendo assim, ser absorvidos por outras. Na lixiviação, a remoção de substâncias químicas das plantas acontece através da água da chuva, orvalho ou neblina (OLIVEIRA JR et al., 2011; FELIX, 2012; SANTOS, 2012).

Por outro lado, quando os compostos alelopáticos são liberados na rizosfera ocorre a exsudação radicular, que pode atuar de forma direta ou indireta nas interações biológicas planta/planta e ação de micro-organismos. Na decomposição de resíduos, as toxinas são liberadas através da decomposição das partes aéreas ou subterrâneas da planta, ou ainda por substâncias liberadas pelos próprios micro-organismos (OLIVEIRA JR et al., 2011; FELIX, 2012; SANTOS, 2012).

A alelopatia pode ser resultante de uma interação complexa que envolve fatores genéticos e ambientais (BORELLA; PASTORINI, 2009). Os processos fisiológicos da planta como, por exemplo, a germinação das sementes e o crescimento das plântulas, a assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteínas, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular podem ser afetados

pelos compostos aleloquímicos (MANO, 2006; KAUR et al., 2010, FAGODIA et al., 2017; OOTANI et al., 2017).

Os estudos para verificação da atividade de um determinado aleloquímico são realizados principalmente em condições laboratoriais através de análises de germinação e crescimento de plântulas. Nesse caso, os aleloquímicos podem afetar apenas um ou ambos os processos, sendo que o desenvolvimento de plântulas é mais sensível à ação alelopática que a germinação (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Nos últimos anos têm-se intensificado os estudos da atividade dessas fitotoxinas em condições de casa de vegetação (ALMARIE et al, 2016; GRICHI et al., 2016; HAZRATI et al., 2017; OOTANI et al., 2017; LAOSINWATTANA et al., 2018), e as vezes campo (BATISH et al., 2004), para verificação do efeito da aplicação dessas substâncias como possíveis bioherbicidas. Vários trabalhos têm verificado o poder herbicida que diversos óleos essenciais possuem para diferentes tipos de plantas, apresentando potencial de controle contra plantas daninhas em agroecossistemas (ENS et al., 2009).

Os ensaios alelopáticos em condições de laboratório costumavam ser realizados principalmente com as espécies de *Lactuca sativa* (alface) e *Lycopersicon esculentum* (tomate), devido serem facilmente encontrados e bastante sensíveis as substâncias alelopáticas ((FERREIRA; AQUILA, 2000).

Recentemente, tem crescido o número de trabalhos que utilizam as próprias plantas daninhas para verificar o potencial alelopático de uma substância (KAUR et al., 2010; ISMAIL et al., 2012; ANESE et al., 2015; GRICHI et al., 2016; HAZRATI et al., 2017; FAGODIA et al., 2017; OOTANI et al., 2017; SILVA et al., 2017; HAZRATI et al., 2018; LAOSINWATTANA et al., 2018).

Vários autores já relataram ação fitotóxica de compostos bioativos como possíveis bioherbicidas. Fagodia et al. (2017) verificaram que o óleo essencial de *Citrus aurantiifolia* possui atividade herbicida contra *Avena fatua*, *Echinochloa crus-galli* e *Phalaris minor*. Ootani et al. (2017) verificaram que os óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* foram fitotóxicos para *Digitaria horizontalis* e *Cenchrus echinatus*.

2.4 Plantas daninhas

O termo planta daninha refere-se a qualquer planta que cresce em local indesejável, prejudicando a atividade humana (PITELLI, 2015). As plantas daninhas também são comumente citadas na literatura como “plantas invasoras” ou “ervas daninhas”, no entanto este

último termo deve ser evitado pois entende-se que trata apenas de plantas herbáceas (OLIVEIRA JR et al., 2011).

Na agricultura, as plantas daninhas afetam as culturas principalmente através da competição por recursos limitados ao ambiente, como luz, espaço, água e nutrientes (DEUBER, 2006; PITELLI, 1987). Essas plantas prejudicam as áreas de produção agrícola e se expandem cada vez mais, tornando-se diversificadas e especializadas na ocupação dos agrossistemas (PITELLI, 2015).

Segundo Oliveira Jr. et al. (2011) os maiores prejuízos causados pelas plantas daninhas são na agricultura. As plantas daninhas causam sérios danos econômicos no campo, prejudicando a qualidade da produção final, diminuindo a produtividade, e tendo como consequência a diminuição do valor da terra pela ocorrência de plantas daninhas de difícil controle (DEUBER, 2006).

Para minimizar os impactos causados pelas plantas daninhas, utilizam-se vários métodos de controle: preventivo, cultural, mecânico, biológico, físico e químico (DEUBER, 2006; FONTES et al., 2003). Dentre estes, o controle químico é o mais utilizado, através da utilização de herbicidas (FOLONI et al., 2006). Esses produtos podem ser aplicados antes e depois da semeadura e tem como vantagens a eficiência de controle, seletividade e melhor relação custo/benefício em algumas situações (FONTES et al., 2003). Entretanto, com a intensificação da utilização de herbicidas têm-se aumentado o número de plantas daninhas resistentes a estes produtos. O emprego repetitivo de alguns herbicidas com o mesmo mecanismo de ação tem favorecido para a seleção de populações resistentes a alguns grupos químicos (OLIVEIRA JR. et al., 2011)

2.4.1 Resistência a herbicidas

Com a intensificação da utilização de herbicidas o número de plantas daninhas resistentes também tem aumentado. Esse fenômeno ocorre quando uma população de plantas daninhas que é controlada por determinado herbicida desenvolve biótipos resistentes a esses produtos. Os biótipos resistentes podem surgir em decorrência da utilização recorrente de um mesmo herbicida ou que apresentam o mesmo mecanismo de ação em uma população de plantas daninhas (OLIVEIRA JR. et al., 2011; LORENZI et al., 2014).

Os mecanismos de ação dos herbicidas podem ser divididos em dois grupos: o primeiro compreende os herbicidas que atuam no cloroplasto, como, por exemplo, os inibidores das enzimas acetil Co-A carboxilase (ACCCase), acetolactato sintase (ALS), etanol-piruvil-

shiquimato-fosfato-sintase (EPSPs), glutamina sintetase (GS) e protoporfirinogen oxidase (PROTOX); os inibidores do fluxo de elétrons dos Fotossistemas I e II e os inibidores da biossíntese de carotenoides. No segundo grupo, estão aqueles que atuam fora dos cloroplastos incluindo as auxinas sintéticas, os inibidores da formação de ácidos graxos de cadeia longa e os inibidores da polimerização da tubulina (LORENZI et al., 2014).

No Brasil já existem várias espécies resistentes, como *Bidens pilosa*, *Bidens subalternans*, *Euphorbia heterophylla*, *Eleusine indica*, *Conyza canandanses*, *Cyperus difformis*, entre outras (OLIVEIRA JR. et al., 2011). Sendo as três primeiras espécies citadas mais relatadas no Brasil para resistência ao ALS (LORENZI et al., 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* e seu efeito fitotóxico em *Bidens subalternans*, *Euphorbia heterophylla* e *Macroptilium lathyroides*.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização química do óleo volátil de *L. origanoides*;
- Avaliar o efeito do óleo essencial de *Lippia origanoides* na germinação das sementes de *Bidens subalternans*, *Euphorbia heterophylla* e *Macroptilium lathyroides*;
- Verificar se o óleo essencial interfere no crescimento das plântulas;
- Avaliar o efeito fitotóxico do óleo essencial aplicado em pós-emergência no teor de clorofila e na respiração celular das espécies testadas.

4. METODOLOGIA

4.1 Material vegetal

Folhas frescas de *L. origanoides* Kunth (Figura 01) foram coletadas de plantas adultas de ocorrência natural no município de Montes Altos (5°50'06.7"S 47°16'06.0"W), Maranhão, Brasil. A coleta ocorreu das 8 às 10 horas da manhã, no período de novembro de 2017 a janeiro de 2018. Um espécime foi identificado pela Prof^a. Dra. Fátima Salimena, da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Um voucher da espécie foi depositado no Herbário Leopoldo Krieger (CESJ) da UFJF, com o número de registro CESJ 71577.



Figura 01 – *Lippia origanoides* Kunth (exsicata)

As sementes *B. subalternans*, *E. heterophylla* foram coletadas em terrenos baldios no município de Governador Edison Lobão - MA e as de *M. lathyroides* no município de Senador La Rocque – MA.

4.2 Extração do óleo essencial

As folhas frescas foram lavadas inicialmente em água corrente, depois em água destilada, e posteriormente, foram cortadas para a extração. O óleo essencial foi extraído empregando o sistema Clevenger (Figura 02), por meio da técnica de hidrodestilação, por três horas à temperatura de 100 °C. Em cada extração foi utilizada uma massa de 100 g de amostras frescas para 1000 mL de água na proporção de 1:10. Ao final da extração, o volume do óleo foi filtrado em sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e armazenado sob refrigeração para evitar perdas por volatilização.

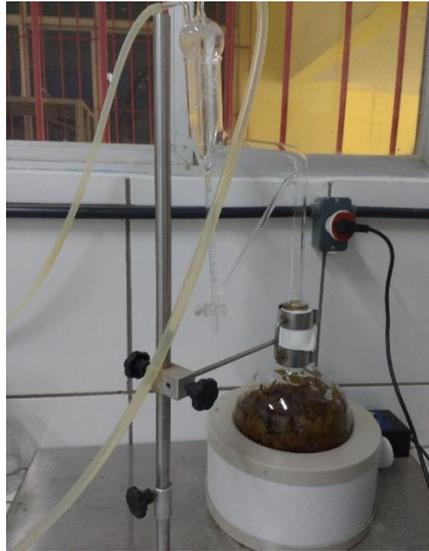


Figura 02 – Aparelho de Clevenger

4.3. Características físicas do óleo essencial

Na identificação das características físicas do óleo essencial foram avaliadas as variáveis: densidade, cor, aparência, odor e rendimento. A densidade relativa foi determinada através de um picnômetro de 2 mL, onde a diferença entre a massa do picnômetro com a amostra e do picnômetro vazio é a massa da amostra. A cor e aparência foram determinados visualmente. O odor foi determinado através do aroma sentido pela evaporação do óleo volátil.

O rendimento do óleo essencial foi determinado em % (m/m) que corresponde à relação massa/massa pela medida da densidade, observando o volume obtido no próprio sistema de extração, utilizando a equação: $R\% = V \times d \times 100 / m$, onde: R% = rendimento em porcentagem; V = volume de óleo em mL; D (densidade) = massa de um mL de óleo em g; M = massa de folhas secas em g.

4.4 Caracterização química do óleo essencial

A análise química foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. A análise qualitativa foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) usando um cromatógrafo QP2010 Plus da marca Shimadzu, com hélio (He) como gás carreador. Foi utilizada uma coluna capilar Factor Four/VF-5 ms, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 mm de espessura de filme. O fluxo do gás carreador foi de 1 mL/min. A temperatura inicial do forno foi de 60° C, que após aquecimento constante por 2 minutos, foi aumentando a uma razão

constante de 2 °C por minuto até 110 °C, em seguida a uma razão de 3 °C por minuto até 150 °C, então a 15 °C por minuto até 290 °C, com uma isoterma final de 290 °C por 17 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram respectivamente 250 °C e 310 °C. O modo de injeção foi split e o volume de injeção foi de 1 µL. Os espectros de massas foram produzidos por impacto de elétrons (70 eV).

