

**INSTITUTO FEDERAL GOIANO
CAMPUS MORRINHOS
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

MURIEL PEREIRA MARQUES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA ERVA CIDREIRA (*Lippia
alba*) E ATIVIDADE BIOLÓGICA NO CONTROLE DE NEMATÓIDES**

**MORRINHOS
2021**

MURIEL PEREIRA MARQUES

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA ERVA CIDREIRA (*Lippia alba*) E ATIVIDADE BIOLÓGICA NO CONTROLE DE NEMATÓIDES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, como requisito parcial para obtenção do grau de licenciado em Química.

Orientadora: Dra. Carla de Moura Martins.

Coorientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

MORRINHOS

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

M357c Marques, Muriel Pereira .

Composição química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba*) e atividade biológica- Campus Morrinhos. / Muriel Pereira Marques. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2021.

45 f. : il. color.

Orientadora: Dra. Martins, Carla de Moura

Coorientador: Dr. Silva, Rodrigo Vieira

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Química Licenciatura, 2021.

1. Orgânica. 2. Análise. 3. Planta. 4. Nematicida. 5. Pragas. I. Martins, Carla de Moura. II. Silva, Rodrigo Vieira, III. Instituto Federal Goiano. IV. Título.

CDU 54



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Muriel Pereira Marques

Matrícula: 2016104221550099

Título do Trabalho: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA ERVA CIDREIRA (*Lippia alba*) E ATIVIDADE BIOLÓGICA NO CONTROLE DE NEMATOIDES

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 28/10/2021

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Morrinhos - GO, 27 / 10 / 2021

Local

Data

Muriel Pereira Marques

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Carla de Moura Martins

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Declaração nº 277/2021 - CCEG-MO/CEG-MO/DE-MO/CMPMHOS/IFGOIANO

TERMO DE APROVAÇÃO

**Composição química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba*) e
atividade biológica no controle de nematoides.**

Muriel Pereira Marques

Trabalho de conclusão do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal Goiano – *Campus* Morrinhos. Apresentado às **15 horas** de **30 de agosto de 2021**. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o candidato **aprovado**.

(Assinado Eletronicamente)

Prof.^a M.e Alanna Evellin Alves Ferreira
(IF Goiano – Morrinhos)
Avaliadora

(Assinado Eletronicamente)

Prof. Dr. Deomar Plácido da Costa
(IF Goiano – Morrinhos)
Avaliador

(Assinado Eletronicamente)

Prof.^a Dr.^a Carla de Moura Martins
(IF Goiano – Morrinhos)
Orientadora

Documento assinado eletronicamente por:

- Deomar Placido da Costa, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 10/09/2021 12:47:08.
- Alanna Evellin Alves Ferreira, ASSISTENTE DE ALUNO, em 08/09/2021 14:57:03.
- Carla de Moura Martins, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 30/08/2021 17:35:22.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 30/08/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 304438

Código de Autenticação: dd51a041f7



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Morrinhos
Rodovia BR-153, Km 633, Zona Rural, None, MORRINHOS / GO, CEP 75650-000
(64) 3413-7900

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder a vida, por permitir que eu possa alcançar mais esse objetivo pessoal e por me permitir amadurecer com os obstáculos que enfrentei. Agradeço aos meus pais e a toda minha família pelo apoio, pelo incentivo que sempre me deram e por sempre estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis durante esses anos de graduação. Gostaria de agradecer a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para que esse momento pudesse chegar, em especial ao meu colega de curso Bruno Nogueira e aos demais colegas de curso que estavam à disposição para me ajudar durante o curso. Agradeço a orientadora desse trabalho a professora Dra. Carla de Moura Martins e o coorientador o professor Dr. Rodrigo Vieira da Silva pela orientação nesse trabalho. Agradeço ao ex-aluno do curso de agronomia Edcarlos pela ajuda na realização do teste da atividade nematocida do óleo essencial. Gostaria de agradecer também a todos os professores do curso de química por contribuírem na minha formação acadêmica e pessoal.

A todos meu muito obrigado!

Dedico esse trabalho a minha família que sempre esteve comigo nos momentos bons e nos momentos mais difíceis que passei. Em especial dedico esse trabalho aos meus pais que sempre me apoiaram e fizeram de tudo por mim.

RESUMO

O óleo essencial das plantas tem aplicação em diversas áreas, como por exemplo, na indústria de cosmético e na Aromaterapia. Além disso, alguns estudos têm testado o efeito do óleo essencial no combate a pragas agrícolas. Destarte, esse trabalho teve como objetivo identificar os compostos presentes no óleo essencial das folhas da *Lippia alba* e determinar a atividade nematocida do óleo dessa planta. Para isso foi realizado a coleta da planta *L. alba*, também conhecida popularmente como erva cidreira e foi feita a extração do óleo essencial da planta. A coleta da erva cidreira foi feita na cidade de Morrinhos – GO e seu óleo essencial foi extraído no laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, por meio do processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger. Após a extração do óleo essencial foram realizadas a análise da composição química e o teste da atividade nematocida do óleo. A análise foi feita a partir do aparelho Cromatógrafo gasoso acoplado ao Espectrômetro de massa (CG-EM) e o teste da atividade nematocida foi feito a partir da preparação de uma solução contendo J2 de *Meloidogyne javanica* e uma solução solubilizante contendo 100 mL de água destilada, 10 mL de álcool etílico e 3 mL de Tween. Para iniciar o teste da atividade nematocida do óleo foi preparado em quintuplicatas 5 tubos de ensaio contendo 2 mL da solução de nematoides e 100 μL da solução solubilizante e depois foi acrescentado em cada um dos 4 tubos em quintuplicatas volumes diferentes de óleo essencial. No teste foi testado as concentrações de 0,2, 0,4, 0,8 e 1,6 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial. Foi obtido como resultado da análise da composição química do óleo essencial 26 compostos. Os compostos citral e neral foram os compostos com os picos de maior intensidade no cromatograma do óleo essencial da erva cidreira. No teste biológico, todas as concentrações de óleo essencial apresentaram ação nematocida, no entanto o valor de nematoides mortos foi muito baixo em relação ao total de nematoides em cada ensaio. Dessa forma, as quantidades de óleo essencial utilizadas nessa pesquisa não foram eficientes para o controle de nematoides. Entretanto, vale ressaltar que o óleo essencial da erva cidreira apresentou atividade nematocida e o uso de quantidades maiores que as usadas neste trabalho pode levar a resultados mais satisfatórios.

ABSTRACT

Plant essential oil is used in several areas, such as in the cosmetic industry and aromatherapy. In addition, some studies have tested the effect of essential oil in the fight against agricultural pests. Thus, this work aimed to identify the compounds present in the essential oil of *Lippia alba* leaves and to determine the nematicide activity of the oil of this plant. For this purpose, the plant *L. alba* was collected, also popularly known as lemon balm and the essential oil extraction of the plant was made. The collection of lemon balm was made in the city of Morrinhos - GO and its essential oil was extracted in the Laboratory of Organic Chemistry of the Federal Institute Goiano - Campus Morrinhos, through the hydrodistillation process using the Clevenger apparatus. After the extraction of the essential oil, the chemical composition analysis and the test of the nematicide activity of the oil were performed. The analysis was made from the gas chromatograph device coupled to the mass spectrometer (CG-MS) and the nematicide activity test was made from the preparation of a solution containing J2 of *Meloidogyne javanica* and a solubilizing solution containing 100 mL of distilled water, 10 mL of ethyl alcohol and 3 mL of Tween. To start the test of the nematicide activity of the oil was prepared in quintuplicates 5 test tubes containing 2 mL of nematode solution and 100 μ L of the solubilizing solution and then was added in each of the 4 tubes in quintuplicatas different volumes of essential oil. In the test, the concentrations of 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 μ L mL⁻¹ of essential oil were tested. 26 compounds were obtained as a result of the chemical composition of the essential oil. The citral and neral compounds were the compounds with the highest peaks in the chromatogram of the essential oil of the lemon balm. In the biological test, all concentrations of essential oil showed nematicide action, however the value of dead nematodes was very low in relation to the total nematodes in each assay. Thus, the amounts of essential oil used in this research were not efficient for the control of nematodes. However, it is worth mentioning that the essential oil of lemon balm showed nematicide activity and the use of larger amounts than those used in this study may lead to more satisfactory results.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

OE	Óleo essencial
OEs	Óleos essenciais
CG-EM	Cromatógrafo gasoso acoplado ao Espectrômetro de massa
mL	Mililitro
µL	Microlitro
J2	Juvenis de segundo estágio
EI	<i>Electron ionization</i> (Ionização por Impacto de Elétrons)
eV	Elétrons-volts

