

This graphical abstract depicts the process from leaf-surface extraction and solvent partitioning of *Lapidia apicifolia* to phytotoxic bioassays and chromatographic analyses. The hexane fraction promoted root growth in tomato, while the methanolic fraction showed strong inhibitory effects and UV features consistent with sesquiterpene lactones and flavonoids.

ATIVIDADE FITOTÓXICA DOS EXTRATOS E FASES DE PARTIÇÃO DE *Lapidia apicifolia* Roque & S.C. Ferreira (EUPATORIEAE, ASTERACEAE)

Marcos Lorenzi-Martins^{1*}, Marcelo J. P. Ferreira¹

¹ – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP

marcos.lorenzi@usp.br

Resumo: Reconhecidas pela diversidade química e variedade de mecanismos de ação, espécies de Asteraceae têm sido investigadas como fontes promissoras de substâncias com potencial alelopático e ecologicamente sustentáveis. Diante disso, o presente estudo avaliou a atividade fitotóxica dos extratos da superfície foliar de *Lapidia apicifolia* Roque & S.C. Ferreira, uma espécie de Asteraceae endêmica do Brasil, com o objetivo de investigar seu potencial alelopático. O extrato em diclorometano foi particionado nas fases em hexano e metanol, as quais foram testadas sobre a germinação e o crescimento inicial das espécies *Lactuca sativa* L., *Solanum lycopersicum* L. e *Bidens pilosa* L. Os bioensaios indicaram ausência de efeitos significativos sobre a germinação, mas inibição acentuada do crescimento radicular e do hipocótilo. A fase hexânica promoveu estímulo radicular, enquanto a fase metanólica apresentou efeito inibitório pronunciado, demonstrando uma ação fitotóxica clássica. Esses resultados evidenciam o potencial biológico dos metabólitos presentes na superfície foliar e indicam a possibilidade de aplicação no manejo natural de plantas daninhas. Estudos complementares estão em andamento para elucidar os compostos responsáveis pelos efeitos observados.

PHYTOTOXIC ACTIVITY OF EXTRACTS AND PARTITION PHASES FROM *LAPIDIA APICIFOLIA* ROQUE & S.C. FERREIRA (EUPATORIEAE, ASTERACEAE)

Abstract: Asteraceae species are recognized for their chemical diversity and wide range of modes of action, which have been investigated as promising sources of allelopathic and environmentally sustainable compounds. Therefore, this study evaluated the phytotoxic activity of the foliar surface extracts of *Lapidia apicifolia* Roque & S.C. Ferreira, an Asteraceae species endemic to Brazil, to investigate its allelopathic potential. The dichloromethane extract was partitioned into

hexane and methanol phases, which were tested on the germination and early growth of *Lactuca sativa* L., *Solanum lycopersicum* L., and *Bidens pilosa* L. Bioassays revealed no significant effects on germination, but a marked inhibition of root and hypocotyl growth. The hexane phase promoted root stimulation, whereas the methanol phase exhibited pronounced inhibitory effects, indicating a classical phytotoxic response. These findings highlight the biological potential of metabolites present on the leaf surface and suggest their possible application in sustainable weed management. Further studies are underway to elucidate the compounds responsible for the observed effects.

Keywords: Compositae, phytotoxicity, sesquiterpene lactones, flavonoids

INTRODUÇÃO

Um dos principais desafios enfrentados nas grandes culturas agrícolas é a presença de plantas daninhas, que reduzem a produtividade do cultivo especialmente devido a competição por recursos nutricionais inorgânicos.¹ O controle destes organismos é comumente realizado sob o manejo de herbicidas sintéticos, uma alternativa eficiente que substitui o trabalho manual, animal e mecânico.^{2,3} No entanto, a composição e uso de tais herbicidas é severamente restringida em diversas regiões do mundo⁴, uma vez que o emprego indiscriminado está associado a diversos riscos ambientais e a saúde humana, além de promover o surgimento de populações resistentes e causar impactos negativos aos ecossistemas devido ao acúmulo de resíduos químicos.^{2,3,5,6}