A análise quantitativa da composição química do óleo essencial foi feita em cromatógrafo a gás acoplado a um detector de ionização de chamas (CG - DIC) HP5890 Série II, usando as mesmas condições operacionais do mesmo tipo de coluna como na análise em CG-EM com exceção das temperaturas do injetor e do detector que foram de 220 °C e 250 °C, respectivamente.

Todos os constituintes do óleo essencial foram identificados por comparação visual de seus espectros de massa com aqueles da literatura (ADAMS, 2007) e com os padrões existentes na biblioteca Nist08 do computador no aparelho, bem como por comparação dos índices de retenção com aqueles da literatura (ADAMS, 2007). Uma solução padrão de n-alcenos (C8-C20) foi injetada sob as mesmas condições cromatográficas da amostra e usadas para obter os índices de retenção, conforme descrito por Van Den Dol e Kratz (1963). A porcentagem de cada constituinte químico foi calculada pela integral da área dos respectivos picos em relação a área total de todos os constituintes da amostra.

4.5 Diluição do óleo essencial

O óleo essencial foi emulsionado utilizando uma solução solvente com o surfactante não iônico mono-oleato de sorbitam (nome comercial Tween 80) na proporção 1:1 (v/v), diluindo-se em água destilada até obter-se a concentração pretendida. A solução controle utilizada foi o Tween 80 a 1% (ALVES et al., 2004; ABD EL-GAWAD, 2016). O óleo foi diluído nas concentrações 0,01%; 0,05%; 0,1%; 0,5% e 1%, e as soluções foram armazenadas em frascos de vidro envolvidos com papel alumínio e mantidas refrigeradas até o momento das análises.

4.6 Bioensaios

Antes do início das análises, as sementes passaram por processo de quebra de dormência e desinfecção, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). A quebra da dormência de *E. heterophylla* ocorreu mediante fornecimento de luz por 8 horas,

e *M. lathyroides* pela imersão em ácido sulfúrico concentrado por 20 min. Sementes da espécie *B. subalternans* não apresentaram dormência. Todas as sementes passaram por um processo de desinfecção em hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% por 5 minutos e logo após foram lavadas em água destilada e armazenadas a temperatura ambiente até o momento das análises.

Em todos os bioensaios o delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos representados pelas seis concentrações do óleo essencial (0,0%; 0,01%; 0,05%; 0,1%; 0,5% e 1,0%), com quatro repetições.

4.6.1 Efeito fitotóxico do óleo essencial sobre a germinação

A avaliação do efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a germinação de *B. subalternans*, *E. heterophylla* e *M. lathyroides* foi realizada em placas de Petri esterilizadas, contendo 2 papéis filtro por placa. Foram utilizadas 25 sementes por placa. Cada placa recebeu 3 mL das concentrações testadas.

As placas de Petri com as sementes foram mantidas em câmara de germinação tipo Mangelsdorf (MA4000) com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas (Figura 03). O experimento foi mantido por um período de 10 dias com contagens diárias, retirando-se as sementes germinadas.



Figura 03 – Câmara de germinação (Mangelsdorf, MA4000)

As variáveis analisadas foram porcentagem e índice de velocidade de germinação. A porcentagem de emergência (PG) foi obtida por meio da contagem das sementes germinadas

pelo total. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado pela fórmula: $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots Gn/Nn$, onde: G1, G2, ... Gn = número de sementes germinadas nas observações diárias; N1, N2, ... Nn = número de dias após a semeadura. Foram consideradas sementes germinadas, as que produziram radícula com aproximadamente 2 mm de comprimento.

4.6.2 Efeito fitotóxico do óleo essencial sobre o desenvolvimento das plântulas

As sementes foram colocadas para germinar em água destilada durante 3 dias e depois foram transferidas para as placas de Petri com os tratamentos. Cada placa de Petri recebeu 4 mL das concentrações testadas, onde foram colocadas 5 sementes pré-germinadas, exceto para *E. heterophylla* onde foram colocadas 4 sementes. As placas foram envolvidas em rolos de filme PVC e colocadas em câmara de germinação tipo Mangelsdorf (MA4000) nas mesmas condições utilizadas no teste de germinação. Após 10 dias foram medidos os comprimentos de raiz e do hipocótilo, a área foliar e determinado o peso seco das plântulas (ABD EL-GAWAD, 2016).

4.6.3 Efeito fitotóxico do óleo essencial aplicado em pós-emergência

Os ensaios sobre o efeito fitotóxico do óleo essencial aplicado em pós-emergência foram realizados em casa de vegetação. As sementes das espécies em estudo foram semeadas em bandejas plásticas para mudas preenchidas com substrato comercial Basaplant (Turfa, corretivos, vermiculita, carvão vegetal e cascas de *Pinus*). Quando as plantas se encontravam no estágio de 2 folhas foram transferidas para vasos plásticos preenchidos com o mesmo substrato e com capacidade de 1 L cada (Figura 04).



Figura 04 – Plantas daninhas no estágio de duas folhas em casa de vegetação

A aplicação dos tratamentos foi realizada quando as plantas se encontravam no estágio de quatro folhas, por meio de pulverizador manual cobrindo-se toda a parte aérea das plantas (KAUR et al., 2010; OOTANI et al., 2017). O experimento foi mantido por 10 dias para determinação do teor de clorofila e da respiração celular.

4.6.3.1 Efeito no teor de clorofila

O teor de clorofila presente nas plantas daninhas foi analisado através de medidor portátil de clorofila SPAD 502 PLUS (Minolta, Japão) (ALMARIE et al., 2016; GRICHI et al., 2016), no período das 7:30 às 9:00 horas da manhã. Em cada planta foram amostradas 3 folhas, com 3 medições por folha. As medições foram realizadas antes da pulverização com óleo essencial no dia 0, e após pulverização, nos dias 1, 3, 5, 7 e 10.

4.6.3.2 Efeito na respiração celular

A análise de respiração celular das folhas foi feita de acordo com o método descrito por Steponkus e Lanphear (1967), através da redução do cloridrato de trifetil tetrazólio – TTC ($C_{19}H_{15}ClN_4$) à formazan (CH_4N_4).

Foram retirados 6 discos foliares de 5 cm de diâmetro de cada planta e transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL da solução de TTC com 0,6% (p/v) em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0). Os tubos foram colocados em dessecadores à vácuo por 2 horas, e após colocados em banho-maria a 30 °C por 15 horas.

As soluções de TTC foram drenadas dos tubos de ensaio e as amostras foliares lavadas uma vez em água destilada. As amostras foliares foram extraídas adicionando-se 7 mL de etanol 95% (v/v) em cada tubo e colocadas em banho-maria (± 100 °C), durante 5 minutos. As soluções de etanol foram transferidas para outros tubos e resfriadas à temperatura ambiente onde adicionou-se 10 mL de etanol 95% (v/v) a cada solução para leitura em espectrofotômetro (Spectro 590) no comprimento de onda de 530 nm.

4.7 Análise estatística

O delineamento experimental adotado em todos os experimentos foi o inteiramente casualizado. Os resultados obtidos em cada bioensaio foram submetidos à análise de variância

(ANOVA) seguidos de regressão (linear ou quadrática), sendo o coeficiente de determinação calculado com base na soma do quadrado do tratamento. Os dados foram analisados através do software SisVar 5.6 (FERREIRA, 2011).

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização física e química do óleo essencial

O óleo essencial de *L. origanoides* apresentou cor amarelo claro de aparência límpida e odor suave refrescante. O rendimento médio do óleo foi de 2,44% (m/m) com base no peso seco das folhas, e densidade de 1,28 g/mL à temperatura de 25 °C (Tabela 01).

Tabela 01 - Características físicas do óleo essencial de *Lippia origanoides*.

Características	<i>Lippia origanoides</i>
Aparência	Límpida
Cor	Amarelo claro
Odor	Suave (Cânfora)
Densidade (g/mL)	1,28
Rendimento (%)	2,44

A análise química por CG-MS identificou 37 componentes no óleo essencial, que representam 91,58% do total identificado (Tabela 02). O óleo é composto na sua maioria por monoterpenos (58,7%), seguido de sesquiterpenos (32,63%) e outros compostos (0,25%).

Entre os monoterpenos, os compostos oxigenados apresentaram maior percentual (40%) do que os hidrocarbonados (18,7%). A cânfora foi responsável por 34% do total dos compostos oxigenados e também foi o composto majoritário do óleo essencial, seguida pelo canfeno (hidrocarbonado) com 10,99% (Tabela 02).

Os sesquiterpenos hidrocarbonados representaram 24,71% da composição química do óleo, sendo o β -bisaboleno (10,8%) um dos principais compostos encontrados no óleo essencial. Os sesquiterpenos oxigenados constituíram 7,92%, e os outros compostos, apenas 0,25% (Tabela 02).

Os principais compostos encontrados no óleo essencial, com composição superior a 1%, em ordem decrescente foram: cânfora (34,04%), canfeno (10,99%), β -bisaboleno (10,8%), β -cariofileno (4,01%), borneol (3,54%), óxido de cariofileno (2,81%), limoneno (2,6%), α -E-bergamoteno (2,4%), pogostol (2,13%), α -pineno (1,68%), hedicariol (1,46%), germacreno-D (1,39%), β -elemeno (1,31%), β -pineno, (1,25%), carvona (1,22%), shyobunol (1,12%), δ -cadineno (1,06%), (E,E)- α -farneseno (1,02%) (Tabela 02).

Tabela 02 - Composição química do óleo essencial das folhas de *L. origanoides*.

Compostos orgânicos	Constituintes	I.R.c	I.R.l	%
Monoterpeno hidrocarbonado	Triciclono	932	926	0,06
	α -Pineno	944	939	1,68
	Canfeno ²	961	954	10,99
	Sabineno	982	975	0,1
	β -Pineno	986	979	1,25
	Mirceno	996	990	0,96
	p-Cimeno	1033	1024	0,11
	Limoneno	1039	1029	2,6
	γ -Terpineno	1067	1059	0,05
	Terpinoleno	1095	1088	0,9
Total				18,7
Monoterpeno oxigenado	1,8-Cineol	1041	1031	0,41
	Linalol	1107	1096	0,03
	E-Tagetono	1141	1144	0,06
	Cânfora ¹	1162	1146	34,04
	Borneol	1179	1169	3,54
	Verbenona	1219	1205	0,29
	E-Carveol	1230	1216	0,41
	Carvona	1255	1243	1,22
Total				40
Sesquiterpeno hidrocarbonado	β -Elemeno	1388	1376	1,31
	α -Copaeno	1402	1390	0,7
	β -Cariofileno	1436	1419	4,01
	β -Copaeno	1439	1432	0,18
	α -E-Bergamoteno	1448	1434	2,4
	α -Humuleno	1465	1454	0,81
	E- β -Farneceno	1476	1456	0,39
	Germacreno-D	1495	1485	1,39
	Viridifloreno	1502	1496	0,69
	(E,E)- α -Farneseno	1513	1505	1,02
	β-Bisaboleno ³	1523	1505	10,75
	δ -Cadineno	1538	1523	1,06
Total				24,71
Sesquiterpeno oxigenado	Hediacariol	1566	1548	1,46
	Óxido de cariofileno	1601	1583	2,81
	Pogostol	1674	1653	2,13
	Epi- β -Bisabolol	1690	1671	0,4
	Shyobunol	1713	1689	1,12
Total				7,92
Outros	Acetofenona	1075	1065	0,12
	(2E,6E)-Acetato de farnesila	1848	1846	0,13
Total				0,25
Total identificado				91,58

I.R.c: Índice de retenção calculado;

I.R.l: Índice de retenção da literatura;

%: porcentagem de cada constituinte químico.