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Foto da planta erva cidreira (<i>Lippia alba</i>)	5
Figura 2: Formula estrutural do monoterpeno e do sesquiterpeno	8
Figura 3: Formula estrutural do Isopreno	9
Figura 4: Estrutura do esqueleto de um fenilpropanoide	9
Figura 5: À esquerda uma raiz saudável e à direita uma raiz atacada por nematoides do gênero <i>Meloidogyne</i>	12
Figura 6: Imagem da exsicata da <i>Lippia alba</i>	14
Figura 7: Nematóide considerado morto	18
Figura 8: Cromatograma do óleo essencial de erva cidreira	19
Figura 9: Regiões do cromatograma do óleo essencial de erva cidreira ampliada ..	20
Figura 10: Imagem do software mostrando a comparação dos espectros de massa para o composto citral	22
Figura 11: Estrutura química dos compostos identificados no OE	24
Figura 12: Gráfico da média de J2 mortos x concentração de OE de erva cidreira .	26
Figura 13: Gráfico da média de J2 mortos x concentração de OE de erva cidreira - desconsiderando o teste T ₁	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade de material vegetal e água destilada usados nas extrações .	16
Tabela 2: Quantidade de OE utilizados no teste.....	18
Tabela 3: Compostos identificados no OE de erva cidreira (<i>Lippia alba</i>)	21
Tabela 4: Mortalidade dos J2 com a variação de OE de erva cidreira.....	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	2
3. OBJETIVO	4
3.1. OBJETIVO GERAL	4
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
4. ERVA CIDREIRA (<i>Lippia alba</i>).....	5
5. ÓLEO ESSENCIAL.....	7
6. NEMATOIDES.....	11
7. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	14
7.1. IDENTIFICAÇÃO DA ERVA CIDREIRA (<i>Lippia alba</i>)	14
7.2. COLETA E PREPARAÇÃO DA ERVA CIDREIRA (<i>Lippia alba</i>).....	15
7.3. EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	15
7.4. ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO.....	16
7.5. IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES PRESENTES NO ÓLEO ESSENCIAL.....	17
7.6. TESTE BIOLÓGICO	17
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
8.1. IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL	19
8.2. TESTE BIOLÓGICO	25
9. CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são compostos voláteis presentes em algumas plantas e podem ser extraídos por diferentes métodos. A composição química dos OEs pode variar dependendo de diversos fatores, como por exemplo, da parte da planta que é utilizada para fazer a extração do óleo, da época e do local de coleta do material (WILSON, 2018). Na atualidade, os OEs possuem várias aplicações, como por exemplo, na indústria de cosmético e aromaterapia (LOUREIRO, 2012), além de haver pesquisas sobre o uso de OEs no controle de pragas agrícolas, como por exemplo, no controle de nematoides (GONÇALVES, BARBOSA, *et al.*, 2016).

De forma geral, os OEs possuem diversas aplicações, graças as propriedades dos seus componentes. Em relação ao uso dos OEs no manejo de pragas, há estudos que comprovaram sua eficiência no controle de diversos patógenos. Nesse contexto, os OEs podem vir a ser uma boa alternativa no controle de nematoide, um patógeno que pode se alojar nas raízes das plantas prejudicando seu desenvolvimento ou até mesmo levá-la à morte (MACHADO, BERLITZ, *et al.*, 2012).

O ataque dos nematoides à plantação compromete a colheita e gera prejuízo financeiro aos agricultores, por isso, é necessário que haja o controle desses parasitas de plantas. No entanto, o uso de alguns produtos para esse fim pode ser tóxico ao meio ambiente. Neste contexto, OE de algumas plantas pode representar uma alternativa natural de controle de nematoide que causa menor dano ao meio ambiente (GARCIA, MATIAS e MORBECK, 2018).

Portanto, buscou-se reunir informações com o propósito de responder ao seguinte problema de pesquisa: Qual a eficácia do óleo essencial da *Lippia alba* no controle de nematoides?

O objetivo desse trabalho foi identificar os compostos presentes no óleo essencial das folhas da *L. alba* e verificar a atividade nematicida do óleo, de forma a contribuir no controle de nematoides como produto de menor toxicidade, sem agredir ao meio ambiente. Para isso será explicado o que são os OEs, em seguida será feita uma breve explicação sobre os nematoides. Por fim, serão apresentados os resultados da análise da composição química e os resultados do teste da atividade nematicida do OE da *L. alba*.

2. JUSTIFICATIVA

Muitos estudos ao longo dos anos mostram que alguns óleos essenciais exercem atividade antimicrobiana contra um amplo tipo de microrganismos, como por exemplo o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra biofilmes de *Staphylococcus aureus* e dermatófitos (LANG e BUCHBAUER, 2012). O óleo essencial dos gêneros da família Lamiaceae apresentaram forte atividade antimicrobiana (LANG e BUCHBAUER, 2012). Segundo Soares e colaboradores (2012) no teste que realizou da ação inseticida dos óleos essenciais de anis estrelado (*Illicium verum*) e pimenta-longa (*Piper hispidinervum*) foi verificado efeito inseticida dos dois óleos sobre o pulgão *Macrosiphum euphorbiae*, sendo que o óleo de anis estrelado foi mais efetivo contra o pulgão *M. euphorbiae* por ter maior quantidade do composto (*E*)- anetol.

Os óleos essenciais das espécies *Aloysia virgata*, *Lippia brasiliensis*, *Lantana trifolia* e *Lantana montevidensis* tiveram atividade moderada no controle de cepas de bactérias Gram-positivas *Bacillus cereus* e *S. aureus* e o óleo da espécie *A. virgata* ainda apresentou atividade contra a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*. A constituição química desses óleos, extraídos de plantas coletadas em Minas Gerais, predomina compostos sesquiterpênicos. O gênero *Lippia* apresentou uma concentração maior de (*E*)-cariofileno que de germacreno, diferente dos gêneros *Lantana* e *Aloysia* que apresentaram concentração mais elevada de germacreno D em relação ao (*E*)-cariofileno (MONTANARI, BARBOSA *et al.*, 2010).

Em relação ao uso de óleos essenciais da *L. alba* no controle de pragas, um estudo no controle de lagartas conclui que esse óleo possui compostos que apresentam atividade inseticida (NICULAU, ALVES, *et al.*, 2013). Em outro estudo, o óleo essencial da *L. alba* e *Ocimum gratissimum* apresentaram potencial inseticida contra a espécie de inseto *Spodoptera frugiperda*, sendo os compostos geranial e neral os constituintes majoritários do óleo de *L. alba* e eugenol como componente principal do óleo de *O. gratissimum*. Esses óleos representam uma alternativa de inseticidas botânicos biodegradáveis e de baixa toxicidade a vertebrados (GARCIA, MATIAS e MORBECK, 2018).

O OE de *L. alba* tem apresentado resultados promissores no combate a diversos tipos de pragas. Nesse contexto, é interessante explorar a atividade biológica desse óleo frente a outros organismos patógenos. Destarte, nesse trabalho foi

avaliado o efeito nematicida do óleo essencial da *L. alba* e identificado os compostos presentes nele.

3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GERAL

Identificar os compostos presentes no óleo essencial das folhas de *Lippia alba* e determinar a atividade nematicida.

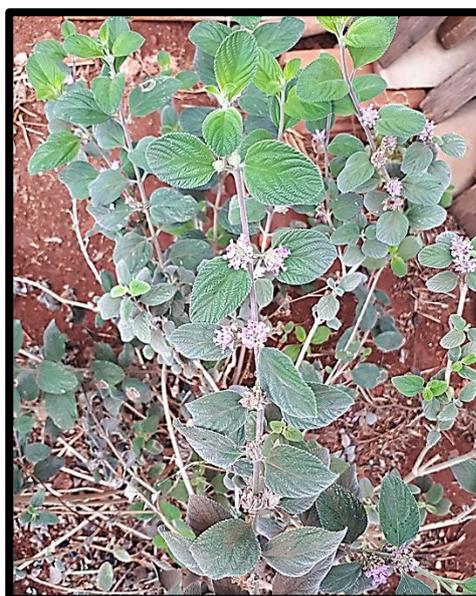
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo essencial da planta *Lippia alba*;
- Identificar a composição química do óleo essencial da *Lippia alba*;
- Determinar a atividade nematicida contra *Meloidogyne javanica* do óleo essencial da *Lippia alba*;
- Relacionar os componentes identificados no óleo essencial da *Lippia alba* com o controle de nematoides.

4. ERVA CIDREIRA (*Lippia alba*)

A erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown) pertencente à família Verbenaceae, que também inclui outras plantas medicinais importantes como o cidrão (*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) Britt.) e gervão (*Verbena officinalis* L.) (HENNEBELLE, SAHPAZ, *et al.*, 2008). É uma espécie arbustiva que possui muitos ramos e pode atingir até 3 m de altura. Os caules possuem seção transversal com presença de pelos curtos quando novos e sem pelos quando velhos. As folhas são pequenas, de cor verde a verde-acinzentadas e estão dispostas de forma oposta-cruzada, elas possuem formato elíptico a oval com borda serrada e superfície um pouco áspera na face superior e levemente aveludada e com nervuras proeminentes no lado inferior. Nos ramos que produzem flores, as flores ficam na junção entre o ramo e a folha, as flores são pequenas de pétalas de cor violeta com fundo amarelo (CORDEIRO, 2020). Conforme pode ser observado na Figura 1.

Figura 1: Foto da planta erva cidreira (*Lippia alba*)



Fonte: O autor (2019)

A *L. alba* está presente por toda região da América tropical e subtropical, sendo encontrada por todo o Brasil, como planta espontânea em terrenos desabrigados ou cultivadas em hortas medicinais (AGUIAR e COSTA, 2005). O local onde a planta é cultivada é um dos fatores que pode influenciar na composição química da planta. Em

uma pesquisa com *L. alba* oriunda de diferentes localidades da Região Sul do Brasil foram identificados sete quimiotipos diferentes de óleos essenciais dessa espécie (FORMOLO, DELAMARE e PAULETTI, 2009).

Na América Latina, devido à ampla utilização tradicional, os nomes populares atribuídos a *L. alba* são numerosos e, estão relacionados ao odor aromático ou as propriedades medicinais da planta (HENNEBELLE, SAHPAZ, *et al.*, 2008). A *L. alba* é denominada popularmente como melissa ou falsa melissa, erva cidreira, erva cidreira de arbusto ou cidreira brasileira, chá de tabuleiro, salva limão, alecrim do campo, entre outros nomes (CORDEIRO, 2020).

