

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Tese será disponibilizado somente a
partir de 05/12/2026.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA SOBRE A ATIVIDADE
ALELOPÁTICA DE *Cosmos sulphureus* E SEU POTENCIAL
BIOHERBICIDA**

Bruna Dal’Pizol Novello
Engenheira Agrônoma
Msa. em Agronomia

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA SOBRE A ATIVIDADE
ALELOPÁTICA DE *Cosmos sulphureus* E SEU POTENCIAL
BIOHERBICIDA**

Bruna Dal’Pizol Novello

Orientador: Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves

Co-orientador: Prof. Dr. Te-Ming Tseng

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal).

2025

N939e Novello, Bruna Dal'Pizol
Efeito da deficiência hídrica sobre a atividade alelopática de
Cosmos sulphureus e seu potencial bioherbicida / Bruna
Novello. -- Jaboticabal, 2026
77 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Pedro Alves
Coorientador: Te-Ming Tseng

1. Alelopatia. 2. Bioherbicida. 3. Lactonas sesquiterpênicas.
I. Título.

Impacto social desta pesquisa

Esta pesquisa apresenta potencial impacto relevante nos âmbitos ambiental, agrícola e socioeconômico, ao contribuir para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de manejo de plantas daninhas em cenários de limitação hídrica. Ao demonstrar que *Cosmos sulphureus* mantém sua atividade alelopática mesmo sob deficiência hídrica, os resultados indicam que essa espécie pode ser uma alternativa viável para sistemas agrícolas sujeitos a períodos recorrentes de seca, condição cada vez mais frequente em função das mudanças climáticas.

O uso de plantas com potencial alelopático e de metabólitos secundários de origem vegetal pode reduzir a dependência de herbicidas sintéticos convencionais, contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis e ambientalmente responsáveis. Nesse contexto, a identificação de compostos com atividade fitotóxica, como a molécula sintética PDA-24, destaca o potencial das lactonas sesquiterpênicas como candidatas ao desenvolvimento de bioherbicidas com mecanismos de ação inovadores, especialmente diante do avanço da resistência de plantas daninhas aos herbicidas atualmente disponíveis no mercado.

Os achados desta pesquisa podem subsidiar futuras inovações tecnológicas no setor agrícola, estimulando o desenvolvimento de novos produtos para o controle de plantas daninhas com maior eficiência e menor impacto ambiental. Além disso, os resultados contribuem para o fortalecimento da base científica necessária à formulação de estratégias integradas de manejo, alinhadas aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável, especialmente aqueles relacionados à agricultura sustentável, à produção responsável e à adaptação às mudanças climáticas.

Potential Impact of This Research

This research presents relevant potential impacts in the environmental, agricultural, and socioeconomic spheres by contributing to the development of sustainable weed management strategies under conditions of water limitation. By demonstrating that *Cosmos sulphureus* maintains its allelopathic activity even under water deficit, the results indicate that this species may represent a viable alternative for agricultural systems subjected to recurrent drought periods, a condition that is increasingly frequent as a consequence of climate change.

The use of plants with allelopathic potential and plant-derived secondary metabolites may reduce reliance on conventional synthetic herbicides, thereby contributing to more sustainable and environmentally responsible agricultural practices. In this context, the identification of phytotoxic compounds such as the synthetic molecule PDA-24 highlights the potential of sesquiterpene lactones as candidates for the development of bioherbicides with innovative mechanisms of action, particularly in light of the growing resistance of weed species to currently available herbicides.

The findings of this research may support future technological innovations in the agricultural sector by fostering the development of new weed control products with greater efficiency and reduced environmental impact. In addition, the results contribute to strengthening the scientific basis necessary for the formulation of integrated weed management strategies aligned with the Sustainable Development Goals, especially those related to sustainable agriculture, responsible production, and adaptation to climate change.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

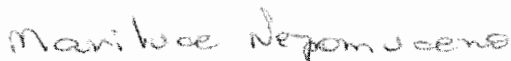
TÍTULO DA TESE: EFEITO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA SOBRE A ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Cosmos sulphureus* E SEU POTENCIAL BIOHERBICIDA

AUTORA: BRUNA DAL'PIZOL NOVELLO
ORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES
COORIENTADOR: TE-MING PAUL TSENG

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal



Dra. MARILUCE PASCOINA NEPOMUCENO (Participação Virtual)
Autônoma / Pontal/SP

Documento assinado digitalmente



PRISCILA LUPINO GRATÃO
Data: 09/12/2025 20:39:17-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATÃO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente



DIECSON RUY ORSOLIN DA SILVA
Data: 09/12/2025 15:03:10-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. DIECSON RUY ORSOLIN DA SILVA (Participação Virtual)
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) / Frederico Westphalen/RS

Documento assinado digitalmente



ADALIN CEZAR MORAES DE AGUIAR
Data: 09/12/2025 10:38:01-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pesquisador Dr. ADALIN CEZAR MORAES DE AGUIAR (Participação Virtual)
ATSI Brasil Pesquisa e Consultoria Agronomica Ltda / Passo Fundo/RS

Jaboticabal, 05 de dezembro de 2025.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Bruna Dal’Pizol Novello – nascida em 4 de julho de 1997, na cidade de Sarandi, estado do Rio Grande do Sul, filha de Volmar Novello e Evete Dal’Pizol. Graduiu-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Santa Maria- UFSM Campus de Frederico Westphalen, no ano de 2019. Ingressou no curso de Mestrado em Produção Vegetal, na Universidade Federal do Paraná obtendo o título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal) no ano de 2022. No mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado em Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal (UNESP/FCAV). Em 2024, esteve em estágio de Doutorado Sanduíche na “Mississippi State University”, em Starkville, estado do Mississippi, Estados Unidos, onde trabalhou junto ao Grupo Weed Physiology lab na bioprospecção de novos compostos com potencial herbicida. Desde 2015, vem desenvolvendo pesquisas na área de Matologia, principalmente em biologia e manejo de plantas daninhas, interferência de plantas daninhas e desde 2022 pesquisas voltadas a área de alelopatia e bioprospecção de herbicidas junto ao Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA) participando de eventos científicos nacionais e internacionais da sua área de pesquisa, com publicação de artigos em revistas científicas nacionais e internacionais.

*“Nada te perturbe, nada te assuste, tudo passa.
Deus não muda. A paciência tudo alcança. Quem
tem Deus nada lhe falta. **Só Deus basta!**”*

Santa Tereza D'Ávila- Doutora da Igreja

DEDICATÓRIA

Á Deus, Jesus Cristo e Espírito Santo, por todo, discernimento, sabedoria e auxílio. Á Santa Mãe Maria, por nunca me desamparar. Aos meus pais Volmar e Evete, por todo amor carinho e dedicação. Á minha amiga e irmã de alma Letícia Leite.

AGRADECIMENTOS

A Deus Uno e Trino — Pai, Filho e Espírito Santo — pelo dom da vida, pela saúde, sabedoria e discernimento concedidos, especialmente ao longo desta jornada. Agradeço por estar sempre comigo, por nunca me abandonar, mesmo nos momentos em que a solidão parecia maior que a fé. À Nossa Senhora Aparecida, a Santa Teresa D'Ávila, a Mae Rainha, a São Bento e ao meu Anjo da Guarda, por suas constantes intercessões junto a Deus Pai. À minha Mãezinha Maria, por me acolher sob o seu manto de amor, por me guiar com ternura e jamais me desamparar, mesmo quando eu menos merecia. Ao Santo Carlo Acutis, por me mostrar que mesmo nas nossas tarefas, mais simples ou complexas do dia a dia, de jovens do 'mundo moderno e tecnológico', podemos viver uma vida em santidade, o que sempre me inspira a buscar Deus. Ao Papa Francisco, cuja sensibilidade e amor pelos jovens me serviram de guia e inspiração em tantos momentos desta caminhada.

Ao meu querido orientador e “pai” Prof. Pedro Luís da Costa Aguiar Alvez, por toda paciência, dedicação, ensinamentos, o senhor é e sempre será um exemplo e referência na minha vida, tanto como profissional quanto como ser humano, sua humildade, bondade, paciência, compreensão e empatia, se mostram em cada gesto seu, que sorte a minha de poder ter tido a oportunidade de conviver com o senhor. Obrigada por sempre confiar em mim e por tantas oportunidades que me deu ao longo desse tempo, tenho certeza de que encerro essa jornada sendo uma profissional e pessoa muito melhor graças ao senhor. Obrigada por confiar em mim!! Por nunca me deixar desamparada, por ser um paizão, sem o seu apoio, nada disso seria possível! O senhor me deu a possibilidade de realizar os meus sonhos, e a minha gratidão por tudo é eterna!! Obrigada, Pedro!!

