



**IZABELLA THAÍS CAMPOS**

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* LIVRE E  
ENCAPSULADO NO CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS**

**LAVRAS-MG  
2024**

**IZABELLA THAÍS CAMPOS**

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* LIVRE E ENCAPSULADO NO CONTROLE  
DE PLANTAS DANINHAS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisa Monteze Bicalho  
Orientadora

Dr.<sup>a</sup> Josyelem Tiburtino Leite Chaves  
Coorientadora

LAVRAS-MG  
2024

**IZABELLA THAÍS CAMPOS**

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* LIVRE E ENCAPSULADO NO CONTROLE  
DE PLANTAS DANINHAS**

**FREE AND ENCAPSULATED ESSENTIAL OIL OF *Citrus sinensis* IN WEED  
CONTROL**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 20/06/2024

Banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisa Monteze Bicalho – UFLA  
Dr.<sup>a</sup> Ana Maria Oliveira Ferreira – UFLA  
Me. Liliana Andrea Ramírez Franco – UFLA  
Prof. Dr. Juliano Elvis de Oliveira – UFLA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisa Monteze Bicalho  
Orientadora

Dr.<sup>a</sup> Josyelem Tiburtino Leite Chaves  
Coorientadora

LAVRAS-MG  
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Campos, Izabella Thaís.

Óleo essencial de *Citrus sinensis* livre e encapsulado no  
controle de plantas daninhas / Izabella Thaís Campos. - 2024.  
46 p.

Orientador(a): Elisa Monteze Bicalho.

Coorientador(a): Josyelem Tiburtino Leite Chaves.

Monografia (graduação) - Universidade Federal de Lavras,  
2024.

Bibliografia.

1. Fitotoxicidade. 2. Bio-herbicida. 3. Polímero Biodegradável.

I. Bicalho, Elisa Monteze. II. Chaves, Josyelem Tiburtino Leite. III.  
Título.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço aos céus, por ter me dado forças para me levantar sempre que cai e desanimei, por cada detalhe e ato de bondade que percebi e me confortou ao longo de toda a graduação e por me ajudar a compreender que posso trilhar meu próprio caminho no meu tempo, inclusive com pausas para respirar, descansar e apreciar a paisagem quando preciso.

Aos meus pais, Carlos Alberto Campos e Vera Lucia Felipe Campos por sempre cuidarem tão bem de mim e por terem me dado todo o apoio possível em todos os momentos sem exceção, mesmo naqueles que não me entenderam. Obrigada por serem opostos, um incentivando a ir e o outro pedindo para ficar, um querendo persistência, e o outro me acolhendo mesmo na desistência. Sendo assim, vocês me mostraram que posso alcançar o mundo, mas que também sempre vou ter um lugar para voltar. A minha irmã Beatriz Helena Campos, agradeço imenso pelo companheirismo, por todas as vezes que se fez presente mesmo de longe, por me acolher e me dar sermões (desses que te sacodem e te colocam em movimento), por me incentivar e principalmente por acreditar em mim, e por se alegrar com cada conquista minha. Você, como irmã mais velha, sempre foi como minha estrela guia e quando você diz que eu consigo ou que eu estou indo bem é aí que posso acreditar.

Ao meu namorado, Marcos Ruan Siqueira da Silva por estar ao meu lado desde o início, por me apoiar e me dar ânimo para encarar todas as mudanças e desafios, e por ter sido meu suporte durante toda a graduação e realização desse trabalho. Agradeço pela conexão que criamos ao longo dos anos e por me fazer sentir que podemos enfrentar juntos qualquer desafio. Aos meus amigos de graduação e as amigas de casa por compartilharem essa vida maluca de faculdade comigo e por fazerem meus dias mais leves e engraçados.

A minha orientadora Elisa Monteze Bicalho pelas correções, conversas e ensinamentos que me permitiram crescer e melhorar meu desempenho no processo de formação profissional. A minha coorientadora Josyelem Tiburtino Leite Chaves, por se mostrar disponível para ensinar tudo que precisei, do mais simples ao mais complexo, por todo o trabalho em conjunto, e mais ainda por ser uma mão amiga nos momentos em que precisei. Às duas também, por toda paciência e confiança demonstradas, que foram importantíssimas para eu chegar até aqui.

A todos do Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas que me acolheram, ensinaram e ajudaram, e todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. A este e a Universidade Federal de Lavras, agradeço por possibilitarem todas essas realizações e conquistas pessoais e profissionais por meio de suporte técnico e apoio financeiro.

*“The universe is made of stories, not of atoms”*  
Murie Rukeyser.

## RESUMO

Plantas daninhas reduzem a produtividade e qualidade final de produtos agrícolas. Os herbicidas sintéticos são usados no seu controle, porém podem contaminar o ambiente. Como alternativa, óleos essenciais com ação fitotóxica podem ser utilizados como bio-herbicida. Entre estes, o óleo essencial de laranja, *Citrus sinensis*, pode ser uma eficaz indicação como ferramenta uma vez que o seu potencial de toxicidade já foi utilizado para o controle de beldroega, *Portulaca oleracea*, por exemplo. Todavia, a volatilidade desses óleos dificulta sua utilização no campo. O encapsulamento do óleo em polímero de poli ácido láctico pode ser uma solução, pois promove liberação controlada e impede a rápida degradação do óleo essencial. Assim, propôs-se, analisar os efeitos fitotóxicos do óleo essencial de laranja livre e encapsulado na germinação e crescimento inicial de plântulas de espécie modelo *Lactuca sativa*, daninhas *Cenchrus echinatus* e *Bidens pilosa* e cultivadas *Cucumis sativus* e *Triticum aestivum*. Para isso, dois experimentos foram realizados. No primeiro, diferentes concentrações do óleo essencial de laranja livre foram aplicadas na pré-emergência de todas as espécies. Já no segundo, diferentes concentrações do óleo livre e encapsulado foram aplicadas nas sementes de espécies contrastantes *B. pilosa* e *C. sativus*. Avaliou-se a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e comprimento da raiz e do caule. No experimento 1, os resultados mostraram que há redução de germinação e crescimento de *L. sativa* conforme o aumento da concentração de óleo. Ainda, ocorreu inibição da germinação de *B. pilosa* em 6% de óleo e de *C. echinatus* a partir de 3% de óleo, ambas tiveram o crescimento reduzido. Nas cultivadas, *T. aestivum* teve redução de germinação e crescimento e *C. sativus* não foi afetada na germinação, mas teve redução de crescimento. No experimento 2, os resultados mostram que, diante do óleo encapsulado, *B. pilosa* teve a germinação reduzida a menos de 40% nas concentrações de 6 e 10% do óleo, com redução do crescimento; *C. sativus* não apresentou diferença significativa para germinação e crescimento. Em ambos os testes verificou-se a ação fitotóxica do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Comparando as formas de aplicação, apenas o óleo livre gerou inibição de germinação, superando o óleo encapsulado nas condições testadas. O encapsulamento do óleo, ainda assim, é uma técnica viável no manejo de daninhas por gerar maior vantagem competitiva à cultivada, não a afetando, em relação à daninha que tem redução nos parâmetros germinativos e de crescimento.

**Palavras-chave:** Bio-herbicida; Fitotoxicidade; Polímero biodegradável; Liberação controlada; Germinação

## ABSTRACT

Weeds reduce the productivity and final quality of agricultural products. Synthetic herbicides are used for their control, but they can harm the environment. As an alternative, essential oils with phytotoxic action can be used as bioherbicides. Among these, orange (*Citrus sinensis*) essential oil may be an effective choice, given its previously demonstrated toxicity against purslane, *Portulaca oleracea*, for example. However, the volatility of these oils complicates their field application. Encapsulation of the oil in polylactic acid polymer can be a solution, as it allows controlled release and prevents rapid degradation of the essential oil. Thus, we proposed to analyze the phytotoxic effects of both free and encapsulated orange essential oil on the germination and initial growth of seedlings from the model species *Lactuca sativa*, the weeds *Cenchrus echinatus* and *Bidens pilosa*, and the cultivated species *Cucumis sativus* and *Triticum aestivum*. Two experiments were conducted: in the first, different concentrations of free orange essential oil were applied pre-emergence to all species; in the second, different concentrations of both free and encapsulated oil were applied to seeds of contrasting species *B. pilosa* and *C. sativus*. We evaluated germination percentage, germination speed index, and root and shoot length. In Experiment 1, the results showed reduced germination and growth of *L. sativa* with increasing oil concentration. Additionally, *B. pilosa* germination was inhibited at 6% oil concentration, and *C. echinatus* growth was reduced starting from 3% oil concentration. Among the cultivated species, *T. aestivum* had reduced germination and growth, while *C. sativus* was unaffected in germination but showed reduced growth. In Experiment 2, encapsulated oil led to less than 40% germination in *B. pilosa* at 6% and 10% oil concentrations, with reduced growth; *C. sativus* did not show significant differences in germination and growth. Both tests confirmed the phytotoxic action of *Citrus sinensis* essential oil for weed species studied. Comparing application methods, only free oil inhibited germination, surpassing encapsulated oil under the tested conditions. Despite this, oil encapsulation remains a viable technique for weed management, providing a competitive advantage for cultivated species, without negatively affecting it, compared to weeds, which experience reduced germination processes.

**Keywords:** Bio-herbicide; Phytotoxicity; Biodegradable Polymer; Controlled release; Germination.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Germinação acumulada de *Lactuca sativa* sob efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 2 – a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Lactuca sativa* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 3 - Plântulas de *Lactuca sativa* sob efeito de concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. .....26
- Figura 4 - Comparação: Plântulas de *Lactuca sativa* sob efeito do Controle x 5% de óleo essencial de *Citrus sinensis*..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 5 - Germinação acumulada de *Cenchrus echinatus* sob efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6 - a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Cenchrus echinatus* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7 - Plântulas de *Cenchrus echinatus* sobre efeito de concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. .....29
- Figura 8 - Germinação acumulada de *Bidens pilosa*, sob diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% (Barra de erro; n=5) ..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 9 - a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Bidens pilosa* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 10 - Plântulas de *Bidens pilosa* sob efeito de concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. .....32
- Figura 11 - Germinação acumulada de *Cucumis sativus*, sob diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). ns= não significativo) ..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 12 - a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Cucumis sativus* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). ..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 13 - Plântulas de *Cucumis sativus* sobre efeito de concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. .....34

- Figura 14 - Germinação acumulada de *Triticum aestivum*, sob diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 15 - a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Triticum aestivum* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 16 - Plântulas de *Triticum aestivum* sobre efeito de concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*.....37
- Figura 17 - Germinação acumulada de *Bidens pilosa*, sob diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. (Barra de erro; n=5).....38
- Figura 18 - a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Bidens pilosa* submetida a diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).....39
- Figura 19 - Germinação acumulada de *Cucumis sativus*, sob diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. (Barra de erro; n=5) **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 20 - a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Cucumis sativus* submetida a diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 21 - Plântulas de *Cucumis sativus* sobre efeito de concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis* – Forma de aplicação Livre e Encapsulado.....42

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> -----	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> -----	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> -----	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Óleo essencial de laranja livre</b> -----	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Óleo essencial de laranja livre em comparação ao encapsulado</b> -----	<b>21</b>
<b>3.3</b>	<b>Produção do filme de PLA com o óleo de laranja encapsulado</b> -----	<b>21</b>
<b>3.4</b>	<b>Material vegetal - Espécies alvo e não alvo</b> -----	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>3.5</b>	<b>Experimentos:</b> -----	<b>21</b>
<b>3.5.1</b>	<b>Teste de germinação com óleo essencial livre – Experimento 1</b> -----	<b>21</b>
<b>3.5.1.1</b>	<b>Análise estatística</b> -----	<b>22</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Teste de germinação com óleo essencial livre e encapsulado – Experimento 2</b> -	<b>23</b>
<b>3.5.2.1</b>	<b>Análise Estatística</b> -----	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> -----	<b>25</b>
<b>4.1</b>	<b>Teste de germinação com óleo essencial livre – Experimento 1</b> -----	<b>25</b>
<b>4.2</b>	<b>Teste de germinação com óleo essencial livre e encapsulado – Experimento 2</b> -	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> -----	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> -----	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> -----	<b>48</b>
	<b>ANEXO</b> -----	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produtividade agrícola é diretamente influenciada pelo manejo das pragas e doenças, levando à necessidade de inovações tecnológicas que auxiliem nesse manejo. Dentre as pragas agrícolas, as plantas daninhas são as mais agressivas, pois reduzem cerca de 35% do rendimento das principais culturas globais (Oerke, 2006). Além disso, aumentam os custos de produção e interferem na qualidade final do produto agrícola ao competir por água e nutrientes disponíveis (Oerke, 2006; Murphy; Dawson; Jones, 2008).

O controle das plantas daninhas é realizado por diversas técnicas, mas os herbicidas sintéticos são os mais utilizados (Freitas *et al.*, 2009; Monquero, 2014). Entretanto, esses produtos liberam resíduos tóxicos no ambiente o que gera uma preocupação mundial, já sendo registrada a contaminação de rios e águas superficiais que excedem o nível máximo permitido de contaminantes (Thurman, 1992; Cordeau *et al.*, 2016). Além disso, um crescente número de espécies de plantas daninhas vem se tornando resistentes aos herbicidas sintéticos (Perotti *et al.*, 2020).

Assim, o desenvolvimento de produtos seguros para o ambiente com diferentes modos de ação e especificidade para diferentes grupos de plantas é uma necessidade real para um meio agrícola mais sustentável (Cordeau *et al.*, 2016). Os bio-herbicidas são uma alternativa nesse contexto, pois são produzidos a partir de organismos vivos ou de seus metabólitos secundários. Por serem naturais são rapidamente degradados, logo não deixando resíduos tóxicos no meio ambiente. Esses, podem atuar em diferentes alvos no metabolismo da planta alvo, como danos ao DNA, modificação de processos bioquímicos, acréscimo na produção de espécies reativas de oxigênio, supressão do metabolismo antioxidante, redução na atividade da  $\alpha$ -amilase, mudanças na estrutura e mitose celular, redução da fotossíntese, dentre outros (Radhakrishnan; Alqarawi; Abd\_Allah, 2018).