Números 1, 2 e 3: ordem dos principais compostos.

5.2 Efeito fitotóxico sobre a germinação

Em geral, tanto a germinação quanto o índice de velocidade de germinação (IVG) das plantas daninhas foram reduzidos com aumento da concentração do óleo essencial de *L. origanoides* (Figura 05 A e B), com exceção da germinação de *M. lathyroides* que não houve efeito em relação a concentração (Figura 05 A).

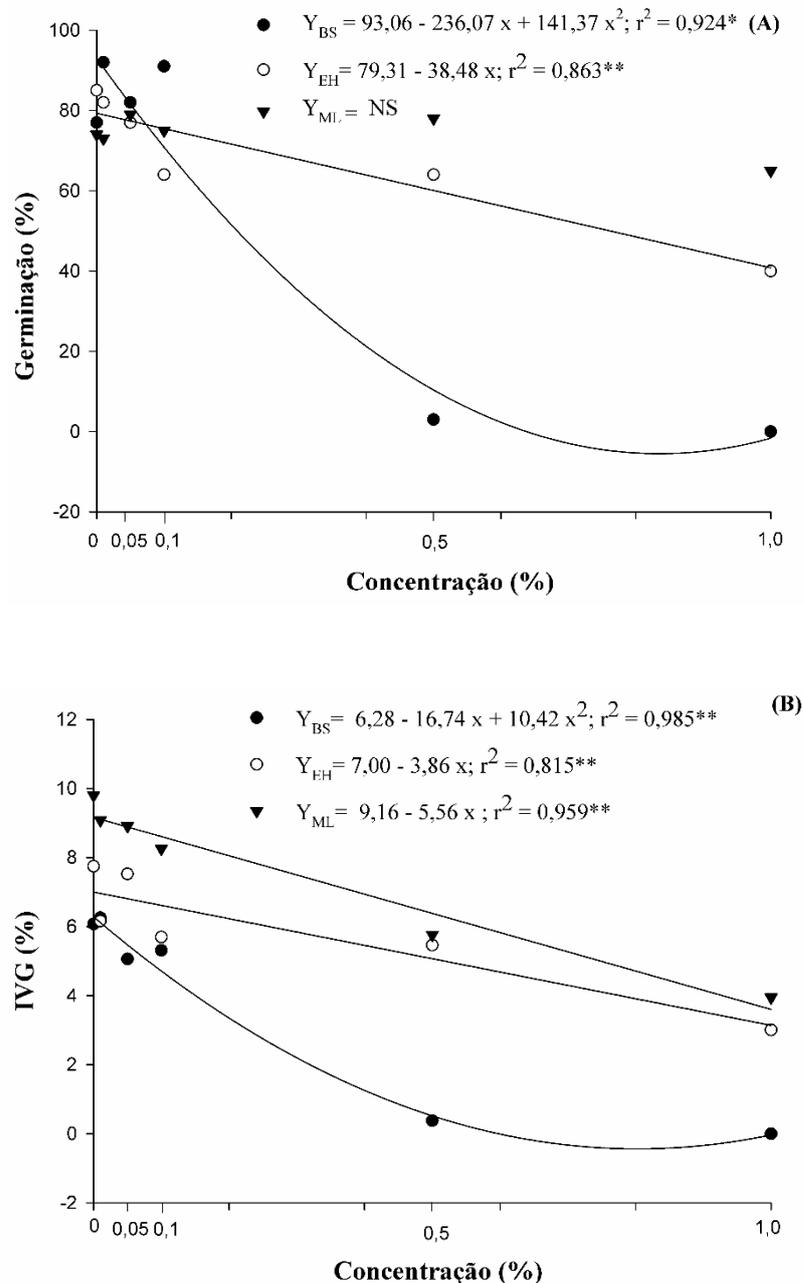


Figura 05 - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a germinação (A) e o índice de velocidade de germinação (B) em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS).

A espécie *B. subalternans* foi a que apresentou maior redução na porcentagem de sementes germinadas ($r^2 = 0,924$) e de IVG ($r^2 = 0,985$) em função do aumento da concentração de óleo essencial. As duas variáveis analisadas tiveram comportamento quadrático e apresentaram melhores efeitos inibitórios nas maiores concentrações (0,5 e 1,0%) para as ambas as variáveis analisadas. A concentração de 0,5% de óleo essencial de *L. origanoides* reduziu significativamente a germinação e o IVG em relação ao controle em 96,10% e 93,75% respectivamente. Na concentração de 1,0 % a redução chegou a 100% (Figura 05 A e B).

Para *E. heterophylla*, as duas variáveis analisadas tiveram comportamento linear negativo em função da concentração de óleo essencial ($r^2 = 0,864$ e $0,815$). A inibição máxima da germinação foi verificada na maior concentração (1,0%), assim como no IVG, resultando em uma diminuição de 52,94% e 61,15%, respectivamente, em relação ao controle (Figura 05 A e B).

Por outro lado, o óleo essencial de *L. origanoides* apresentou efeito somente para a variável IVG na espécie *M. lathyroides* ($r^2 = 0,959$). As concentrações mais altas (0,5% e 1,0%) apresentaram menor IVG, assim como em *B. subalternans*, reduzindo significativamente em 41,22% e 59,7%, respectivamente.

5.3 Efeito sobre o desenvolvimento de plântulas

O efeito do óleo essencial *L. origanoides* apresentou efeito inibitório sobre o desenvolvimento de todas as plântulas em função do aumento da concentração de óleo essencial para as variáveis analisadas (Figura 06 e 07).

O comprimento radicular foi afetado em todas as plantas daninhas testadas, mas somente *B. subalternans* se ajustou ao modelo quadrático ($r^2 = 0,890$), as demais apresentaram significância estatística, mas nenhum modelo se ajustou. Em *B. subalternans*, a concentração de 0,5% foi a mais eficiente, reduzindo o crescimento radicular em 52,02% em relação ao controle. A concentração 1,0 % reduziu em 50% o crescimento da raiz (figura 06 A).

O comprimento de hipocótilo foi significativamente afetado em todas as plântulas, mas *E. heterophylla* não se ajustou a nenhum modelo. As espécies *B. subalternans* ($r^2 = 0,773$) e *M. lathyroides* ($r^2 = 0,779$) apresentaram maiores reduções nas concentrações 0,5 e 1,0%. *B. subalternans* reduziu em 65,15% e 70,91%, e *M. lathyroides*, 91,46% e 91,56%, de acordo com as respectivas concentrações (Figura 06 B).

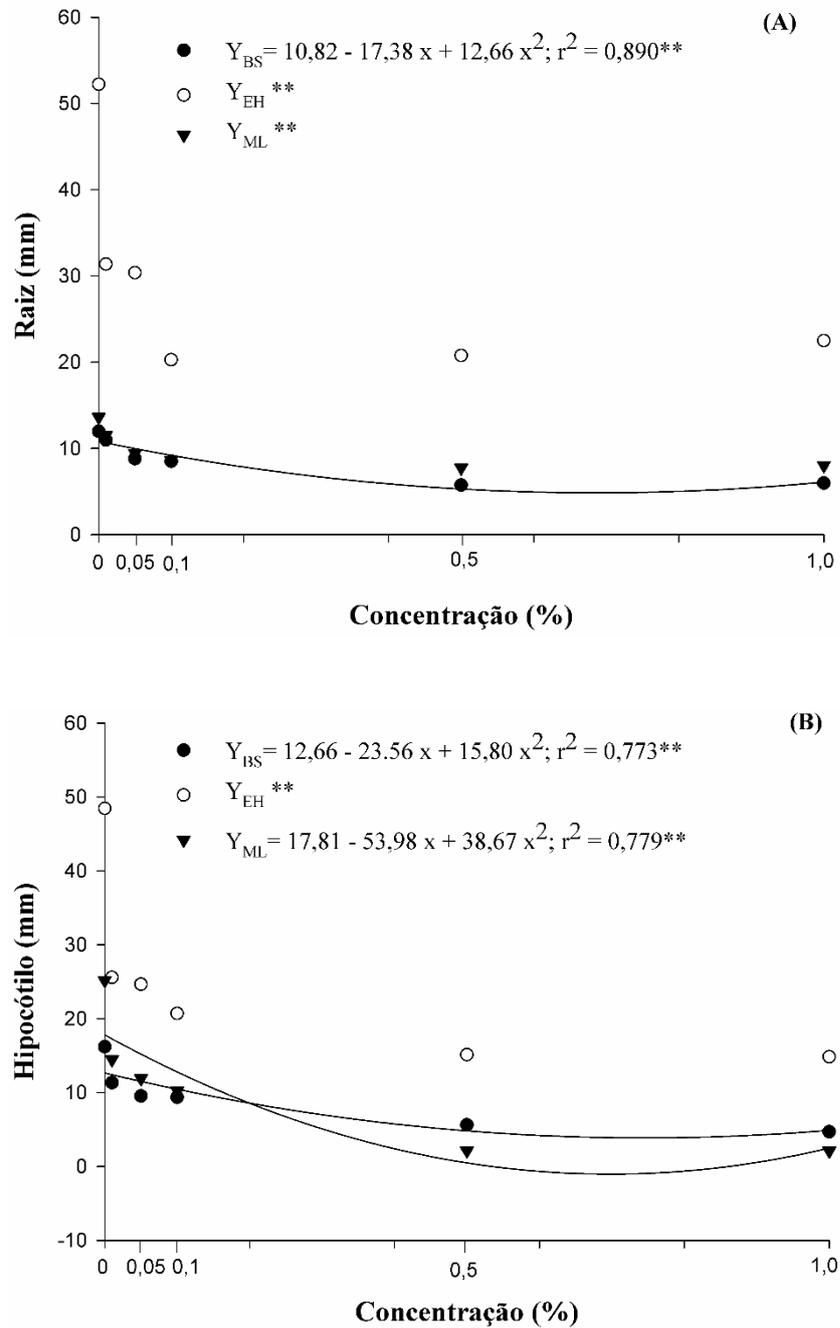


Figura 06 - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre o comprimento de raiz (A) e hipocótilo (B) em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS).

