

AValiação DO EFEITO FITOTÓXICO DE DERIVADO 1,2,3-TRIAZÓLICO DO EUGENOL SOBRE *Lactuca sativa* E *Lolium multiflorum*

Jéssika Santos de Oliveira¹, Wenderson Tinório de Paula³, Mylena Golçalves Raymundo¹, Mariana Belizario de Oliveira², Aidene de Fátima Camilo Faria², Adilson Vidal Costa², Milene Miranda Praça Fontes¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento/Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre – ES, Brasil, jessikaoliveira664@gmail.com, mylenagr16@gmail.com, milenemiranda@yahoo.com.br.

²Universidade 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, belizmary@hotmail.com, aidenefaria@gmail.com, avcosta@hotmail.com

³Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas/Departamento de Química, Rua José Lourenço Kelmer, S/N - Campus Universitário, Martelos – 36036-900 – Juiz de Fora – MG, Brasil, wendersontinorio@hotmail.com.

Resumo

Há uma crescente necessidade de novos herbicidas que sejam mais específicos, menos agressivos ao meio ambiente e mais eficientes, devido ao desenvolvimento de resistência das plantas aos herbicidas comerciais, muitas vezes pelo uso em excesso. Compostos de fontes naturais são considerados valiosos para a descoberta de novos agroquímicos, como herbicidas. O presente trabalho visa analisar a fitotoxicidade de um 1,2,3-triazol derivado do eugenol usando *Lactuca sativa* (alface) e a planta daninha *Lolium multiflorum* (azevém) como modelos. Os bioensaios ocorreram em laboratório e casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado (DIC), utilizando como parâmetros a porcentagem de Germinação (%G), o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), o comprimento radicular (CR) e o comprimento aéreo (CR). Os resultados indicam que o 1,2,3-triazol tem efeito fitotóxico significativo sobre o crescimento radicular de *Lactuca sativa*, sendo semelhante ao glifosato, e demonstrando maior eficácia no crescimento aéreo de *Lolium multiflorum* na maior concentração testada, indicando uma diferença na sensibilidade entre dicotiledôneas e monocotiledôneas para esse parâmetro.

Palavras-chave: Herbicidas. Fitotoxicidade. Plantas daninhas. Produtos naturais.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.

Introdução

O aumento contínuo do uso de herbicidas no Brasil está diretamente ligado ao predomínio do sistema de produção agrícola convencional, que exige a aplicação intensiva desses produtos (Salomão *et al.*, 2020). Entretanto, o uso excessivo e não controlado de herbicidas tem gerado uma forte pressão seletiva sobre as populações de plantas daninhas, resultando na seleção de biótipos resistentes (Han *et al.*, 2021; Alves *et al.*, 2021). Como consequência, a agricultura enfrenta desafios consideráveis relacionados à infestação dessas plantas, o que acarreta impactos negativos na qualidade das colheitas, na biodiversidade, na saúde humana e animal, além de prejudicar os recursos hídricos (Christoffoleti *et al.*, 2006; Day *et al.*, 2020).

Diante da importância dos herbicidas, a indústria agroquímica tem investido no desenvolvimento de novas metodologias de síntese orgânica, buscando criar compostos que sejam cada vez mais seletivos, eficientes e seguros para o meio ambiente (Barcelos *et al.*, 2022). Estudos apontam que compostos heterocíclicos, como os 1,2,3-triazóis, possuem um grande potencial medicinal e biológico (Gholampour *et al.*, 2019).

Os 1,2,3-triazóis têm um papel essencial como componentes estruturais em compostos bioativos, sendo encontrados em uma grande variedade de biomoléculas, fármacos e agroquímicos, podendo ser obtidos a partir de diferentes substratos (Al-Mulla, 2017). Uma das vantagens de utilizar produtos

naturais como modelos para novas moléculas bioativas é a diversidade estrutural que eles oferecem, além da possibilidade de obter derivados semissintéticos e sintéticos mais potentes e menos tóxicos. Assim, a aplicação dessa abordagem na formulação de novos agroquímicos que sejam eficientes, sistêmicos e de baixo impacto ambiental é particularmente relevante para a agroindústria (Dupont *et al.*, 2012).