Bio-herbicidas à base de óleos essenciais são promissores, por possuírem metabólitos secundários como terpenos em sua composição. Essa mistura de compostos, é responsável muitas vezes por gerar uma ação alelopática, que consiste na capacidade de uma planta afetar ou inibir o crescimento de outros organismos por meio de liberação de substâncias químicas. Assim, por possuir ação alelopática já conhecida e possível efeito fitotóxico, os óleos essenciais podem ser utilizados como ferramenta no manejo de plantas daninhas. (Tao *et al.*, 2009; Jabran *et al.*, 2015; El Sawi *et al.*, 2019).

*Citrus sinensis* (L.) Osbeck (laranjeira) é uma planta que produz um óleo essencial aromático extraído da casca de seus frutos tendo altas concentrações de Limoneno, um

terpeno volátil com grande potencial alelopático. O óleo essencial de *C. sinensis* (OEC) tem sido estudado para o controle de nematoides, insetos, fungos e bactérias (Sciortino *et al.*, 2021), bem como na supressão da germinação e crescimento de algumas daninhas (El Sawi *et al.*, 2019; Raveau *et al.*, 2020). Além disso, a laranja doce é uma cultivar de laranjeira difundida em diversas regiões do mundo, incluindo o Brasil um dos maiores produtores mundiais. Isso facilita a obtenção da matéria prima e reduz os custos de produção deste óleo, uma vez ele é extraído das cascas do fruto que são um subproduto abundante a ser reutilizado.

Apesar de promissor, o OEC apresenta compostos hidrofóbicos, com alta volatilidade e baixa estabilidade, o que dificulta seu manuseio, formulação, armazenamento e utilização como um bio-herbicida (Mamusa *et al.*, 2021). O encapsulamento desse óleo essencial em um polímero biodegradável pode ser feito para reduzir a velocidade de liberação do composto no ambiente e aumentar sua eficiência (Froiiio *et al.*, 2019; Mendes *et al.*, 2015). O polímero poli ácido láctico (PLA) é um material biodegradável e com capacidade de promover uma liberação lenta de compostos encapsulados, sendo uma alternativa para o encapsulamento de óleos essenciais (Serna *et al.*, 2003).

Frente ao exposto, o primeiro passo no desenvolvimento de um novo produto consiste na avaliação da atividade fitotóxica do óleo essencial, traduzidas em parâmetros morfofisiológicos nas espécies-alvo (Puig *et al.*, 2018). De acordo com as Regras para análise de semente – RAS (Brasil, 2009) antes do teste direto com as plantas alvo do estudo que, no caso de um possível bio-herbicida, o alvo são as plantas daninhas, é indicado, para teste de químicos e outros agentes externos, que o primeiro experimento seja realizado em uma planta modelo com padrão de germinação já conhecido e alta sensibilidade a alterações no ambiente para facilitar a comparação com outras pesquisas. A espécie *Lactuca sativa* L. é muito utilizada como planta modelo de estudos com plantas daninhas e alelopatia, sendo assim é indicada. Para mais, as espécies utilizadas são escolhidas com base na localidade onde a pesquisa é realizada, de forma a ser relevante socioeconomicamente, e na lista de espécies indicadas para testes de químicos pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD/OCDE, 2022). As espécies-alvo, *Cenchrus echinatus* L. (capim-carrapicho) e *Bidens pilosa* L. (picão preto) são plantas daninhas que geram danos a culturas de interesse, sendo amplamente distribuídas no Brasil. E as espécies não alvo, espécies cultivadas, *Cucumis sativus* L. (pepino) e *Triticum aestivum* L. (trigo), eudicotiledônea e monocotiledônea, respectivamente, são culturas de interesse no país, presentes na lista mencionada. A utilização de espécies não-alvo é importante para identificação da presença de seletividade do óleo essencial.

Além disso, considerando ainda a avaliação da atividade fitotóxica do OEC livre é necessário o uso de diferentes concentrações desse óleo de forma a esclarecer qual a dose mínima para gerar efeito nas diferentes espécies e, também, a partir de qual quantidade o efeito é estabilizado, não sendo mais indicado o aumento de concentração. Dito isso, para a planta modelo, *L. sativa*, optou-se pelo uso de uma faixa ampla de concentrações como primeira análise, 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5 e 6%. A partir dessas selecionou-se as mais contrastantes para serem utilizadas nas espécies alvo (daninhas) e não alvo (cultivadas), 0,25; 0,75; 1,5; 3 e 6%.

Já para a análise comparativa de atividade fitotóxica do óleo livre e encapsulado as concentrações escolhidas para utilização foram 0,75; 6 e 10%. O encapsulamento de concentrações menores que 0,75% são de difícil formulação e não gerariam o efeito desejado, a maior concentração (6%) utilizada no teste apenas com óleo livre foi mantida e ainda, optou-se por extrapolar a dose com o uso da concentração de 10% de óleo, uma vez que o encapsulamento faz uma liberação controlada do composto e poderia limitar a quantidade de óleo essencial disponível no meio.

Assim, propõe-se testar as seguintes hipóteses: (i) o óleo essencial de *C. sinensis* livre apresenta potencial fitotóxico na pré-emergência de plantas daninhas (alvo); e (ii) a liberação lenta do óleo essencial de *C. sinensis* encapsulado aumenta sua eficiência na redução da germinação e/ou crescimento das plantas alvo. Logo, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial fitotóxico do óleo essencial de laranja livre e encapsulado em PLA na pré-emergência de plantas daninhas e cultivadas.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

Os metabólitos secundários das plantas são moléculas de estrutura química muito variada, podendo ser divididas nos grupos terpenoides, compostos nitrogenados e fenólicos. Estes podem ser utilizados na comunicação da planta com o meio externo e como forma de proteção às condições ambientais adversas, ataques de pragas e doenças (Buchanan *et al.*, 2015). Uma dessas formas de reação ao meio externo, é o fenômeno de alelopatia, que consiste no efeito que uma planta exerce sobre outro indivíduo, a partir da liberação de substâncias (aleloquímicos) no meio, interferindo no crescimento e desenvolvimento do alvo. Essa ação ocorre a partir de plantas vivas, mas pode ser convertida em uma ação intencional de fitotoxicidade, a partir da extração de compostos, como os óleos essenciais usados com intencionalidade há séculos (Jabran *et al.*, 2015).

Os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário das plantas constituídos essencialmente de uma mistura de componentes secundários do tipo terpenoides, em geral voláteis. São compostos majoritariamente por mono e sesquiterpenos, além de compostos fenólicos dos tipos benzenoides e fenilpropanoides, os quais possuem diversas propriedades biológicas, tais como farmacológica, citotóxica, bactericida, fungicida e inseticida (Baser; Buchbauer, 2016). Trabalhos relatam que a atividade dos óleos essenciais está frequentemente associada à ação conjunta de misturas de compostos ao invés de um aleloquímico específico, fato que dificulta a descrição do modo de ação de cada composto (Puig *et al.*, 2018). Os óleos essenciais são produzidos em diferentes órgãos como flores, ervas, brotos, folhas, frutas, galhos, casca, sementes, madeira, rizoma e raízes. Sua extração ocorre por diferentes métodos em geral baseados na natureza hidrofóbica e densidade relativa à da água, um fator facilitador da extração (Asbahani *et al.*, 2015).

Os óleos essenciais têm sido estudados no controle de pragas, patógenos e plantas daninhas pois apresentam um grande número de aleloquímicos altamente fitotóxicos, derivados da via dos terpenos. Neste contexto, diversas investigações apontam que alguns óleos essenciais são capazes de cessar o crescimento e desenvolvimento de plantas de diversas espécies. Além disso, relata-se um menor risco de contaminação ambiental e a saúde humana quando estes são utilizados como bio-herbicidas (Dhifi *et al.*, 2016). O uso desse efeito fitotóxico, então, pode ser uma estratégia altamente benéfica em sistemas agro-florestais e agricultura orgânica.

Entre os processos vegetais que podem ser influenciados por aleloquímicos, estão os relacionados diretamente com a germinação, crescimento e desenvolvimento de plântulas (Radhakrishnan; Alqarawi; Abd\_Allah, 2018). Na germinação, a capacidade de regulação dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO), por exemplo, durante a retomada do metabolismo é essencial para seu sucesso germinativo (El-Maarouf-Bouteau; El-Maarouf-Bouteau *et al.*, 2013). Diversos aleloquímicos podem modificar o sistema redox das células pela superprodução de EROs decorrente da inibição do consumo de O<sub>2</sub> mitocondrial, resultando em perturbação nas membranas desta organela, aumento da peroxidação lipídica e supressão do sistema antioxidante, impedindo o sucesso no estabelecimento do vegetal e levando à deterioração de sementes (Pergo; Ishii-Iwamoto, 2011).

Entre os óleos com potencial de controle de plantas daninhas (El Sawi *et al.*, 2019; Raveau *et al.*, 2020), têm-se o óleo essencial de *Citrus sinensis* (OEC), cujo componente majoritário é o Limoneno, além de uma variedade de compostos, com propriedade fitotóxica. Em estudo realizado para testar o potencial alelopático, o OEC foi usado de forma que apenas

o vapor entrasse em contato, por cinco dias, com as plântulas de *Euphorbia heterophylla* L. e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donell, já previamente germinadas. Nesse, *E. heterophylla* foi a mais afetada com redução de crescimento e morte de indivíduos. *I. grandifolia* teve crescimento caulinar comprometido, mas sem morte de indivíduos (Ribeiro; Lima, 2012). Outro estudo, ainda, comparando a aplicação de outros óleos de citros, usou o OEC nas concentrações 1, 2 e 3% diretamente sobre as sementes de *Helianthus annuus*, *Portulaca oleracea*, *Lupinus albus* e *Malva parviflora* (pré emergente). Para o qual, *H. annuus* e *P. oleracea* apresentaram inibição de germinação na maior concentração de *L. albus* e *M. parviflora* tiveram redução de germinação e crescimento, mas pouco acentuadas (El Sawi *et al.*, 2019). Ambos confirmam a bioatividade, já documentada para vários fins, incluindo atividade antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, inseticida e antioxidante (Favela-Hernández *et al.*, 2016), do OEC, também com atividade herbicida diante de algumas das espécies analisadas.

A espécie *C. sinensis*, conhecida como laranja doce, é a mais cultivada entre o grupo dos citros. Nativa da Ásia, ela se espalhou por todo o Pacífico e regiões quentes em todo o mundo. O OEC é extraído da casca do fruto, que é globoso a oval do tipo baga, amadurecendo para laranja ou amarelo. Anatomicamente, ele consiste em uma casca com glândulas de óleo aromático e uma polpa interna contendo glândulas de suco ((Favela-Hernández *et al.*, 2016). A composição química do OEC é principalmente de terpenos, mas pode variar ao apresentar compostos de menor concentração dependendo da região e forma como é cultivada (Tao *et al.* 2009). Em estudo de Neng-guo Tao, análise de cromatografia gasosa/espectrometria de massa mostrou a presença dos compostos limoneno (77,49%), seguido por mirceno (6,27%), a-farneseno (3,64%), c-terpineno (3,34%), apineno (1,49%), sabineno (1,29%) e outros componentes menores. Esses compostos em sua maioria têm característica de ser altamente voláteis, motivo pelo qual o cheiro cítrico da laranja se espalha com facilidade (Tao *et al.* 2009). Característica essa que dificultaria o uso do óleo essencial em lavouras, uma vez que, na forma livre ele é degradado rapidamente. Além disso, muitas espécies de daninhas apresentam dormência em suas sementes, germinando ao longo do tempo, requerendo um herbicida com princípio ativo de maior duração no ambiente (Marchi; Marchi; Guimarães, 2008).

Considerando a alta volatilidade dos óleos essenciais, e buscando aumentar a eficiência de seu uso na agricultura, uma estratégia é o encapsulamento do óleo em polímeros biodegradáveis que pode levar a um maior controle da sua liberação no ambiente (Froio *et al.*, 2019; Mendes *et al.*, 2019). A eficiência desta técnica foi descrita para o óleo essencial de

capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) emulsionado e adicionado em filme à base de amido de mandioca plastificado com glicerol que apresentou excelente resultado no material formado, sem afetar as propriedades do óleo (Mendes *et al.*, 2019). Outro estudo com resultados semelhantes mostrou a eficácia antifúngica de óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e orégano (*Origanum compactum* Benth.) encapsulados em filmes à base de quitosana, além disso o encapsulamento proporcionou uma liberação lenta dos componentes dos óleos, durante todo o período de armazenamento (Hossain *et al.*, 2019).

No caso do OEC, ainda pouco se sabe sobre a associação de encapsulamento por polímero e o controle de plantas daninhas. Cita-se, estudo realizado com técnica de micro encapsulamento de OEC utilizando, não polímeros, mas partículas de sílica (SiO<sub>2</sub>) para análise de efeito inseticida que mostrou ser altamente eficaz contra lagarta do algodão (*Spodoptera littoralis*) e progênie do pulgão do algodão (*Aphis gossypii*) e não afetou a ação do óleo pelo encapsulamento (Sciortino *et al.*, 2021). Outro estudo, testou técnica de encapsulamento e emulsão do OEC com quitosana eficientemente, mantendo as características esperadas, apontando ainda uma liberação contínua do óleo (Velmurugan *et al.*, 2017). Estes estudos indicam que o OEC pode manter suas propriedades ativas mesmo encapsulado. Para mais, o uso de polímeros de degradação mais rápida é o mais indicado para o encapsulamento, uma vez que estudos já apontam que o descarte incorreto de filmes de plásticos convencionais é uma das principais causas de poluição por microplásticos (plásticos fracionados, não biodegradáveis) no contexto agrícola (Huang *et al.*, 2020).