Hennebelle e colaboradores (2008), relataram que a espécie *L. alba* é principalmente usada contra: doenças digestivas, respiratórias, cardiovasculares; como sedativo e anti-hipertensivo. De acordo com Tavares, Momenté e Nascimento (2011) a erva cidreira possui propriedades anti-infecciosa e analgésica e tem em sua composição compostos químicos com ação anti-protozoária, bactericida e antifúngica, podendo ser explorados na agricultura, no controle de doenças fitopatogênicas.

5. ÓLEO ESSENCIAL

Os OEs são obtidos de plantas e possuem diferentes componentes químicos com concentrações variadas. Devido sua composição, os OEs possuem diversas propriedades que despertam grande interesse dos seres humanos. De acordo com Wilson (2018), pode-se dizer que os óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis concentrados, que podem ser extraídos de diversas partes do corpo das plantas, como folhas, flores, cascas e caule. Nesse contexto, a composição química do OE pode variar dependendo da parte da planta que é utilizada para fazer a extração dele.

De acordo com Evans (2017) os óleos essenciais podem conter substâncias químicas de diferentes funções orgânicas, como álcoois, cetonas, ésteres, aldeídos e fenóis e que essas substâncias podem ser afetadas por diferentes fatores como por exemplo o local de coleta da planta, o método de coleta, o clima do local e até mesmo o processo utilizado para a extração do óleo essencial. Conforme Wichrowski (2007), a maioria dos óleos essenciais são de aroma agradável e que pela volatilidade o óleo essencial lembra mais um álcool do que um óleo. Assim, salienta-se que os OEs evaporam facilmente se expostos a temperatura ambiente. Dessa forma, é importante manter os cuidados no armazenamento do OE, para que não haja perda parcial ou completa dele por evaporação.

Pode-se dizer, de acordo com as ideias de Wilson (2018) e de Wichrowski (2007) que uma das características principais dos óleos essenciais é evaporar com facilidade, até mesmo em temperatura ambiente. Essas características corroboram a definição de óleo essencial de Gonsalves (1989, p. 92) que diz que os óleos essenciais "são substâncias líquidas, oleosas, voláteis e aromáticas". Gonsalves (1989, p. 92) ainda diz que:

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias orgânicas, podendo apresentar de 100 a 150 componentes ou mais, mas o interesse recai sobre os que apresentam um componente em maior proporção. Por exemplo: no óleo essencial de menta, o mentol está na proporção de 80%; no óleo essencial do cravo-da-índia, o eugenol está na proporção de 70%.

O autor evidencia que os OEs são uma mistura de várias substâncias orgânicas, no entanto há substâncias com concentrações bem maiores que as demais. Segundo Bakkali (2008) geralmente existem de dois a três componentes em

maiores concentrações em um óleo essencial, eles são chamados de componentes majoritários e são os responsáveis por caracterizar as propriedades do óleo.

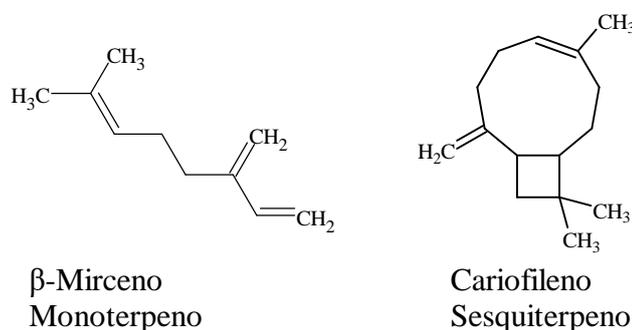
De acordo com Rothfeld e Levert (1997, p. 135):

Os óleos essenciais são essências vegetais delicadas e altamente concentradas. É preciso uma grande quantidade de material vegetal para se fazer um pequeno volume de óleo essencial: para fazer 30 gramas de óleo de alfazema, por exemplo, são necessários cerca de 6 quilos de flores frescas.

Pode-se dizer que o rendimento do OE é baixo em relação a quantidade de material vegetal que é utilizado na extração, conforme Rothfeld e Levert (1997) precisa-se de cerca de 6 quilos de flores frescas para obter 30 gramas de óleo essencial de alfazema. Assim é necessário todo cuidado possível para garantir o maior rendimento do OE, por exemplo, "o momento escolhido para a colheita é significativo, porque afeta não só a concentração de óleo essencial na planta, mas também sua composição química" (PRICE, 1999, p. 12). Dessa forma é importante se atentar para o período mais ideal de colheita da planta, pois ele pode afetar a concentração e a composição química do OE.

Nos óleos essenciais são encontrados principalmente monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, sendo esses metabólitos os responsáveis por suas características organolépticas (BIZZO, HOVELL e REZENDE, 2009). Na Figura 2 pode ser visualizado a imagem de um monoterpeno e de um sesquiterpeno.

Figura 2: Formula estrutural do monoterpeno e do sesquiterpeno

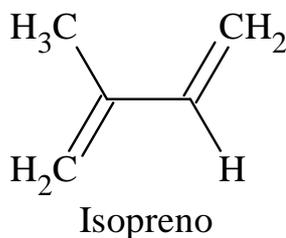


Fonte: O autor.

Os monos e o sesquiterpenos fazem parte da classe dos terpenos, que são estruturas formadas por moléculas de isopreno. A molécula do isopreno é formada

por cinco átomos de carbono, oito átomos de hidrogênio e possui duas insaturações como pode ser observado na Figura 3.

Figura 3: Formula estrutural do Isopreno

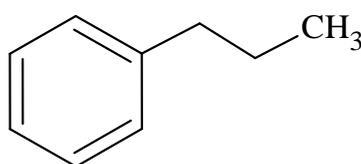


Fonte: O autor.

A classe dos terpenos é um grupo de compostos naturais muito grande e diversificado, estando presente em quase todas as plantas. Eles são classificados de acordo com a quantidade de unidades de isopreno presentes na sua estrutura. Sendo os hemiterpenos constituídos por cinco átomos de carbono ou uma unidade de isopreno, os monoterpenos constituídos por 10 carbonos, os sesquiterpenos por 15 carbonos, os diterpenos por 20 carbonos, os triterpenos por 30 carbonos, os tetraterpenos por 40 carbonos e os politerpenos por várias unidades de isoprenos. Essa classe de composto pode ter estruturas cíclicas, abertas e aromáticas como também átomos de oxigênio formando alcoóis, cetonas, aldeídos e ésteres (MONTANARI, BARBOSA, *et al.*, 2010).

As estruturas dos fenilpropanóides são formadas por um anel aromático de seis carbonos com uma cadeia lateral de três carbonos. Na cadeia lateral sempre é observado uma dupla ligação, mas apenas ocasionalmente um grupo funcional oxigenado. O anel aromático pode se mostrar substituído (MONTANARI, BARBOSA, *et al.*, 2010). Na Figura 4 pode ser observado a estrutura do esqueleto de um fenilpropanoide.

Figura 4: Estrutura do esqueleto de um fenilpropanoide



Esqueleto dos fenilpropanóides

Fonte: O autor.

Em uma pesquisa realizada com o óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) coletada em Ilhéus no sul da Bahia durante a primavera, foram identificados em maiores porcentagens os componentes citral (uma mistura de neral e geranial), geraniol, linalol, acetato de geranila, sabineno, nerol, germacreno B, paracimeno, 6-metil-5-hepten-2-ona, β -cariofileno, 1-octen-3-ol e o β -mirceno. O geranial compondo 46,9% do óleo essencial foi o componente majoritário, seguido pelo neral compondo 32,1% do óleo (SILVA, OLIVEIRA, *et al.*, 2006).

Em relação a propriedade dos óleos essenciais, cada OE possui propriedades que o caracterizam, conforme cita Loureiro (2012, p. 19):

Cada óleo possui um cheiro específico e determinadas propriedades curativas que o caracterizam. Por exemplo, o óleo essencial de alfazema, que está entre os mais multifacetados, possui propriedades analgésicas, anticonvulsivas, antidepressivas, antimicrobianas, antirreumática, antiespasmódicas, carminativas, colagogas, cicatrizantes, diuréticas, emenagogas, sedantes, tónicas, entre outras.

Os OEs podem ser usados no tratamento de diversas doenças. De acordo com Estanislau e colaboradores (2001), o óleo de cinco espécies de *Eucalyptus*, cultivadas no estado de Goiás, apresentaram ação antibacteriana contra a bactérias *S. aureus*.

Segundo Montanari e colaboradores (2010), as espécies *Astronium fraxinifolium*, *Myracrodruon urundeuva* e *Schinus terebinthifolius* possuem óleos essenciais que demonstraram atividades moderadas contra cepas de bactérias Gram-positivas *B. cereus* e *S. aureus* e Gram-negativa *E. coli*. O autor enfatiza que a época de coleta da espécie *S. terebinthifolius* influencia no potencial antibacteriano do óleo extraído das folhas da planta, pois pode influenciar a sua constituição química. É possível afirmar que, os OEs possuem uma série de utilidades, na indústria de cosméticos, na aromaterapia e no controle de doenças de plantas, evidenciando a importância de estudos químicos e biológicos com os óleos essenciais.

6. NEMATOIDES

Os nematoides são vermes com a forma do corpo cilíndrica, denominada de filiforme (o nome deriva do grego *nema*, que significa fio). Esses animais podem ocorrer em diversos tipos de ambientes naturais, desde que a umidade disponível nele seja suficiente para sua sobrevivência (FERRAZ e BROWN, 2016). De acordo com Brady e Weil (2013) para conseguir sobreviver quando o solo está muito seco, os nematoides se enrolam entrando em um estado de repouso, ou criptobiótico, fazendo uso de pouca quantidade de oxigênio para a sua respiração.