O eugenol (4-alil-2-metoxifenol), um composto natural pertencente à classe dos fenilpropanóides, é outro exemplo de molécula utilizada na obtenção de derivados semissintéticos e sintéticos. Ele já demonstrou diversas atividades biológicas, além de ser uma alternativa ecológica promissora aos herbicidas comerciais (Wu *et al.*, 2016).

A combinação de 1,2,3-triazóis com outros fragmentos tem sido amplamente investigada com o objetivo de potencializar a ação biológica e reduzir a toxicidade desses compostos (Haque *et al.*, 2017). Nesse contexto, moléculas naturais como o eugenol estão sendo utilizadas como estruturas-modelo para a síntese de novos compostos, uma vez que estudos indicam que este produto natural apresenta atividade fitotóxica contra várias espécies de plantas daninhas (Ahuja *et al.*, 2014). Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo analisar a fitotoxicidade do 1,2,3-triazol derivado do eugenol, utilizando um modelo vegetal e uma planta daninha.

Metodologia

Os bioensaios foram realizados utilizando-se, como modelo vegetal, sementes comerciais da planta *Lactuca sativa* L. uma dicotiledônea. A avaliação da fitotoxicidade do 1,2,3-triazol foi realizada utilizando cinco concentrações diferentes (10, 50, 100, 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e quatro repetições por concentração. O herbicida glifosato 1% foi utilizado como controle positivo e o solvente diclorometano (DCM) e a água destilada foram utilizados como controles negativos. Vinte e cinco sementes de alface foram colocadas em cada placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro umedecido com 2,5 mL de solução. Os experimentos seguiram um delineamento inteiramente casualizado (DIC). As placas de Petri foram vedadas com filme plástico transparente e mantidas úmidas em uma câmara de germinação do tipo demanda bioquímica de oxigênio (BOD) em temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ \text{C}$) durante todo o período do experimento. A porcentagem de germinação (%G) e o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foram avaliados de 8 em 8 h durante 48 h. Os outros parâmetros macroscópicos avaliados foram o comprimento da raiz (CR) após 48 h e o comprimento aéreo (CA) após 120 h.

As folhas são o principal órgão para penetração de herbicidas aplicados em pós-emergência (Ferreira *et al.*, 2002a), dessa forma, para verificar o mecanismo de ação do 1,2,3-triazol e sua atividade herbicida, foi realizado um ensaio pós-emergente, no qual foi testado em planta daninha *Lolium multiflorum* Lam (Azevém) apenas as concentrações que apresentaram melhores resultados no experimento de pré-emergência, em BOD com a planta modelo. As diferentes concentrações do 1,2,3-triazol foram preparadas diluindo-as em água destilada + acetona (2%, v/v¹) + Tween 80 (0,05%, v/v¹).

Em condições de plantio de acordo com a metodologia adaptada de Sharma *et al.* (2019), dez sementes de *Lolium multiflorum* L. uma monocotiledônea, foram cultivadas em tubetes de polipropileno preenchidos com 100 g de substrato orgânico, irrigadas diariamente até completarem quatro semanas e, após esse período, 5 plantas foram desbastadas. As 5 plantas restantes foram expostas através de gotejamento com pipeta de Pasteur, com 5 mL (1 mL por planta) da solução do tratamento. Como controle positivo foi utilizado o herbicida pós-emergente glifosato e como controles negativos foi utilizado água e o solvente Tween 80 (0,05%, v/v¹) + Acetona (2%, v/v¹), utilizado na diluição da solução. O bioensaio foi realizado com 5 repetições em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e o efeito do 1,2,3-triazol sobre o comprimento radicular (CR) e da parte aérea (CA) das plantas foram avaliados após 12 dias de exposição.

