

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

POTÊNCIAL FITOTÓXICO DE DERIVADOS TRIAZÓLICOS DO TIMOL

Mylena Gonçalves Raymundo, Jéssika Santos de Oliveira, Loren Cristina Vasconcelos, Mariana Belizario de Oliveira, Vagner Tebaldi de Queiroz, Adilson Vidal Costa, Milene Miranda Praça Fontes.

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Departamento de Biologia, Alto Universitário, s / n, Caixa Postal 16, 29500-000 – Alegre -ES, Brasil, mylenagr16@gmail.com, jessikaoliveira664@gmail.com, loren-vasconcelos@hotmail.com, belizmary@hotmail.com, vagner.queiroz@ufes.br, avcosta@hotmail.com, milenemiranda@yahoo.com.br.

Resumo

O uso generalizado de herbicidas na agricultura moderna visa aumentar a produtividade e reduzir custos. No entanto, herbicidas tradicionais estão se tornando menos eficazes contra plantas invasoras. Moléculas sintéticas de origem natural, com propriedades herbicidas, estão se destacando por sua seletividade, escalabilidade e contribuição para uma agricultura sustentável. Este estudo visa avaliar o efeito fitotóxico do triazol, uma molécula não fluorada derivada do timol, em diferentes concentrações por meio de bioensaios com *Lactuca sativa*. Para isso, os parâmetros avaliados para medir a fitotoxicidade incluíram o comprimento das raízes e da parte aérea. Notavelmente, houve uma redução significativa nesses parâmetros, especialmente nas concentrações mais altas de 500mg/L e 1000 mg/L. O triazol 1 demonstrou maior eficiência para ambos os parâmetros, apresentando os resultados mais satisfatórios. Dessa maneira, esses novos compostos triazólicos derivados do timol exibem potencial como bioherbicidas promissores.

Palavras-chave: Fitotoxicidade. Germinação. Bioensaios. *Lactuca sativa*. Triazol.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Os agroquímicos ou herbicidas tornaram-se parte do manejo pré e pós-colheita na maioria dos setores agrícolas (TAVELLA *et al.*, 2012). O controle de plantas daninhas é uma prática importante que visa eliminar ou diminuir as perdas por competição, como água, luz e nutrientes e, evita possíveis proliferações de patógenos e pragas que possam afetar a espécie de interesse (JESCHKE, 2018). Além disso, os herbicidas constituem como um elemento fundamental para que os agricultores obtenham altos rendimentos e obtenham uniformidade no desenvolvimento da espécie cultivada e a qualidade do produto (EMBRAPA, 2003; IBGE, 2010). Entretanto, o uso prolongado de herbicidas tradicionais tem se mostrado cada vez menos eficiente no combate às plantas invasoras, devido à seleção de variedades mais resistentes (GELMINI *et al.*, 2001; RIBEIRO e LIMA, 2011).

O uso extensivo e indiscriminado de herbicidas também tem provocado crescentes preocupações com o meio ambiente e a saúde humana, devido aos seus efeitos em organismos não alvos, como plantas, animais e humanos (FAGUNDES *et al.*, 2015). A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), relatou em 2015 que o herbicida glifosato é um provável agente carcinogênico. Sua utilização tem sido associada a malignidades hematopoiéticas (MERHI *et al.*, 2003), tornando necessário buscar métodos alternativos para reduzir sua utilização e aprimorar outras estratégias de controle.

Nesse sentido, a busca por moléculas sintéticas de origem natural com propriedades herbicidas tem ganhado destaque na literatura científica (MEAZZA *et al.*, 2017). Além de proporcionar uma maior seletividade, as moléculas sintéticas podem ser produzidas em maior escala, com maior pureza do que os herbicidas naturais, e que geram menor impacto ambiental, através da redução de quantidade de produto necessário para o controle de plantas daninhas, diminuindo a contaminação do solo e da água (MOLINARI *et al.*, 2015).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Os ensaios de fitotoxicidade são importantes ferramentas para avaliar o impacto de substâncias químicas na saúde das plantas. Para tanto, diferentes parâmetros podem ser utilizados, como a germinação de sementes, o crescimento das plantas, a taxa de fotossíntese e a presença de sintomas de toxicidade, esses parâmetros são cruciais para identificar possíveis efeitos tóxicos em plantas sensíveis e cruciais para avaliar o impacto ambiental de substâncias químicas e para aprimorar a gestão ambiental e a proteção da biodiversidade (SOUZA *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2021).