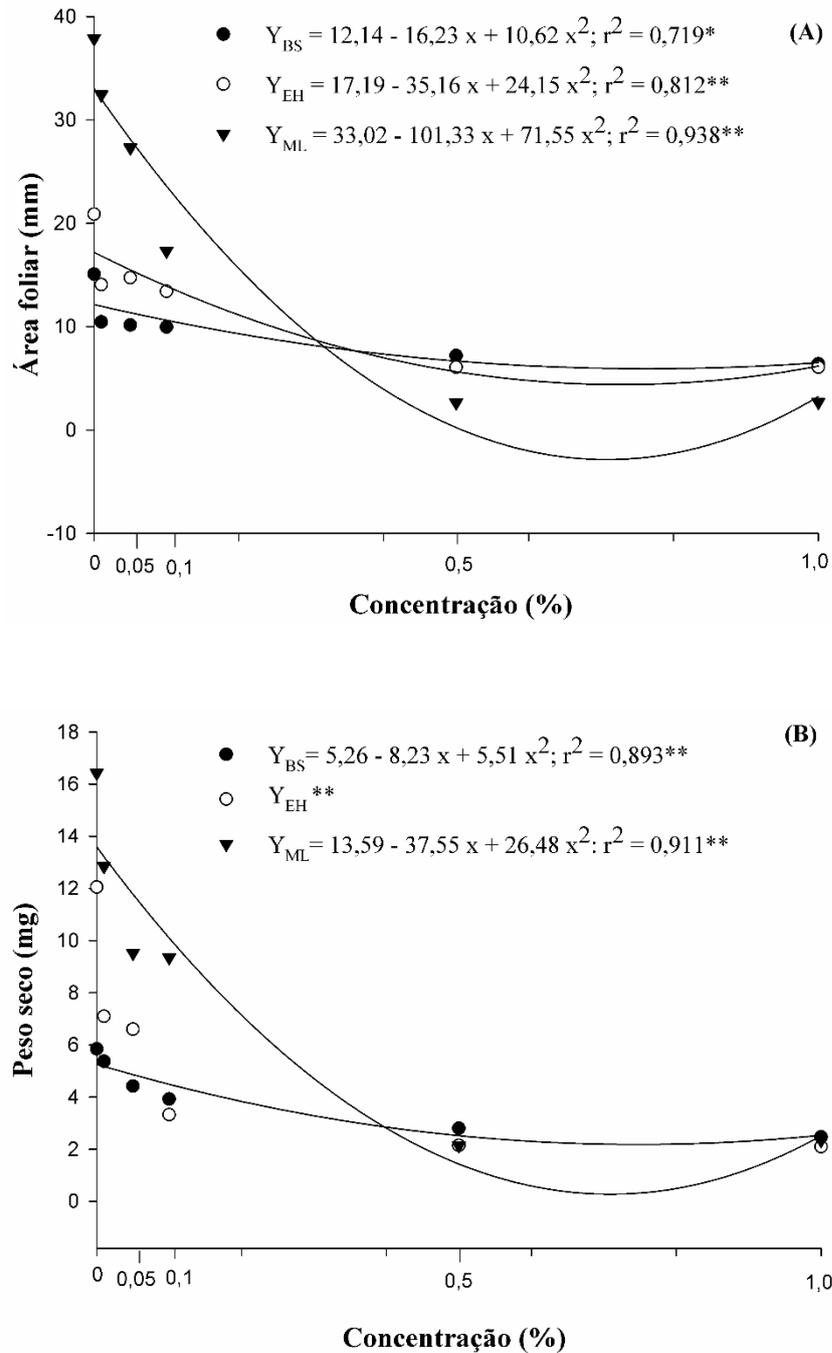


Figura 07 - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a área foliar (A) e peso seco (B) em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), e não significativo (NS).

A área foliar de todas as plântulas testadas se ajustaram ao modelo quadrático. As concentrações 0,5% e 1,0% foram as que apresentaram maiores efeitos inibitórios para todas as espécies testadas, com reduções de 52,32% e 57,59% para *B. subalternans* ($r^2 = 0,719$), 70,87% para *E. heterophylla* (manteve-se praticamente constante a partir de 0,5%) ($r^2 = 0,812$), e 93% e 92,87% para *M. lathyroides* ($r^2 = 938$). *M. lathyroides* foi a que apresentou maior taxa de redução da área foliar em função do aumento da concentração de óleo essencial (Figura 07 A).

Os pesos secos das espécies testadas, assim como as demais variáveis analisadas, apresentaram comportamento quadrático ($r^2 = 0,893$ e $0,911$), com exceção de *E. heterophylla* que não se ajustou a nenhum modelo. Assim como nas outras variáveis, as maiores concentrações apresentaram maiores reduções no peso seco, com diminuição de 52,14% e 57,69% para *B. subalternans* e 86,91% e 85,69% para *M. lathyroides*, nas concentrações 0,5 e 1,0%, respectivamente (figura 07 B).

Mesmo *E. heterophylla* não se adequando a nenhum modelo para as variáveis comprimento de raiz, parte aérea e peso seco, e comprimento de raiz para *M. lathyroides*, apresentaram valores importantes de redução, principalmente nas maiores concentrações (Tabela 03).

Tabela 03 - Valores médios do efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre *E. heterophylla* e *M. lathyroides*.

Concentração (%)	<i>E. heterophylla</i>			<i>M. lathyroides</i>
	Raiz (mm)	Parte aérea (mm)	Peso seco (mg)	Raiz (mm)
0	52,2167	48,4583	12,05	13,6375
0,01	31,375	25,5833	7,1	11,525
0,05	30,375	24,6708	6,6	9,4375
0,1	20,275	20,7083	3,325	8,6125
0,5	20,7775	15,1417	2,15	7,75
1	22,5	14,8417	2,1	8,0375

Apesar de ainda ter sido observado algum crescimento das plântulas em estudo nas maiores concentrações testadas, as dosagens de 0,5 e 1,0% do óleo essencial mataram todas as plântulas de *B. subalternans* e *M. lathyroides*. Efeito semelhante foi observado para *E. heterophylla* a partir da concentração 0,1%. As plântulas apresentaram características morfológicamente frágeis e raízes escurecidas (Figura 08).

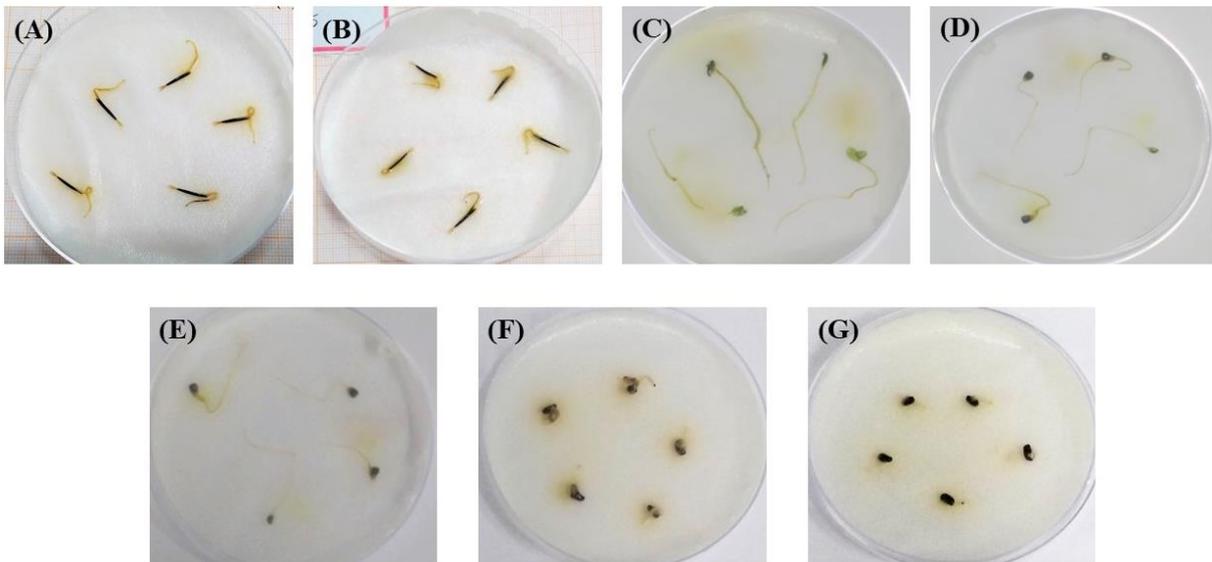


Figura 08 - Plântulas não desenvolvidas nas maiores concentrações de óleo essencial de *L. origanoides*. Plântulas de *B. subalternans* nas concentrações 0,5% (A) e 1,0 % (B). Plântulas de *E. heterophylla* nas concentrações 0,1 (C), 0,5% (D) e 1,0 % (E). Plântulas de *M. lathyroides* nas concentrações 0,5% (F) e 1,0 % (G).

5.4 Estimativa do teor de clorofila

O óleo essencial não apresentou efeito sobre o teor de clorofila em nenhuma das plantas daninhas analisadas. Nenhum modelo se ajustou aos dados analisados. Entretanto, mesmo não apresentando significância estatística da concentração de óleo essencial em relação ao teor de clorofila, observou-se que o índice de SPAD aumentou do dia 0 (antes da pulverização) ao 10 (após pulverização) em todas as plantas analisadas (Figura 09). *E. heterophylla* apresentou diferença estatística entre as concentrações nos dias 0, 3 e 5, mas não apresentou nos demais dias (Figura 09 B).

Apesar de não afetar o teor de clorofila nas plantas testadas, foi possível observar diferentes níveis de lesão para *E. heterophylla* e *M. lathyroides*, incluindo principalmente necrose nas bordas das folhas e pontuações de clorose no limbo foliar, nas primeiras 24 horas após aplicação, principalmente para as concentrações 0,5 e 1,0 % (Figura 10). *B. subalternans* não apresentou lesões em nenhuma das concentrações testadas.