Ao meu co-orientador Dr. Te-Ming Tseng, “Dr. Paul”, por ter me dado a oportunidade de realizar o meu sonho de fazer doutorado sanduíche, por ter aberto as portas do laboratório, por toda a acolhida, a paciência com meu inglês, compreensão e

amizade, Dr. Paul, thank you so much!! You are a great person! I'm so grateful for the opportunity!

Aos meus pais Volmar e Evete, meus irmãos Juares, Lucas, Daniela e Regina, aos meus cunhados Luciano e Ana Carolina, por todo o suporte necessário, pela confiança depositada em mim, pelos ensinamentos, pela paciência, pelo amor, e pela compreensão dos momentos de ausência. Aos meus sobrinhos Henrique, Luana, Maria Eduarda, Laura e Lucca, por me fazerem acreditar na beleza da vida.

À minha amiga e irmã de alma, Leticia Leite que esteve presente em todos os momentos durante essa jornada, tão desafiadora para mim, que sempre esteve ali, e sempre decidi ficar apesar de tudo. Ela foi quem me deu força, carinho e amor nos piores e melhores momentos, ela que “arregaçava as mangas” e dizia “vamo lá amiga, eu te ajudo”, e ela ajudava mesmo, sem esperar nada em troca, sem querer nada em troca, estava ali, ajudava, e não ia embora, mesmo que não recebesse nada em troca, ela sempre esteve, e está, porque a alma dela é linda e coração é gigante, eu aprendi e aprendo tanto contigo. Que sorte a minha ter você. O meu maior presente do doutorado é ter você na minha vida! Essa tese também é sua!! “Eu escolhi te amar e pra sempre ter você, e escolho nunca te fazer chorar e nunca te perder”. Te amo!

A minha grande amiga e irmã Tamara Heck, que foi o meu presente mais lindo dos Estados Unidos, a tua amizade e companheirismo foram essenciais nessa jornada, o maior tesouro que trouxe comigo dos EUA, foi a tua amizade, obrigada por ser meu abrigo, meu amparo, meu suporte, por sempre estar ali por mim, por toda compreensão, dedicação e amor!! Obrigada por ficar! Aprendi muito contigo! Te amo! Sempre uma pela outra! “When the sun shines, we shine together; Told you I'll be here forever; Said I'll always be your friend; Took an oath, I'ma stick it out to the end”

Ao meu co-orientado, que se tornou um grande amigo, Josiel Marcos Soares, por todo o apoio, carinho, acolhimento e amizade ao longo desses anos, aprendi muito contigo, Jo, tu és um ser humano incrível! Obrigada por me ajudar tanto na tese quanto na busca de emprego e na vida!! Tua presença e apoio foram essenciais!

As minhas amigas Élide Gouveia e Grazielle Posser, por serem da minha família nos Estados Unidos, o apoio, amizade e carinho de vocês foram essenciais nessa jornada! Amo vocês!

A minha querida amiga e irmã Marcela Zanatta, que sempre se fez presente mesmo a distância. Tu és luz na minha vida amiga! Te amo!

Ao meu querido amigo Dr.

Ao Prof. Dr. Luis Ávila, que mesmo sem me conhecer abriu uma porta muito importante na minha vida, me deu a oportunidade de realizar meu sonho!! Obrigada Prof. Luis, por toda a ajuda, acolhimento, por abrir as portas da sua casa para me acolher quando cheguei nos EUA, por sempre me dar suporte nessa jornada tão desafiadora! Obrigada pela confiança em mim! Obrigada pela oportunidade! Serei eternamente grata!

A minha querida amiga Fernanda Reolon, desde que cheguei nos EUA, me deu todo o suporte necessário, me acolheu na sua casa, sempre esteve presente e nunca me deixou ficar sozinha, seu apoio tanto profissional quanto pessoal foi fundamental e precioso nessa jornada! Obrigada, Fer!!

A todos meus colegas do Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA), os quais tive o prazer de conviver no dia a dia, e puderam me ajudar tanto nessa jornada, em especial ao Allan, Heytor, Francisco, Treyci, Carlos, Matheus, Ailton, Gabriela, Karmen, Arthur, Carlos Manuel e Bruna.

A todos os integrantes do LAPDA, que de alguma forma fizeram parte da minha trajetória e contribuíram para que este trabalho fosse desenvolvido de forma tão grandiosa, levarei todos em meu coração.

Ao técnico do LAPDA e amigo José Valcir Fidelis Martins, que sempre esteve disposto a me ajudar em todos os momentos, fazendo do trabalho uma grande diversão. Obrigada por tudo, Martins!