O triazol é um heterocíclico formado por dois carbonos e três átomos de nitrogênio, que confere propriedades únicas e versáteis (VATMURGE *et al.*, 2008; HE *et al.*, 2014). Esse composto tem origem sintética e pode ser modificado estruturalmente para obter diferentes características e atividades biológicas (LI *et al.*, 2019). Uma das aplicações mais importantes do triazol é no setor agrícola, onde ele é amplamente utilizado como ingrediente ativo em produtos como fungicidas e herbicidas, devido ao seu potencial como agente de controle de doenças, pragas e plantas daninhas. A pesquisa contínua sobre o desenvolvimento de novos compostos de triazol e a avaliação de sua eficácia em diferentes contextos agrícolas são fundamentais para aprimorar as estratégias de manejo e contribuir para a sustentabilidade da agricultura e aumento da produtividade das culturas (LIU; WENG; TAN, 2011; TAN *et al.*, 2012).

Considerando o potencial herbicida de triazóis derivados do timol, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito fitotóxico do triazol em diferentes concentrações em *Lactuca sativa* por meio de bioensaios. Assim, com base nos resultados iniciais, pretende-se obter novos candidatos a herbicidas sintéticos, menos tóxicos (por serem originados de um composto natural), que sejam mais ativos e seletivos, com grande potencial para serem colocados no mercado de agroquímicos.

Metodologia

A síntese dos compostos contendo porção 1,2,3-triazólica foi realizada a partir de transformações químicas no timol, um fenol natural. Depois de devidamente purificados, os triazóis (T1, T2 e T3) tiveram suas estruturas químicas elucidadas por meio da análise de espectros no Infravermelho, Massas e RMN de ^{13}C e ^1H .

Nos ensaios biológicos foram utilizadas as soluções dos três triazóis nas concentrações de 1000 mg/L, 500 mg/L, 250 mg/L, 100 mg/L, 50 mg/L e 10 mg/L. O diclorometano (DCM) utilizado como solvente e a água foram aplicados como controle negativo (C-) e o glifosato a 0,1% foi adotado como controle positivo (C+). Para os testes de germinação, 2 mL de cada solução foram adicionados às placas de Petri com 9 cm de diâmetro contendo papel filtro. Vinte e cinco sementes de *L. sativa* foram utilizadas para cada tratamento, com quatro repetições. As placas foram vedadas com filme plástico e colocadas na câmara de germinação (BOD) a $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ com 12 h de fotoperíodo, durante 120 h.

Para avaliar a fitotoxicidade dos triazóis as variáveis mensuradas foram estabelecidas conforme Pinheiro *et al.* (2015) e foram avaliados os seguintes parâmetros:

- crescimento radicular (CR) – medido após 48 h de exposição,
- comprimento da parte aérea (CA) – medido após 120 h de exposição.

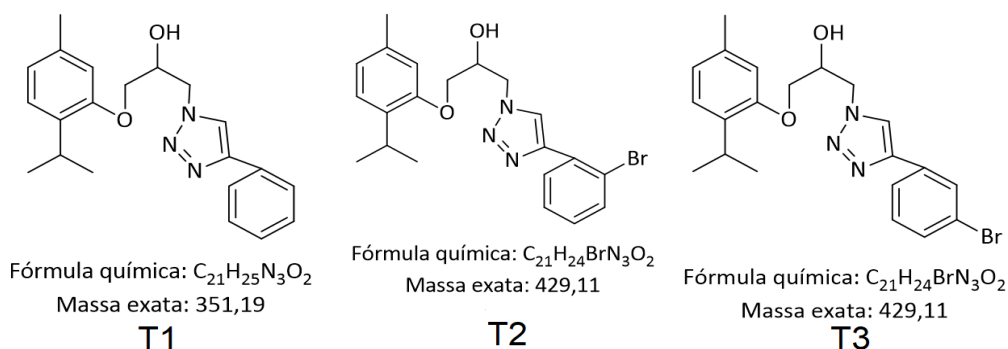
Todas as medidas foram feitas com paquímetro digital. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os experimentos foram realizados como um fatorial de 2 vias (3 moléculas x 6 concentrações + 3 controles). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) no ambiente R, versão 4.1.0 (R CORE TEAM, 2021).