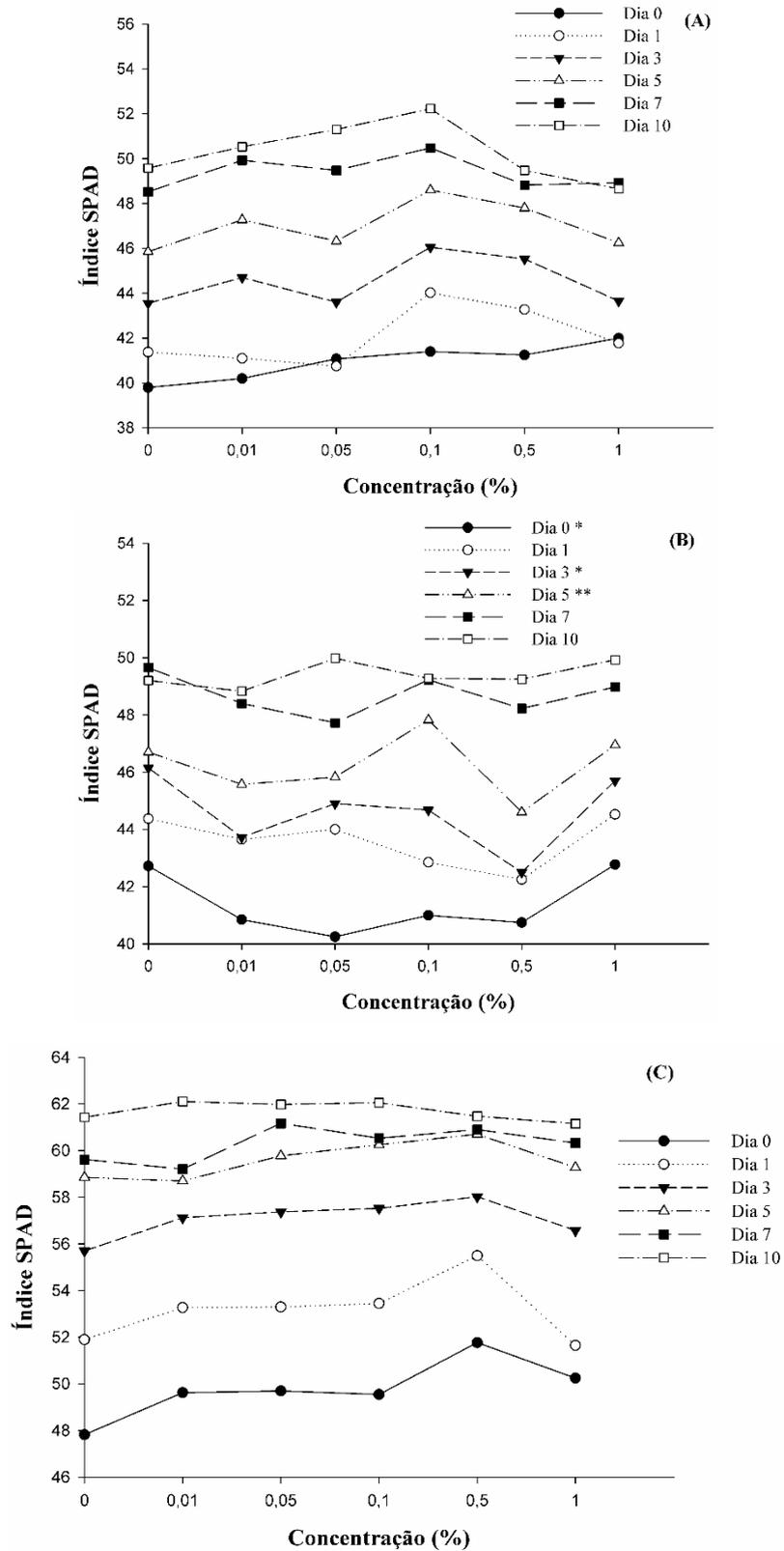


Figura 09 - Valores médios do teor de clorofila (Índice SPAD) dos dias 0 a 10 após pulverização em função do aumento da concentração de óleo essencial de *L. origanoides* em *B. subalternans* (A), *E. heterophylla* (B) e *M. lathyroides* (C). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**).

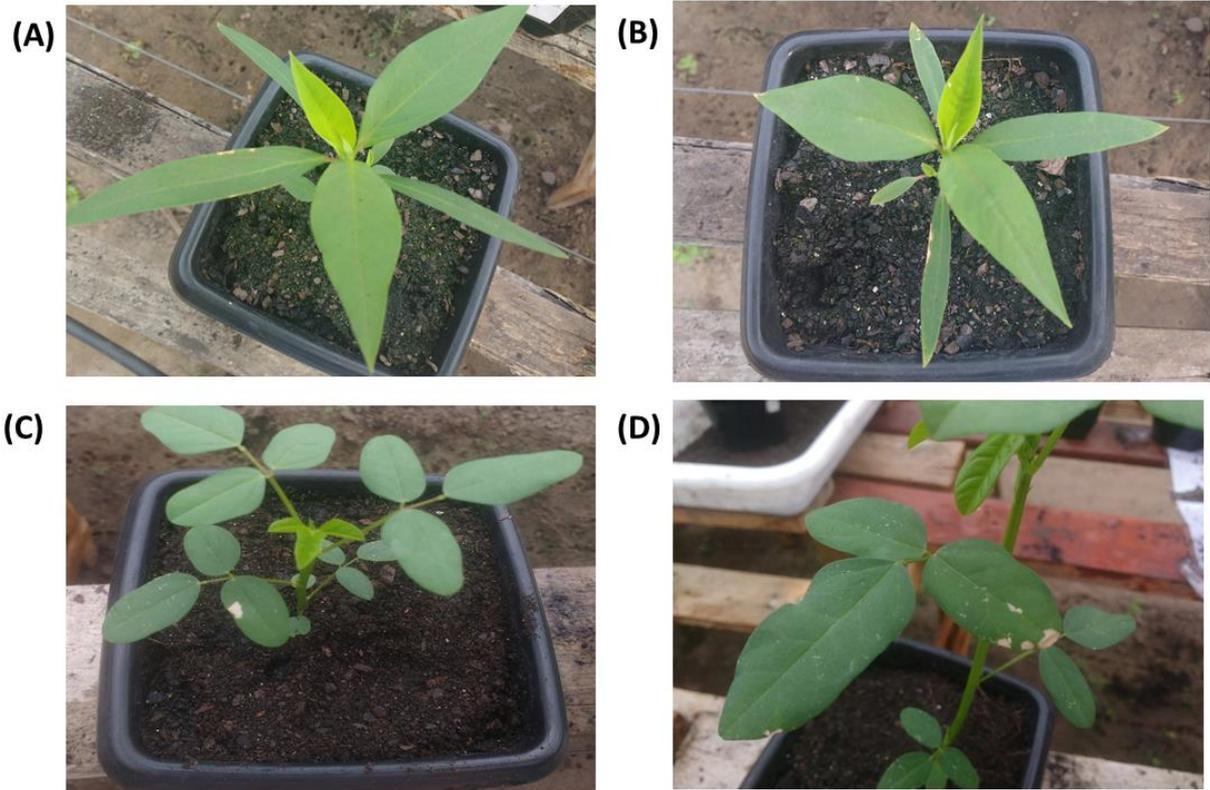


Figura 10 - Lesões visíveis 24 horas após pulverização com o óleo essencial de *L. origanoides*. Necrose na margem das folhas de *E. heterophylla* nas concentrações 0,5% (A) e 1,0 % (B). Necrose nas margens das folhas e pontuações cloróticas nas folhas de *M. lathyroides* nas concentrações 0,5% (C) e 1,0 % (D).

5.5 Efeito sobre a respiração celular

A respiração celular das plantas daninhas testadas em função da concentração do óleo essencial de *L. origanoides* foi afetada somente para *E. heterophylla* ($r^2 = 0,996$) (Figura 11). A relação entre a respiração celular e a concentração do óleo essencial apresentou maior inibição nas maiores concentrações, 0,5 e 1,0%, onde a redução chegou a 27,69% e 28,4% em relação ao controle, respectivamente.

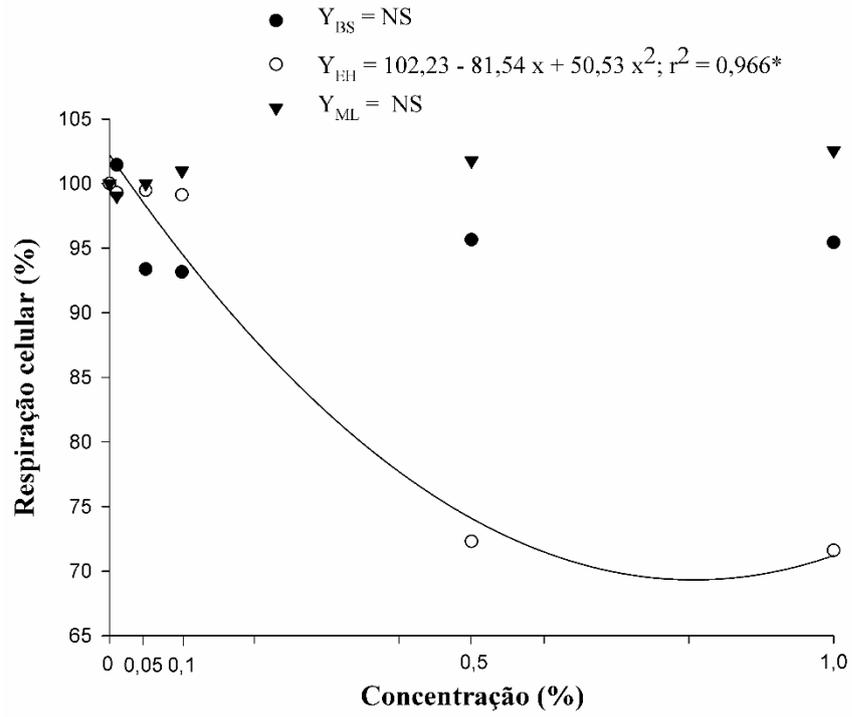


Figura 11 - Efeito do óleo essencial de *L. origanoides* sobre a respiração celular em *B. subalternans* (BS), *E. heterophylla* (EH) e *M. lathyroides* (ML). Para $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e não significativo (NS).

6. DISCUSSÃO

6.1 Caracterização física e química do óleo essencial

O rendimento dos óleos essenciais de *L. origanoides* normalmente variam entre 1 e 4,6%, sempre com rendimentos superiores a 1% para óleos obtidos com base na massa seca das plantas (SILVA et al., 2009; STASHENKO et al., 2010; RIBEIRO et al., 2014; SARRAZIN et al., 2015). O rendimento pode ser influenciado por vários fatores como altitude, radiação solar, temperatura e umidade relativa do ar (STASHENKO et al., 2010; SARRAZIN et al., 2015). Neste estudo, o rendimento de 2,44% foi considerado bom, pois valores acima de 1,0% são considerados bons em escala industrial (RIBEIRO et al., 2014).

Os óleos essenciais de *L. origanoides* possuem ampla variação na sua composição química, sendo objeto de vários estudos (DOS SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; SILVA et al., 2009; STASHENKO et al., 2010; VEGA-VELA et al., 2013; STASHENKO et al., 2013; TELES et al., 2014b; RIBEIRO et al., 2014; SARRAZIN et al., 2015). No presente estudo, os principais compostos encontrados presentes no óleo essencial diferem dos resultados já relatados para a espécie. Os principais componentes químicos encontrados na literatura para *L. origanoides* são dois monoterpenos oxigenados, timol e carvacrol (DOS SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; VEGA-VELA et al., 2013; SARRAZIN et al., 2015).

Vários trabalhos relataram a existência de novos quimiótipos com base nos seus principais constituintes, como, quimiótipo A caracterizado por p-cimeno, α - e β -felandreno, limoneno e 1,8- cineol (STASHENKO et al., 2010), quimiótipo B por carvacrol (DOS SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; TELES et al., 2014b; SARRAZIN et al., 2015), quimiótipo C por timol (ROJAS et al., 2006; STASHENKO et al., 2010; ARANGO-BEDOYA et al., 2013; VEGA-VELA et al., 2013), quimiótipo D por 1,8-cineol (SILVA et al., 2009) e quimiótipo E por (E) -metilcinamato e (E) -nerolidol (RIBEIRO et al., 2014).

Os compostos majoritários encontrados nesse trabalho discordam dos tipos químicos já descritos na literatura. Além disso é importante notar a inexistência dos compostos timol e carvacrol, que mesmo em pequenas quantidades, ao menos um deles, se encontra presente em todos os quimiótipos.

O único relato encontrado que cita cânfora como um composto majoritário para essa espécie foi encontrado no trabalho de Souza (2015), que ao observar a composição química de uma população natural de *L. origanoides* nas estações seca e chuvosa verificou que 4 plantas diferiram das 30 analisadas, apresentando cânfora como composto majoritário. Destas 4 plantas, 3 apresentaram cânfora e canfeno como majoritários, além da ausência total de timol e

carvacrol. As plantas citadas no estudo anterior possuem composição química semelhante as encontradas nesse trabalho.

No entanto, sabe-se também que os óleos essenciais podem sofrer variação na sua composição química em função do local, época do ano, idade da planta, horário de coleta. Teles et al. (2014b) verificam para o quimiótipo de carvacrol que o período chuvoso e o crescimento das plantas de *L. origanoides* reduziram significativamente os teores de timol e carvacrol. Neste mesmo trabalho, os conteúdos de cânfora e canfeno aumentaram com a idade da planta (dados apenas tabelados, não discutidos), os mesmos constituintes químicos encontrados no presente estudo como majoritários. Ribeiro et al. (2014) também verificaram grande variação nos constituintes químicos do quimiotipo E de acordo com tempo/mês de coleta, e descobriram a possibilidade de programação da coleta de acordo com o interesse químico desejado.

