

## INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E BIOLÓGICAS DO GIRASSOL MEXICANO (*TITHONIA DIVERSIFOLIA*)

Cecília Fernandes Patta Muller Marques<sup>1</sup>, Giulia Stavrakas Miranda<sup>2</sup>, Ana Carla Rangel Rosa<sup>2</sup>, Leonardo Bindelli Verly<sup>1</sup>, João Victor Andrade<sup>3</sup>, Mario Ferreira Conceição Santos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde - Departamento de Farmácia e Nutrição, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 – Alegre-ES, Brasil, [ceciliafernandespmm@gmail.com](mailto:ceciliafernandespmm@gmail.com), [leobindelli@gmail.com](mailto:leobindelli@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 – Alegre-ES, Brasil, [anacarlarangelrosa@yahoo.com](mailto:anacarlarangelrosa@yahoo.com), [giustavrakas@gmail.com](mailto:giustavrakas@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde - Departamento de Química e Física, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 – Alegre-ES, Brasil, [joavictorandrade927@gmail.com](mailto:joavictorandrade927@gmail.com), [mario.f.santos@ufes.br](mailto:mario.f.santos@ufes.br)

### Resumo

O uso de herbicidas químicos tem causado problemas como a poluição do solo e o desenvolvimento de ervas daninhas resistentes. Dessa forma, gerou-se uma procura por compostos naturais fitotóxicos de menor impacto ambiental. A *T. diversifolia*, que é conhecida por seu comportamento invasivo e efeito alelopático, foi estudada. O extrato foliar da planta foi obtido e seu composto principal, Tagitinina C, foi identificado e isolado por meio de microscopia nuclear (RMN). O extrato bruto diminuiu o crescimento das plântulas de *L. sativa*, mas não tanto quanto o herbicida Flumyazin®.

**Palavras-chave:** Fitotoxicidade, Isolamento, RMN, Tithonia, Bioherbicida

**Área do Conhecimento:** CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA – Química

### Introdução

As plantas popularmente conhecidas como ervas daninhas surgiram de um processo evolutivo, onde elas se ajustaram a diversas alterações ambientais. Este fenômeno também ocorreu em resposta à modernização da agricultura, e os herbicidas utilizados para controlar essas pragas gerou uma evolução rápida das mesmas, originando um quadro de resistência a estes produtos químicos (Christoffoleti, 2020). Para otimizar a produtividade agrícola, a aplicação de herbicidas químicos é amplamente empregada no controle das ervas daninhas. No entanto, esses produtos podem ocasionar problemas, como a contaminação ambiental e riscos de intoxicação, além de promover o aparecimento de plantas resistentes (Salomão; Ferro; Ruas, 2019).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é a capacidade adquirida por certos biótipos de uma população de plantas para sobreviver à aplicação de uma dose de herbicida. A exploração da atividade biológica de compostos presentes em extratos de plantas ou em caldos fermentados de microrganismos vem tornando-se uma medida alternativa para o controle de plantas daninhas sem utilizar produtos sintéticos (Neto *et al.* 2019).

A *Tithonia diversifolia* pertence à família denominada *Asteraceae*. Várias classes de metabólitos secundários foram extraídas desta espécie, entre eles as lactonas sesquiterpênicas, como a tagitinina A e tagitinina C. Esses compostos desempenham um papel crucial na fitotoxicidade, minimizando o crescimento inicial de brotos e a germinação de sementes em determinadas espécies de plantas. Essa atividade fitotóxica sugere uma possível influência alelopática no crescimento de outras espécies vegetais em ambientes naturais (Miranda *et al.* 2015). Por conseguinte, o trabalho em questão busca explorar o potencial da *T. diversifolia* como uma fonte de compostos naturais com atividade herbicida, através da realização de bioensaios de fitotoxicidade *in vitro* em sementes de alface.

### Metodologia

A *T. diversifolia* foi recolhida no município de Alegre, Espírito Santo (20° 45' 48" Sul e 41° 32' 2" Oeste) e foram reconhecidas por especialistas da Universidade Federal do Espírito Santo, *campus* Alegre. Apenas as folhas foram utilizadas, e após a desidratação delas, elas foram encaminhadas ao Laboratório de Química Orgânica e Farmacognosia (LABQOFARM) para a obtenção do extrato diclorometânico.

Figura 1 – Material vegetal coletado da espécie *T. diversifolia*



Fonte: Os Autores (2023).