Segundo Ferraz e Brown (2016) os nematoides podem ser divididos em três grupos de acordo com seus hábitos alimentares, sendo eles: os de vida livre; os zooparasitas ou parasitas de animais; e os fitoparasitas ou parasitas de plantas ou fitonematoides. Para a realização dessa pesquisa o foco foram os nematoides parasitas de plantas.

Conforme explicado acima os nematoides parasitas de plantas são referidos como fitonematoides e possuem por volta de 0,25 e 3,00 mm de comprimento. Eles podem causar danos em qualquer parte das plantas, no entanto as raízes são o alvo principal, sendo catalogados como capazes de causar danos em praticamente todas as espécies de plantas, em especial culturas como soja, milho e feijão, participando efetivamente na redução da produção (MACHADO, BERLITZ, *et al.*, 2012). Ao ser atacada por nematoides do gênero *Meloidogyne*, as raízes das plantas sofrem uma deformação sendo modificada a sua aparência, como pode ser visualizado na Figura 5.

Figura 5: À esquerda uma raiz saudável e à direita uma raiz atacada por nematoides do gênero *Meloidogyne*



Fonte: Modificado de Professor Rodrigo Vieira da Silva (2019).

Conforme verificado na literatura, existem muitos gêneros de nematoides de importância agrícola. Sendo que os gêneros que predominam no Brasil são os *Meloidogyne incógnita*, *Meloidogyne javanica*, *Heterodera glycines* e *Pratylenchus brachyurus* (SILVA, 2019). A presença de nematoides na plantação, pode ser observada pela clorose das folhas das plantas e as reboleiras na plantação (área da plantação com plantas doentes, amarelas ou pouco desenvolvidas em relação as demais plantas).

Pode-se dizer que os fitonematoides podem estar presentes em diferentes tipos de culturas. Nesse contexto, cabe ressaltar que os fitonematoides podem ser classificados como endoparasitas, os que passam grande parte do seu ciclo de vida no interior das raízes das plantas ou ectoparasitas, aqueles que normalmente ficam na parte externa da raiz (RAMIRO, 2019). Conforme mencionado pelo autor Silva (2019), um dos gêneros de fitonematoides responsável pela redução da produção no Brasil é o *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, também conhecidos como nematoide de galhas.

Ora, em tese, o controle dos fitonematoides não é algo simples. Caso contrário, não haveria grandes perdas na produção agrícola todos os anos por conta dessas pragas, conforme explicado acima. Não se trata de um simples método de controle,

mas de um conjunto de práticas que devem ser adotadas pelo agricultor, por exemplo, a rotação de cultura e a escolha da área de plantio. É importante considerar que em último caso é necessário fazer-se o uso do controle químico.

Segundo Pinheiro *et al.* (2014, p. 4), em relação ao nematoide de galhas em uma cultura de tomateiro:

Para seu controle é de grande importância a integração de várias práticas que vão desde a produção das mudas até a escolha da área de plantio. Dentre essas, as principais são: a prevenção, rotação de culturas, alqueive, uso de plantas antagonistas, variedades resistentes e, em último caso, o controle químico.

Conforme o autor salienta o controle dos fitonematoides começa antes mesmo do plantio, sendo feito pela combinação de diversos métodos agrícolas. Apesar do autor se referir a nematoide de galhas na cultura do tomate, esses métodos podem ser aplicados a diferentes tipos de cultura infestadas por diferentes tipos de fitonematoides.

Dessa forma, os nematoides são um tipo de verme e os que tem importância na agricultura são os fitonematoides, responsáveis por causar danos na produção de diversos tipos de plantas. O controle dos fitonematóides não é uma tarefa fácil, na qual diversos tipos de métodos podem ser utilizados em conjunto para o combate desse tipo de praga.

7. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Este trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos (IF Goiano - Campus Morrinhos). A identificação do nome científico da erva cidreira foi feita através da internet. A extração do OE da erva cidreira (*L. alba*) foi feita no laboratório de Química Orgânica do Instituto, a identificação dos componentes presentes no óleo essencial foi realizada na Central Analítica e a atividade nematicida do óleo foi testada no laboratório de Nematologia.

7.1. IDENTIFICAÇÃO DA ERVA CIDREIRA (*Lippia alba*)

Para fazer a identificação da planta erva cidreira, primeiramente foi feita uma pesquisa na internet e foi obtido que o nome científico da planta era *Lippia alba*. Para verificar se o nome científico da planta estava correto, foi feita uma busca no site Reflora (um Herbario Virtual) com o nome *Lippia alba* e comparado as imagens das exsicatas da planta encontrada com a erva cidreira. Após a comparação das exsicatas com a erva cidreira foi constatado que a erva cidreira e a *L. alba* eram a mesma planta. Na Figura 6 pode ser observado a imagem de uma exsicata da *L. alba*.

Figura 6: Imagem da exsicata da *Lippia alba*



Fonte: Reflora - Herbario Virtual (2019)

7.2. COLETA E PREPARAÇÃO DA ERVA CIDREIRA (*Lippia alba*)

A planta da erva cidreira foi coletada na cidade de Morrinhos - Goiás nos meses de outubro e novembro de 2019 (estação da Primavera). No momento da coleta o galho foi coletado juntamente com as folhas da planta e armazenados em uma sacola plástica para evitar contaminação do meio externo. A coleta do material vegetal foi realizada na parte da manhã.

O material vegetal foi levado para o laboratório de Química Orgânica do IF Goiano – Campus Morrinhos. Ao chegar no laboratório o material vegetal foi triturado com o auxílio de uma tesoura, com o objetivo de facilitar a extração do OE e foi armazenado em uma vasilha de plástico até o momento da extração. A extração do OE foi realizada no período da tarde no mesmo dia da coleta do material vegetal.

7.3. EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do OE foi feita pelo processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger. Para iniciar a extração do OE da erva cidreira pesou-se o material vegetal triturado, colocou em um balão de fundo redondo e acrescentou água destilada ao balão. O balão foi montado no processo de hidrodestilação e coberto com papel alumínio com intuito de evitar a troca de calor com o meio externo, após isso foi iniciado o processo de extração. Foram realizadas 9 extrações com duração de 4 horas cada. Na Tabela 1 pode ser observada a quantidade de material vegetal e de água destilada utilizados em cada uma das 9 extrações.

Tabela 1: Quantidade de material vegetal e água destilada usados nas extrações

	Material Vegetal (g)	Água destilada (L)
1° Extração	195,54	2,00
2° Extração	73,44	1,40
3° Extração	69,84	1,25
4° Extração	152,06	2,00
5° Extração	163,28	2,00
6° Extração	105,42	1,50
7° Extração	110,66	1,50
8° Extração	201,75	2,00
9° Extração	145,48	2,00
Total	1217,47	15,65

Fonte: O autor.

Após a extração, o óleo foi separado da fase aquosa através da extração líquido-líquido em um funil de separação utilizando diclorometano (CH_2Cl_2). O óleo coletado foi armazenado em um frasco de vidro pequeno e deixado em temperatura ambiente para a evaporação do solvente. Depois o frasco de vidro foi guardado na geladeira até o uso para as análises química e biológica. Após todo o processo de extração do OE da erva cidreira obteve-se um volume de cerca de 1 mL de óleo, o qual foi utilizado nas análises.

7.4. ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO

O OE destinado para análise química foi levado à Central Analítica do IF Goiano - Campus Morrinhos com o objetivo de fazer a identificação dos componentes presentes no OE, para isso foi utilizado o aparelho Cromatógrafo gasoso acoplado ao Espectrômetro de massa (CG-EM) baseado na metodologia proposta por Adams (2007).

A amostra do OE foi analisada em um cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas (CG-EM) da marca Perkin Elmer, modelo GCCLarus680/EMCLarusSQ8S, equipado com coluna capilar da marca Perkin Elmer

Elite 5 (5% de difenil e 95% de dimetilpolisiloxano) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme. O gás carreador foi o hélio a fluxo constante de 1 mL min^{-1} , as temperaturas do injetor (modo split 1:20) e detector foram 220 e 246 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente e o volume de injeção foi de 1 μL de óleo diluído em hexano. A rampa de aquecimento foi de 60 a 246 $^{\circ}\text{C}$ (3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$). O detector de massas foi operado com energia de impacto de 70 eV (ADAMS, 2007).

7.5. IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES PRESENTES NO ÓLEO ESSENCIAL

A amostra do OE foi injetada no aparelho CG-EM e os resultados obtidos foram analisados. Foi possível identificar a maioria dos compostos representados nos picos do cromatograma. A identificação dos compostos do óleo essencial foi feita a partir da comparação dos espectros de massa de cada composto com os espectros da biblioteca presente no software do equipamento e no livro referência Adams (2007).

7.6. TESTE BIOLÓGICO

Parte do OE da erva cidreira que estava guardado na geladeira foi levado para o laboratório de nematologia do IF Goiano – Campus Morrinhos para iniciar o teste da atividade nematicida do óleo.

Para a realização do teste biológico foi utilizado uma solução contendo água destilada e J2 de *M. javanica* (Solução Estoque 1 - Solução preparada anteriormente por alunos do curso de Agronomia do Instituto) e foi preparado uma solução solubilizante com 100 mL de água destilada, 10 mL de álcool etílico e 3 mL de Tween (Solução Estoque 2) baseada na metodologia utilizada por Marino *et al.* (2012). A solução estoque 1 continha 88 mL e 8800 J2.