Outro óleo essencial de *L. origanoides* com aroma de cânfora, e coletado no estado do Maranhão, Brasil, já foi relatado por Silva et al. (2009), mas tendo como componente principal, o 1,8 cineol, seguido do α -terpinol. Neste trabalho a espécie em estudo também apresentou odor semelhante ao estudo citado, mas tendo a cânfora, canfeno e β -Bisaboleno como compostos majoritários. Alguns trabalhos também já relataram composição química diferente para óleos dessa espécie com o mesmo aroma. Os óleos dos quimiótipos B e C apresentam aroma de orégano, mas seus principais constituintes químicos são carvacrol e timol, respectivamente (DOS SANTOS et al., 2004; ROJAS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; STASHENKO et al., 2010; TELES et al., 2014b; SARRAZIN et al., 2015).

A variação encontrada no óleo essencial do presente estudo deve-se provavelmente aos grandes níveis de diversidade genética encontrada para *L. origanoides*, podendo ser comparadas até a outras espécies do mesmo gênero (VEGA-VELA et al., 2013) e também as alterações da sua composição química em função dos fatores ambientais, circadianos, local de coleta e idade da planta (STASHENKO et al., 2010; VEGA-VELA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2014; TELES et al., 2014b).

6.2 Efeito sobre a germinação

Vários trabalhos já comprovaram a eficácia dos óleos essenciais como inibidores da germinação de plantas daninhas, principalmente com o aumento da concentração. Por exemplo, o óleo de *Citrus aurantifolia* (0,10 - 1,50 mg / mL) reduz a germinação de *Avena fatua*, *Echinochloa crus-galli* e *Phalaris minor* (FAGODIA et al., 2017). O óleo essencial de

Eucalyptus citriodora (1%) e *Cymbopogon nardus* (1%) reduziram significativamente a germinação de *Cenchrus echinatus* e *Digitaria horizontalis* em relação ao controle (OOTANI et al., 2017). O óleo essencial de *Artemisia scoparia* (0 – 50 µg /g) impregnado em areia reduziu significativamente a germinação de *Achyranthes aspera*, *Cassia occidentalis*, *Parthenium hysterophorus*, *Echinochloa crus-galli* e *Ageratum conyzoides* (KAUR et al., 2010).

A atividade alelopática dos óleos essenciais de *L. origanoides* sobre a germinação de várias sementes também já foi testada. Alves et al. (2014) observaram que a germinação de *B. pilosa* diminui com o aumento da concentração, e verificaram que a concentração 0,01% foi suficiente para inibir mais que 50% da germinação das sementes, e 0,08% inibiu 84% em relação ao controle. Alves et al. (2004) verificaram que na concentração de 0,01% praticamente não houve efeito sobre a germinação de sementes de alface, mas nas concentrações 0,1% e 1,0% nenhuma semente germinou. Magalhães et al. (2013) constataram que tanto a porcentagem de germinação quando os índices de velocidade de germinação de aquênios de alface diminuíram com o aumento da concentração do óleo essencial.

O potencial alelopático de cada óleo essencial pode ser explicado por sua composição química. Óleos com maior teor de monoterpenos oxigenados são mais eficientes para inibir a germinação em relação aos que contêm maior quantidade de monoterpenos hidrocarbonados (VOKOU et al., 2003; KORDALI et al., 2007; DE MARTINO et al., 2010). Neste estudo foi encontrado maior teor de monoterpenos oxigenados, com uma cetona (cânfora) como composto majoritário. Vokou et al. (2003) observaram que as cetonas foram o grupo funcional com maior taxa de inibição da germinação em *Lactuca sativa*, individualmente, alguns álcoois se destacaram. De Martino et al. (2010) obtiveram resultados semelhantes para as sementes de agrião e rabanete, em que o grupo das cetonas foram superadas somente pelos álcoois. Kordali et al. (2007) verificaram que os monoterpenos oxigenados apresentaram atividade inibitória maior que o herbicida 2,4 D (ácido 2,4 – diclorofenoxiacético) para as plantas daninhas das espécies *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* e *Rumex crispus*.

Em muitos trabalhos, o efeito alelopático dos óleos essenciais puros são atribuídos aos compostos orgânicos (monoterpenos ou sesquiterpenos) presentes em maiores quantidades (ISMAIL et al., 2012; LAOSINWATTANA et al., 2018), ou ao composto majoritário (ALVES et al., 2004; ABD EL GAWAD, 2016). No entanto, é importante observar que as interações entre os componentes químicos encontrados no óleo essencial podem agir de maneira sinérgica ou antagônica (VOKOU et al., 2003; SOUZA FILHO et al., 2010; FAGODIA et al., 2017). Logo, a atividade inibitória do óleo essencial sobre as espécies testadas pode ser atribuída ao composto majoritário (cânfora) ou da interação entre os compostos presentes.

6.3 Efeito sobre o desenvolvimento de plântulas

No presente estudo, todas as plântulas foram afetadas pelo óleo essencial, diferentemente da germinação. Isso pode ser explicado pelo fato do desenvolvimento das plântulas serem mais sensíveis a ação dos aleloquímicos em relação a germinação (FERREIRA; AQUILA, 2000; TIGRE et al., 2012; LAOSINWATTANA et al., 2018). Este fato se deve porque a germinação utiliza as reservas da própria semente, e alguns aleloquímicos podem ficar retidos apenas no tegumento (TIGRE et al., 2012).

Em geral, óleo volátil de *L. origanoides* apresentou efeito tanto na germinação quanto no desenvolvimento das plântulas. Outros trabalhos também relataram resultados semelhantes (SINGH et al., 2002; ISMAIL et al., 2012; MAGALHÃES et al., 2013; SYNOWIEC et al., 2016; LAOSINWATTANA et al., 2018). Assim como na germinação, a ação fitotóxica no crescimento de plântulas depende da composição química nos óleos voláteis e da concentração utilizada. O efeito fitotóxico observado no crescimento de todas as plântulas se deve provavelmente pela maior concentração de monoterpenos oxigenados presentes no óleo essencial devido ao seu alto poder herbicida (VOKOU et al., 2003; KORDALI et al., 2007; DE MARTINO et al., 2010). Almarie et al. (2016) verificaram que os óleos essenciais das plantas com maior teor de monoterpenos apresentavam maior fitotoxicidade e relação as outras.

Alguns trabalhos também já relataram o grande potencial fitotóxico da cânfora no crescimento de plântulas. Compostos pertencentes ao grupo das cetonas e álcoois são conhecidos por sua capacidade de inibir tanto a germinação quanto o crescimento de plântulas (VOKOU et al., 2003; DE MARTINO et al., 2010). De Martino et al. (2010) observaram que uma concentração 10^{-3} M de cânfora causou uma inibição de 44% no crescimento de plântulas de rabanete, e de 42% na radícula do agrião.

Algumas substâncias alelopáticas estimulam o crescimento de plântulas em pequenas dosagens ou apenas causam reduções parciais, e inibem apenas nas concentrações mais altas (VOKOU et al., 2003; TIGRE et al., 2012; MAGALHÃES et al., 2013; CAKIR et al., 2016; LAOSINWATTANA et al., 2018). Isso provavelmente explica o motivo pelo qual as menores concentrações do óleo essencial de *L. origanoides* utilizadas no presente estudo, em geral, apresentaram poucas reduções no crescimento das plântulas, causando inibição máxima apenas nas maiores concentrações.

A ação dos aleloquímicos no crescimento das plântulas costuma apresentar maior taxa de inibição no desenvolvimento da raiz em relação a parte aérea (KAUR et al., 2010; ABD EL GAWAD, 2016; FAGODIA et al., 2017; HAZRATI et al., 2017). Neste estudo observou-

se resultados contrários, com a parte área mais inibida do que a raiz. Grichi et al. (2016) encontraram resultados semelhantes ao estudar o óleo essencial de *E. lemanium* (25-100 µL / mL) e verificaram que, em geral, o crescimento da parte aérea das plantas daninhas testadas foi mais inibido que as raízes. Synowiec et al. (2016) verificaram que o óleo essencial de *C. sativa* inibia preferencialmente o hipocótilo de *Echinochloa crus-galli*.

O efeito que os óleos essenciais causam na redução do crescimento se deve provavelmente a diminuição da atividade mitótica nos meristemas apicais (PINHEIRO et al., 2015; FAGODIA et al., 2017). Fagodia et al. (2017) verificaram que os o óleo essencial de *C. aurantifolia* reduziram o índice mitótico e provocaram o aparecimento de células com alterações cromossômicas em raízes de *A. cepa* com o aumento da concentração, e que estas podem ser responsáveis pela redução do crescimento das plantas daninhas. Pinheiro et al. (2015) também observaram alterações no índice mitótico e cromossômicas em células meristemáticas de *L. sativa* na presença do óleo essencial de *P. amboinicus*, timol e carvacrol. Além disso, os monoterpenos, principalmente os oxigenados, inibem a divisão celular e a síntese de DNA no meristema radicular (NISHIDA et al., 2005).

Os óleos essenciais possuem a capacidade de causar perda da integridade da membrana celular, provocando o vazamento de solutos (KAUR et al., 2010; AMRI et al., 2013) e alterando os processos bioquímicos e fisiológicos (KAUR et al., 2010). A ruptura da membrana, que causa o vazamento de solutos, pode ser um dos principais fatores para a ocorrência de morte celular (SINGH et al., 2006). Logo, a morte das plântulas verificadas no presente estudo pode ter ocorrido em função do aumento do vazamento de solutos devido alterações na permeabilidade da membrana ocasionado pelo óleo essencial de *L. origanoides*. Além disso, esse fenômeno também está envolvido na inibição do crescimento radicular, visto que ambos são significativamente correlacionados (ISMAIL et al., 2012).

Variáveis como área foliar e massa seca de plântulas não costumam ser muito relatadas em estudos de alelopatia, visto que as principais interferências ocorrem principalmente no crescimento da raiz e parte aérea. Entretanto, alguns estudos citam e demonstram que os aleloquímicos também afetam essas variáveis. O óleo essencial de *A. indica* reduz o peso seco de *B. pilosa*, *C. occidentalis*, *A. viridis* e *E. crus-galli* (BATISH et al., 2012). Miranda et al. (2015) também verificaram redução da massa seca das plântulas de alface em função do aumento da concentração de óleo essencial de *C. citratus*, *O. gratissimum*, e *O. basilicum*. Tigre et al. (2012) verificaram que os extratos linquênicos de *C. verticillaris* reduziram a área foliar e até 65,42%. No presente estudo, as reduções que ocorreram tanto no sistema radicular quanto parte aérea e área foliar em função do aumento das doses de óleo

essencial influenciaram diretamente no peso seco das plântulas, assim como relatado por Miranda et al. (2015).