Para a preparação do extrato, a parte superficial das folhas foram lavadas, utilizando 6L de Diclorometano, até a completa eliminação dos tricomas glandulares. Posteriormente, o líquido foi filtrado, e subsequentemente concentrado em um rotaevaporador, resultando no extrato bruto (EB). Uma coluna de sílica gel flash foi executada, uma mistura de solventes, composta por 95% Diclorometano e 5% Acetato de Etila. Em uma fração, foi adicionado ácido acético 0,01%. As frações obtidas foram em seguinte analisadas por cromatografia de camada delgada (CCD), com a finalidade de verificar a composição química.

A fração isenta de ácido acético, quando diluída com hexano, resultou na formação de precipitado. A parte líquida foi extraída utilizando uma pipeta e filtrada através de algodão, permitindo a análise do material precipitado por CCD. Foi possível detectar apenas um padrão que continha apenas uma mancha, indicando que se tratava de um composto isolado. Observou-se exclusivamente um padrão contendo uma única mancha, o que sugeriu que se tratava de um composto puro. A segunda fração, após diluição com metanol, também gerou um precipitado que foi subsequentemente dissolvido em hexano. A análise por CCD revelou um padrão de mancha idêntico ao interior, denominamos o composto como Composto 1. O Composto 1 foi enviado ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal de Alfenas. O equipamento empregado foi o espectrômetro Tesla Bruker 7.05, especificamente no modelo AC-300. Este dispositivo foi operado nas frequências de 300 MHz para o núcleo de hidrogênio e 75 MHz para o núcleo de carbono, e o solvente usado na análise foi o clorofórmio deuterado.

O bioensaio de fitotoxicidade foi feito no Laboratório de Química, do Instituto Federal do Espírito Santo em Rive, utilizando o EB da *T. diversifolia* em sementes de *L. sativa*. No total, cinco concentrações diferentes do EB foram avaliadas, com uma solução de água e diclorometano. O controle positivo consistiu em uma solução de água e diclorometano, enquanto o controle negativo foi o herbicida comercial Flumyzin® (Tabela 1).

Tabela 1 - Concentrações do extrato diclorometânico de *T. diversifolia* e controles utilizados no teste de fitotoxicidade

Amostra	Concentração do EB (ppm)	Composição da solução
1	3000	70% água / 30% diclorometano
2	1500	70% água / 30% diclorometano

3	750	70% água / 30% diclorometano
4	375	70% água / 30% diclorometano
5	187,5	70% água / 30% diclorometano
Controle negativo	-	70% água / 30% diclorometano
Controle positivo	-	Flumyzin® (concentração recomendada pelo fabricante)

Fonte: Os Autores (2023).

Cada tratamento foi feito nas sementes de *L. sativa* dispostas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com as soluções do EB. As placas de Petri foram organizadas e colocadas em uma incubadora BOD a 24°C durante todo o experimento. Os detalhes dos tempos de exposição, parâmetros avaliados e métodos utilizados estão descritos na Tabela 2. O crescimento das raízes e da parte aérea foi determinado com auxílio de um paquímetro digital.

Tabela 2 – Teste de fitotoxicidade *in vitro* da *T. diversifolia* em sementes de *L. sativa*

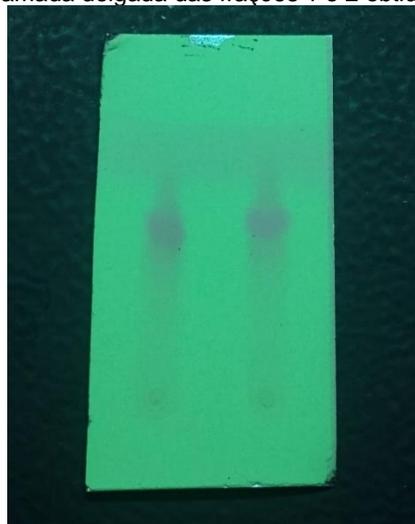
Tempo de Exposição (horas)	Parâmetro Avaliado	Método de avaliação
8	Porcentagem de Sementes Germinadas	Observação visual
16	Porcentagem de Sementes Germinadas	Observação visual
24	Porcentagem de Sementes Germinadas	Observação visual
32	Porcentagem de Sementes Germinadas	Observação visual
40	Porcentagem de Sementes Germinadas	Observação visual
48	Porcentagem de Sementes Germinadas	Observação visual
48	Crescimento das Raízes e Parte Aérea	Medição das dimensões das raízes e parte aérea
96	Crescimento das Raízes e Parte Aérea	Medição das dimensões das raízes e parte aérea

Fonte: Os Autores (2023).