Os dados obtidos na análise de fitotoxicidade com a planta modelo *Lactuca sativa* foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett à $p \leq 0,05$ de significância. Os dados obtidos em bioensaio em casa de vegetação, foram submetidos à ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$ de significância. Todas as análises foram realizadas no software RStudio, versão 6.0.0 (R Core Team 2023).

Resultados

Analisando os resultados do derivado triazólico em relação à %G das sementes de alface, verificou-se que o derivado foi estatisticamente similar ao controle negativo DCM e ao controle positivo glifosato na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, inibindo 22% da germinação das sementes (Tabela 1).

Avaliando a velocidade na qual as sementes germinaram, as concentrações de 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ mostraram-se semelhantes ao DCM e ao glifosato, indicando uma redução significativa no IVG.

O crescimento das raízes das plântulas foi o parâmetro mais afetado pela ação do derivado triazólico nas concentrações de 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, apresentando uma inibição de 53 e 47% respectivamente, estatisticamente similar ao controle positivo, apresentando uma inibição de 42% do crescimento da raiz.

Para o crescimento da parte aérea, o derivado triazólico a 100 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, inibiu respectivamente 47 e 81% do CA. Apesar da concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ apresentar uma elevada inibição, foi semelhante estatisticamente ao controle positivo neste parâmetro, que inibiu 41% do crescimento da parte aérea. Portanto, é possível notar efeito fitotóxico do derivado triazólico do eugenol na dicotiledônea *Lactuca sativa* nos parâmetros avaliados, em especial na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o parâmetro comprimento aéreo.

Tabela 1- Fitotoxicidade em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do 1,2,3-triazol derivado do eugenol no desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L.

Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	%G	IVG	CR	CA
Água (C-)	97a	10.0825a	8.055a	10.6525a
Diclorometano (DCM)	95b	8.15b	8.505b	10.7075b
Glifosato (C+)	91c	7.5675c	4.9975c	6.2325c
10	96abc	10.0475ab	8.2375ab	9.2525abc
50	85abc	9.0075abc	6.88abc	7.5525abc
100	85abc	8.8925abc	6.42ac	5.5175c
250	78bc	6.895bc	3.97c	2.01c
500	89abc	7.5125bc	4.435c	7.29abc

Médias seguidas pela letra a são estatisticamente iguais a água; médias seguidas pela letra b são estatisticamente iguais ao diclorometano (DCM); médias seguidas pela letra c são estatisticamente iguais ao glifosato; pelo teste de Dunnett ($p < 0.05$). As siglas representam: %G= porcentagem de germinação, IVG= índice de velocidade de germinação, CR= comprimento radicular, CA= comprimento aéreo.

Fonte: o autor.