A todos os funcionários do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, em especial a Sônia (Soninha) e a Márcia, que sempre estavam dispostas a ajudar em tudo! Levo vocês em meu coração!

Aos meus colegas e amigos de pós-graduação, Laura, Mariana, Eduarda, João, Vanessa, Maiqui, Lara, Carlos Vital, obrigada por toda a amizade e companheirismo, levarei vocês em meu coração.

A todos meus co-orientados, Josiel, João Pedro, Luana, Naína, Gabriela, obrigada pela oportunidade de participar de uma etapa tão importante na vida de vocês e por todos os ensinamentos, levarei todos em meu coração.

Aos meus colegas do Weed Physiology lab e da Weed Science da Mississippi State, Alyssa, Alaina, Sandipan, Josieane, Antônio, Queila, Sidney, Jake, Nocowmie, Nestor, Thank you so much guys! You guys, so special to me! I miss you guys!

Aos meus amigos brasileiros e bolivianos que tive a honra de conhecer nos EUA, Lucas, Vinícios, Eduardo, Antônio, José (Bolívia), João, Júnior, Josiane, Ciene, Lucas e Samuel e Mirian obrigada pela amizade!

Às minhas amigas de infância, Leticia e Natália Tasso, por sempre estarem comigo, independentemente da distância e torcerem por mim!! A todos meus amigos do Rio Grande do Sul, em especial a Fabiula, Aline, Marina, Ana Cláudia e Maiara, que sempre esperavam minhas visitas e torcem por mim! Apesar da distância, essas amizades sempre ficaram! Amo vocês!

Aos amigos queridos, José Luís (escobar), Carlos Manuel, Gabriela Paipilla, Maria Eduarda Krusto por toda amizade, companheirismo e ajuda prestada durante essa jornada! Levo todos em meu coração!!

A família da Leticia e do José Guilherme, em especial a dona Cleusa e seu José por me acolherem como se fosse da família! Vocês são minha família do coração!

Ao Padre Caio Veiga, pároco da Igreja Matriz Santa Tereza de Jesus, de Jaboticabal, por todo amor e carinho com os jovens, por me reaproximar de Deus durante

essa jornada, por me ajudar na minha conversão! Pe. Caio, tuas missas eram meu refúgio, meu abrigo e minha fortaleza! Eu vejo Deus em ti!

A todas as meninas do time de futsal feminino da UNESP-FCAV, em especial ao técnico Nene, obrigada por todo o carinho, dedicação e amor que têm para com o time! Eu aprendi muito com vocês! Estão sempre em meu coração!

Ao meu orientador de graduação, Prof. Dr. Diecson Ruy Orsolin da Silva, muito obrigada por me incentivar a correr atrás dos meus sonhos e por sempre acreditar em mim! O senhor foi um dos meus primeiros e maiores incentivadores a seguir na pós-graduação! Obrigada Diecson!

Ao meu orientador de mestrado Prof. Dr. Arthur Martins Barroso, que sempre me incentivou a seguir na pós-graduação, acreditou em mim e que me deu o start para me inscrever na UNESP com o prof. Pedro! Obrigada, prof. Arthur!

À Universidade Estadual Paulista – “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Jaboticabal e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de cumprir mais essa etapa da minha vida.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Processo nº) pela concessão do auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho (bolsa de doutorado), possibilitando que todos os objetivos propostos fossem cumpridos da melhor forma possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos aqueles aqui não nomeados, que colaboraram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho! Minha tese não foi feita sozinha, e sim confeccionada pelas mãos de todos que encontrei pelo caminho! Meu muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	4
Plantas daninhas e desafios no manejo agrícola	4
Alelopatia e Aleloquímicos	5
Déficit hídrico e produção de metabólitos secundários	7
<i>Cosmos sulphureus</i> como fonte de aleloquímicos	8
Lactonas sesquiterpênicas como fonte de bioherbicidas	11
REFERÊNCIAS.....	13
CHAPTER 2 - Allelopathic potential of <i>Cosmos sulphureus</i> Cav under drought stress ¹	18
INTRODUCTION.....	19
MATERIALS AND METHODS	20
Imposition of drought stress	20
Biochemical Analysis of the leaves: Malondialdehyde (MDA) content.....	21
Proteomic Analysis	22
Preparation of active extracts of <i>Cosmos sulphureus</i> Cav	24
Cytotoxicity bioassay.....	24
Phytotoxicity Bioassay.....	25
Root growth bioassay.....	26
Statistical analysis	27