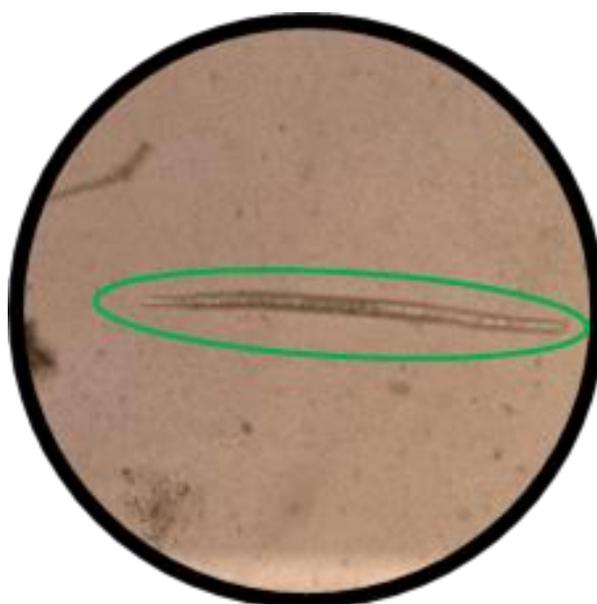
Foi preparado em quintuplicatas 5 tubos de ensaio com 2 mL (contendo 200 J2) da solução estoque 1 e 100 μL da solução estoque 2 em cada tubo. Em seguida foi acrescentado diferentes quantidades do OE de erva cidreira em 4 dos 5 tubos (quintuplicatas), no quinto tubo de ensaio não acrescentou OE ele ficou sendo a solução testemunha. Na Tabela 2 pode ser observado as quantidades de OE utilizados no teste.

Tabela 2: Quantidade de OE utilizados no teste

Tubo	Solução	Quantidade de OE (μL)
1	T ₁	0,2
2	T ₂	0,4
3	T ₃	0,8
4	T ₄	1,6
Testemunha	T ₀	0

Nota: T₁, T₂, T₃, T₄ representam os testes 1, 2, 3, 4 respectivamente e o T₀ representa a solução testemunha na qual não foi adicionado óleo essencial de erva cidreira. Fonte: O autor.

Depois de adicionar o OE nos tubos de ensaio contendo a Solução Estoque 1 e a Solução Estoque 2 todo o sistema foi armazenado na geladeira a temperatura de 26 °C. Após 24 horas foi realizada a contagem dos J2 mortos. O sistema com a solução do teste foi retirado da geladeira e feita a contagem dos J2 mortos em cada solução. Para fazer a contagem foi utilizado um microscópio óptico e uma câmara de Peters de capacidade de 1,0 mL. Foram considerados mortos os nematoides com os corpos imóveis. Na Figura 7 pode ser observado a foto de um nematoide considerado morto, destacado dentro do contorno verde.

Figura 7: Nematóide considerado morto

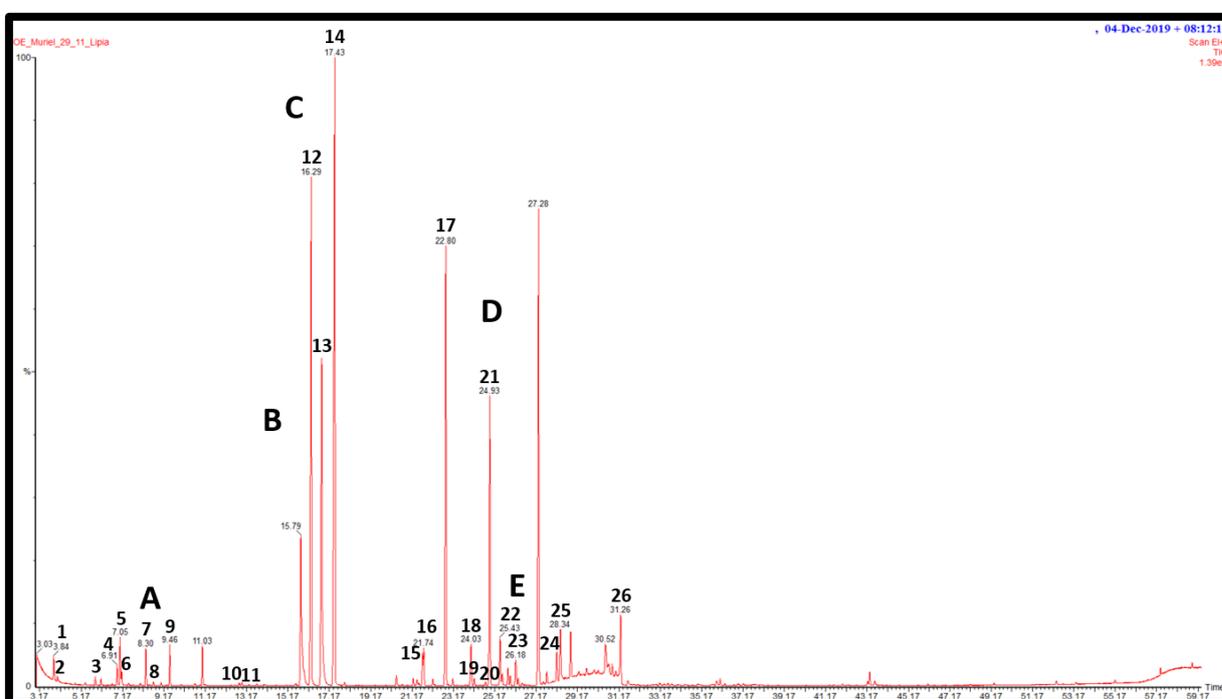
Fonte: Modificado de Professor Rodrigo Vieira da Silva (2019).

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.1. IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL

Após a injetar o OE no aparelho CG-EM foi obtido o cromatograma que pode ser observado na Figura 8. Os picos no cromatograma representam os compostos presentes no OE de acordo com o tempo de retenção de cada um.

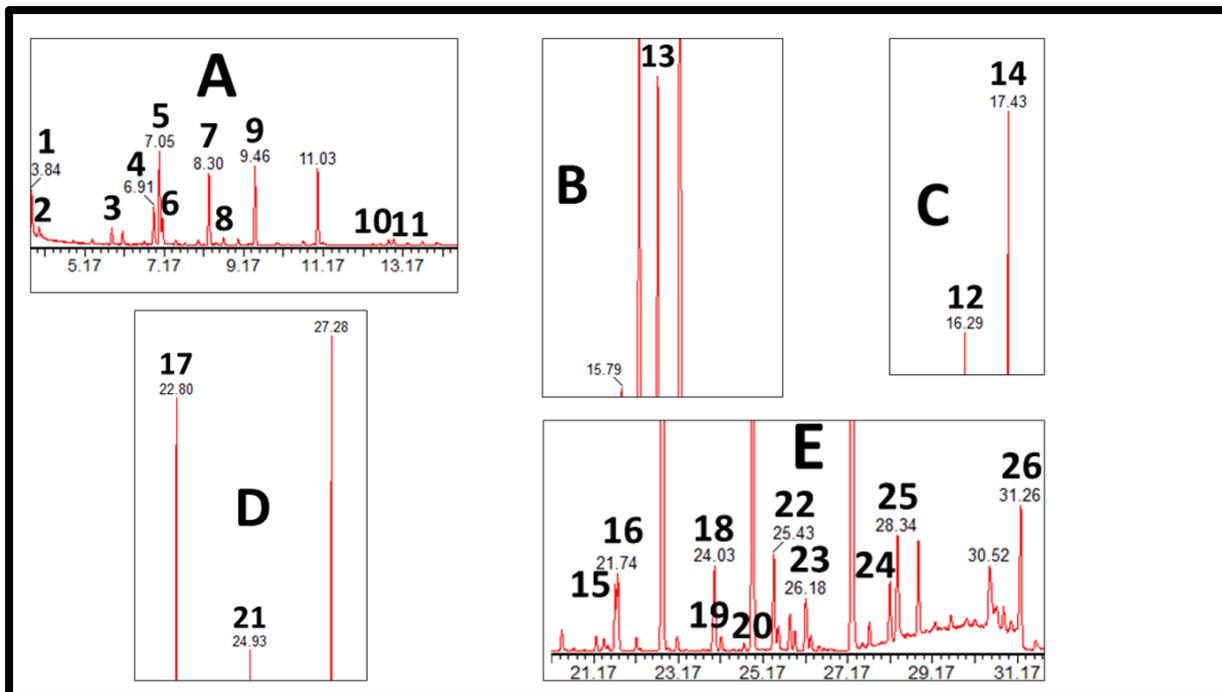
Figura 8: Cromatograma do óleo essencial de erva cidreira



Nota: A, B, C, D e E representam as 5 regiões do cromatograma que estão ampliadas na Figura 9

Fonte: O autor.

Figura 9: Regiões do cromatograma do óleo essencial de erva cidreira ampliada



Fonte: O autor.

A partir da análise dos picos que podem ser observados no cromatograma (Figura 8) foram identificados os compostos listados na Tabela 3.