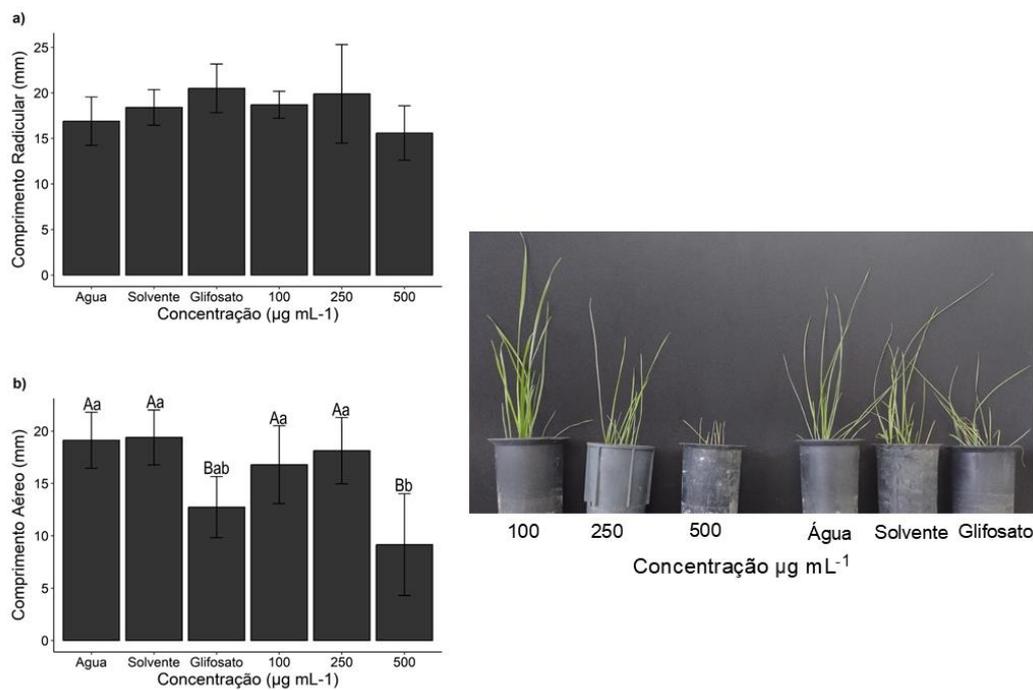
Na Figura 1 estão expostos os resultados do bioensaio de pós-emergência em casa de vegetação com a planta daninha *Lolium multiflorum* L. (azevém) após 12 dias de exposição ao derivado triazólico do eugenol, com as três concentrações (100, 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) que apresentaram efeito fitotóxico na planta modelo *Lactuca sativa* L.

De acordo com o teste de tukey a $p < 0.05$ de significância, o derivado triazólico não influenciou na germinação da planta daninha, apresentando para este parâmetro, 100% de germinação.

Para a variável CR, o derivado triazólico do eugenol não apresentou efeito, ou seja, as concentrações não se diferiram entre si e nem em comparação com os controles.

Em contrapartida, de acordo com o teste de média, o derivado triazólico apresentou efeito significativo no CA na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com redução de 57%, diferindo-se dos controles negativos água e DCM e demais concentrações, enquanto o controle positivo, o herbicida comercial glifosato, reduziu 34% do CA. Dessa forma, o derivado triazólico do eugenol mostrou-se fitotóxico para a parte aérea da monocotiledônea *Lolium multiflorum* na maior concentração.

Figura 1- Fitotoxicidade em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do 1,2,3-triazol derivado do eugenol no desenvolvimento radicular e aéreo de *Lolium multiflorum* Lam.



Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Médias sem letras são similares estatisticamente. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos e os controles; Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações e os controles, de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$). Fonte: o autor.

Os resultados sugerem que o derivado triazólico pode ser mais eficaz em dicotiledôneas nos parâmetros avaliados, enquanto sua eficácia contra monocotiledôneas só se destaca em concentrações mais altas para o parâmetro CA. Isso indica que as diferenças anatômicas entre dicotiledôneas e monocotiledôneas podem influenciar a ação do derivado triazólico de eugenol.

Discussão

Na busca e desenvolvimento de novos herbicidas, os compostos de natureza heterocíclica são de grande relevância, especialmente para o controle de plantas daninhas. A estratégia de hibridização molecular entre compostos bioativos com 1,2,3-triazóis a fim de obter novos derivados com atividade herbicida tem sido amplamente descrita na literatura (Borgati, 2013). Neste trabalho, buscou-se analisar um derivado do eugenol contendo fragmento 1,2,3-triazólico.

Estudos prévios demonstram o potencial fitotóxico do eugenol em diferentes espécies de plantas daninhas. Ahuja *et al.* (2014) avaliaram o crescimento e desenvolvimento das plântulas em concentrações variando de 50 a 1.000 μM , após sete dias de tratamento. Observou-se uma redução de 50-83% no comprimento da parte aérea, acompanhada por uma diminuição no conteúdo total de clorofila (37-53%) e na respiração celular (36-57%). Esses resultados indicam que o eugenol pode causar uma significativa redução na parte aérea das espécies daninhas e dificultar o crescimento das plântulas, além de alterar processos fisiológicos importantes como a produção de clorofila e a atividade respiratória.