O material polimérico do tipo poliácido láctico (PLA) apresenta boa biodegradabilidade na presença de microrganismos, oxigênio, umidade, temperaturas entre 20 a 60°C e pH entre 5-8, em condições como de uma composteira (Serna *et al.* 2003). O PLA é um polímero que poder advir de base biológica produzido a partir do ácido láctico, através da fermentação de açúcares, podendo vir de resíduos de cana-de-açúcar e mandioca, por exemplo. Além de promover lenta liberação de compostos encapsulados, ele também é versátil, sendo capaz de substituir o polipropileno, o poliestireno e o politereftalato de etileno e derivados de petróleo na fabricação de diversos produtos, como forma de diminuir a produção de resíduos e poluição. Considerando ainda o uso de óleos essenciais, há compatibilidade óleo-polímero, não sendo necessário o uso de tensoativos lipofílicos para formulação do filme, facilitando o processo (Serna *et al.* 2003 e Mendonza; Riera, 2022).

Como tecnologia de aplicação o encapsulamento em polímero pode ser vantajoso, já que apresenta baixo custo por se tratar de um composto orgânico, tem a capacidade de armazenar alta carga de compostos ativos, ser uma membrana versátil e estável, haver

confiabilidade do processo, além de ser uma técnica relativamente simples (Razola-Diaz et al., 2021). Ademais, os polímeros em filme já são amplamente utilizados no contexto agrícola, sendo possível indicar a substituição do material em um uso já pré-existente e conhecido, o que facilita a aceitação do produtor rural. A exemplo, os filmes do tipo cobertura-morta, geralmente produzidos com polímeros convencionais derivados de petróleo, são muito utilizados em plantação de hortícolas e outras visando controlar temperatura, umidade do solo e emergência de daninhas (Anderson *et al.*, 2008). A substituição desse, por um filme de PLA, biodegradável, com OEC encapsulado aumentaria a eficiência do manejo de daninhas e não produziria resíduos tóxicos, agregando mais valor ao produto. Uma vez que seria benéfico economicamente e diminuiria o trabalho com a remoção mecânica, gestão de resíduos sólidos do empreendimento, além de poder ser fonte de carbono para o solo após a degradação (Santos, 2020).

Sequencialmente, para avaliar e quantificar a fitotoxicidade dos óleos essenciais livres e encapsulados é necessária a utilização de espécies de plantas sensíveis aos aleloquímicos. Desta forma os óleos essenciais são utilizados em bioensaios, onde uma variedade de espécies deve ser empregada, inclusive espécies importantes para a agricultura (Brasil, 2009). Essas são escolhidas levando em consideração as diretrizes para teste de produtos químicos - Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test - da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD/OCDE, 2022). É importante ressaltar que os aleloquímicos podem ser específicos para cada espécie e ainda podem ser atribuídos à existência de receptores exclusivos nas diferentes espécies (Hosni *et al.*, 2013).

Para iniciar os bioensaios utiliza-se de uma planta modelo indicada para verificar a eficiência dos tratamentos e os efeitos gerados. A alface (*Lactuca sativa* L.) é frequentemente usada como planta modelo em muitos estudos científicos com plantas daninhas e de alelopatia. Isso se deve ao fato de ser uma cultura que atende aos requisitos de alto grau de sensibilidade de suas sementes às condições externas, e germinação rápida e uniforme o que auxilia e facilita a análise científica, permitindo expressar resultados relevantes mesmo em baixas concentrações. Adicionalmente, apesar da planta modelo ser uma cultivada de interesse, já é sabido que esta apresenta grande sensibilidade às condições externas, por isso quando há redução de germinação e crescimento, isso é um ponto positivo na análise de um novo produto químico (Tur *et al.*, 2012).

Dentre essas plantas alvo que são foco de estudo para os bio-herbicidas – daninhas - abundantes em todo Brasil e geram prejuízos econômicos quando em meio a cultivadas, temos:

*Cenchrus echinatus* L.: Conhecida popularmente como capim carrapicho é uma planta anual, herbácea da família *Poaceae*. Possui folhas laminares planas com bainha e forma espiga com espiguetas e frutos secos espinhentos, possuindo reprodução via sementes (Lorenzi, 2014).

*Bidens pilosa* L.: Conhecida popularmente com picão preto, é uma herbácea ereta e perene da família *Asteraceae*. Possui folhas verdes, inteiras ou lobadas, flores brancas ou amarelas e fruto do tipo aquênio, sendo pretos, longos, estreitos e com projeções finais (Lorenzi, 2000).

Como plantas não alvo, espécies cultivadas de interesse comercial, presentes na lista da OECD, cita-se uma eudicotiledônea e uma monocotiledônea, respectivamente:

*Cucumis sativus* L.: O pepino é uma hortaliça muito cultivada da família *Curcubitaceae*, com fruto de interesse para o consumo. É uma planta herbácea de ciclo curto, tem folhas recortadas e é monoica, tendo flores femininas e masculinas (Goto,2003).

*Triticum aestivum* L: O trigo é uma planta pertencente à família *Poaceae*, sendo amplamente cultivada, já que seu grão é um alimento básico em todo o mundo. Essa planta possui espigas de espiguetas sésseis, produz um fruto seco do tipo cariopse e tem reprodução por sementes (Gregório, 2023).

### 3 METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no campus sede da Universidade Federal de Lavras (UFLA), nos departamentos de Biologia e de Engenharias da universidade, localizada no município de Lavras, estado de Minas Gerais.

#### 3.1 Material vegetal - Espécies alvo e não alvo

Foram utilizados no experimento a planta modelo *Lactuca sativa*, as espécies daninhas (alvo) *Cenchrus echinatus* e *Bidens pilosa* e cultivadas (não alvo) *Cucumis sativus* e *Triticum aestivum*. As sementes das espécies *L. sativa* e *C. sativus* foram adquiridas comercialmente em casa agropecuária do município de Lavras-MG. *T. aestivum* foi fornecida pelo Departamento de Agronomia da UFLA. As sementes das espécies alvo *C. echinatus* (carrapicho) e *B. pilosa* (picão preto) foram coletadas em áreas urbanas e rurais de Lavras, MG. Os Lotes de sementes utilizadas não foram os mesmos para os diferentes experimentos.

A espécie *C. echinatus* precisou passar por processo de beneficiamento dos frutos secos para obtenção das sementes. O fruto seco é rígido e espinhento, e é formado por duas ou três câmaras ocas onde ficam as sementes, por isso o beneficiamento foi realizado com auxílio de bisturi e pinça. Primeiro os espinhos são cortados e após é cortado cuidadosamente entre as câmaras para liberar as sementes sem gerar prejuízos. As sementes que foram danificadas nesse processo foram descartadas.

#### 3.2 Óleo essencial de laranja livre

O OEC, extraído das cascas do fruto foi fornecido por uma indústria de suco da região de Lavras, MG. O óleo essencial bruto foi considerado 100% e diluído em solução aquosa com Tween 80 (0,5%), emulsificante, até a obtenção das concentrações desejadas. Para a análise do óleo livre na planta modelo os tratamentos usados foram 0; Tween; 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5 e 6%, totalizando 12 tratamentos. Adicionamos as concentrações 1,5 e 6% após analisar os resultados iniciais, essas foram então testados separadamente as outras concentrações. A partir desse primeiro teste, foram selecionadas as concentrações 0,25; 0,75; 1,5; 3 e 6%, utilizadas nos testes com óleo essencial livre seguintes com as espécies alvo e não alvo. Foram utilizadas ainda 2 controles, água deionizada e solução aquosa de Tween 80 (0,5%) em todos os testes mencionados.

### **3.3 Óleo essencial de laranja livre e encapsulado**

Para o teste com o óleo livre e encapsulado, as concentrações usadas em ambas as formas de aplicação foram as mesmas (0,75; 6 e 10%). No caso do óleo livre, a diluição foi feita como especificado no item 3.2 e foi utilizado também o controle de água deionizada. No caso do óleo encapsulado, não é necessário a diluição previa do óleo, é feita a adição das diferentes concentrações diretamente na solução de polímero para encapsulação. E para o tratamento controle é utilizado apenas o filme de polímero (0% de óleo).

### **3.4 Produção do filme de PLA com o óleo de laranja encapsulado**

Para produção dos filmes de material polimérico, foi realizada a diluição de 5% de PLA em 30 mL de clorofórmio (m/v), mantido em agitador por 5 horas. A partir dessa solução, porções que resultassem em 1,5 g de massa de filme, foram despejadas em diferentes placas de Petri de vidro lenta e uniformemente, e foi deixado em temperatura ambiente até a total secagem do material. Para adicionar o OEC, após a diluição do PLA (de 5 horas), as diferentes concentrações foram adicionadas e a solução foi mantida em um agitador por mais 2 horas para tornar-se homogênea, e depois foi colocada em placas de Petri conforme descrito acima.

### **3.5 Experimentos:**

O primeiro experimento avaliou as concentrações do OEC na germinação e crescimento de plântulas nas espécies modelo, alvo e não alvo. No segundo experimento, foi avaliado o potencial fitotóxico do OEC encapsulado frente ao OEC livre nas espécies alvo e não alvo contrastantes.

#### **3.5.1 Teste de germinação com óleo essencial livre – Experimento 1**

As sementes de todas as espécies foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% e detergente durante 15 minutos, e depois enxaguadas três vezes em água deionizada. As sementes foram dispostas em placas de Petri contendo dois discos de

papel filtro umedecidos com 4 mL de água deionizada ou Tween 80 ou da concentração do OEC. Todo o experimento foi conduzido em câmara de germinação com temperatura e fotoperíodo ótimos para germinação das espécies. Para *L. sativa*, *C. sativus* e *B. pilosa* foi utilizado temperatura de 25 °C, para *T. aestivum* 20 °C e para *C. echinatus* 30 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz (40  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para todas as espécies. A germinação das diferentes espécies foi contabilizada diariamente (a cada 24 horas), até que a germinação de cada espécie fosse concluída e estabilizada (ou seja, 48 horas sem aumento na porcentagem de germinação do controle). Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão da radícula ( $\pm 2$  mm). A porcentagem de germinação (PG) (Equação 1) e o índice de velocidade de germinação (IVG) (Equação 2) foram calculados segundo os métodos de Ranal *et al.*, 2009 e Maguire, 1962, respectivamente. No último dia de contagem, os tamanhos da parte aérea e das raízes de cinco plântulas de cada parcela experimental foram medidos (cm) com régua graduada e usados para cálculo de valor médio de cada parcela.

Equação 1: Porcentagem de germinação

$$\%G = \frac{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas no último dia de contagem}}{N^{\circ} \text{ de sementes total}} * 100$$

Equação 2: Índice de velocidade de germinação

$$IVG = \sum \frac{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas no dia } x}{\text{dia } x}$$

### 3.5.1.1 Análise estatística

Foram realizados experimentos independentes para cada espécie-alvo e não alvo. Os experimentos foram conduzidos com sete tratamentos em delineamento inteiramente casualizado, cinco concentrações do OEC e duas testemunhas. Cada tratamento teve cinco repetições, totalizando assim 35 parcelas experimentais de 25 sementes cada, por espécie. Os dados foram submetidos, utilizando o software R, a teste de normalidade de Shapiro-Wilk, análise de variância com teste Tukey e, quando significativos pelo teste F a 5% de probabilidade, foram submetidos a análise de regressão. Para essa análise, o modelo usado foi

o quadrático e as informações sobre de  $R^2$ , p.valor e equações para todas as análises de regressão feitas estão em anexo.

### 3.5.2 Teste de germinação com óleo essencial livre e encapsulado – Experimento 2

Foram realizados teste de germinação com OEC livre e encapsulado em polímero biodegradável do tipo PLA nas concentrações 0; 0,75; 6 e 10%. Dentre as espécies alvo e não-alvo, foram selecionadas as espécies que se mostraram menos sensíveis ao óleo livre, de forma a determinar se o óleo encapsulado manteria ou aumentaria o efeito fitotóxico do óleo. As espécies utilizadas foram *Bidens pilosa* e *Cucumis sativus*, previamente desinfestadas conforme especificado para o experimento 1.

Para o óleo livre, a montagem do teste de germinação seguiu conforme mencionado. Para o óleo encapsulado, foram verificadas a atuação do polímero com óleo encapsulado nas concentrações mencionadas. Na montagem, o disco de filme de PLA puro ou com concentrações de óleo encapsulado foi colocado entre dois discos de papel filtro umedecidos com 4 mL de água deionizada na placa de Petri, onde as sementes foram semeadas. Todo o experimento foi mantido em câmara de germinação com temperatura e fotoperíodo ideal para germinação das espécies. Para *C. sativus* e *B. pilosa* foi utilizado a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. O teste foi acompanhado e a germinação foi contabilizada diariamente, até que a germinação de cada espécie alvo fosse concluída. A porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de caule e de raiz foram determinados conforme especificado para o experimento 1. Todas essas variáveis foram analisadas para óleo livre e encapsulado de forma comparativa.

#### 3.5.2.1 Análise Estatística

Foram realizados experimentos independentes para a espécie-alvo, picão preto - *Bidens pilosa*, e não alvo, pepino - *Cucumis sativus*. O teste contou com 8 tratamentos em esquema fatorial, sendo duas formas de aplicação do OEC (óleo livre e óleo encapsulado em PLA), três concentrações do óleo (0,75; 6 e 10%) e testemunha sem óleo adicionado (0%). Todos com 5 repetições cada, totalizando 40 parcelas experimentais com 25 sementes cada, por espécie. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos, utilizando o software R, a teste de normalidade de Shapiro-Wilk,

análise de variância e quando significativos pelo teste F a 5% de probabilidade, os dados qualitativos foram submetidos a teste de médias com teste Tukey.