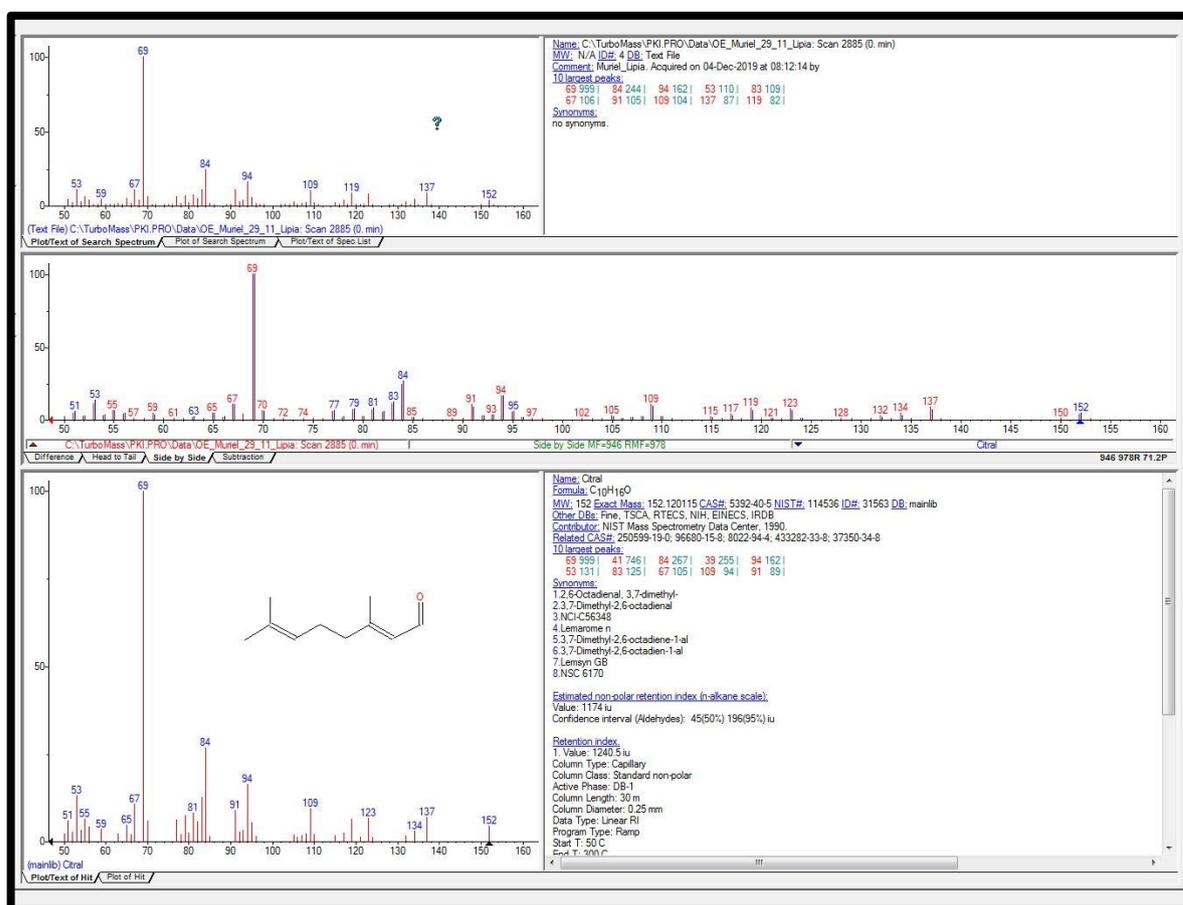
Tabela 3: Compostos identificados no OE de erva cidreira (*Lippia alba*)

Número	Composto	Fórmula Molecular	Massa Molecular	Tempo de Retenção
1	3-hexen-1-ol (Z)	C ₆ H ₁₂ O	100	3,84
2	2-Hexen-1-ol (E)	C ₆ H ₁₂ O	100	4,02
3	3-Hidroperóxido-Hexano	C ₆ H ₁₄ O ₂	118	5,86
4	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	6,91
5	5-Hepteno-2-ona, 6-metil	C ₈ H ₁₄ O	126	7,05
6	β-Mirceno	C ₁₀ H ₁₆	136	7,13
7	O-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	134	8,30
8	Trans-β-Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	136	8,66
9	γ-Terpineno	C ₁₀ H ₁₆	136	9,46
10	Trans-Chrysanthemum	C ₁₀ H ₁₆ O	152	12,81
11	6-Octenal, 3,7-dimetil (R)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	12,94
12	Neral	C ₁₀ H ₁₆ O	152	16,29
13	Nerol/Cis-geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	16,79
14	Citral	C ₁₀ H ₁₆ O	152	17,43
15	β-Cubebeno	C ₁₅ H ₂₄	204	21,68
16	β-Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	21,74
17	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	204	22,80
18	Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	204	24,03
19	α-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	204	24,19
20	γ-Cadineno	C ₁₅ H ₂₄	204	24,72
21	β- copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	24,93
22	γ-Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	25,43
23	δ-Cadineno	C ₁₅ H ₂₄	204	26,18
24	β- copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	28,16
25	Cis α -Santalol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	28,34
26	α-Bulnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	31,26

Nota: A Ordem dos compostos segue a ordem da numeração do cromatograma (Figura 8).

Os compostos listados na Tabela 3 foram identificados a partir da comparação do espectro de massa de cada composto gerado pelo equipamento CG-EM com a biblioteca de espectro de massa do próprio aparelho juntamente com a comparação com os espectros de massa do livro de Adams (2007). Como pode ser observado na Tabela 3 o OE da erva cidreira possui uma mistura complexa de vários compostos. Na Figura 10 pode ser observado uma imagem do software mostrando a comparação dos espectros de massa.

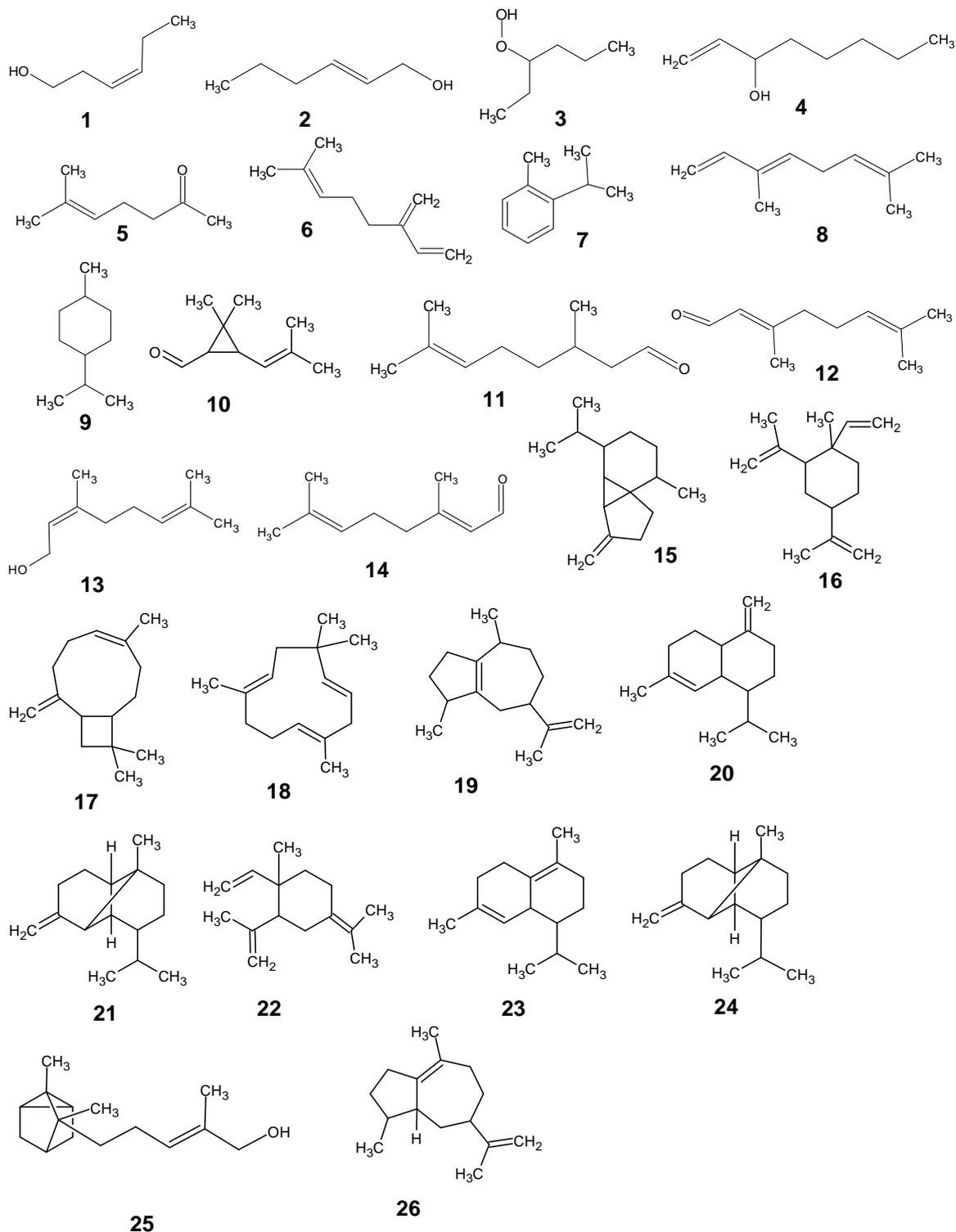
Figura 10: Imagem do software mostrando a comparação dos espectros de massa para o composto citral



Fonte: O autor.

A partir da análise do OE pode ser observado que ele é uma mistura de compostos com diferentes grupos funcionais, entre eles, álcool, cetona e aldeído. Cabe ressaltar que os dois compostos com maior pico no cromatograma foram o citral e o neral que pertencem ao grupo funcional aldeído. Referente a classe dos

componentes do OE, a maioria dos compostos identificados pertencem a classe dos terpenos, sendo alguns monoterpenos e outros sesquiterpenos, como por exemplo, os monoterpenos γ -terpineno e β -mirceno e os sesquiterpenos cariofileno e β -copaene. Na Figura 11 pode ser visualizado a estrutura química dos compostos identificados no OE.

Figura 11: Estrutura química dos compostos identificados no OE

Nota: A numeração dos compostos na figura segue a mesma ordem da Tabela 3. Fonte: O autor.