Uma alternativa promissora para mitigar os problemas acarretados pelo uso de herbicidas sintéticos é a busca por novas substâncias com diferentes e mais efetivos mecanismos de ação.² Neste contexto, diversas espécies de Asteraceae têm sido investigadas como fontes potenciais de metabólitos secundários com distintas atividades biológicas, incluindo ações alelopáticas e fitotóxicas, que podem representar alternativas promissoras para o manejo sustentável de plantas daninhas.^{3,4,7} A fitotoxicidade é um dos mecanismos envolvidos no fenômeno da alelopatia, pelo qual determinados vegetais interagem quimicamente com outras plantas ao redor, influenciando negativamente seu crescimento e desenvolvimento. Essa atividade está fortemente associada à produção e liberação de metabólitos secundários.⁸

A tribo Eupatorieae, a mais diversa entre as Asteraceae no Brasil, é reconhecida pela produção de substâncias com ampla variedade de atividades biológicas, incluindo propriedades fitotóxicas. Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial fitotóxico do extrato e fases de partição das superfícies foliares de *Lapidia apicifolia* Roque & S.C. Ferreira, uma espécie endêmica do estado da Bahia.⁹

EXPERIMENTAL

Extração, partição e análise do extrato da superfície das folhas

As partes aéreas de *Lapidia apicifolia* foram coletadas no município de Morro do Chapéu (Bahia), a 900 m de altitude sob as coordenadas 11°37'40.5" S, 41°00'1.4" W, pela Prof^a Dr^a Nádia Roque (Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia). O material foi depositado no herbário ALCB da mesma instituição sob o voucher M.G. Staudt & N. Roque 74. A autorização de acesso ao patrimônio genético foi registrada no SISGEN (A47125D).

As folhas secas (94,5 g) foram submetidas à imersão em 600 mL de diclorometano (DCM) por 30 segundos. O procedimento foi repetido duas vezes consecutivas, resultando no extrato em DCM da superfície foliar (15,9 g). Em seguida, o extrato foi particionado em funil de separação utilizando uma mistura de 400 mL de metanol (MeOH) e 500 mL de hexano (Hex). A partição foi realizada três vezes

com os mesmos volumes de solventes, visando maior eficiência extrativa. Após a evaporação dos solventes à vácuo, originou-se duas frações: em hexano (2,26 g) e em metanol (12,8 g) do extrato em DCM da superfície foliar, as quais foram avaliadas por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV-DAD).

Ensaio de germinação e crescimento inicial

O ensaio de germinação e crescimento inicial foi conduzido em duas etapas. Na primeira, foram utilizadas as espécies-alvo padrão *Lactuca sativa* L. (alface) e *Solanum lycopersicum* L. (tomate);¹⁰ na segunda etapa, a espécie daninha *Bidens pilosa* L. (picão-preto). Os tratamentos foram realizados em quadruplicatas, e as amostras foram avaliadas quanto ao potencial fitotóxico em placas de seis poços, empregando 6 mg do extrato ou de cada fase de partição. As amostras foram dissolvidas em tampão ácido 2-[N-morfolino]etanossulfônico (MES), 1 M NaOH (pH 6,0) e 0,5 % DMSO, para obtenção das concentrações de 0,8; 0,4; e 0,2 mg mL⁻¹. Como controles negativo e positivo foram utilizados, respectivamente, DMSO 0,5% + MES e a formulação comercial de glifosato (Roundup®) nas mesmas concentrações das frações.

Em cada poço foram colocados papéis-filtro previamente autoclavados e 10 sementes de *L. sativa*, *S. lycopersicum*¹⁰⁻¹² ou *B. pilosa*. Após adição de 1 mL das respectivas concentrações em cada poço as placas foram seladas, a fim de garantir um modelo de sistema fechado, e incubadas em câmara BOD a 24 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 12 horas. Após o período de 7 a 8 dias, as plântulas foram congeladas por 24 horas, evitando o crescimento subsequente durante o processo de medição.¹³

Plântulas com raízes superiores a 2 mm foram consideradas germinadas, tiveram o comprimento das raízes e dos hipocótilos avaliados e analisados estatisticamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio fitotóxico em espécies modelo e daninha (L. sativa, S. lycopersicum e B. pilosa)

Os resultados dos ensaios fitotóxicos conduzidos com *L. sativa*, *S. lycopersicum* e *B. pilosa* são apresentados na Figura 1. Não foram observadas diferenças significativas na germinação entre os tratamentos e o controle negativo. Em contrapartida, o crescimento inicial foi fortemente afetado, com respostas distintas entre as fases de partição.