## Resultados

A cromatografia de camada delgada de ambas as frações derivadas do EB revelou a presença de um mesmo composto isolado. Foi possível identificar que se tratava de um mesmo composto, visto que eles apresentaram o mesmo fator de retenção (Figura 2).

Figura 2 – Cromatografia de camada delgada das frações 1 e 2 obtidas na coluna de sílica gel flash.



Fonte: Os Autores (2023).

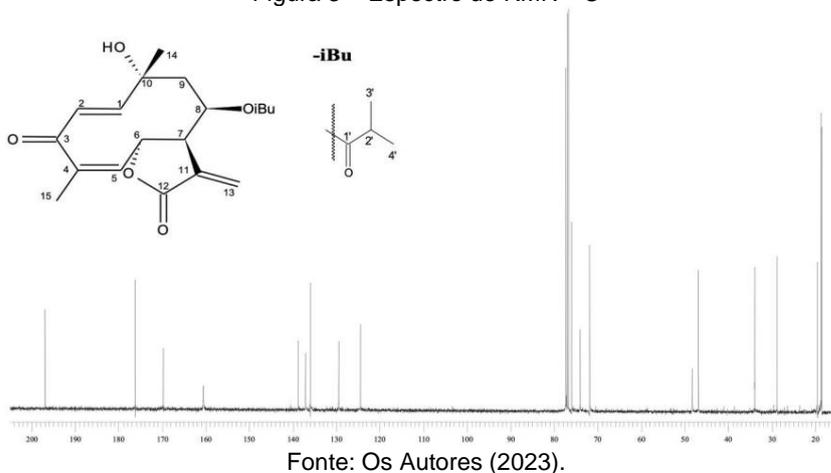
A verificação da estrutura química da foi realizada por meio de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ) e hidrogênio-1 ( $^1\text{H}$ ) (Figura 3 e Figura 4). Com os sinais de deslocamento obtidos pela análise de RMN (Tabela 3), foi possível identificar que o composto se tratava da Tagitinina C.

Tabela 3 – Sinais de deslocamento dos espectros de RMN

Posição	$^{13}\text{C}$ (75hz)	$^1\text{H}$ (300hz)
1	160,5	5,82 (dd, 15Hz)
2	129,5	6,25 (d, 15Hz)
3	197,0	-
4	139,0	-
5	137,0	5,42 (d, 8Hz)
6	76,0	6,99 (d, 8Hz)
7	48,3	3,58 (quarteto, 3Hz)
8	74,0	5,35 (septeto, 3Hz)
9 a	47,0	2,00 (dd, 16 e 8Hz)
9 b	47,0	1,10 (dd, 2 e 8Hz)
10	72,0	-
11	136,0	-
12	170,0	-
13 a	129,5	6,35 (d, 1.80)
13 b	129,5	5,81 (d, 1.8)
14	19,8	1,54 (s,
15	29,0	1,95 (s
1'	176,2	-
2'	34,0	-
3'	18,4	1,05 (d, 6.9
4'	18,6	1,07 (d, J 6.9 Hz

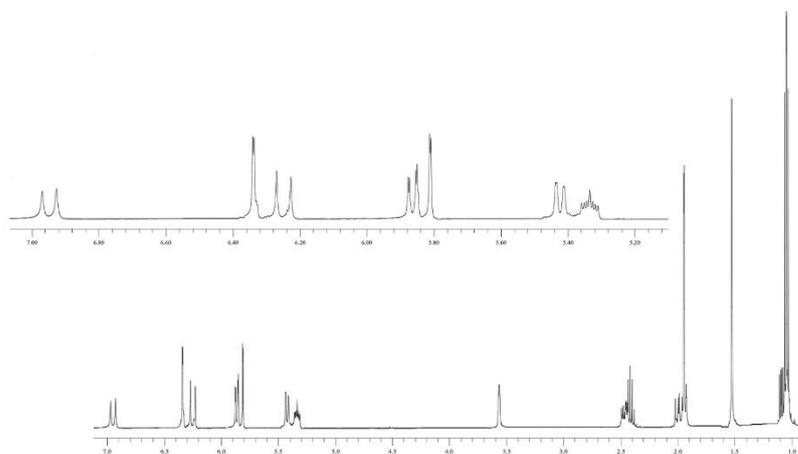
Fonte: Os Autores (2023).

Figura 3 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C



Fonte: Os Autores (2023).