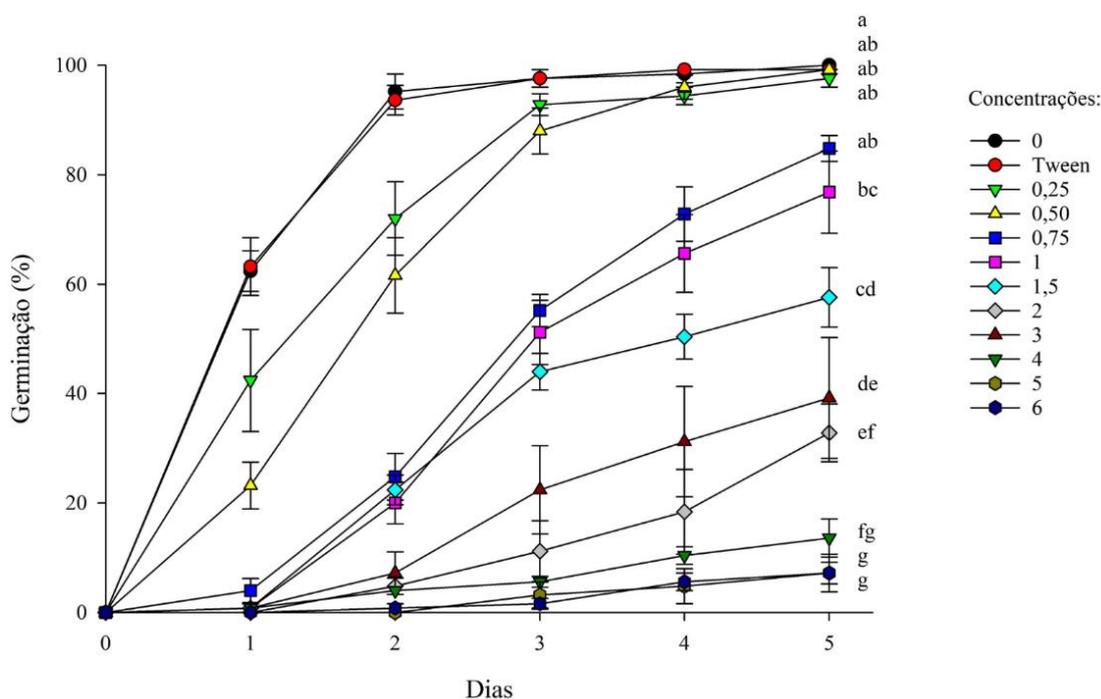
## 4 RESULTADOS

### 4.1 Teste de germinação com óleo essencial livre – Experimento 1

Diante dos tratamentos controle, as plântulas de todas as espécies que receberam a solução de Tween 0,5% tiveram resultado iguais significativamente as com apenas água, logo, o Tween não afetou os parâmetros germinativos avaliados em nenhuma das plântulas testadas nesse experimento.

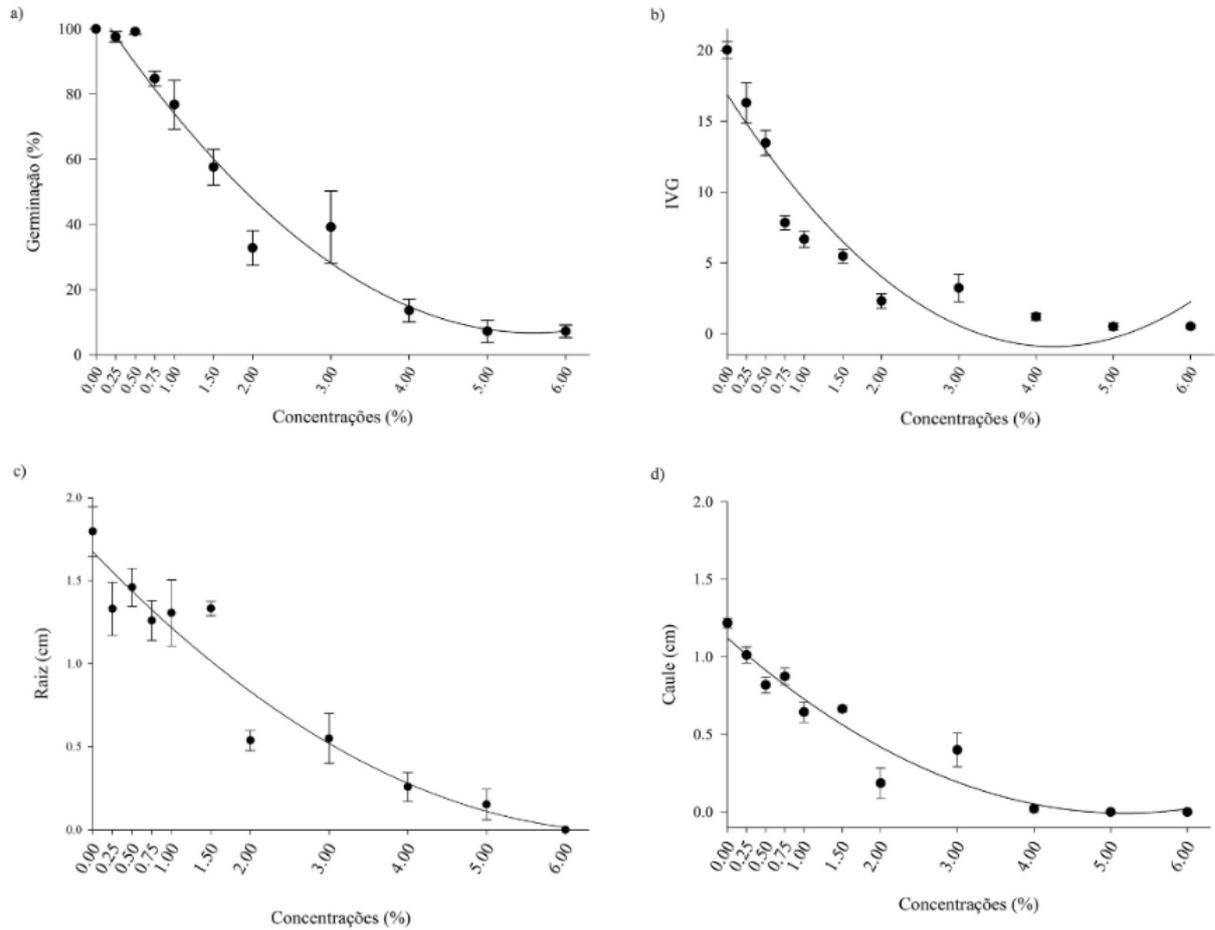
O OEC reduziu e atrasou a germinação de *L. sativa* com o aumento das concentrações. A partir da figura 1 observou-se ainda que concentrações próximas tinham efeitos semelhantes conforme o aumento de concentração do óleo. As maiores concentrações (4, 5 e 6%) geraram redução abaixo de 20% de germinação (Figura 1).

Figura 1 – Germinação acumulada de *Lactuca sativa* sob efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



Por meio da análise de regressão, observa-se redução significativa do percentual de germinação, índice de velocidade de germinação e comprimento de raiz e caule. O crescimento inicial foi reduzido drasticamente conforme o aumento de concentração. (Figura 2).

Figura 2 – a) Porcentual de germinação, b) Índice de velocidade de germinação c) Comprimento de raiz e d) Comprimento de caule de plântulas de *Lactuca sativa* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



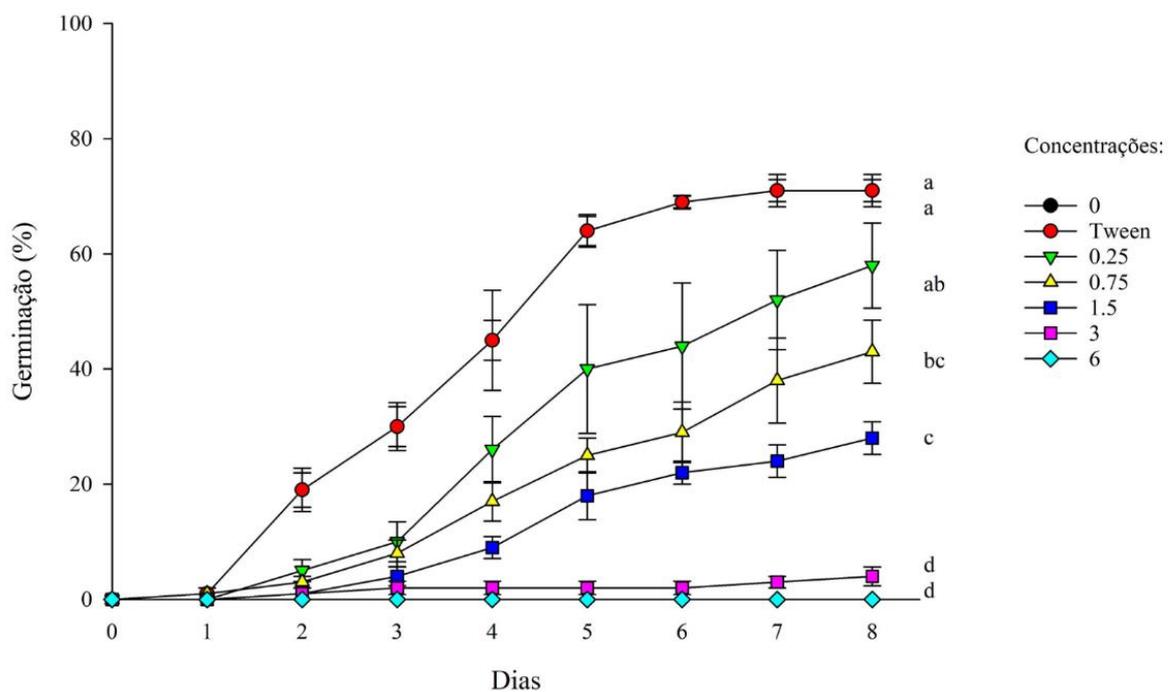
Não foi observada injúria ou necrose nos tecidos das plântulas de *L. sativa* sob as diferentes concentrações do OEC (Figura 3).

Figura 3 - Plântulas de *Lactuca sativa* sob efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*.



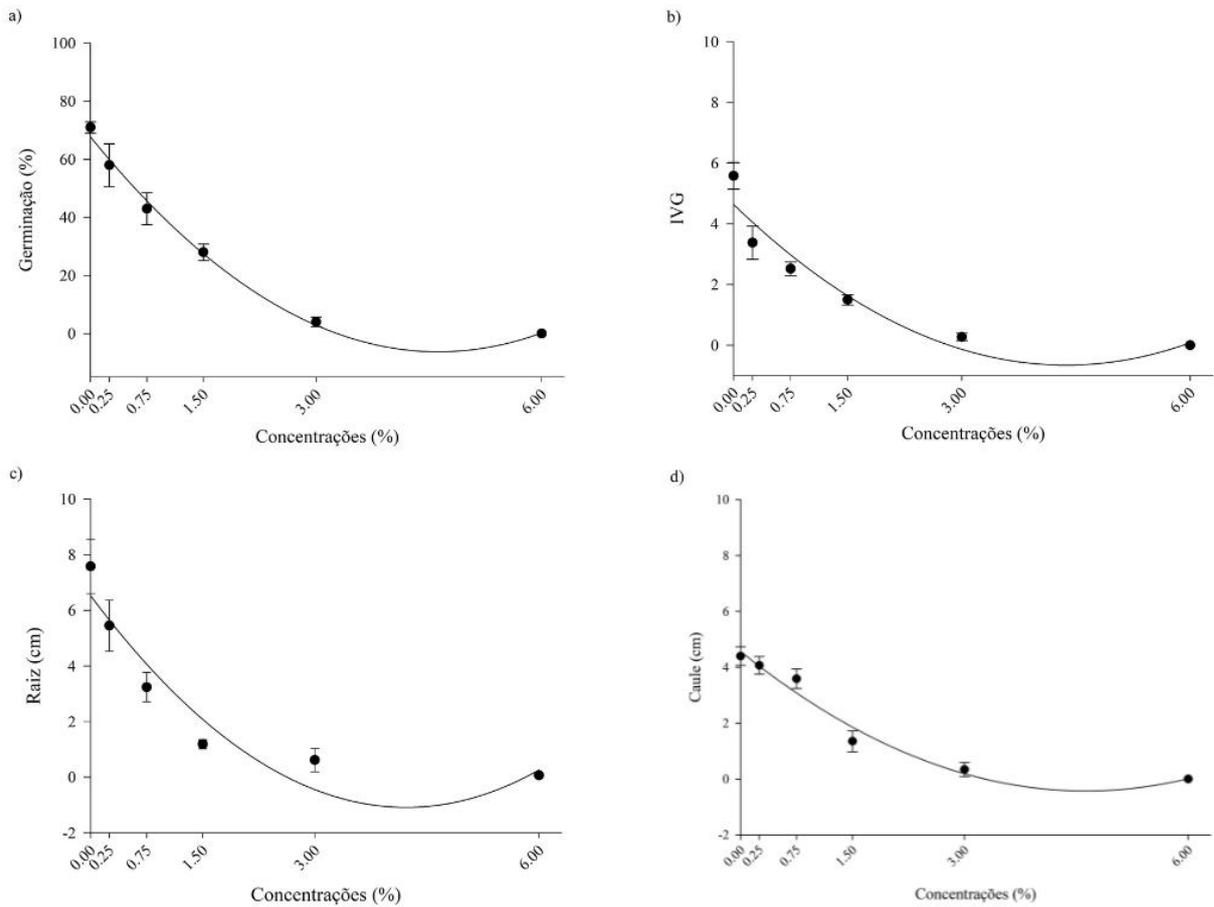
Já para espécies de plantas daninhas, o OEC na pré emergência de *C. echinatus* reduziu e atrasou a germinação conforme o aumento da concentração. A germinação foi inferior a 5% para 3% de óleo e, para 6% de óleo ocorreu inibição total da germinação. No entanto, ambas concentrações do OEC foram igualmente significativas na redução de germinação (Figura 5).

Figura 4 - Germinação acumulada de *Cenchrus echinatus* sob efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



Pela análise de regressão, houve diminuição significativa para todas as variáveis PG, IVG, comprimento de raiz e caule (Figura 6 e Anexo).