A fase hexânica promoveu estímulo do crescimento radicular, alcançando 146% em *S. lycopersicum* (0,4 mg mL⁻¹). Esse efeito não seguiu um padrão dose-dependente, sugerindo que o estímulo seja mediado por compostos que atuam de forma mais eficiente em concentrações intermediárias. Enquanto a fase metanólica apresentou efeito inibitório pronunciado, especialmente sobre o hipocótilo e as raízes, com reduções de até 81% em *S. lycopersicum* e 77% em *B. pilosa*, embora menos acentuadas que no controle positivo (Roundup®). Essa diferença entre as respostas sugere interações fisiológicas distintas, relacionadas aos compostos presentes em cada fase.

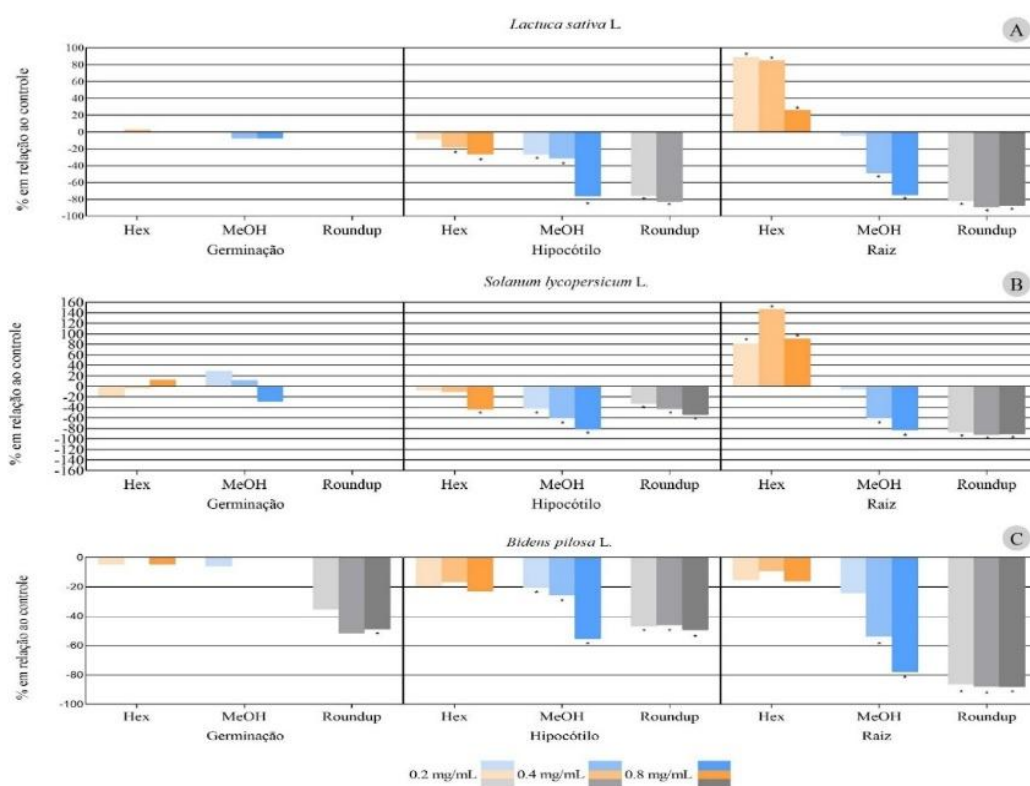


Figura 1- Efeito das fases de partição em hexano (Hex) e metanol (MeOH) do extrato DCM de *L. apicifolia* sobre a germinação, o crescimento do hipocótilo e das raízes das espécies-teste: *L. sativa* (A), *S. lycopersicum* (B) e *B. pilosa* (C), tendo como controles negativo e positivo, respectivamente, o DMSO 0,5%+MES e o Roundup®. As barras representam médias sendo os valores positivos indicativos de estímulo do crescimento e os negativos de inibição em relação ao controle. Diferenças significativas em relação ao controle negativo foram definidas pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). O extrato DCM não foi incluído nos ensaios devido à baixa solubilidade nos solvente-tampão utilizados.