Figura 4 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H



Fonte: Os Autores (2023).

O ensaio de fitotoxicidade foi feito utilizando o EB, e a germinação das sementes de *L. sativa* foi aplicada para evidenciar o impacto fitotóxico do extrato. Foi possível observar que o EB apresentou inibição do desenvolvimento das mudas da alface. Contudo, a inibição foi menor quando comparada com o controle positivo, que teve um desempenho 50% maior. Dessa forma, observa-se que o extrato possui uma atividade moderada. Com o controle positivo, não houve nenhum crescimento da parte aérea da *L. sativa*, com o controle negativo o crescimento foi de 3,70mm, e com o EB, o crescimento atingiu apenas 2,00mm.

## Discussão

O composto 1 foi identificado como Tagitinina C, esse composto se trata de uma lactona sesquiterpênica. A *T. diversifolia* sintetiza de maneira constante e em quantidades significativas compostos lactônicos sesquiterpênicos, cuja prevalência é notoriamente elevada nas folhas, onde são armazenados em estruturas especializadas como tricomas. Estes metabólitos secundários desempenham um papel crucial na defesa da planta, agindo contra patógenos microbianos, herbívoros e atuando como agentes atrativos para predadores de pragas (Santos, 2018). As lactonas

sesquiterpênicas possuem a capacidade de influenciar o desenvolvimento e a germinação de certas espécies vegetais, fenômeno este conhecido como alelopatia. Esses metabólitos podem ser úteis na agricultura, pois pode auxiliar no manejo de plantas invasoras. O entendimento detalhado dos aleloquímicos, seus mecanismos de ação e os alvos receptores, pode possibilitar a formulação de novas estratégias na busca por modelos inovadores de herbicidas naturais. (Arantes, 2007).

O efeito alelopático da *T. diversifolia* também já foi observado na literatura, a Tagitinina A e Tagitinina C foram descritas como redutoras da germinação de sementes e do crescimento de plântulas de algumas espécies vegetais. A adição de folhas secas de *T. diversifolia* ao solo demonstrou inibir o desenvolvimento de plântulas de arroz (Miranda, 2015). Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com a literatura existente, sendo possível observar o efeito fitotóxico do extrato bruto da *T. diversifolia* contra as sementes de *L. sativa*, embora a eficácia tenha sido inferior comparada ao herbicida comercial utilizado. Vários aspectos vinculados aos métodos aplicados na fabricação dos extratos e na separação de compostos podem influenciar o nível de atividade biológica do produto natural. A estratégia de extração deve ser cuidadosamente elaborada para isolar os metabólitos desejados, considerando a eficácia da extração, a estabilidade dos compostos e o objetivo final do extrato (DE OLIVEIRA, 2020).

## Conclusão

Os extratos obtidos da *T. diversifolia* revelaram que a Tagitinina C era o composto predominante. O ensaio fitotóxico demonstrou que esse extrato apresentou uma redução do crescimento de *L. sativa*. No entanto, a eficácia do extrato foi inferior à do herbicida Flumyazin®, usado como controle positivo. Constatou-se, portanto, o potencial dos extratos de *T. diversifolia* como agentes naturais para o manejo de pragas. Assim, recomenda-se a continuidade deste estudo, com a realização de experimentos adicionais utilizando métodos variados de extração, condições diferentes e solventes distintos, bem como uma investigação aprofundada dos compostos causadores do efeito fitotóxico.

## Referências

- ARANTES, Francisco Frederico Pelinson. Synthesis and evaluation of the phytotoxicity of new sesquiterpe lactones. 2007. 147 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica analítica; Agroquímica inorgânica e Físico-química; Agroquímica orgânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C. B. da. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, p. 13-20, 1994.
- MIRANDA, M. A. F. M. *et al.* Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 78, n. 5, p. 1083-1092, 2015.
- NETO, J. R. C. *et al.* Resistência de plantas daninhas a herbicidas e alternativas de controle: uma revisão. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 3, p. 183-201, 2019.
- SALOMÃO, P. E. A.; FERRO, A. M. S.; RUAS, W. F. Herbicidas no Brasil: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. e32921990-e32921990, 2020.
- SANTOS, Elda Gonçalves dos. Influência dos tratamentos com Lactonas Sesquiterpênicas isoladas de *Tithonia diversifolia*, em monoterapia e combinadas ao benznidazol, durante infecção aguda experimental por *Trypanosoma cruzi*. 2018. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG 2018.