RESULTS AND DISCUSSION	27
Malondialdehyde Analysis	27
Proteomics	27
Cytotoxicity bioassay	29
Phytotoxicity bioassay in Wees and standard species (STS)	29
Root growth bioassay	31
CONCLUSIONS	32
REFERENCES	32
TABLES AND FIGURES	37
CHAPTER 3 - Evaluation of plant-derived sesquiterpene lactone as a potential herbicide with a possible novel mechanism of action ¹	47
INTRODUCTION	48
MATERIALS AND METHODS	49
RESULTS AND DISCUSSION	51
Dose-response curve and control	51
Principal component analysis (PCA) and cluster analysis	54
Morphological analysis	57
CONCLUSIONS	59
REFERENCES	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	62

EFEITO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA SOBRE A ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Cosmos sulphureus* E SEU POTENCIAL BIOHERBICIDA

RESUMO – As plantas daninhas estão entre os principais fatores que limitam a produtividade agrícola, ocasionando perdas significativas por competição e efeitos alelopáticos. O uso intensivo de herbicidas sintéticos tem levado à resistência e impactos ambientais, reforçando a necessidade de alternativas sustentáveis. Nesse cenário, os aleloquímicos, especialmente lactonas sesquiterpênicas produzidas por espécies da família Asteraceae, destacam-se como potenciais bioherbicidas. *Cosmos sulphureus* é uma dessas espécies, já associada à síntese de moléculas bioativas. Esta tese foi composta por dois estudos. O primeiro investigou se o estresse hídrico (40% da capacidade de campo, por 15 dias no início do florescimento) poderia intensificar o potencial alelopático de *C. sulphureus*. Para isso, realizaram-se análises bioquímicas (malondialdeído), proteômicas e bioensaios de germinação e crescimento com espécies alvo (*Lactuca sativa*, *Sorghum bicolor*, *Urochloa decumbens*, *Cucumis sativus* e *Panicum maximum*). Os resultados mostraram aumento de malondialdeído nas plantas estressadas, mas sem alterações proteômicas relevantes. Os extratos, independentemente da condição hídrica, inibiram a germinação (5-90%), o crescimento da parte aérea (até 100%) e radicular (até 80%), sem incremento da atividade sob déficit hídrico. O segundo estudo avaliou uma lactona sesquiterpênica sintética derivada de *C. sulphureus* (PDA-24), por meio de curvas dose-resposta, análises morfológicas e estatísticas multivariadas. O composto apresentou efeitos fitotóxicos expressivos e seletivos, sugerindo um possível mecanismo de ação distinto dos herbicidas comerciais. Conclui-se que *C. sulphureus* mantém seu potencial alelopático mesmo em condições de déficit hídrico, evidenciando resiliência e aplicabilidade frente às mudanças climáticas. A lactona sintética PDA-24 mostrou-se promissora como bioherbicida inovador, reforçando a relevância da espécie como fonte de moléculas bioativas e como alternativa sustentável para o manejo de plantas daninhas.

Palavras-chave: Alelopatia, *Bidens sulphurea*, bioherbicida, lactonas sesquiterpênicas, sementes

EFFECT OF DROUGHT ON THE ALLELOPATHIC ACTIVITY OF *Cosmos sulphureus* AND ITS BIOHERBICIDAL POTENTIAL

ABSTRACT – Weeds are among the main factors limiting agricultural productivity, causing severe yield losses through competition and allelopathic effects. The intensive use of synthetic herbicides has resulted in resistant biotypes and environmental concerns, highlighting the need for sustainable alternatives. In this context, plant-derived allelochemicals, particularly sesquiterpene lactones produced by members of the Asteraceae family, stand out as promising bioherbicides. *Cosmos sulphureus* is one such species, associated with the production of bioactive molecules. This thesis consisted of two studies. The first investigated whether drought stress (40% field capacity for 15 days at the beginning of flowering) could enhance the allelopathic potential of *C. sulphureus*. Biochemical (malondialdehyde), proteomic, and bioassays on germination and growth of target species (*Lactuca sativa*, *Sorghum bicolor*, *Urochloa decumbens*, *Cucumis sativus*, and *Panicum maximum*) were performed. Results showed increased malondialdehyde in stressed plants, but no significant proteomic changes. Extracts from both stressed and non-stressed plants inhibited germination (5-90%), shoot growth (up to 100%), and root growth (up to 80%), with no enhancement of allelopathic activity under water deficit. The second study evaluated a synthetic sesquiterpene lactone derived from *C. sulphureus* (PDA-24) through dose–response curves, morphological analysis, and multivariate statistics. The compound exhibited strong and selective phytotoxic effects, suggesting a potential mechanism of action distinct from commercial herbicides. In conclusion, *C. sulphureus* maintains its allelopathic potential even under drought stress, demonstrating resilience and applicability under climate change scenarios. Moreover, the synthetic lactone PDA-24 proved to be a promising innovative bioherbicide, reinforcing the importance of this species as a source of bioactive molecules and as a sustainable alternative for weed management.