Figura 5 - Porcentual de germinação (a), Índice de velocidade de germinação (b) Comprimento da raiz (c) e do caule de plântulas de *Cenchrus echinatus* submetida a diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



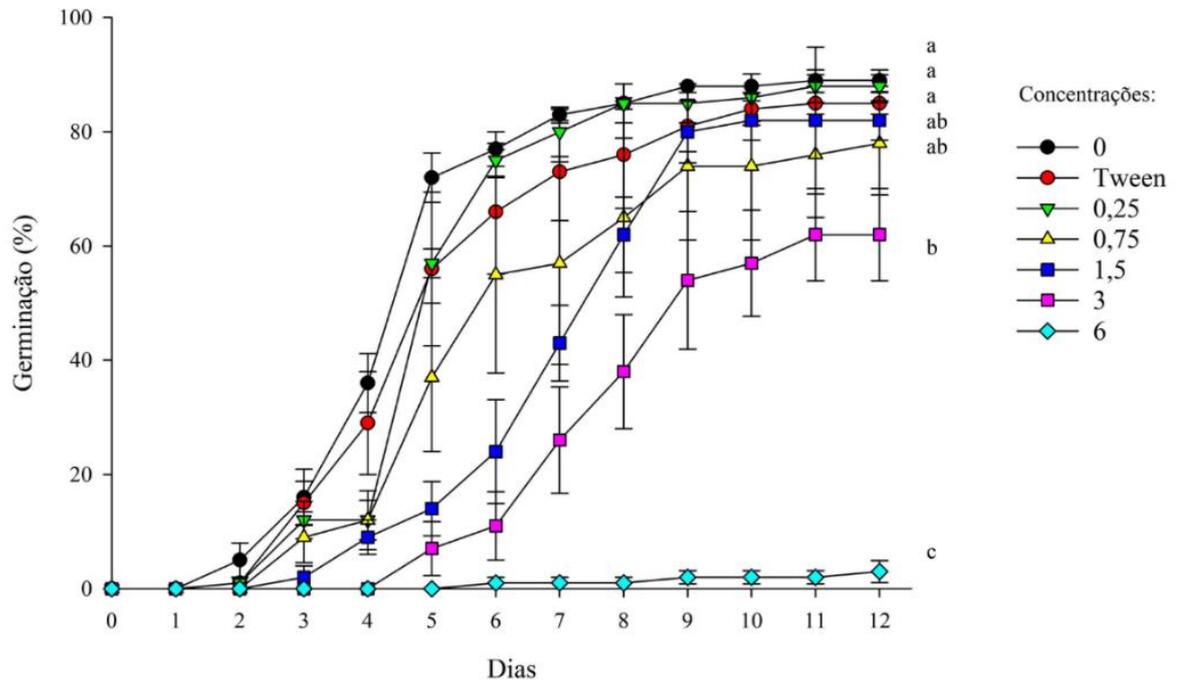
Não foi observada injúria ou necrose em *C. echinatus* sob as diferentes concentrações do OEC apesar da evidente redução no crescimento inicial (Figura 7).

Figura 6 - Plântulas de *Cenchrus echinatus* sobre efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*.



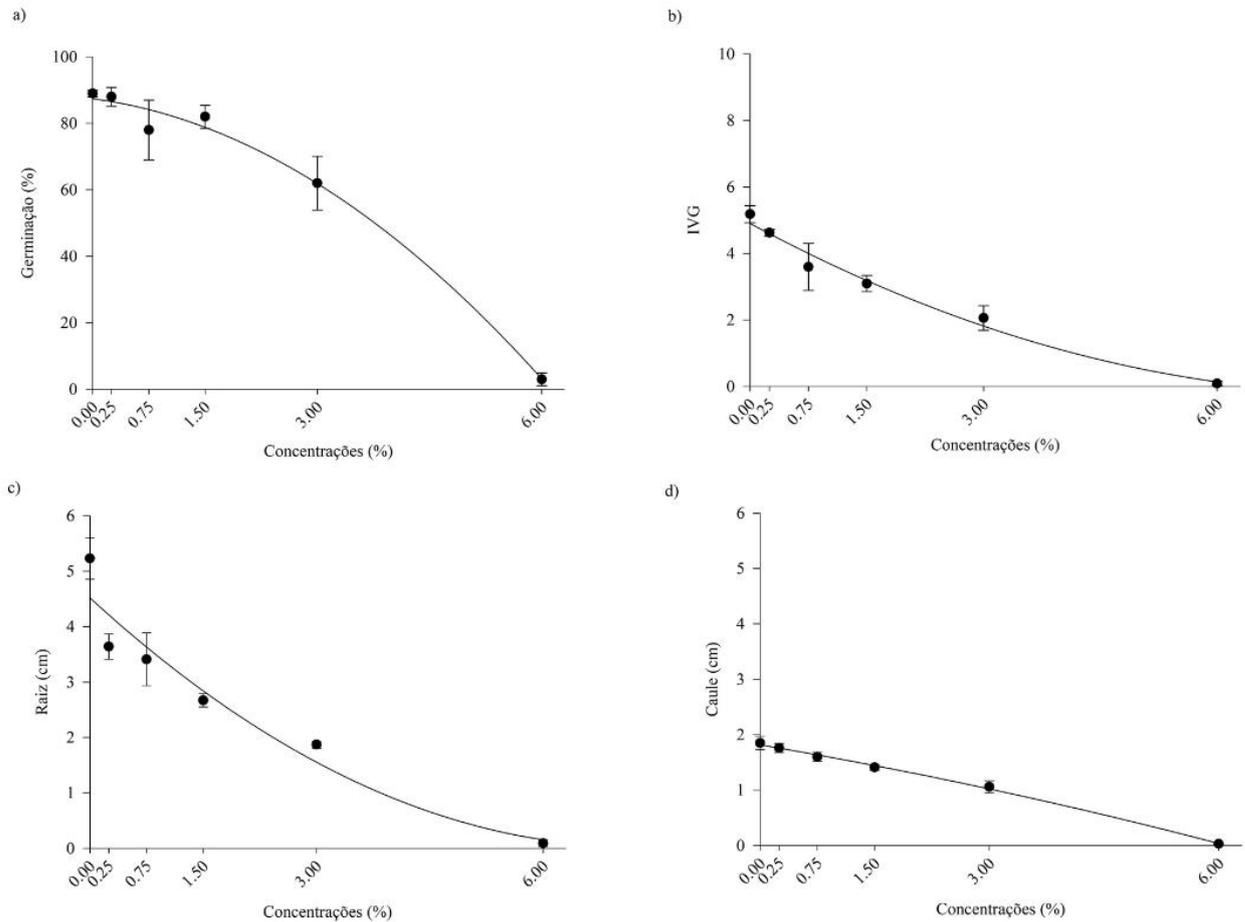
O OEC na pré emergência de *B. pilosa* reduziu a germinação conforme o aumento da concentração, porém a redução foi contida até a concentração de 3%, podendo indicar uma menor sensibilidade dessa erva daninha. A germinação final dos tratamentos controle, além das concentrações 0,25; 0,75 e 1,5% foram iguais significativamente, mantendo a média de 84,4%. Para a concentração de 3% de óleo a germinação foi de 62% e para a de 6% foi menor que 5% (Figura 8).

Figura 7 - Germinação acumulada de *Bidens pilosa*, sob diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% (Barra de erro; n=5)



De acordo com a análise de regressão, houve redução significativa para as variáveis analisadas (Figura 9 e Anexo).

Figura 8 - Porcentual de germinação (a), Índice de velocidade de germinação (b) Comprimento da raiz (c) e do caule (d) de plântulas de *Bidens pilosa* submetida a diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).

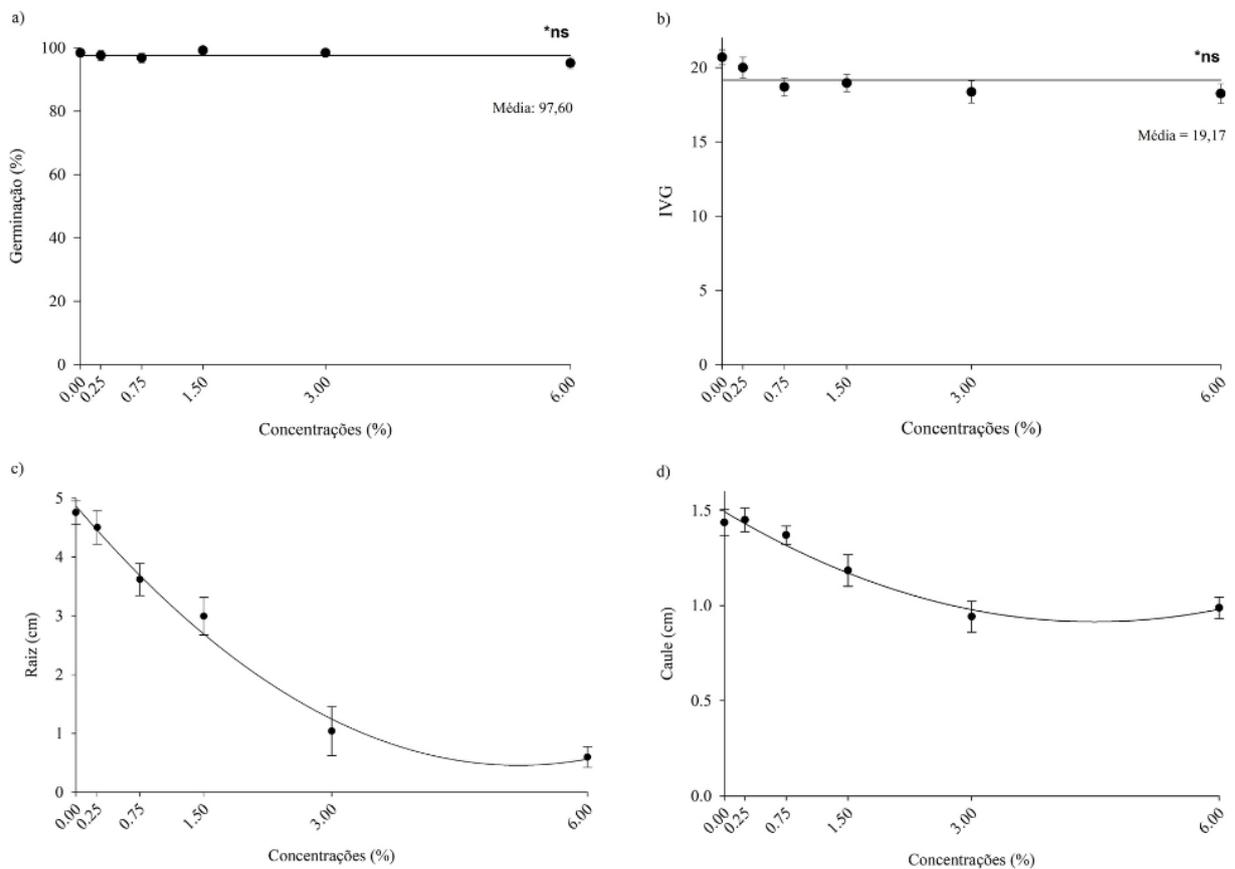


Para mais, não foi observada injúria ou necrose em *B. pilosa* sob as diferentes concentrações de OEC (Figura 10).



Os resultados demonstram que as variáveis PG e IVG não foram afetados pelos tratamentos. Para as variáveis de comprimento de raiz e caule foi observado pela análise de regressão, redução significativa, sendo mais evidente para raiz. (Figura 12 e Anexo).

Figura 11 - Percentual de germinação (a), Índice de velocidade de germinação (b), Comprimento da raiz (c) e do caule (d) de plântulas de *Cucumis sativus* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



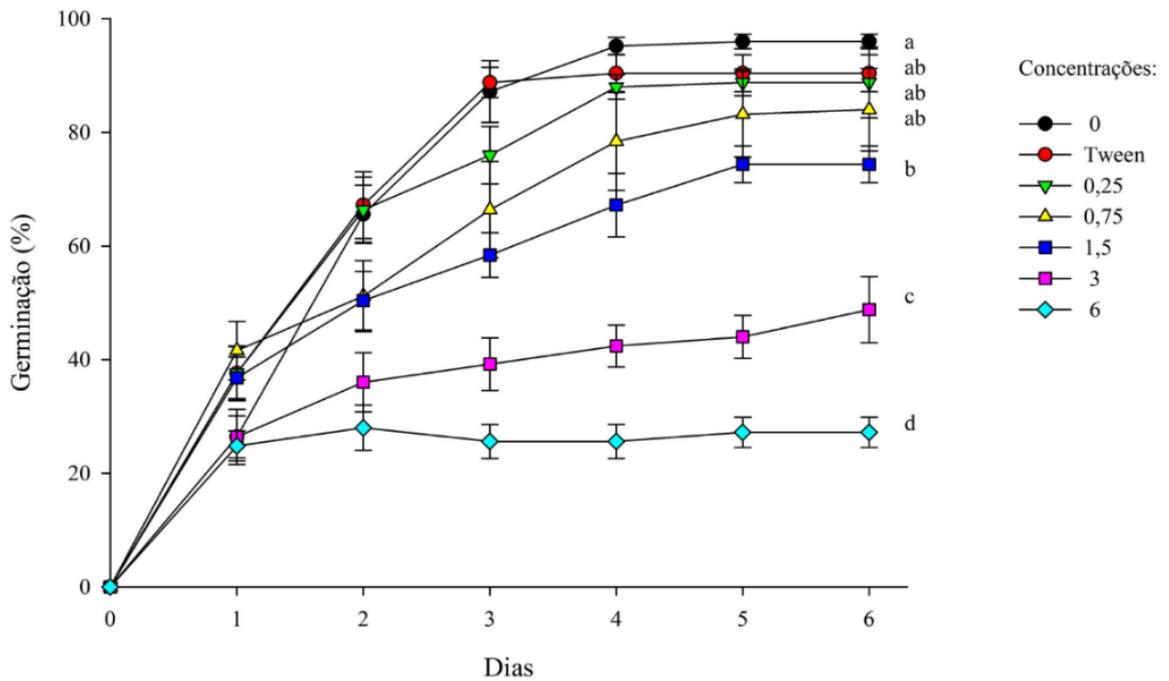
*C. sativus* não foi acometida por injúria ou necrose. Aponta-se que as plântulas submetidas a concentrações maiores que 1,5% de óleo apresentaram entumescimento na região do colo, indicando um crescimento celular lateralizado (Figura 13).

Figura 12 - Plântulas de *Cucumis sativus* sobre efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*.