Caracterização química das fases de partição

A análise cromatográfica da fase metanólica do extrato em DCM das folhas de *L. apicifolia* revelou um perfil químico (Figura 2) com espectros de absorção no UV característicos de flavonoides e lactonas sesquiterpênicas, classes químicas amplamente descritas na família. Ensaio prévios realizados com substâncias dessas classes indicam que apenas as lactonas sesquiterpênicas apresentam atividade fitotóxica significativa, corroborando os resultados obtidos neste estudo.^{14,15} Embora a caracterização da fase hexânica ainda esteja em andamento, análises preliminares e dados da literatura sugerem a presença de ácidos graxos, como o ácido hexadecanóico. Esses compostos são frequentemente associados à promoção do crescimento radicular, efeito observado nos ensaios realizados com *L. sativa* e *S. lycopersicum*.¹²

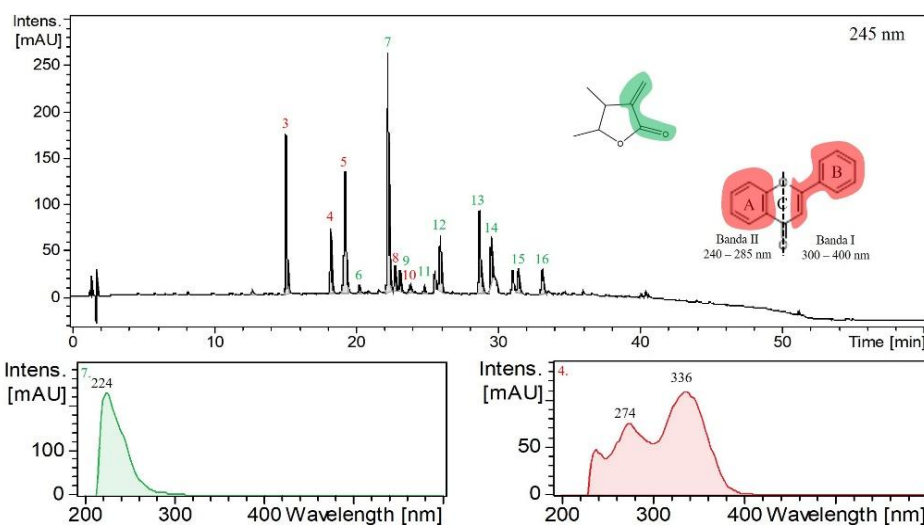


Figura 2- Cromatograma da fase metanólica do extrato DCM das folhas de *L. apicifolia*, com os picos numerados em cores distintas. Os picos numerados em verde apresentam absorção em torno de 240 nm, típico de carbonilas α,β -insaturadas presentes em lactonas sesquiterpênicas. Os picos em vermelho exibem bandas de absorção típicas de flavonoides.

A presença de efeitos opostos demonstra que a alelopátia pode atuar de diferentes formas, resultando em respostas variadas nas plantas afetadas.¹⁰ Enquanto a inibição do hipocótilo e das raízes evidencia o potencial fitotóxico dos metabólitos, especialmente das lactonas sesquiterpênicas (Figura 3, *L. sativa* e *B. pilosa*), o estímulo radicular pode estar relacionado à presença de compostos promotores de crescimento (Figura 3, *S. lycopersicum*).

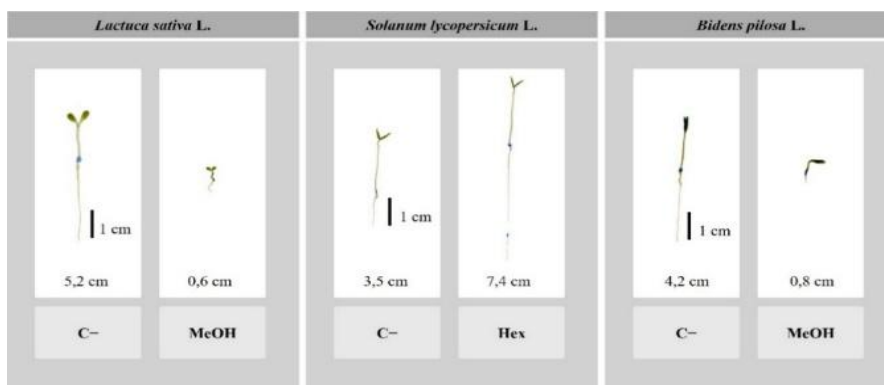


Figura 3. Diferença morfológica entre o controle negativo (C-) e os tratamentos com as fases de partição de *Lapdia apicifolia*. Efeito de inibição do hipocótilo promovido pela fase metanólica (MeOH) sobre *L. sativa* e *B. pilosa* e estímulo radicular da fase hexânica (Hex) sobre *S. lycopersicum*.