Nos trabalhos de Gonçalves e colaboradores (2016) e Formolo e colaboradores (2009) o OE de *L. alba* identificado como quimiotipo citral apresentou em sua composição os compostos majoritários geranial e neral (os dois isômeros do citral),

tendo também uma grande quantidade de cariofileno. Nesse trabalho os compostos majoritários do OE da *L. alba* foram o citral e o neral (um dos isômeros do citral), além de ter uma quantidade expressiva de cariofileno. Comparando os compostos majoritários do OE da *L. alba* quimiotipo citral (apresentados nos trabalhos de Gonçalves e Formolo) com o OE utilizado nesse trabalho, pode-se dizer que OE usado nesse trabalho foi o quimiotipo citral.

8.2. TESTE BIOLÓGICO

Após 24 horas da aplicação do OE nos tubos de ensaio contendo os nematoides foi feita a contagem da quantidade de nematoides mortos. O resultado pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4: Mortalidade dos J2 com a variação de OE de erva cidreira

	T₀ (Testemunha) (200 J2 + 0 µL de OE)	T₁ (200 J2 + 0,2 µL de OE)	T₂ (200 J2 + 0,4 µL de OE)	T₃ (200 J2 + 0,8 µL de OE)	T₄ (200 J2 + 1,6 µL de OE)
R₁	0	28	24	28	40
R₂	0	28	28	28	36
R₃	0	16	24	28	32
R₄	0	24	25	30	36
R₅	4	56	32	24	36
Média	0,8	30,4	26,6	27,6	36
Média%	0,4%	15,2%	13,3%	13,8%	18%

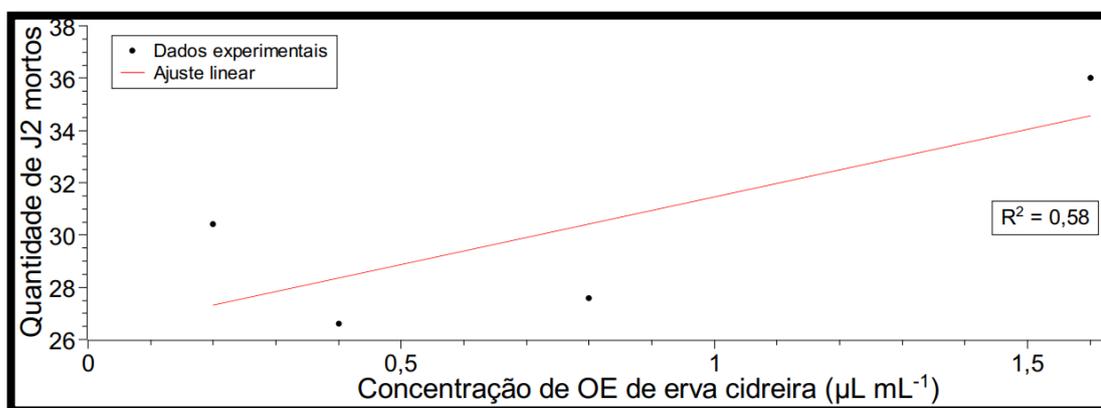
Nota: T₁, T₂, T₃, T₄ representam os testes 1, 2, 3, 4 respectivamente e o T₀ representa a solução testemunha na qual não foi adicionado óleo essencial de erva cidreira. R₁, R₂, R₃, R₄ representam as repetições 1, 2, 3, 4 respectivamente. Média% é a porcentagem da média de nematoides mortos. Fonte: O autor.

Na primeira linha da Tabela 4 são representados os testes que foram feitos (T₁, T₂, T₃ e T₄) com as respectivas concentrações de OE utilizados em cada teste e a testemunha, a qual não foi adicionada OE para servir como parâmetro para verificar a

eficácia do OE como agente nematicida. Na primeira coluna da tabela são representados os números de repetições feitos com cada concentração de OE (**R₁**, **R₂**, **R₃**, **R₄** e **R₅**). A última linha da tabela representa a média dos valores de J2 mortos em cada uma das concentrações de OE utilizadas.

A partir do valor médio de nematoides mortos em cada uma das concentrações de OE utilizados, descritos na Tabela 4, foi plotado o gráfico que pode ser observado na Figura 12.

Figura 12: Gráfico da média de J2 mortos x concentração de OE de erva cidreira



Fonte: O autor.

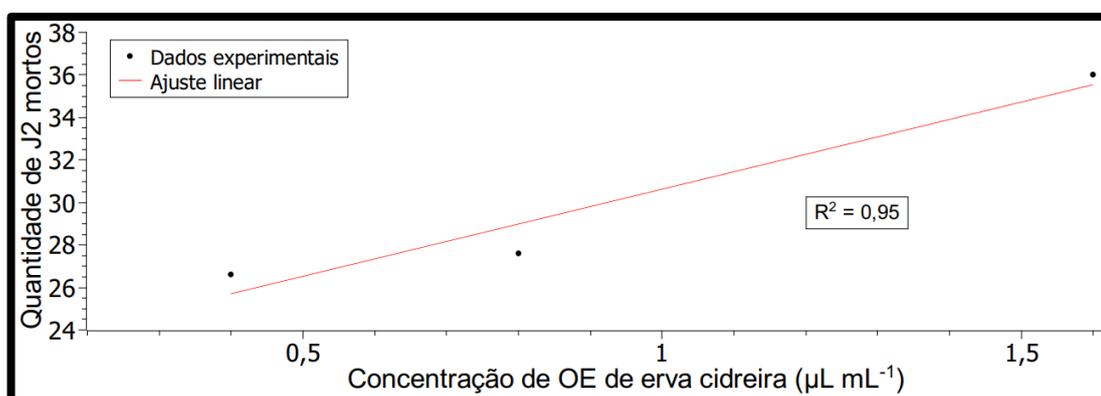
Conforme pode ser observado na Figura 12, todas as concentrações de OE utilizados tiveram ação nematicida. No entanto, a quantidade de nematoides mortos em relação a quantidade de nematoides que continha em cada tubo de ensaio foi baixa, sendo que a porcentagem de nematoides mortos no melhor resultado obtido foi menor que 20%.

Nas soluções testemunhas (**R₁** à **R₄**) não foram observados nematoides mortos, resultado que já era esperado, pois não foi adicionado OE nessas soluções. No entanto na repetição **R₅** de **T₀** (Solução Testemunha) foi observado nematoides mortos o que não era esperado já que não foi adicionado OE nessa solução. Já o resultado da repetição **R₅** do teste **T₁** foi diferente das demais repetições do **T₁** o que fez com que a média de nematoides mortos no **T₁** fosse bem maior do que o resultado esperado, o que pode evidenciar que houve um erro atribuído a esse valor. O erro no valor da repetição **R₅** do teste **T₁** provavelmente está associado a alguma distração na hora da realização da parte experimental do teste, ou pode estar relacionado ao

fato dos nematoides já estarem enfraquecidos antes de serem colocados no tubo de ensaio e terem morrido em decorrência disso, o que também pode ter ocorrido na repetição **R₅** de **T₀** (Solução Testemunha).

Ao analisar a Figura 12, é possível observar que considerando a média de nematoides mortos nos testes **T₂**, **T₃** e **T₄** (desconsiderando o resultado de **T₁**) há um aumento da quantidade morta de J2 com o aumento da concentração de OE essencial. Na Figura 13 pode ser observado um gráfico na qual o teste **T₁** é desconsiderado e o valor obtido para R^2 é maior.

Figura 13: Gráfico da média de J2 mortos x concentração de OE de erva cidreira - desconsiderando o teste **T₁**



Fonte: O autor.

De acordo com Marino e colaboradores (2012) no teste da atividade nematicida do óleo essencial de *L. alba* nas concentrações de 4, 8, 12, 16 e 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ sobre *M. incognita* raça 1 foi obtido um resultado de 89,03% e 98,91% de mortalidade de J2 *in vitro*, após 24 horas de incubação para as concentrações de 16 e 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ respectivamente. Ainda de acordo com Marino e colaboradores (2012) o resultado da mortalidade de J2 foi aumentando com o aumento da concentração de óleo essencial utilizado no teste. Diante dessa informação vale levar em consideração que o uso de quantidades maiores de OE de erva cidreira que as usadas neste trabalho possivelmente poderá resultar em valores mais significativos na mortalidade de J2 de *M. javanica*.

Nos estudos de Gonçalves e colaboradores (2016) os três quimiotipos de *L. alba*, citral, carvona e linalol usados em sua pesquisa apresentaram acentuado efeito

nematicida no controle de *M. incognita*. De acordo com Formolo, Delamare e Pauletti (2009) a atividade biológica do óleo essencial depende dos compostos presente nele. Dessa forma podemos inferir que, OEs de quimiotipo diferentes de uma mesma espécie de planta pode apresentar resultados diferentes em testes biológicos.

O óleo de *L. alba* do quimiotipo citral apresenta amplo espectro de ação inibidora, apresentando atividade biológica contra leveduras, bactérias Gram positivas e Gram negativas (FORMOLO, DELAMARE e PAULETTI, 2009). Os compostos neral e geranial (os dois isômeros do citral), que são os compostos majoritários do quimiotipo citral mostraram-se muito ativos para nematoides *Bursaphelenchus* (PARK, 2007).

Segundo Oka (2000), a atividade nematicida de óleos essenciais se deve à presença de monoterpenos oxigenados, como constituintes químicos majoritários. Nesse contexto, a ação nematicida do OE da *L. alba* do quimiotipo citral pode ser atribuída aos compostos citral e o neral que pertence aos monoterpenos oxigenados e estão presentes em maiores quantidades no óleo.