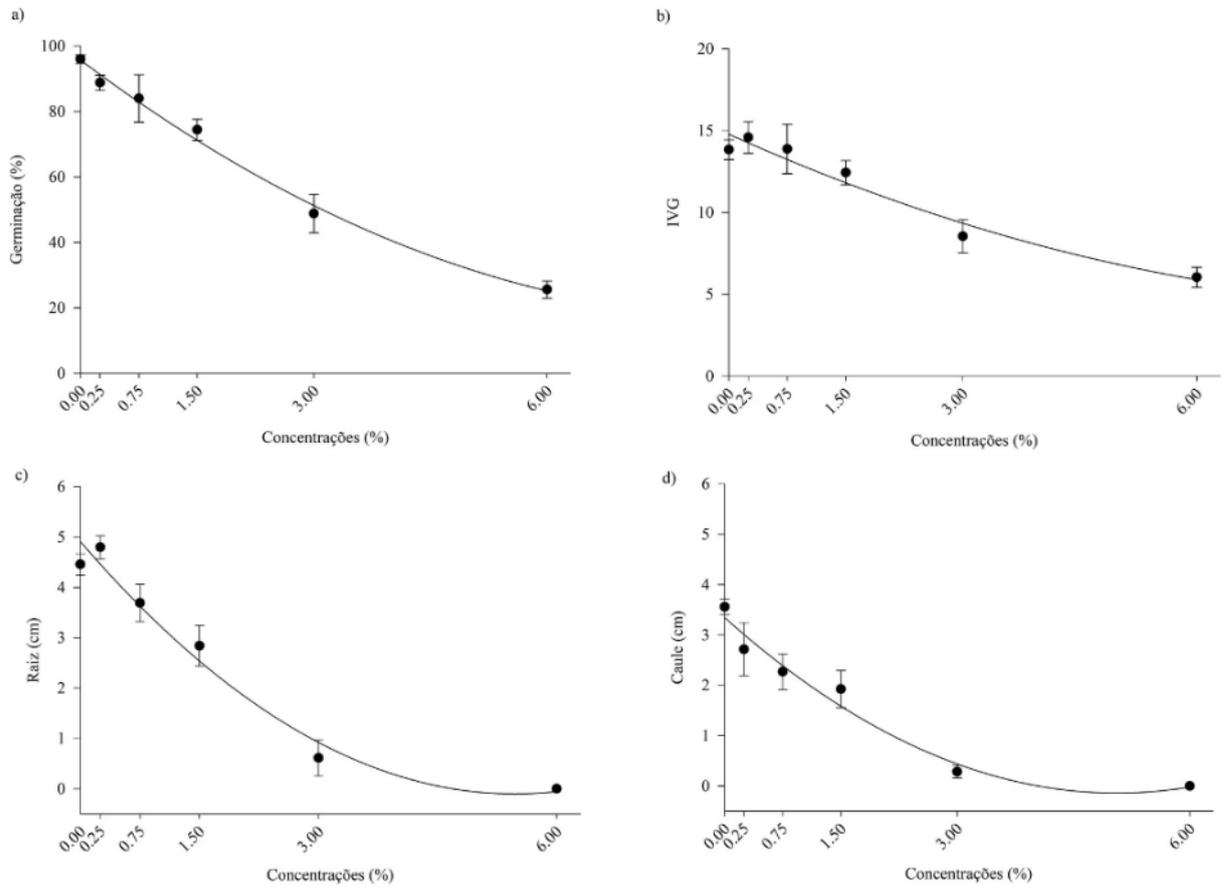
O OEC reduziu e atrasou a germinação de *T. aestivum* com o aumento das concentrações. A germinação final reduziu para 48,8 e 27,2% nas concentrações de 3 e 6% de óleo (Figura 14).

Figura 13 - Germinação acumulada de *Triticum aestivum*, sob diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



Os resultados por análise de regressão mostram uma redução gradativa para os parâmetros avaliados (Anexo). A linha de tendência para os comprimentos de raiz e caule chegou a valores negativos, indicando o comprometimento do crescimento inicial quando submetido a maiores concentrações de óleo (Figura 15).

Figura 14 - Percentual de germinação (a), Índice de velocidade de germinação (b), Comprimento da raiz (c) e do caule (d) de plântulas de *Triticum aestivum* submetida a diferentes concentrações do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



Não foi observada injúria ou necrose em *T. aestivum*, mas o crescimento inicial foi comprometido. (Figura 16).

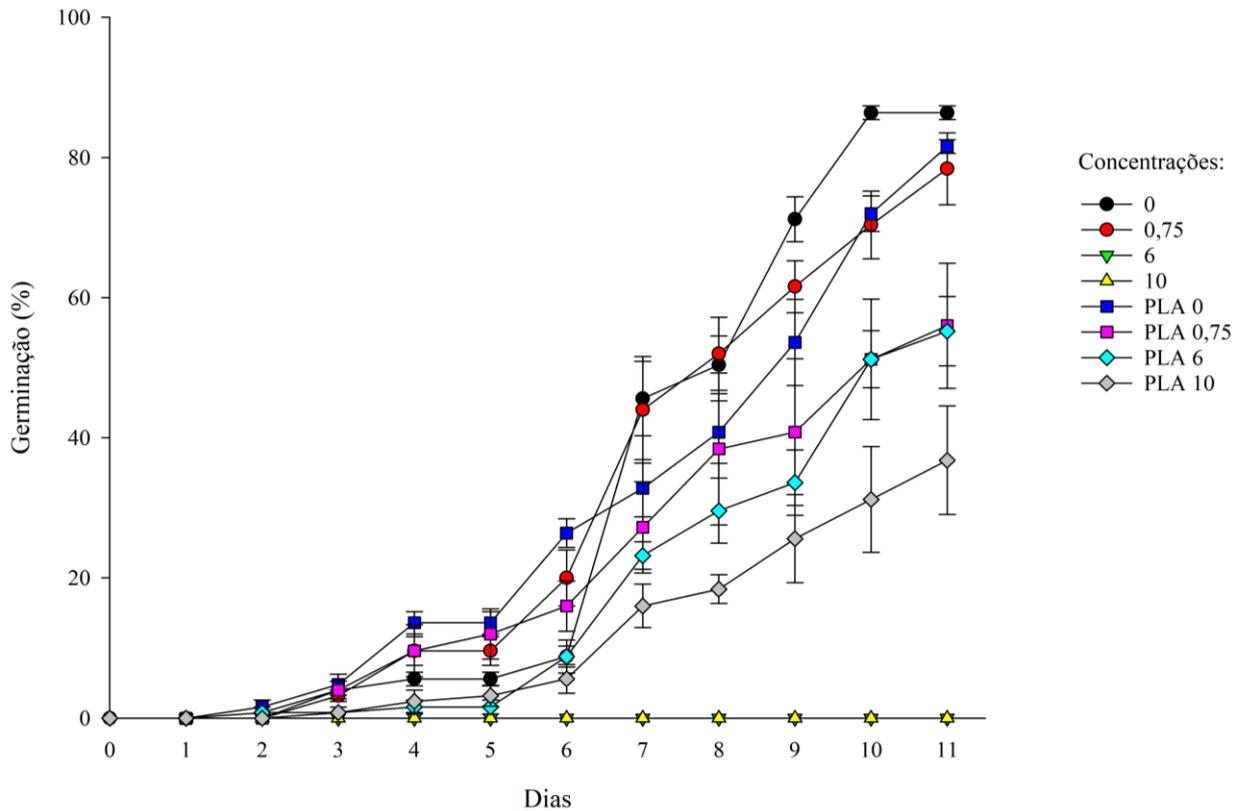
Figura 15 - Plântulas de *Triticum aestivum* sobre efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis*.



#### 4.2 Teste de germinação com óleo essencial livre e encapsulado – Experimento 2

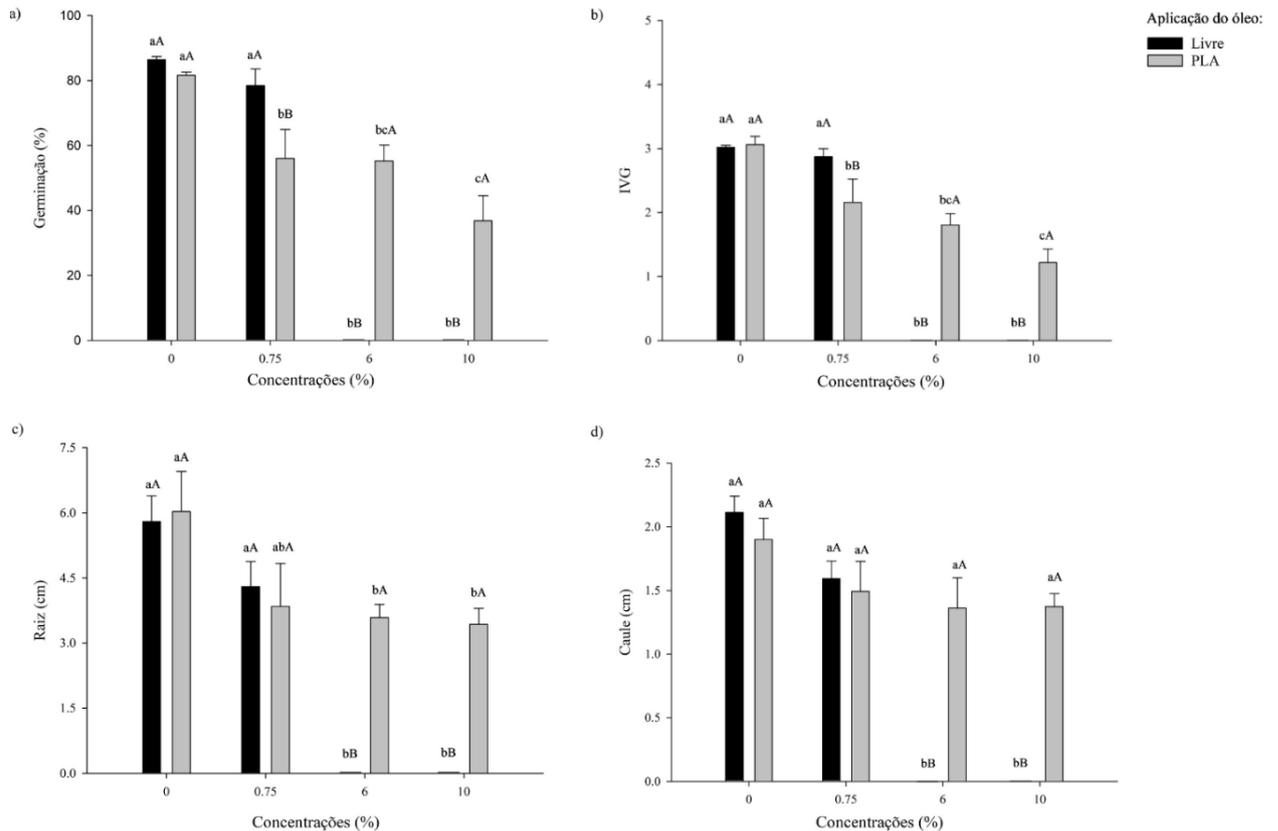
O OEC na pré emergência de *B. pilosa* reduziu a germinação conforme o aumento da concentração para as duas formas de aplicação. Os tratamentos controle, óleo livre (0%) e encapsulado (PLA 0%), não apresentaram diferença significativa entre eles. O óleo livre causou inibição de germinação nas concentrações de 6 e 10%. Já o óleo encapsulado ocasionou diminuição da germinação em todas as concentrações, tendo a menor germinação final sob 10% de óleo (Figura 17).

Figura 16 - Germinação acumulada de *Bidens pilosa*, sob diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. (Barra de erro; n=5)



O óleo encapsulado, na concentração de 0,75%, causou menor germinação (56%) que o óleo livre (78,4%) e nas concentrações de 6 e 10% o óleo livre inibiu a germinação (0%) e o óleo encapsulado reduziu a PG (55,2 e 36,8% de germinação, respectivamente). Seguindo padrão semelhante na comparação entre formas de aplicação, o IVG foi mais reduzido em 0,75% de óleo pelo encapsulado e em 6 e 10% foi mais reduzido pelo óleo livre (Figura 18). O comprimento de raiz foi reduzido nas concentrações de 6 e 10% para o encapsulado enquanto que o óleo livre inibiu totalmente esse parâmetro. O comprimento do caule não foi afetado significativamente pelo óleo encapsulado; já pelo óleo livre houve redução do crescimento nas concentrações de 6 e 10% não diferindo entre si (Figura 18).

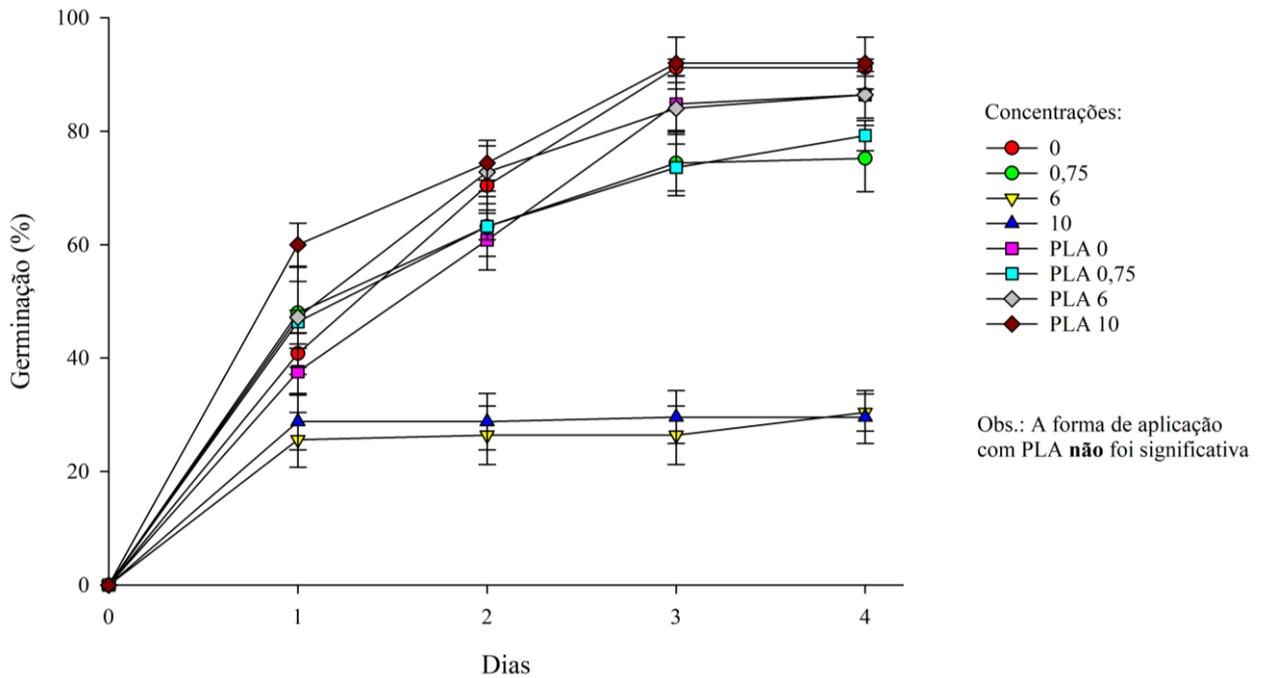
Figura 17 - Percentual de germinação (a), Índice de velocidade de germinação (b), Comprimento da raiz (c) e do caule (d) de plântulas de *Bidens pilosa* submetida a diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



Legenda: As letras minúsculas comparam as concentrações (0; 0,75; 6 e 10%) dentro de cada tipo de aplicação, as letras maiúsculas comparam as formas de aplicação (Livre e PLA) em cada concentração.