CONCLUSÕES

As fases de partição de *Lapdia apicifolia* apresentaram efeitos alelopáticos distintos no desenvolvimento inicial das plântulas de alface, tomate e picão preto. Além disso, estímulos divergentes (inibição ou crescimento das estruturas vegetais) foram verificados conforme a fração

analisada e a espécie testada. Tais descobertas reforçam o potencial dos metabólitos presentes nas folhas da espécie analisada e evidenciam a importância de estudos complementares para identificação das substâncias responsáveis pelos efeitos observados.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa concedida (#88887.805698/2023-00) e à FAPESP pelo financiamento do projeto (#2020/16554-9).

Referências

1. Oerke, E.-C.; *J. Agric. Sci.* **2006**, *144*, 31. Doi: 10.1017/S0021859605005708.
2. Heap, I.; *Pest Manag Sci* **2014**, *70*, 1306. Doi: 10.1002/ps.3696.
3. Suzuki, M.; Iwasaki, A.; Suenaga, K.; Kato-Noguchi, H.; *J. Environ. Sci. Health, Part B* **2019**. Doi: 10.1080/03601234.2019.1636600.
4. Hossen, K.; Das, K. R.; Okada, S.; Iwasaki, A.; Suenaga, K.; Kato-Noguchi, H.; *Foods* **2020**, *9*, 1591. Doi: 10.3390/foods9111591.
5. Landrigan, P. J.; Benbrook, C.; *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 693. Doi: 10.1056/NEJMp1505660.
6. Mahmood, I.; Imadi, S.; Shazadi, K.; Gul, A.; Hakeem, K. R. In *Plant, Soil and Microbes — Volume 1: Implications in Crop Science*; Hakeem, K. R.; Shahid, M.; Iqbal, M., eds.; Springer: Cham, Switzerland, **2015**, ch. 13. Doi: 10.1007/978-3-319-27455-3_13.
7. Macías, F. A.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G.; Varela, R. M.; Castellano, D.; *Phytochemistry* **1996**, *43*, 1205. Doi: 10.1016/S0031-9422(96)00392-5.
8. Watanabe, Y.; Novaes, P.; Varela, R. M.; Molinillo, J. M.; Kato-Noguchi, H.; Macías, F. A.; *Chem. Biodivers.* **2014**, *11*, 1247. Doi: 10.1002/cbdv.201400070.
9. Roque, N.; Ferreira, S. C.; van den Berg, C.; *Phytotaxa* **2017**, *291*, 1. Doi: 10.11646/phytotaxa.291.1.1.
10. Macías, F. A.; Castellano, D.; Molinillo, J. M.; *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2512. Doi: 10.1021/jf9903051.
11. Novaes, P.; Torres, P. B.; dos Santos, D. Y. A. C.; *Braz. J. Bot.* **2016**, *39*, 131. Doi: 10.1007/s40415-015-0225-z.
12. Torres, R.; Novaes, P.; Ferreira, L. G.; Santos, J. P.; Mazepa, E.; Duarte, M. E. R.; Nosedá, M. D.; Chow, F.; dos Santos, D. Y. A. C.; *Algal Res.* **2018**, *32*, 142. Doi: 10.1016/j.algal.2018.03.016.
13. Macías, F. A.; Lacret, R.; Varela, R. M.; Nogueiras, C.; Molinillo, J. M. G.; *J. Chem. Ecol.* **2010**, *36*, 396. Doi: 10.1007/s10886-010-9785-0.
14. Macías, F. A.; Fernández, A.; Varela, R. M.; Molinillo, J. M. G.; Torres, A.; Alves, P. L.; *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 795. Doi: 10.1021/np060056s.
15. Vela, F.; Anese, S.; Varela, R. M.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G.; Macías, F. A.; *Molecules* **2021**, *26*, 4632. Doi: 10.3390/molecules26154632.