6.4 Teor de clorofila e lesão visível

A análise do teor de clorofila é uma variável muito importante na avaliação da atividade fitotóxica, visto que a quantidade de clorofila presente nas folhas está diretamente relacionada com a capacidade fotossintética da planta (TAIZ; ZEIGER, 2009). Vários estudos foram realizados para verificar a atividade fitotóxica de óleos essenciais sobre o teor de clorofila, como, em condições laboratoriais (SETIA et al., 2007; SINGH et al., 2008; KAUR et al., 2010; BALI et al., 2016; ALIPOUR et al., 2019), estufas (ALMARIE et al., 2016; GRICHI et al., 2016; HAZRATI et al., 2017; OOTANI et al., 2017; LAOSINWATTANA et al., 2018), ou campo (BATISH et al., 2004). Em alguns estudos são realizados em mais de uma condição experimental.

No presente estudo, em condições de casa de vegetação, o óleo essencial de *L. origanoides* não interferiu no conteúdo de clorofilas das plantas testadas. Neste trabalho, foram utilizadas as mesmas concentrações de óleo essencial tanto em condições laboratoriais quanto em estufa. Apesar do óleo ter apresentado fortes efeitos fitotóxicos nas plântulas em condições laboratoriais, principalmente, nas maiores dosagens, eles causaram apenas pequenas lesões visíveis quando aplicados em pós-emergência na superfície foliar das plantas daninhas.

Alguns trabalhos verificaram diminuição no conteúdo de clorofila para concentrações mais elevadas de óleo essencial que as utilizadas no presente estudo, que variaram de 1,25 – 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (ALMARIE et al., 2016), 25-100 $\mu\text{L} / \text{mL}$ (GRICHI et al., 2016), 1000 - 5000 $\mu\text{L}/\text{L}$ (HAZRATI et al., 2017), 10 e 20% (OOTANI et al., 2017); 10-80 mL/L (LAOSINWATTANA et al., 2018), e de 2 – 6 % (KAUR et al., 2010).

Os sintomas observados como necrose e clorose nas folhas pulverizadas se deve a propriedade herbicida dos óleos essenciais em causar danos ou lesões por contato (TWORKOSKI et al., 2002; KAUR et al., 2010; OOTANI et al., 2017). Isso explica porque no presente estudo somente as folhas pulverizadas apresentaram os sintomas de necrose e clorose. Kaur et al. (2010) verificaram que em concentrações maiores que 4% do óleo de artemisia (*Artemisia scoparia* Waldst. & Kit.) os principais sintomas visíveis em plantas daninhas foram necrose, clorose e murchamento das folhas, principalmente nas margens.

A necrose causada nas folhas se deve provavelmente à perda de integridade da membrana celular causada pelo óleo essencial. Kaur et al., (2010) concluíram que o

murchamento das plantas daninhas após aplicação foliar do óleo essencial de *A. scoparia* pode ter ocorrido devido ao vazamento eletrolítico.

6.5 Respiração celular

A atividade respiratória pode ser afetada tanto pela composição química do óleo essencial quanto pelo tempo de exposição das plantas aos aleloquímicos (KAUR et al., 2010). Além disso, já foi relatado que os monoterpenos afetam a respiração celular atuando como desacopladores na fosforilação oxidativa (ABRAHIM et al., 2000). Consequentemente, os óleos essenciais e seus compostos reduzem a respiração celular das plantas daninhas, interferindo no metabolismo energético da planta e prejudicando seu crescimento (SINGH et al., 2009).

Logo, a redução da atividade respiratória de *E. heterophylla* se deve principalmente ao teor de monoterpenos presente no óleo essencial de *L. origanoides* e a concentração utilizada.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial de *L. origanoides* encontrado nesse estudo apresentou um bom rendimento com odor suave de cânfora e tendo como compostos principais a cânfora, canfeno e β -Bisaboleno. A atividade fitotóxica do óleo essencial apresentou melhores resultados em condições de laboratório em relação aos estudos de estufa para as concentrações testadas. Tanto a germinação quanto as plântulas foram afetadas pelo óleo essencial, sendo as plântulas mais sensíveis aos aleloquímicos.

Em aplicação em pós-emergência, o óleo essencial afetou somente a respiração celular de *E. heterophylla*, não afetou o teor de clorofila das espécies testadas, mas foi capaz de induzir lesões visíveis como clorose e necrose para as maiores concentrações, com exceção de *B. subalternans*. Novos testes, utilizando concentrações maiores que as utilizadas no presente estudo devem ser realizados em aplicações pós-emergência para verificar o potencial herbicida real do óleo essencial. Todos os efeitos fitotóxicos observados devem-se ao grande teor de monoterpenos no óleo essencial, principalmente os oxigenados, e também à concentração utilizada.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-GAWAD, A. M. Chemical constituents, antioxidant and potential allelopathic effect of the essential oil from the aerial parts of *Cullen plicata*. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 36–41, 2016.
- ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 3, p. 611–624, 2000.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, USA, 2007.
- ALIPOUR, M.; SAHARKHIZ, M. J.; NIAKOUSARI, M.; DAMYEH, M. S. Phytotoxicity of encapsulated essential oil of rosemary on germination and morphophysiological features of amaranth and radish seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 243, n. August 2018, p. 131–139, 2019.
- ALMARIE, A. A.; MAMAT, A. S.; WAHAB, Z.; RUKUNUDIN, I. H. Chemical composition and phytotoxicity of essential oils isolated from Malaysian plants. **Allelopathy Journal**, v. 37, n. 1, p. 55–70, 2016.
- ALVES, M.C.S; MEDEIROS FILHO, S.; MANOEL NETO, A.; BRITO, R.C.; ARAUJO, R.C. Allelopathic effect of essential oils of medicinal plants in *Bidens pilosa* L. **Rev. Bras. Pl. Med., Campinas**, v. 16, n. 3, p. 731–736, 2014.
- ALVES, M. C. S.; FILHO, S. M.; INNECCO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1083–1086, 2004.
- AMRI, I.; HAMROUNI, L.; HANANA, M.; JAMOSSI, B. Phytotoxic Effects of Essential Oils and Their Individual Components o News Approach for Weeds Management. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 4, n. 1, p. 96–114, 2013.
- ANESE, S.; JATOBÁ, L. J.; GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; SANTOS, M. F. C.; BERLINCK, R. G S. Bioherbicidal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* Miens roots. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 28–35, 2015.
- ARANGO-BEDOYA, O.; HURTADO-BENAVIDES, A. M.; TORO-SUÁREZ, I. Efecto del origen, la época de recolección y la edad de las hojas en el rendimiento y el contenido de timol de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. **Acta Agronomica**, v. 61, n. 3, p. 207–213, 2012.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, B.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**. v. 46, n. 2, 446-475, 2008.

BALDIM, I.; TONANI, L.; KRESS, M. R. V. Z.; OLIVEIRA, W. P. *Lippia sidoides* essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti- *Candida* agent. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 73–81, 2019.

BALI, A. S.; BATISH, D. R.; SINGH, H. P. Phytotoxicity of *Callistemon viminalis* essential oil against some weeds. **Annals of Plant Sciences**, v. 5, n. 10, p. 1442–1445, 2016.

BATISH, D. R.; SETIA, N.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. **Crop Protection**, v. 23, n. 12, p. 1209–1214, 2004.

BATISH, D.R.; SINGH, H.P.; KAUR, M.; KOHLI, R.K.; SINGH, S. Chemical characterization and phytotoxicity of volatile essential oil from leaves of *Anisomeles indica* (Lamiaceae). **Biochem. Syst. Ecol.** v. 41, p. 104–109, 2012.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Revista Biotemas**, Florianópolis, SC, v. 22, n. 3, p. 67-75, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CAKIR, A.; OZER, H.; AYDIN, T.; KORDALI, S.; CAVUSOGLU, A. T.; AKCIN, T.; METE, E.; AKCIN, A. Phytotoxic and Insecticidal Properties of Essential Oils and Extracts of Four *Achillea* Species. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 2, p. 154–167, 2016.

CARMO, F. M. D. S.; BORGES, E. E. D. L. E.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 697–705, 2007.

DAMASCENO, T. E. S.; ALMEIDA, R. R.; CARVALHO, S. Y. B; CARVALHO, G. S. G.; MANO, V.; PEREIRA, A. C.; GUIMARÃES, L. G. L. *Lippia organoides* Kunth essential oil loaded in nanogel based on the chitosan and ρ -coumaric acid: Encapsulation efficiency and antioxidant activity. **Industrial Crops and Products**, v. 125, n. May, p. 85–94, 2018.

DE MARTINO, L.; MANCINI, E.; ALMEIDA, L. F. R.; DE FEO, V. The antigerminative activity of twenty-seven monoterpenes. **Molecules**, v. 15, p. 6630–6637, 21 set. 2010.

DEUBER, R. **Ciência das plantas infestantes: Fundamentos**. Jaboticabal, São Paulo. Funep, e.2º, p. 1-148, 2006.

DOS SANTOS, F.J.B.; LOPES, J.A.D.; CITO, A.M.G.L.; DE OLIVEIRA, E.H.; DE LIMA, S.G.; REIS, F.D.A.M. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia organoides* H.B.K. J. **Essent. Oil Res.** v. 16, n. 5, p. 504–506, 2004.

EL ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BRADI, W.; SALA, M; AIT ADDI, E. H.; CASABIANCA, H.; EL MOUSADIK, A.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oil: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, 483, 220-243, 2015.

- ENS, E.J.; BREMNER, J.B.; FRENCH, K.; KORTH, J. Identification of volatile compounds released by roots of an invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*), and their inhibition of native seedling growth. **Biol. Invasions**, v. 11, n. 2, p. 275–287, 2009.
- FAGODIA, S. K.; SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Phytotoxicity and cytotoxicity of *Citrus aurantiifolia* essential oil and its major constituents: Limonene and citral. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 708–715, 2017.
- FELIX, R. A. Z. **Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (fr. all.) A.C. Smith sobre a germinação e emergência de plântulas**. 2012. 100f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2012.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Edição Especial, p. 175–204, 2000.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FOLONI, L. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; CARVALHO, S. J. P. Controle químico deve auxiliar o combate de plantas daninhas. **Visão agrícola**, n. 6, jul/dez 2006.
- FONTES J. R. A.; SHIRATSUCHI L. S.; NEVES J. L.; JÚLIO L.; FILHO J. S. **Manejo Integrado de Plantas Daninhas**. Embrapa Cerrados, Documentos 103. Planaltina, Distrito Federal, 2003. 48 p.
- GRICHI, A.; NASR, Z.; KHOUJA, M. L. Phytotoxic Effects of Essential Oil from *Eucalyptus lehmanii* against Weeds and its Possible Use as a Bioherbicide. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 5, n. 4, p. 17–23, 2016.
- HAZRATI, H.; SAHARKHIZ, M. J.; NIAKOUSARI, M.; MOEIN, M. Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, n. April, p. 423–430, 2017.
- HAZRATI, H.; SAHARKHIZ, M. J.; MOEIN, M.; KHOSHGHALB, H. Phytotoxic effects of several essential oils on two weed species and Tomato. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 13, n. December 2017, p. 204–212, 2018.
- HERRERA, J. M.; GONI, M. L.; GAÑAN, N. A.; ZYGADLO, J. A. An insecticide formulation of terpene ketones against *Sitophilus zeamais* and its incorporation into low density polyethylene films. **Crop Protection**, v. 98, p. 33-39, 2017.
- ISMAIL, A.; LAMIA, H.; MOHSEN, H.; BASSEM, J. Herbicidal Potential of Essential Oils from Three Mediterranean Trees on Different Weeds. **Current Bioactive Compounds**, v. 8, n. January, p. 3–12, 2012.