Keywords: Allelopathy, *Bidens sulphurea*, bioherbicide, sesquiterpene lactones, seeds

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

INTRODUÇÃO

As plantas daninhas representam um dos principais fatores limitantes da produtividade agrícola, podendo ocasionar perdas de até 93% dependendo das condições ambientais e das práticas de manejo (Lopes et al., 2022). Além de reduzir a produtividade, as plantas daninhas também comprometem a qualidade e o valor de mercado dos produtos agrícolas. A interferência ocorre principalmente pela competição por luz, água e nutrientes, bem como por interações alelopáticas (Lopes et al., 2022). Atualmente, os herbicidas sintéticos constituem a principal ferramenta utilizada mundialmente para o manejo de plantas daninhas, oferecendo eficiência e custos relativamente baixos (Scavo et al., 2022; Kraehmer, 2012). No entanto, o uso frequente e intensivo de herbicidas tem gerado a seleção de biótipos resistentes e o surgimento de flora de plantas daninhas substitutas (Hulmer, 2023). Desde a descoberta do 2,4-D na década de 1940, apenas um mecanismo de ação herbicida genuinamente novo foi introduzido, apesar do vasto número de alvos moleculares disponíveis nas plantas e das extensas bibliotecas químicas testadas anualmente quanto à atividade herbicida (Duke e Dayan, 2022). Essa limitada opção de novos mecanismos de ação é um tanto quanto surpreendente, considerando o vasto número de moléculas avaliadas anualmente quanto à atividade herbicida e a quantidade de moléculas ainda inexploradas produzidas pelas plantas.

Diante disso, a comunidade científica tem aumentado o interesse em mecanismos alelopáticos de plantas, especialmente ao considerar as similaridades estruturais entre os compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas e a sua atividade herbicida, como moléculas potenciais para o desenvolvimento de novos herbicidas (Duke et al., 2000; El-Darier et al., 2014). Alguns aleloquímicos já serviram de modelo para herbicidas comerciais, como cinmetilina, glufosinato, sulcotriona e mesotriona, que introduziram mecanismos de ação inéditos e fundamentais para o manejo de plantas daninhas resistentes (Qasem, 2013). Os aleloquímicos são especialmente atrativos

porque, em geral, apresentam maior diversidade estrutural e compatibilidade ambiental em comparação com moléculas sintéticas tradicionais, com características químicas que favorecem a biodegradação e reduzem riscos a organismos não alvo.

Dentre as diversas classes de aleloquímicos, as lactonas sesquiterpênicas se destacam devido à ampla distribuição na família Asteraceae e às suas múltiplas atividades biológicas, incluindo efeitos antimicrobianos, antitumorais, anti-inflamatórios e fitotóxicos (Macias et al., 2007). Formadas pela condensação de três unidades de isopreno, essas moléculas apresentam características estruturais que aumentam a bioatividade e favorecem interações ecológicas. Diversos estudos têm ressaltado o potencial dessas substâncias como bioherbicidas, especialmente porque frequentemente atuam em múltiplos alvos moleculares, o que amplia as chances de identificação de mecanismos de ação ainda inexplorados (Macias et al., 2007; Silva et al., 2017).

No entanto, um dos maiores entraves para a aplicação prática de aleloquímicos como bioherbicidas é a baixa produção e concentração natural dessas substâncias nos tecidos vegetais (Ming et al., 2020; Scavo; Scavo e Mauromicale, 2021), o que limita tanto a viabilidade econômica quanto a estabilidade de sua atividade em campo. Esse desafio tem levado a pesquisas de duas frentes complementares: (i) compreender como fatores ambientais, como estresses bióticos e abióticos, modulam a biossíntese de metabólitos secundários, visando estratégias para aumentar o rendimento de compostos bioativos; e (ii) explorar a síntese de análogos estruturais derivados de aleloquímicos naturais, capazes de potencializar seus efeitos fitotóxicos, garantindo maior disponibilidade e eficácia em escalas agrícolas.