Resultados

Os compostos isolados, foram caracterizados e suas estruturas elucidadas e estão apresentadas na Figura 1.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

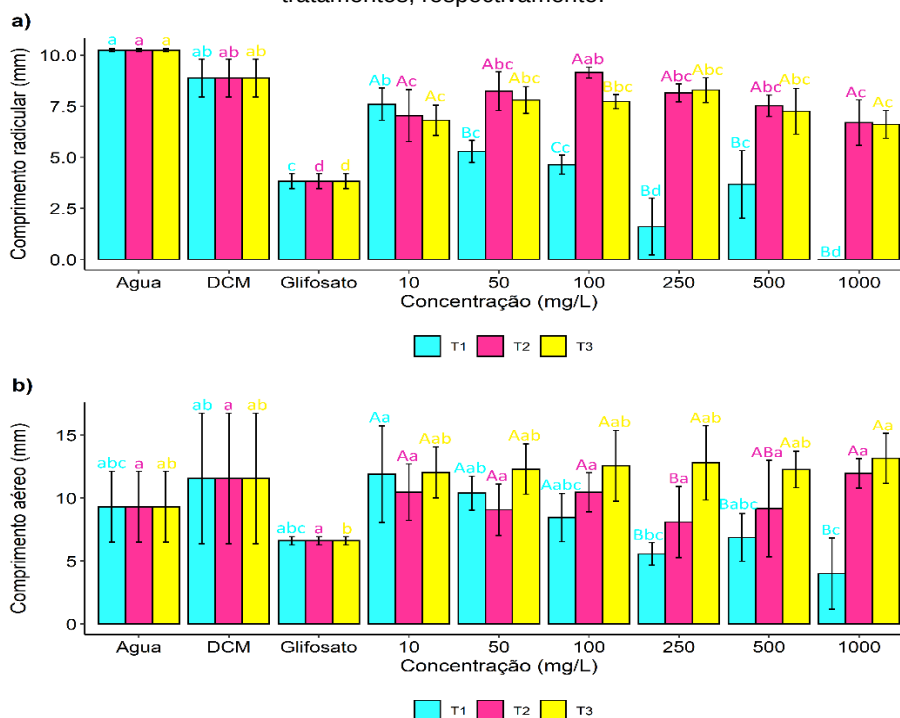
Figura 1 – Estruturas dos triazóis T1, T2 e T3.



Fonte: O autor (2023)

As análises de fitotoxicidade mostraram que as moléculas derivadas do fenol natural Timol apresentaram efeitos tóxicos sobre os parâmetros macroscópicos CR e CA. Os resultados do ensaio de fitotoxicidade estão expostos na figura 2. Foi apurado crescimento radicular com 48 h e o crescimento da parte aérea com 120 h.

Figura 2 - Fitotoxicidade das 3 moléculas (T1, T2 e T3) não fluoradas derivadas do timol frente ao crescimento radicular (CR) e crescimento aéreo (CA) em *L. sativa* após 48 e 120 horas de exposição aos tratamentos, respectivamente.



Fonte: O autor (2023)

De acordo com o teste de tukey as médias estatisticamente iguais são representadas pela mesma letra ($p < 0,05$). As letras maiúsculas correspondem às comparações entre os triazóis, e as minúsculas correspondem às comparações das concentrações dentro de cada triazol utilizado.

Analisando comparativamente os triazóis foi possível observar, no parâmetro crescimento radicular, que na maioria das concentrações utilizadas, o triazol 1 se diferiu estatisticamente dos demais triazóis, demonstrando uma queda no comprimento das raízes, sendo assim mais efetiva. Na concentração de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

100 mg/L todos os triazóis testados apresentaram valores diferentes estatisticamente, e na concentração de 10 mg/L todos os triazóis foram iguais estatisticamente, demonstrando que todos os triazóis aplicadas apresentaram o mesmo desempenho para essa concentração.

Analisando as concentrações dentro de cada triazol foi possível observar que as concentrações de 10 mg/L e 1000 mg/L diferiram estatisticamente de ambos os controles, positivo (glifosato) e negativos (água e diclorometano) no triazol 2 e no triazol 3, demonstrando que foram mais efetivos na redução do comprimento em comparação aos controles negativos, mas ainda inferior ao desempenho do controle positivo. Isso também foi visto no triazol 1, onde a concentração de 1000 mg/L diferiu-se de ambos os controles, com resultados melhores que o obtido pelo glifosato, assim como a concentração de 250 mg/L, que também obteve resultados superiores ao glifosato nesse triazol.