KAUR, S., SINGH, H. P., MITTAL, S., BATISH, D. R., & KOHLI, R. K. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 1, p. 54–61, 2010.

KORDALI, S.; ÇAKIR, A.; SUTAY, S. Inhibitory Effects of Monoterpenes on Seed Germination and Seedling Growth. **Z. Naturforsch**, v. 62c, p. 207–214, 1 abr. 2007.

LAOSINWATTANA, C.; WICHITTRAKARN, P.; TEERARAK, M. Chemical composition and herbicidal action of essential oil from *Tagetes erecta* L. leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 126, n. September, p. 129–134, 2018.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. 7 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2014. 383p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 577p.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da amazônia**. 2007. 103f. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2007.

MAGALHÃES, H. M.; AQUINO, C. F.; SOARES, E. P. S.; SANTOS, L. D. T.; LOPES, P. S. N. Ação alelopática de óleos essenciais de alecrim-pimenta e capim-santo na germinação de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 485–496, 2013.

MANO, A. R. O. **Efeito Alelopático do Extrato Aquoso de Sementes de Cumaru (*Amburana cearensis* S.) Sobre a Germinação de Sementes, Desenvolvimento e Crescimento de Plântulas de Alface, Picão-preto e Carrapicho**. 2006. 102f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2006.

MAR, J. M.; SILVA, L. S.; AZEVEDO, S. G.; FRANÇA, L. P.; GOES, A. F. F.; SANTOS, A. L.; BEZERRA, J. A.; NUNOMURA, R. C. S.; MACHADO, M. B.; SANCHES, E. A. *Lippia organoides* essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. October 2017, p. 292–297, 2018.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, S. M. F.; GOMES, M. S.; SANTIAGO, J. A.; TEIXEIRA, M. L. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1783–1798, 2015.

NISHIDA, N.; TAMOTSU, S.; NAGATA, N.; SAITO, C.; SAKAI, A. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 5, p. 1187–1203, 2005.

O'LEARY, N.; DENHAM, S. S.; SALIMENA, F.; MÚLGURA, M. E. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 170, p. 197–219, 2012.

OLIVEIRA JR, R. S. O.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Ompipax, 2011. 348p.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 236–240, 2007.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; FERNANDES, P. D.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 206–214, 2014.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRAS, J. P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162–175, 2013.

OOTANI, M. A.; REIS, M. R.; CANGUSSU, A. S. R.; CAPONE, A.; FIDELIS, R. R.; OLIVEIRA, W.; BARROS, H. B.; PORTELLA, A. C. F.; AGUIAR, R. S.; SANTOS, W. F. Phytotoxic effects of essential oils in controlling weed species *Digitaria horizontalis* and *Cenchrus echinatus*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 12, p. 59–65, 2017.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. Lippia : traditional uses, chemistry and pharmacology : a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201–214, 2001.

PINHEIRO, P. F.; COSTA, A. V.; ALVES, T. A.; GALTER, I. N.; PINHEIRO, C. A.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. M. R.; FONTES, M. M. P. Phytotoxicity and Cytotoxicity of Essential Oil from Leaves of *Plectranthus amboinicus*, Carvacrol, and Thymol in Plant Bioassays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 41, p. 8981–8990, 2015.

PITELLI, R. A. **Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas**. Série Técnica IPEF, Piracicaba, v. 4, n. 12, p. 1 – 24, 1987.

PITELLI, R. A. O termo planta daninha. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 33, n. 3, 2015.

RIBEIRO, A. F.; ANDRADE, E. H. A.; SALIMENA, F. R. G.; MAIA, J. G. S. Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia origanoides* Kunth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 249–259, 2014.

ROJAS, J.; MORALES, A.; PASCUALE, S.; MÁRQUEZ, A.; RONDON, R.; MATHÉ, I., VERÉS, K., Comparative study of the chemical composition of the essential oil of *Lippia oreganoides* collected in two different seasons of the year in Venezuela. **Natural Product Communications**. v. 1, n. 3, p. 205 – 207, 2006.

ROSADO, L. D. S.; RODRIGUES, H. C. A.; PINTO, J. E. B. P.; CUSTÓDIO, T. N.; PINTO, L. B. B.; BERTOLUCCI, S. K. V. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjerição "Maria Bonita" na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

SAITO, A. Y.; RODRIGUES, A. A. M.; VEGA, D. S. M.; SUSSMANN, R. A. C.; KIMURA, E. A.; KATZIN, A. M. Antimalarial activity of the terpene nerolidal. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 48, p. 641-646, 2016.

SANTOS, A. C. B.; NUNES, T. S.; COUTINHO, T. S.; SILVA, M. A. P. Uso popular de espécies medicinais da família Verbenaceae no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 980-991, 2015.

SANTOS, V. H. M. **Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa***. 2012. 251f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Ecofisiologia) - Instituto de Biociências de Botucatu; Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

SARRAZIN, S. L. F.; SILVA, L. A.; ASSUNÇÃO, A. P. F.; OLIVEIRA, R. B.; CALAO, V. Y. P.; DA SILVA, . STASHENKO, E. E.; MAIA, J. G. S.; MOURÃO, R. H. V. Antimicrobial and seasonal evaluation of the carvacrol-chemotype oil from *Lippia origanoides* Kunth. **Molecules**, v. 20, n. 2, p. 1860-1871, 2015.

SETIA, N.; BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. Phytotoxicity of volatile oil from *Eucalyptus citriodora* against some weedy species. **Journal of Environmental Biology**, v. 28, n. 1, p. 63-66, 2007.

SEVERINO, L. S.; LIMA, R. L. S.; ALBUQUERQUE, R. C.; BELTRÃO, N. E. M. **Alelopatia de plantas daninhas sobre mamoneira**. II Congresso Brasileiro de Mamona. Campina Grande, 2005.

SILVA, N. A.; SILVA, J. K. R.; ANDRADE, E. H. A.; CARREIRA, L. M. M.; SOUSA, P. J. C.; MAIA, J. G. S. Essential oil composition and antioxidant capacity of *Lippia schomburgkiana*. **Natural Product Communications**. v. 4, n. 9, p. 1281-1286, 2009.

SILVA, E. R.; LAZAROTTO, D. C.; SCHWAMBACH, J.; OVERBECK, G. E.; SOARES, G. L. G. Phytotoxic effects of extract and essential oil of *Eucalyptus saligna* (Myrtaceae) leaf litter on grassland species. **Australian Journal of Botany**, v. 65, n. 2, p. 172-182, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; PETROVICK, L. A. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2007.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KAUR, S.; RAMEZANI, H.; KOHLI, R. K.. Comparative phytotoxicity of four monoterpenes against *Cassia occidentalis*. **Annals of Applied Biology**, v. 141, n. 2, p. 111-116, 2002.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KAUR, S.; ARORA, K.; KOHLI, R. K. α -Pinene Inhibits Growth and Induces Oxidative Stress in Roots. **Annals of Botany**, v. 98, p. 1261-1269, 2006.

SINGH, H. P.; KAUR, S.; MITTAL, S.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Essential Oil of *Artemisia scoparia* Inhibits Plant Growth by Generating Reactive Oxygen Species and Causing Oxidative Damage. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 2, p. 154-162, 5 fev. 2009.

SINGH, H. P.; KAUR, S.; MITTAL, S.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Phytotoxicity of Major Constituents of the Volatile Oil from Leaves of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. **Z. Naturforsch.**, v. 63c, p. 663–666, 2008.

SOARES, B. V.; NEVES, L. R.; FERREIRA, D. O.; OLIVEIRA, M. S. B.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C.; GONÇALVES, R. A.; TAVARES-DIAS, M. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). **Veterinary Parasitology**, v. 234, n. January, p. 49–56, 2017.

SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G.M.S.P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: Revisão crítica. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 689–697, 2010.

SOUZA, L. M. DE. **Flavonoides Totais, Atividade Antioxidante E Variação Sazonal Da Composição Química Do Óleo Essencial De Alecrim-Pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.)**. 2015. 116 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R.; CALA, M. P.; DURÁN, D. C.; CABALLERO, D. Chromatographic and mass spectrometric characterization of essential oils and extracts from *Lippia* (Verbenaceae) aromatic plants. **Journal of Separation Science**, v. 36, n. 1, p. 192–202, 2013.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R.; RUÍZ, C. A.; ARIAS, G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 1, p. 93–103, 2010.

STEPONKUS, P. L.; LANPHEAR, F. O. Refinement of the Triphenyl Tetrazolium Chloride Method of Determining Cold Injury. **Plant Physiology**, v. 42, n. 10, p. 1423–1426, 1967.

SYNOWIEC, A.; RYS, M.; BOCIANOWSKI, J.; WIELGUSZ, K.; BYCZYŃSKA, M.; KRZYSZTOF, H.; KALEMBA, D. Phytotoxic Effect of Fiber Hemp Essential Oil on Germination of Some Weeds and Crops. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 19, n. 2, p. 262–276, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 848p. 2009.

TELES, S.; PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, L. M.; MALHEIRO, R.; MACHADO, S. S.; LUCHESE, A. M.; SILVA, F. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia origanoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 169–176, 2014a.

TELES, S.; PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, L. M.; MALHEIRO, R.; LUCHESE, A. M.; SILVA, F. *Lippia origanoides* H.B.K. essential oil production, composition, and antioxidant activity under organic and mineral fertilization: Effect of harvest moment. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 217–225, 2014b.

TIGRE, R. C.; SILVA, N. H.; SANTOS, M. G.; HONDA, N. K.; FALCÃO, E. P.S.; PEREIRA, E. C. Allelopathic and bioherbicidal potential of *Cladonia verticillaris* on the germination and growth of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 84, p. 125–132, 2012.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto e Contexto em Enfermagem**, n 15, v 1, p. 115 –121, 2006.

TWORKOSKI, T. Herbicide effects of essential oils. **Weed Science**, v. 50, p. 425–431, 2002.

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

VEGA-VELA, N. E.; DELGADO-ÁVILA, W. A.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Genetic structure and essential oil diversity of the aromatic shrub *Lippia organoides* Kunth (Verbenaceae) in two populations from northern Colombia. **Agronomia Colombiana**, v. 31, n. 1, p. 7–17, 2013.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical composition of the *Lippia organoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. **Fitoterapia**, v. 81, n. 5, p. 343–349, 2010.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, N. C.; ESPÍNDOLA, L. S.; SANTANA, J. M.; VERAS, M. L.; PESSOA, O. D. L.; PINHEIRO, S. M.; ARAÚJO, R. M.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Trypanocidal activity of a new pterocarpan and other secondary metabolites of plants from Northeastern Brazil flora. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, n 16, p. 1676-1682, 2008.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleos essenciais de eucalipto. Universidade de São Paulo, **Documentos florestais**, n.17, p 1-26, agosto/2003.

VOKOU, D.; DOUVLI, P.; BLIONIS, G. J.; HALLEY, J. M. Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. **Journal of chemical ecology**, v. 29, n. 10, p. 2281–2301, 2003.

XIE, Y.; WANG, Z.; HUANG, Q.; ZHANG, D. Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. **Industrial Crops and Products**, 108, 278-285, 2017.

ZAMORA, C. M. P.; TORRES, C. A.; NUÑEZ, M. B. The distribution of minimizing maximum entropy: Alternative to Weibull distribution for wind speed. **Molecules**, v. 23, p. 544, 2018.