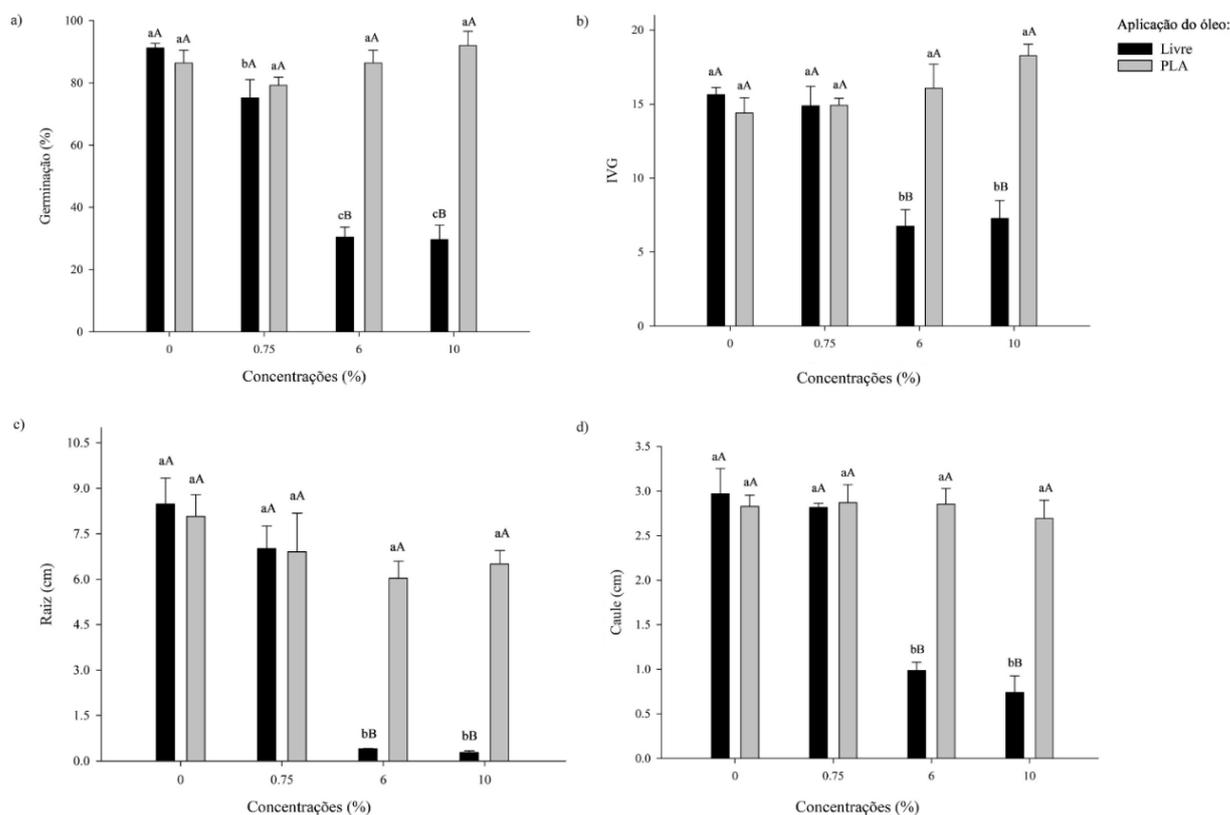
A aplicação do OEC encapsulado não afetou a germinação em nenhuma concentração diante da espécie *C. sativus*, durante o período observado. Para a aplicação do óleo livre, porém, ocorreu redução da germinação principalmente nas concentrações de 6 e 10% (Figura 19).

Figura 18 - Germinação acumulada de *Cucumis sativus*, sob diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. (Barra de erro; n=5)



Para o OEC encapsulado também não houve diferenças significativas para as variáveis PG, IVG comprimento de raiz e caule. Diante do óleo livre, a germinação reduziu para 30% nos tratamentos 6 e 10% de óleo, e o crescimento inicial diminuiu significativamente, tendo maior redução na raiz (de 8,5 cm no controle para menos de 0,5 cm nas duas maiores concentrações) que no caule (de 2,9 cm no controle para menos de 1 cm) (Figura 20).

Figura 19 - Porcentual de germinação (a), Índice de velocidade de germinação (b), Comprimento da raiz (c) e do caule (d) de plântulas de *Cucumis sativus* submetida a diferentes concentrações e formas de aplicação do óleo essencial de *Citrus sinensis*. Os dados são médias  $\pm$  erros padrão (n = 5).



Legenda: As letras minúsculas comparam as diferentes concentrações (0; 0,75; 6 e 10%) dentro de cada tipo de aplicação, as letras maiúsculas comparam as diferentes formas de aplicação (Livre e PLA) em cada concentração.

As características morfológicas observadas entre as diferentes aplicações apresentaram discrepâncias. Para OEC encapsulado, as plântulas mantiveram o padrão estrutural semelhante ao controle e ao que foi observado no experimento 1, com uma única raiz principal alongada. Para OEC livre, as plântulas do controle e 0,75% apresentaram formação incomum de várias raízes secundárias bem alongadas, podendo ser devido a características do lote de sementes e o crescimento foi interrompido nas concentrações de 6 e 10% do óleo. Não ocorreu injúria e necrose de tecidos nas plântulas em nenhuma das formas de aplicação (Figura 21).

Figura 20 - Plântulas de *Cucumis sativus* sobre efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus sinensis* – Forma de aplicação Livre (a) e Encapsulado (b).



## 5 DISCUSSÃO

Esse trabalho traz, pela primeira vez, a avaliação do efeito fitotóxico do OEC com diferentes formas de aplicação, livre e encapsulado, na pré-emergência de espécies daninhas *C. echinatus* e *B. pilosa*, e de cultivadas *C. sativus* e *T. aestivum* para avaliar seletividade. O OEC encapsulado em filme de PLA biodegradável foi um diferencial, com avaliação de sua eficácia em manter o efeito do óleo como técnica de aplicação inovadora, propondo começar a superar os desafios que até então impediram o desenvolvimento e uso do óleo em larga escala.

Os resultados mostraram que o OEC apresenta efeito fitotóxico na germinação e crescimento inicial das plantas daninhas analisadas, sendo provavelmente devido à mistura de compostos presente em sua composição, principalmente monoterpenos que podem atuar como aleloquímicos. Apesar de se ter conhecimento sobre terpenos gerarem estresse oxidativo e influenciar a geração de ERO, o efeito na redução dos parâmetros germinativos induzido por aleloquímicos é considerado secundário. Desencadeado por diversas interferências que podem ser causadas ao metabolismo vegetal, como inibição de atividade e divisão celular, modificação na permeabilidade da membrana celular, aumento na produção de ERO e, conseqüentemente, do estresse oxidativo (Radhakrishnan; Alqarawi; Abd\_Allah, 2018; Verzera *et al.*, 2004).

Foi observado que o efeito fitotóxico do OEC aumenta conforme o aumento da concentração. Para *Lactuca sativa* (alface), o efeito fitotóxico seguiu esse padrão de aumento conforme a concentração. Apesar de a planta modelo ser uma cultivada de interesse, já é sabido que esta apresenta grande sensibilidade a condições externas, por isso a redução de germinação e crescimento é um ponto positivo na análise de um novo produto químico, nesse caso um potencial bio-herbicida. Considerando as plantas daninhas, as duas maiores concentrações geraram maior redução de germinação e de crescimento inicial. A germinação de *C. echinatus* teve redução a partir da menor concentração de OEC aplicada, e sob as maiores concentrações houve inibição completa de germinação. Porém, a *B. pilosa* apresentou maior resistência ao efeito do OEC, sua germinação não foi alterada nas menores concentrações aplicadas e ocorreu inibição apenas sob a maior concentração, já sendo sabido que essa espécie tem características específicas que lhe conferem vantagem competitiva diante de várias culturas e resistência a alguns herbicidas, sendo fatores que podem ter contribuído para os resultados encontrados (Santos; Cury, 2011). Apesar dessa resistência de *B. pilosa*, o crescimento inicial de ambas foi comprometido em todas as concentrações de óleo aplicadas, causando atraso no desenvolvimento e, portanto, diminuição da vantagem

competitiva dessas daninhas. Considerando o manejo de plantas daninhas, tanto a inibição da germinação, como o retardamento no crescimento inicial são fatores positivos. No campo, esse atraso no crescimento das daninhas possibilita que as espécies cultivadas na primeira etapa da vida cresçam sem competição por recursos, possibilitando assim, maior incremento de matéria seca na fase vegetativa e, dependendo do tempo sem interferências, pode ter relevância no desempenho na fase reprodutiva (Pitelli, 1987; Agostinotto, 2008), conferindo as cultivadas, vantagem na relação interespecífica.

As espécies não alvo se mostraram menos sensíveis que as daninhas, não apresentando inibição de germinação. A espécie *T. aestivum* apresentou redução de germinação e crescimento pouco acentuados, contendo a germinação acima da média, exceto pelas duas maiores concentrações aplicadas, isso pode indicar certa seletividade do OEC, como já foi apontado para algumas espécies de daninhas por El Sawi et al. (2019). *C. sativus*, se mostrou a espécie menos sensível ao efeito do óleo, isto é, mesmo sob altas concentrações não teve redução da germinação, apenas atraso no crescimento. Os resultados não significativos para germinação diante do OEC podem indicar que essa espécie tenha algum mecanismo de proteção antioxidante que foi capaz de retardar ou reverter os danos gerados, porém como a ação do OEC no metabolismo ainda não está esclarecida, não é possível afirmar (Herrera, 1996). Ainda assim, essa resposta pode ser um ponto benéfico a ser explorado. A aplicação de um possível bio-herbicida a base do OEC seria eficiente contra daninhas e sem causar diminuição de germinação na plantação de interesse, podendo ser utilizado próximo a essa cultura e outras hortícolas da mesma família ou que tivessem resistência semelhante, sendo necessário mais estudos. De forma negativa, porém, a redução no crescimento inicial, principalmente o radicular, poderia impactar no desenvolvimento de *C. sativus* se essa passasse por algum estresse externo adicional, precisando de maior atenção no cultivo caso o uso do OEC livre fosse indicado para um manejo integrado de daninhas.

Cita-se ainda que a espécie *C. sativus* apresentou modificação morfológica inesperada na região do colo das plântulas quando submetidas as concentrações elevadas, sendo observado crescimento lateralizado e entumescimento da região. Esse efeito se assemelha ao provocado pelo fito hormônio etileno que é capaz de promover expansão lateral e causar engrossamento no hipocótilo ou epicótilo (Pierik *et al.*, 2006). A biossíntese desse hormônio pode ser induzida em condições de alguns tipos de estresses fisiológicos, incluindo estresse por químicos (Vieira *et al.*, 2010), porém não é possível afirmar que haja relação do efeito causado pelo OEC com o hormônio. Esse entumescimento também pode ter sido gerado em reação a alta concentração do óleo como um tipo de malformação. Considerando ainda o

aspecto morfológico, não foi observado nesse trabalho aparecimento de necrose ou injúria de tecidos nas plântulas testadas sob qualquer concentração de óleo, sendo diferente do que foi demonstrado para as espécies de *Euphorbia heterophylla* (amendoim-bravo) e *Ipomoea grandifolia* (corda de viola) que tiveram malformações sendo submetidas ao vapor de OEC (Ribeiro; Lima, 2012).

Demonstrou-se a atuação do OEC com padrão semelhante para *C. echinatus*, *B. pilosa* e também para *T. aestivum*, apesar de menos pronunciado. Em *C. sativus*, foi observado o efeito fitotóxico no crescimento, mas não na germinação. Não foi possível determinar relação de resposta entre espécies de monocotiledôneas e dicotiledôneas ou daquelas da mesma família botânica sendo sugerido, futuramente, a ampliação desses testes utilizando mais espécies para maior compreensão da seletividade do óleo.

De forma complementar e independente, o experimento 2 analisou os efeitos do OEC encapsulado em filme de PLA, visando menor volatilização e maior eficiência do óleo. A partir desse, foi observado que a liberação controlada parece ter ocorrido fazendo os processos germinativos de *B. pilosa* diminuírem gradualmente, tendo menor germinação e crescimento diante da maior concentração. Essa liberação contínua do óleo promove o efeito fitotóxico desejado e faz com que o efeito possa ser mantido por um maior tempo, enquanto houver compostos ativos (Mendes *et al.*, 2015), sendo um fator de interesse no contexto proposto, já que muitas daninhas apresentam mecanismo de germinação descontínua. O encapsulamento e micro encapsulamento do OEC com uso de outros materiais auxiliares já foi testado de forma eficiente, e assim como no presente trabalho, propõe-se que o OEC não teve suas propriedades ativas alteradas, confirmando a viabilidade da técnica (Sciortino *et al.*, 2021; Froiio *et al.*, 2019; Velmurugan *et al.*, 2017). Como fator atrativo da técnica cita-se ainda que a espécie de interesse *C. sativus* não apresentou redução de germinação e também não teve redução do crescimento inicial, podendo ser devido a liberação de doses menores do composto ativo, de forma que a planta sofresse menos prejuízos. Considerando o uso da técnica como um potencial bio-herbicida, o crescimento inicial da cultura de interesse não ser afetado é um ponto de grande importância, garantindo o sucesso do estabelecimento no meio.