Nesse cenário, *Cosmos sulphureus*, pertencente à família Asteraceae, tem despertado interesse científico como potencial fonte de moléculas bioativas. Originária do México, a espécie encontra-se naturalizada no Brasil, onde é considerada planta daninha devido à sua capacidade de reprodução espontânea e adaptação a ambientes adversos (Vargas et al., 2013). Agricultores da região de Franca, no Brasil, observaram há alguns anos que essa espécie suprimiu infestações de *Panicum maximum* em cafezais sem causar danos à cultura (Silva et al., 2017). Estudos realizados pelo Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA-UNESP) identificaram três lactonas sesquiterpênicas em *C.*

sulphureus, costunolida, reynosina e santamarina, com comprovada atividade herbicida contra *Amaranthus viridis* e *Panicum maximum* (Silva et al., 2017). Ainda assim, a baixa concentração dessas moléculas limita sua utilização direta.

Como estratégia para superar essa limitação, estudos utilizando estresses vêm sendo empregados, uma vez que condições adversas como déficit hídrico podem induzir a produção e o acúmulo de metabólitos secundários nas plantas, especialmente de lactonas sesquiterpênicas (Motalebnejad et al., 2018; Xuan et al., 2016; Oueslati et al., 2005; Susilo et al., 2021). Paralelamente, derivados sintéticos têm sido desenvolvidos a partir de compostos naturais, buscando potencializar os efeitos fitotóxicos e assegurar maior estabilidade e rendimento. Antes que um sintético, é imprescindível compreender seu mecanismo de ação aleloquímico possa ser considerado para uso como bioherbicida ou herbicida e estabelecer curvas dose-resposta (Kostina-Bednarz et al., 2023).

O estudo da dose é fundamental porque a eficácia, a seletividade e até o próprio modo de ação podem variar de acordo com a concentração aplicada (Belz et al., 2007). Em doses elevadas, um mesmo composto pode interagir com múltiplos alvos moleculares e induzir respostas não representativas das condições de campo, enquanto em concentrações realistas geralmente apenas um alvo específico é afetado (Belz et al., 2007). Esse aspecto reforça o princípio de que “a dose faz o veneno” e evidencia a ocorrência da hormese, em que baixas doses podem ser inofensivas ou até benéficas, ao passo que altas doses tornam-se tóxicas. Portanto, a caracterização rigorosa das respostas dose-dependentes é indispensável não apenas para a correta elucidação dos mecanismos de ação, mas também para o desenvolvimento seguro, eficaz e sustentável de novos herbicidas à base de aleloquímicos.

Dessa forma, esta tese propõe uma investigação integrada: (i) avaliar o efeito do estresse hídrico sobre o potencial alelopático de *C. sulphureus*; e (ii) estudar preliminarmente uma lactona sesquiterpênica sintética derivada do *C. sulphureus*, denominada nesse estudo de PDA-24, por meio de curvas dose-resposta, com vistas à elucidação de seu mecanismo de ação e ao seu potencial como bioherbicida inovador. Em conjunto, essas abordagens buscam ampliar o conhecimento sobre os mecanismos de produção e ação de lactonas sesquiterpênicas, contribuindo para o desenvolvimento

de bioherbicidas sustentáveis e eficazes, capazes de enfrentar a resistência a herbicidas e os desafios impostos pelas mudanças climáticas.

CONCLUSIONS

Thus, the assessment of germination root and aerial part growth, along with the morphological analysis of seedlings, provides a more comprehensive view of the phytotoxic effects of customolide, in low doses, like 50 and 100 μM , demonstrating how these effects impair both the initial development of the roots and the formation and growth of the aerial part. Therefore, the morphological observations and data on root and aerial part growth complement each other, as they indicate that impairment of the root system prevents proper development of the aerial parts, negatively affecting the germination process and the initial growth of the seedlings. These interactions reinforce the understanding of how customolide affects the physiology of the seedlings and systemically limits their development.

Taken together, our findings suggest that customolide exerts its phytotoxic effects through multiple mechanisms and may involve novel herbicide mechanisms of action, likely including inhibition of photosynthesis, disruption of chloroplast and mitochondrial function, and interference with key enzymatic processes, at low doses such as 50 and 100 μM . These results reinforce the potential of sesquiterpene lactones as bioherbicides with multiple targets in plants. However, further studies are needed to elucidate the specific mechanism of customolide and its potential applications for weed management.

ACKNOWLEDGMENTS

The present work was carried out with the support of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and Mississippi State University (MSU).