Em relação ao parâmetro crescimento da parte aérea, observando comparativamente os triazóis utilizados, foi possível observar que os três triazóis aplicados nas concentrações de 10 mg/L 50 mg/L e 100 mg/L apresentaram médias estatisticamente iguais, demonstrando que possuem desempenho semelhante. A concentração de 250 mg/L apresentou a maior média de crescimento no triazol 3, demonstrando ter sido essa a concentração com menor êxito na inibição do desenvolvimento da parte aérea.

As concentrações de 500 mg/L e 1000 mg/L apresentaram a menor média de crescimento no triazol 1, demonstrando terem sido as concentrações com melhor desempenho para a redução do comprimento da parte aérea. Foi possível observar que no triazol 1, a concentração de 1000 mg/L diferiu-se estatisticamente do controle negativo, apresentando médias inferiores, sendo assim obteve resultados mais satisfatórios. As concentrações de 100 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L e 1000 mg/L foram estatisticamente iguais ao controle positivo.

No triazol 2 todas as médias das concentrações utilizadas foram estatisticamente iguais, comportamento semelhante foi observado no triazol 3, onde apenas a concentração de 100 mg/L diferiu-se do controle positivo, apresentando média superior de crescimento da parte aérea, dessa forma sendo menos eficiente.

Discussão

O comprimento de raízes e de parte aérea são as variáveis de resposta mais comumente estudadas na aplicação de bioherbicidas (DE MASTRO et al., 2021). O presente revelou que os compostos triazólicos derivados do timol têm a capacidade de induzir efeitos tóxicos comparáveis aos do herbicida comercial amplamente empregado, o glifosato, atuando principalmente na inibição do crescimento das raízes e parte aérea, evidenciando triazol como bioherbicida promissor, reduzindo dependência de herbicidas tradicionais e fomentando agricultura sustentável.

No estudo realizado por Kordali et al. (2008), foi avaliada a atividade herbicida de derivados do timol contra plantas daninhas, os resultados mostraram que os derivados do timol apresentaram efeitos supressores sobre a germinação e uma inibição significativa do crescimento dessas plantas daninhas maiores do que os do herbicida comercial 2,4-D. A atividade observada se assemelha aos resultados identificados neste estudo, em que os triazóis demonstraram uma eficácia comparável à do herbicida glifosato.

Nas avaliações do crescimento das raízes, o destaque foi para o triazol 1, especialmente na concentração de 1000 mg/L, onde seu desempenho igualou ou superou o do herbicida comercial glifosato. No que se refere ao crescimento aéreo, houve similaridade entre os três triazóis testados neste estudo, assim como entre as diferentes concentrações aplicadas. É importante ressaltar que, para esse parâmetro também, a concentração mais alta, ou seja, 1000 mg/L, demonstrou resultados satisfatórios na supressão do crescimento da parte aérea.

O mecanismo de ação dos herbicidas à base do timol envolve a inibição de enzimas envolvidas na biossíntese de lipídios, afetando o desenvolvimento e o crescimento das plantas, além de inibirem a fotossíntese e a síntese de clorofila (POURESMAEL et al., 2020; GRAÑA et al., 2012). A inibição do crescimento também pode estar relacionada com a produção de espécies reativas de oxigênio que, quando estimuladas pelo timol geram modificação nos lipídeos da membrana celular, alterando sua integridade e portanto, alterando o estado de fluidez da membrana (ZHOU et al., 2007).

A redução do comprimento da raiz também pode indicar inibição da absorção de nutrientes, do alongamento celular, da divisão celular e morte celular (FREITAS et al., 2016; DE MASTRO et al., 2021;

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

YAN et al., 2015;). Uma pesquisa realizada na Embrapa, avaliou a atividade herbicida do triazol e de seus derivados no manejo de plantas daninhas em diferentes culturas. Os resultados revelaram que alguns derivados de triazol apresentaram potencial seletividade, inibindo o crescimento das plantas daninhas sem prejudicar o desenvolvimento das culturas, contribuindo assim para um manejo mais eficiente e sustentável (SANTOS et al., 2019).

Conclusão

O presente trabalho destacou a fitotoxicidade dos compostos derivados do timol ao testá-las na alface como planta modelo. Houve uma significativa diminuição nos parâmetros avaliados - comprimento da raiz e parte aérea - principalmente nas concentrações mais altas de 500 mg/L e 1000 mg/L. O triazol 1 se destacou pela eficácia superior em ambos os parâmetros avaliados. Portanto, esses novos compostos triazólicos do timol têm potencial como bioherbicidas comerciais, minimizando impactos ambientais e de saúde, além de serem eficazes no controle de espécies indesejadas.