Estes indícios corroboram os resultados encontrados neste estudo, que mostrou que o derivado triazólico do eugenol causou uma redução no crescimento aéreo da daninha monocotiledônea *Lolium multiflorum* na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}^{-1}$.

Diferenças morfológicas entre mono e dicotiledôneas, bem como as formas de absorção de herbicidas ou agentes fitotóxicos, podem explicar esses resultados. As dicotiledôneas, caracterizadas

pela presença de dois cotilédones, possuem órgãos de reserva e proteção do embrião, além de folhas geralmente largas com nervuras reticuladas (Tribe, 1977; Joly, 2002). Já as monocotiledôneas, que apresentam uma única folha cotiledonar e raízes do tipo fascicular, não possuem crescimento secundário em espessura (Joly, 2002).

A penetração dos herbicidas pode ocorrer em diversas estruturas das plantas, sendo as folhas o principal órgão para penetração de herbicidas aplicados em pós-emergência. A morfologia e a anatomia foliar influenciam a quantidade de herbicidas retidos e absorvidos pelas folhas (Ferreira *et al.*, 2002a). A penetração consiste no movimento do herbicida em direção à epiderme das folhas, governado principalmente pela difusão do herbicida. A absorção, por sua vez, envolve a entrada do herbicida na célula, através da membrana plasmática, sendo a cutícula das células da epiderme foliar a via mais importante para herbicidas aplicados nas folhas (Carvalho, 2013).

As raízes, por outro lado, são responsáveis pela sustentação das plantas e pela absorção de água e herbicidas a partir do solo. Caracterizam-se por apresentar epiderme desprovida de cutícula, embora em algumas espécies possa ocorrer cutinização da parede celular mais externa. A rota mais importante de entrada do herbicida é através dos pelos radiculares nas extremidades das raízes, implicando na passagem pela membrana plasmática e subsequente entrada no simplasto, movendo-se célula a célula até o tecido vascular. Em geral, as gramíneas (monocotiledôneas) têm demonstrado maior absorção de herbicidas por via foliar do que as dicotiledôneas (Oliveira Jr. e Bacarin, 2011).

Conclusão

Os resultados indicam que o 1,2,3-triazól derivado do eugenol possui efeito fitotóxico considerável sobre o CR de *Lactuca sativa*, sendo similar ao glifosato. Em *Lolium multiflorum*, no entanto, o derivado triazólico não teve efeito significativo no crescimento radicular, sugerindo uma diferença na sensibilidade entre dicotiledôneas e monocotiledôneas para esse parâmetro. Porém, no CA, o derivado triazólico de eugenol foi mais efetivo na maior concentração.

Devido a essas diferentes respostas e níveis de sensibilidade, não foi possível determinar um padrão de resposta entre monocotiledôneas e dicotiledôneas. Dessa forma, este estudo se torna um passo inicial importante para compreender o mecanismo de ação do derivado triazólico do eugenol e estudos complementares precisam ser realizados para responder a essa questão.

Referências

AHUJA, N.; BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. Herbicidal activity of eugenol towards some grassy and broad-leaved weeds. **Journal of Pest Science**, 2014.

AL-MULLA, A. A Review: Biological Importance of Heterocyclic Compounds. **Der Pharma Chemical**. v. 9, n. 13, p. 141-147, 2017.

ALVES, T. A., ROBERTO, C. E. O., PINHEIRO, P. F., ALVES, T. A., HENRIQUE, M. K. C., FERREIRA, A., CLARINDO, W. R., PRAÇA-FONTES, M. M. Searching an auxinic herbicide to use as positive control in toxicity assays. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 1, e20181262, 2021. DOI 10.1590/00013765202120181262.