9. CONCLUSÕES

A partir da análise química do OE no equipamento CG-EM foi possível identificar a maioria dos compostos químicos presentes no óleo de erva cidreira e percebido que sua composição é muito complexa, contendo vários compostos diferentes, na qual o citral e o neral foram os compostos majoritários. Foi observado que a maioria dos compostos da erva cidreira utilizada nesse trabalho pertencem a classe dos terpenos, classe muito comum entre os óleos essenciais. O OE da *L. alba* utilizado nesse trabalho foi do quimiotipo citral.

O OE de erva cidreira (*L. alba*) não apresentou um resultado significativo na mortalidade de J2 de *M. javanica*, já que o melhor resultado obtido foi menor que 20% (em relação à média de nematoides mortos). Assim, pode-se concluir que o OE de erva cidreira, utilizados nas quantidades que foram usadas nesse trabalho, não foi eficiente no controle de nematoides.

Dessa forma pode-se concluir que os objetivos deste trabalho foram alcançados. Foi possível identificar os compostos presentes no OE da erva cidreira e também foi possível verificar que o OE de erva cidreira (*L. alba*), utilizado nas pequenas quantidades utilizadas nesse trabalho, apresentou atividade nematicida muito baixa. No entanto, OE apresentou atividade nematicida e sua utilização em quantidades maiores pode ser eficiente no controle de J2 de *M. javanica*, pois há outros estudos que evidenciam a eficiência do OE de *L. alba* no controle de outras pragas, como por exemplo, outros nematoides e bactérias.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy. [S.l.]: Carol Stream: Allured Bussiness Media, 2007. p. 804 p.
- AGUIAR, J. S.; COSTA, M. C. C. D. *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. n.1, p. 79-84, 2005.
- BAKKALI, F et al. Biological effects of essential oils – A review. **ScienceDirect**, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>>. Acesso em: 15 Janeiro 2020.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009. Disponível em: <<http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2009/vol32n3/04-QN09038.pdf?agreq=%C3%B2leos%20essenciais&agrep=jbcs,qn,qnesc,qnint,rvq>>. Acesso em: 22 jan. 21.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. Elementos da Natureza e Propriedades dos Solos. Tradução de Igo Fernando Lepsch. 3ª. ed. Porto Alegre: Bookman Editora, 2013. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=XI49IAu5mwkC&pg=PA371&dq=O+que+s%C3%A3o+nematoides&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwim2dXsqdXpAhWuK7kGHS9sBt4Q6AEITTAE#v=onepage&q=O%20que%20s%C3%A3o%20nematoides&f=false>>. Acesso em: 15 fev. 2020.
- CORDEIRO, S. Z. *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson. **Herbário da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro**, 2020. Disponível em: <<http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/lippia-alba-mill-n-e-br-ex-britton-p-wilson>>. Acesso em: 01 jul. 2021.
- ESTANISLAU, A. A. et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de eucalyptus cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. n.2, p. 95-100, 2001. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/rbfar/v11n2/a05v11n2.pdf>>. Acesso em: 10 fev. 2021.
- EVANS, N. Óleos Essenciais: O Guia Definitivo sobre Óleos Essenciais para Alcançar uma Saúde Extraordinária. Tradução de Talis Ramalho Barboza. [S.l.]: Babelcube Inc, 2017. ISBN 1547501677, 9781547501670.
- FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. Manaus: NORMA EDITORA, 2016. Disponível em: <<https://nematologia.com.br/files/livros/1.pdf>>. Acesso em: 02 Junho 2020.
- FORMOLO, F.; DELAMARE, A.P.; PAULETTI, G. F. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de distintos quimiotipos de *Lippia alba***

(Mill).N.E.Brown. Dissertação (Dissertação em Biotecnologia) - UCS. Caxias do Sul, p. 45. 2009.

GARCIA, N. Z. T.; MATIAS, R.; MORBECK, A. K. **Óleos essenciais da erva cidreira brasileira (*Lippia alba* MILL.) N. E. BR (Verbenaceae) e alfavaca (*Ocimum gratissimum* LINN.) (Lamiaceae) sobre a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) (J. E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Tese (Tese em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional) - UNIDERP. Campo Grande, p. 101. 2018.

GONÇALVES, F. J. T. et al. Atividade antagonista do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n.1, p. 149-156, 2016. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpm/a/cv4tZMQM97V6JZQG6gz8ZyB/?lang=pt#>>. Acesso em: 25 jun. 2020.

GONSALVES, P. E. **Medicinas alternativas: os tratamentos não-convencionais**. 3ª. ed. São Paulo: IBRASA, 1989.

HENNEBELLE, T. et al. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, p. 211-222, 2008.

Reflora - Herbário Virtual. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/>. Acesso em 26/10/2021

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, 2012. 13-39.

LOUREIRO, S. **Guia de remédios naturais para crianças: Alimentação saudável • Plantas medicinais • Aromaterapia • Hidroterapia • Geoterapia • Homeopatia • Sais de Schüssler • Florais de Bach • Massagem • Reflexologia**. Editora Nacente, 2012.

MACHADO, V. et al. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, v. XVI, p. 165-182, 2012. ISSN 2177-6199. Disponível em: <<https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/8203>>. Acesso em: 05 junho 2020.

MARINO, R. H. et al. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 com óleo essencial de *Lippia Alba*. **SCIENTIA PLENA**, v. 8, n. n. 4, p. 1-8, 2012. Disponível em: <<https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/viewFile/832/448>>. Acesso em: 29 maio 2021.

MONTANARI, R. M. et al. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de Anacardiaceae, Siparunaceae e Verbenaceae**. Tese (Tese em Agroquímica) - UFV. Viçosa, p. 159. 2010.

NICULAU, E. D. S. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* l'Herit E *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown Sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. No. 9, p. 1391-1394, 2013. Disponível em: <<http://submission.quimicanova.sbgq.org.br/qn/qnol/2013/vol36n9/19->

AR13401.pdf?agreq=%C3%B3leo%20essencial%20da%20lippia%20alba&agrep=jbc s,qn,qnesc,qnint,rvq>. Acesso em: 10 fev. 2021.

OKA, Y. E. A. Nematicidal activity of essential oils and theirs components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, v. 90, p. 710-715, 2000.

PARK, I. K. et al. Nematicidal Activity of Plant Essential Oils and Components From Ajowan (*Trachyspermum ammi*), Allspice (*Pimenta dioica*) and Litsea (*Litsea cubeba*) Essential Oils Against Pine Wood Nematode (*Bursaphelenchus Xylophilus*). **The Journal of Nematology**, v. 39, n. n.3, p. 275-279, 2007.

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; SUINAGA, F. A. Manejo de nematoides na cultura do tomate. **Embrapa**, Brasília, Outubro 2014. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007648/1/CT132.pdf>>. Acesso em: 05 junho 2020.

PRICE, S. Aromaterapia para doenças comuns. Tradução de Marta Montes e Waldomiro Paulo de O. Ribeiro. 1ª. ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1999. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=lmPYfxMe1DUC&pg=PT17&dq=%22%C3%B3leo+essencial+%C3%A9%22&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwiji0aUzYPPAhVmI7kGHUZwCNAQ6AEIbjAl#v=onepage&q=%22%C3%B3leo%20essencial%20%C3%A9%22&f=false>>. Acesso em: 27 jan. 2020.

RAMIRO, J. Nematoides: conheça os prejuízos que esses vermes causam e descubra como controlá-los. **Boas práticas agrônômicas**, 2019. Disponível em: <<https://boaspraticasagronomicas.com.br/artigos/nematoides/#:~:text=Rotylenchulus%20reniformis&text=Nas%20lavouras%20atacadas%20por%20Nematoides,plantas%20ficam%20pequenas%20e%20amareladas.&text=As%20plantas%20amareladas%20s%C3%A3o%20as,presen%C3%A7a%20de%20>>. Acesso em: 29 jun. 2021.

ROTHFELD, G. S.; LEVERT, S. Medicina Natural Para Doenças Do Coração. Tradução de Paulo Cesar de Oliveira. São Paulo: Editora Cultrix, 1997. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=6fNpsjOE7DAC&printsec=frontcover&dq=%22%C3%B3leos+essenciais%22&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwirm82X5_oAhXqILkGHawLCks4WhDoAQgnMAA#v=onepage&q=%22%C3%B3leos%20essenciais%22&f=false>. Acesso em: 25 Janeiro 2020.

SILVA, E. M. D. Descubra se sua área tem nematoides e veja como controlar. **aegro**, 2019. Disponível em: <<https://blog.aegro.com.br/nematoides/>>. Acesso em: 20 Dezembro 2020.

SILVA, N. A. et al. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. n.3, p. 52-55, 2006. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/411411/1/artigo8-v8-n3.pdf>>.

SOARES, C. S. A. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) em roseira. **Revista Brasileira de Agroecologia**, p. 169-175, 2012. Disponível em:

<https://orgprints.org/id/eprint/22985/1/Soares_Atividade.pdf>. Acesso em: 15 maio 2021.

TAVARES, I. B.; MOMENTÉ, V.G.; NASCIMENTO, I.R. D. *Lippia alba*: estudos químicos, etnofarmacológicos e agrônômicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava-PR, v. 4, n. n.1, p. 204-220, 2011.

WICHROWSKI, L. Terapia Capilar- uma abordagem complementar. Porto Alegre: Alcance, 2007.

WILSON, A. Alquimia Dos Óleos Essenciais. Tradução de Lisiane de Moraes Faria. [S.l.]: Babelcube Inc, 2018. ISBN 9781547561025.