Na análise comparativa entre as formas de aplicação, para *B. pilosa*, o óleo livre foi capaz de inibir a germinação, enquanto o óleo encapsulado apenas reduziu a porcentagem e velocidade da germinação. Assim, ao contrário da segunda hipótese proposta, o OEC encapsulado em PLA não se mostrou ser mais eficiente que o OEC livre em laboratório e pelo período analisado. Isso se deve provavelmente ao OEC livre ter maior quantidade do composto disponível e ter sido mantido em condições fechadas durante todo o experimento,

exceto nos momentos de análise, e assim os compostos volatilizados se mantiveram em contato com as sementes, potencializando o efeito fitotóxico. Apenas o vapor advindo de monoterpenos, já testado para OEC, causam prejuízos a germinação e ao crescimento vegetal, além de gerar mudanças fisiológicas em plântulas (Poser et al. 1996; Ribeiro; Lima, 2012). Ademais, mesmo que o óleo encapsulado não tenha superado o óleo livre em condições fechadas, ele é eficiente ao gerar efeito fitotóxico com redução de germinação e de crescimento da daninha, observado para *B. pilosa*, de forma que pode permitir o desenvolvimento de culturas, como ocorre para *C. sativus* não afetando parâmetros de germinação e crescimento. Nesse processo então, o óleo encapsulado seria benéfico no manejo de daninhas reduzindo a competição e dando maior vantagem para a cultivada, como já discutido anteriormente.

Sugere-se fortemente que novos experimentos sejam feitos, com base nos resultados aqui apresentados, em casas de vegetação (ambiente aberto) por um maior período de tempo e que a forma de aplicação seja comparada com materiais convencionais, para que assim o resultado seja congruente com a realidade no campo, visando demonstrar que o desempenho dos biodegradáveis pode ser tão eficiente quanto.

## 6 CONCLUSÃO

O estudo com o óleo essencial de *Citrus sinensis*, tanto livre quanto encapsulado em PLA, possui efeito fitotóxico que pode ser utilizado no controle de plantas daninhas, confirmando a primeira hipótese levantada. A segunda hipótese, porém, não foi aceita, já que OEC encapsulado não aumentou a eficiência e fitotoxicidade do óleo em laboratório. Diante dos resultados ainda, propõe-se que as maiores concentrações seriam as mais indicadas para estudos futuros, para o OEC livre 3 e 6% e para o encapsulado 6 e 10%.

Ainda há limitações e lacunas de conhecimento para serem ultrapassadas principalmente relacionada ao modo de ação do óleo e de seus compostos bioativos. Assim, é esperado que nossos resultados possam estimular pesquisas adicionais, auxiliando no desenvolvimento de produtos mais sustentáveis e tecnológicos. O incentivo à pesquisa e uso desses materiais é de extrema importância, podendo se adequar a pequenos produtores, na substituição dos herbicidas sintéticos e em sistemas agroflorestais, e assim contribuir para uma maior segurança alimentar e beneficiar a questão ecológica e ambiental.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINETTO, D. *et al.* **Período Crítico De Competição De Plantas Daninhas Com A Cultura Do Trigo.** Planta Daninha, v. 26, n. 2, p. 271-278, Viçosa-MG, 2008.
- ANDERSON, D. F. *et al.* **Evaluation of a Paper Mulch Made from Recycled Materials as an Alternative to Plastic Film Mulch for Vegetables.** Journal of Sustainable Agriculture, 7:1, 39-61, 2008.
- ASBAHANI, A. E. *et al.* **Essential oils: From extraction to encapsulation.** International Journal of Pharmaceutics, v.483, n.1, p.220–243, 2015.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Essential Oils of Science, Technology, and Applications.** 2 ed. CRS Press, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Brasília, 2009.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants.** Molecular biology plants. 2ed. 1264p. Hoboken: John Wiley e Sons, 2015.
- CORDEAU *et al.* **Bioherbicides: Dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management.** Crop Protection 87, p. 44 – 49, 2016.
- DHIFI, W. *et al.* **Essential Oils' Chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review.** Medicines, v.3, n.25, p.1-16, 2016.
- EL SAWI, S. A. *et al.* **Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species.** Annals of Agricultural Sciences 64 89–94, 2019.
- EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. *et al.* **Role of protein and mRNA oxidation in seed dormancy and germination.** Frontiers in Plant Science, v. 4, p.1-5, 2013.
- FAVELA-HERNÁNDEZ, J. M. J *et al.* **Review Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*.** Molecules (MDPI), 21, 247, 2016.
- FREITAS, F.C.L. *et al.* **Manejo de plantas daninhas na cultura do feijão-caupi.** In: II Congresso Nacional de Feijão-caupi. Belém, 2009.
- FROIO, F. *et al.* **Edible Polymers for Essential Oils Encapsulation: Application in Food Preservation.** Industrial & Engineering Chemistry Research, ACS Publications, 2019.
- GOTO, R. **Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura Normas de Classificação do Pepino.** Centro de Qualidade em Horticultura – CQH/CEAGESP. São Paulo, 2003.
- GREGÓRIO, D. F. S. **Controlo de infestantes em pré e pós-emergência na cultura do trigo mole (*Triticum aestivum* L.).** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônômica) - Universidade de Evora - Escola de Ciências e Tecnologia, 2023.

- HERRERA, R. S. **Allelopatia**. *Ciência & Educação*, Bauru, v. 02, p. 84-90, 1996.
- HOSNI, K. *et al.* **Secondary metabolites from *Chrysanthemum coronarium* (Garland) flowerheads: Chemical composition and biological activities**. *Industrial Crops and Products*, v.44, p. 267-271, 2013.
- HOSSAIN, F. *et al.* **Antifungal activities of combined treatments of irradiation and essential oils (EOs) encapsulated chitosan nanocomposite films in in vitro and in situ conditions**. *International Journal of Food Microbiology* 295, 33–40, 2019.
- HUANG, Y. *et al.* **Agricultural plastic mulching as a source of microplastics in the terrestrial environment**. *Environ Pollut*, 260, 114096, 2020.
- JABRAN, K. *et al.* **Allelopathy for weed control in agricultural systems**. *Crop Protection*, 72 (2015) 57e65, 2015.
- LORENZI H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. 7<sup>a</sup>.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 383p., 2014.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 608 p., 2000.
- MAGUIRE, J.D. **Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. *Crop Science*, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MAMUSA, M. *et al.* **Encapsulation of volatile compounds in liquid media: Fragrances, flavors, and essential oils in commercial formulations**. *Advances in Colloid and Interface Science*, Volume 298, December 2021, 102544, 2021.
- MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. **Herbicidas: Mecanismos de ação e uso**. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2008.
- MENDES, J.F. *et al.* **Biodegradable Polymer Blends Based On Cornstarch And Thermoplastic Chitosan Processed By Extrusione**. *Carbohydrate Polymers*, 2015.
- MENDES, J.F. *et al.* **Correlating emulsion characteristics with the properties of active starch films loaded with lemongrass essential oil**. *Food Hydrocolloids*, 2019.
- MENDONZA, I. R. C.; RIERA, M. A. **Ácido poliláctico: una revisión de los métodos de producción y sus aplicaciones. Polylactic acid: a review of production methods and their applications**. *Publicaciones en Ciencias y Tecnología*, v.16., n.1, p. 42-53, 2022.
- MONQUERO, P. A. **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**, Embrapa Amazônia Oriental (CPATU), p. 129-144, São Carlos, 2014.
- MURPHY, K. M.; DAWSON, J. C.; JONES, S. S. **Relationship among phenotypic growth traits, yield and weed suppression in spring wheat landraces and modern cultivars**. *Field Crops Research* 105, 107–115, Washington State University, 2008.

OERKE, E.-C. **Centenary Review Crop losses to pests.** Journal of Agricultural Science 144, 31–43, Cambridge University Press, 2006.

PERGO, E. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. **Changes in energy metabolism and antioxidant defense systems during seed germination of the weed species *Ipomoea triloba* L. and the Responses to Allelochemicals.** Journal of Chemical Ecology, v.37, n.5, p.500–513, 2011.

PEROTTI, V. E. *et al.* **Herbicide resistant weeds: A call to integrate conventional agricultural practices, molecular biology knowledge and new technologies.** Plant Science 290, Argentina, 2020.

PIERIK, R. *et al.* **The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation.** TRENDS in Plant Science Vol.11 No.4, abril, 2006.

PITELLI, R. A. **Competição E Controle Das Plantas Daninhas Em Áreas Agrícolas.** Série Técnica IPEF, v.4, n.12, p.1 – 24, Piracicaba, 1987.

POSER, G.L. *et al.* **Aromatic plants from Brazil: 4. Essential oil composition and allelopathic effect of the Brazilian Lamiaceae *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling and *Hesperozygis rhodon* Epling.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.44, p.1829–1832, 1996.

PUIG, C. G. *et al.* **Unravelling the bioherbicide potential of *Eucalyptus globulus* Labill: Biochemistry and effects of its aqueous extract.** Plos one, v.13, n.2, p.1-16, 2018.

RADHAKRISHNAN, R.; ALQARAWI, A. A.; ABD-ALLAH, E. F. **Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v.158, p.131–138, 2018.

RANAL, M. A. *et al.* **Calculating 483 germination measurements and organizing spreadsheets.** Revista Brasileira de Botânica, 484 32(4), 849–855, 2009.

RAVEAU, R. *et al.* **Essential Oils as Potential Alternative Biocontrol Products against Plant Pathogens and Weeds: A Review.** Foods, 9, 365, 2020.

RAZOLA-DÍAZ, M. del C. *et al.* **Recent developments in extraction and encapsulation techniques of Orange essential oil.** Food Chemistry 354 (2021) 129575, 2021.

RIBEIRO, J. P. N.; LIMA, M. I. S. **Allelopathic effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel essential oil.** Acta Botanica Brasilica 26(1): 256-259, 2012.

SANTOS, E. S. **Polímeros biodegradáveis de fonte renovável de maior relevância industrial: situação atual de mercado e perspectivas futuras.** Monografia (Engenharia Química), UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA – EEL/USP. Lorena, SP, 2020.

SANTOS, J. B.; CURY, J. P. **Picão-Preto: Uma planta daninha especial em solos tropicais.** Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 29, p. 1159-1171, 2011.

SCIORTINO, M. *et al.* **Silica-Microencapsulated Orange Oil for Sustainable Pest Control.** Advanced Sustainable Syst. 2021, 5, 2000280, 2021.

SERNA C. L.; RODRÍGUEZ DE S. A.; ALBÁN A. F. **Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones**. Ingeniería y Competitividad, ;5(1):16-2, 2023.

TAO, N.; LIU, Y.; ZHANG, M. **Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck)**. International Journal of Food Science and Technology, 44, 1281–1285, 2009.

THURMAN, E. M. *et al.* **A reconnaissance study of herbicides and their metabolites in surface water of the midwestern United States using immunoassay and gas chromatography/mass spectrometry**. American Chemical Society. Environ. Sci. Technol., 26, 2440-2447, Estados Unidos, 1992.

TUR. C. M.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z.; VILLELA, F. A. **Efeito alelopático de extratos aquosos foliares de *Lonchocarpus campestris* na germinação e no crescimento inicial de picão-preto**. Revista de Ciências Agrárias, v. 55, n. 4, p. 277-281, 2012.

VELMURUGAN, P. *et al.* **Encapsulation of orange and lavender essential oils in chitosan nanospherical particles and its application in leather for aroma enrichment**. *Surfaces and Interfaces*, 9, 124–132, 2017.

VERZERA, A. *et al.* **Biological lemon and sweet orange essential oil composition**. Flavour And Fragrance Journal. Flavour Fragr. J. 2004; 19: 544–548, 2004.

VIEIRA, E. L. *et al.* **Manual de fisiologia vegetal**. EDUFMA, 230 p, 2010.

## ANEXO

## Material complementar

Tabela 1 - Dados da análise estatística de regressão do Experimento 1

Espécies	Percentual de Germinação	Índice de Velocidade de Germinação	Raiz	Caule
<i>L. sativa</i>	f= 106.615 - 35.743x + 3.198x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.96 CV = 19.89 %	f= 16.897 - 8.436x + 0.999x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.89 CV= 22.06 %	f= 1.685 - 0.514x + 0.041x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.93 CV= 29.47 %	f= 1.121 - 0.435x + 0.042x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.93 CV= 23.93 %
<i>C. echinatus</i>	f= 67.72 - 31.98x + 3.457x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.99 CV= 23.93 %	f= 4.643 - 2.423x + 0.277x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.92 CV= 28.24 %	f= 6.524 - 3.6x + 0.426x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.92 CV= 40.72 %	f= 4.567 - 2.159x + 0.233x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.97 CV= 26.11 %
<i>B. pilosa</i>	f= 87.413 - 2.95x - 1.849x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.99 CV= 15.95 %	f= 4.906 - 1.264x + 0.078x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.98 CV= 23.29 %	f= 4.518 - 1.25x + 0.087x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.94 CV= 19.33 %	f= 1.817 - 0.238x - 0.009x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.99 CV= 13.2 %
<i>C. sativus</i>	*ns Média = 97.60 valor.p= CV= 2.89 %	*ns Média = 19.17 valor.p= CV= 9.03 %	f= 4.868x - 1.698x + 0.163x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.98 CV= 22.14 %	f= 1.493 - 0.258x - 0.028x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.97 CV= 12.33 %
<i>T. aestivum</i>	f= 95.784 - 18.10x + 1.10x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.99 CV= 13.81 %	f= 14.788 - 2.144x + 0.11x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.96 CV= 18.56 %	f= 4.906 - 1.83x + 0.167x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.97 CV= 24.24 %	f= 3.346 - 1.378x + 0.136x <sup>2</sup> valor.p= R <sup>2</sup> = 0.97 CV= 38.78 %