BARCELOS, F. F. **Síntese de novos compostos 1,2,3-Triazólicos Fluorados derivados do glicerol e avaliação das atividades fitotóxica, citogenotóxica e fungicida**. 2022. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) Universidade de Vila Velha, 2022.

BORGATI, Thiago Freitas. **Síntese e avaliação da atividade herbicida de triazóis**. 2013. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química, 2013.

CARVALHO, L. B. Herbicidas. Edição pelo autor, Lages-SC. p. 2, 2013.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; BORGES, A.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S. J. P.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; MONQUERO, P. A. Carfentrazone-etil aplicado em pós-emergência para o controle de *Ipomea* spp. e *Commelina benghalensis* in *Sugarcane Crop*. **Planta Daninha**, p. 83-90, 2006.

DAY, M.; WITT, A.; WINSTON, R. Weed biological control in low-income and middle-income countries. **Current Opinion in Insect Science**, p. 92-98, 2020.

DUPONT, S.; LEMETAIS, G.; FERREIRA, T.; CAYOT, P.; GERVAIS, P.; BENEY, L. Ergosterol biosynthesis: a fungal pathway for life on land? **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, v. 66, n. 9, p. 2961-2968, 2012.

GHOLAMPOUR, M.; RANJBAR, S.; EDRAKI, N.; MOHABBATI, M.; FIRUZI, O.; KHOSHNEVISZADEH, M. Click chemistry-assisted synthesis of novel aminonaphthoquinone-1, 2, 3-triazole hybrids and investigation of their cytotoxicity and cancer cell cycle alterations. **Bioorganic chemistry**, v. 88, p. 102967, 2019.

HAN, C., SHAO, H., ZHOU, S., MEI, Y., CHENG, Z., HUANG, L., LV, G. Chemical composition and phytotoxicity of essential oil from invasive plant, *Ambrosia artemisiifolia* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211: 111879. 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111879

HAQUE, A; HSIEH, M. F.; HASSAM, S. I.; FAIZI, S.H.; SAHA, A.; DEGE, N.; RATHER, J. A.; KHAN, M. S. Synthesis, characterization, and pharmacological studies of ferrocene-1H-1,2,3-triazole hybrids. **Journal of Molecular Structure**, 2017.

FERREIRA, E. A.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, E. A. M.; SILVA, A. A.; RUFINO, R. J. N. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas. II - *Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia*, *Ageratum conyzoides* e *Sonchus asper*. **Planta Daninha**. p.327- 335, 2002a.

JOLY, A. B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. Companhia editor de São Paulo, São Paulo, v. 4, p. 777, 2002.

OLIVEIRA JR, R. S.; BACARIN, M. A. Absorção e translocação de herbicidas. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. 1ed. Curitiba, PR: **Omnipax Editora Ltda**, v. 1, p. 215-242, 2011.

RSTUDIO. *RStudio: Ambiente de Desenvolvimento Integrado para R (Versão 6.0.0)* [Software]. 2023.

SALOMÃO, Pedro Emílio Amador; FERRO, Antônio Max Souza; RUAS, Wilson Ferreira. Herbicidas no Brasil: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. e32921990-e32921990, 2020.

SHARMA, A.; SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Chemical profiling, cytotoxicity and phytotoxicity of foliar volatiles of *Hyptis suaveolens*. **Ecotoxicology and environmental safety**. v. 171, p. 863-870, 2019.

TRIBE, I. O reino vegetal. Companhia Melhoramentos de São Paulo. p. 158,1977.

WU, C. X.; ZHAO, G. Q.; LIU, D. L.; LIU, S. J.; GUN, X. X.; TANG, Q. TANG. Discovery and weed inhibition effects of coumarin as the predominant allelo,chemical of yellow sweetclover (*Melilotus officinalis*), **Int. J. Agric. Biol.** v. 18, p. 168-175, 2016.

Agradecimentos

Os autores do presente trabalho agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Grupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo apoio.