Referências

De Mastro, G.; El Mahdi, J.; Ruta, C. Bioherbicidal Potential of the Essential Oils from Mediterranean Lamiaceae for Weed Control in Organic Farming. **Plants**. 2021, 10, 818.

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil**. 2003. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/462283/1/CPACBP2003TEC002.pdf>>. Acesso em: 05 abr. 2023

FAGUNDES, M. Z. et al. Clinico pathological and toxicological aspects of poisoning by the clomazone herbicide in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 124, p. 120-126, 2015.

FREITAS, A. S.; CUNHA, I. M. F.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; TECHIO, V. H. Effect of SPL (Spent Pot Liner) and its main components on root growth, mitotic activity and phosphorylation of Histone H3 in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 124, p. 426-434, 2016.

GELMINI, G. A. et al. Resistência de biótipos de *Euphorbia Heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da enzima ALS utilizados na cultura de soja. *Bragantia*, v. 60, n. 2, p. 93-99, 2001.

GRAÑA, E. et al. Mode of action of monoterpenes in plant-plant interactions. **Current Bioactive Compounds**, v. 8, n. 1, p. 80-89, 2012.

HE, Y. W. et al. 1, 2, 3-Triazole-containing derivatives of rupestonic acid: click-chemical synthesis and antiviral activities against influenza viruses. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 76, p. 245-255, 2014.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Monographs Volume 112: **Evaluation of Five Organophosphate Insecticides and Herbicides**. March 20, 2015. Disponível em: <<http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>>. Acesso em: 4 abr. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores de desenvolvimento Sustentável**. Brasil. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/recursosnaturais/ids/ids2010.pdf>>. Acesso em: 06 dez. 2022.

JESCHKE, Peter. Current status of chirality in agrochemicals. **Pest management science**, v. 74, n. 11, p. 2389-2404, 2018

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

KORDALI, S. et.al. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. **Bioresource Technology**, v. 99, n.18, p.8788-8795, 2008.

Liu, X.H.; Weng, J.Q.; Tan, C.X. Microwave synthesis and biological activity of hydrazine derivatives containing 1,2,3-thiadiazole. **Asian J. Chem.** 2011, 23, 4064–4066.

MEAZZA, G.; CAZZAMALLI, S.; PRETTO, F.; POSOCCO, P.; PRICL, S. Antibody-drug conjugates: recent advances in conjugation and linker chemistries. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 12, n. 5, p. 475-492, 2017.

MERHI, M. et al. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case–control studies. **Cancer Causes & Control**, v. 18, p. 1209-1226, 2007. doi: 10.1007/s10552-007-9042-z.

MOLINARI, G.; SEBASTIANI, L.; CAVALIERI, F. New herbicides for sustainable agriculture. In: *Physiology of Action and Safety of Herbicides*. **Cham: Springer**, 2015. p. 221-249.

POURESMAEIL, Mohammad et al. Exploring the bio-control efficacy of *Artemisia fragrans* essential oil on the perennial weed *Convolvulus arvensis*: Inhibitory effects on the photosynthetic machinery and induction of oxidative stress. **Industrial Crops and Products**, v. 155, p. 112785, 2020.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021.

RIBEIRO, J. P. N.; LIMA, M. I. S. Potencial alelopático de *Crinum americanum* L. sob diferentes condições de extração. **Cienc. Agrar. Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 465-471, 2011.

SOUZA, D. K. et al. Ensaio de fitotoxicidade: uma ferramenta para avaliação do impacto ambiental de substâncias químicas. **Scientia Plena**, v. 15, n. 10, 2019.

TAN, C. X. et al. Synthesis, crystal structure, and fungicidal activity of a novel 1, 2, 3-thiadiazole compound. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, v. 187, n. 8, p. 990-996, 2012.

TAVELLA, L. B. et al. O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 7, n. 2, p. 6-12, 2012.

VATMURGE, N. S. et al. Synthesis and antimicrobial activity of β -lactam–bile acid conjugates linked via triazole. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 18, n. 6, p. 2043-2047, 2008.

VIANA, T. V. A. et al. Ensaio de fitotoxicidade: uma ferramenta para avaliação da qualidade do solo. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 2, 2021.

YAN, Z. Q. et.al. Mechanism of artemisinin phytotoxicity action: Induction of reactive oxygen species and cell death in lettuce seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 88, p.53-59, 2015.

ZHOU, F. et.al. The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella typhimurium*. **Journal of Food Safety**, v.27, n. 2, p.124-133, 2007.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES, da FAPES, do CNPq e da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).