DECLARATION

We declare that all authors of this Ms have made substantial contributions. We have not excluded any author that substantially contributed to this Ms. We have followed our ethical norms established by our respective institutions.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest

ETHICAL APPROVAL

Not required

COMPETING INTERESTS

We declare no competing financial or non-financial interests. We declare that all authors of this manuscript have made substantial contributions. We have not excluded any author

that substantially contributed to this manuscript. We have followed our ethical norms established by our respective institutions.

REFERENCES

1. Abdelgaleil, S.A.M., Abdel-Razeek, N. and Soliman, S.A. (2009). Herbicidal activity of three sesquiterpene lactones on wild oat (*Avena fatua*) and their possible mode of action. *Weed Science* **57**: 6-9. <https://doi.org/10.1614/ws-08-093.1>
2. Akeel, A., Khan, M.M.A., Jaleel, H. and Uddin, M. (2019). Smoke-saturated water and karrikinolide modulate germination, growth, photosynthesis, and nutritional values of carrot (*Daucus carota* L.). *Journal of Plant Growth Regulation* **38**: 1387-1401. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09941-w>
3. Araújo, C.A., Morgado, C.S.A., Gomes, A.K.C., Gomes, A.C.C. and Simas, N.K. (2021). Asteraceae family: A review of its allelopathic potential and the case of *Acmella oleracea* and *Sphagneticola trilobata*. *Rodriguesia* **72**: e007. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202172137>
4. Baerson, S.R., Sánchez-Moreiras, A., Pedrol-Bonjoch, N., Schulz, M., Kagan, I.A., Agarwal, A.K., Reigosa, M.J. and Duke, S.O. (2005). Detoxification and transcriptome response in *Arabidopsis* seedlings exposed to the allelochemical benzoxazolin-2(3H)-one. *Journal of Biological Chemistry* **280**: 21867-21881.
5. Baruah, N.C., Sarma, J.C., Barua, N.C., Sarma, S. and Sharma, R.P. (1994). Germination and growth inhibitory sesquiterpene lactones and a flavone from *Tithonia diversifolia*. *Phytochemistry* **36**: 29-36.
6. Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., Saxena, D.B. and Kaur, S. (2002). Allelopathic effects of parthenin against two weedy species, *Avena fatua* and *Bidens pilosa*. *Environmental and Experimental Botany* **47**: 149-155. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(01\)00122-8](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00122-8)
7. Belz, R.G., Velini, E.D. and Duke, S.O. (2007). Dose/response relationships in allelopathy research. In *Allelopathy* (p. 27). CRC Press, Boca Raton, FL, USA
8. Cantrell, C.L., Dayan, F.E. and Duke, S.O. (2012). Natural products as sources for new pesticides. *Journal of Natural Products* **75**: 1231-1242.
9. Dayan, F.E. (2019). Current status and future prospects in herbicide discovery. *Plants* **341**: 1-18 <https://doi.org/10.3390/plants8090341>
10. Dayan, F.E., Hernández, A., Allen, S.N., Moraes, R.M., Vroman, J.A., Avery, M.A. and Duke, S.O. (1999). Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. *Phytochemistry* **50**: 607-610. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00568-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00568-8)
11. Dayan, F.E., Duke, S.O. and Baerson, S.R. (2009). Herbicides from natural compounds. *Weed Science* **57**: 1-7.
12. Díaz-Tielas, C., Graña, E., Sánchez-Moreiras, A.M., Reigosa, M.J., Vaughn, J.N., Pan, Z., Bajsa-Hirschel, J., Duke, M.V. and Duke, S.O. (2019). Transcriptome responses to the natural phytotoxin t-chalcone in *Arabidopsis thaliana* L. *Pest Management Science* **75**: 2490-2504. <https://doi.org/10.1002/ps.5405>
13. Duke, S.O. (2012). Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years? *Pest Management Science* **68**: 505-512. <https://doi.org/10.1002/ps.2333>
14. Duke, S.O. and Dayan, F.E. (2022). The search for new herbicide mechanisms of action: Is there a 'holy grail'? *Pest Management Science* **78**: 1303-1313. <https://doi.org/10.1002/ps.6726>
15. Duke, S.O., Owens, D.K., Baerson, S.R. and Dayan, F.E. (2017). Biochemical and molecular mechanisms of action of allelochemicals. *Journal of Chemical Ecology* **43**: 1011-1030.
16. Hulme, P.E. (2023). Weed resistance to different herbicide modes of action is driven by agricultural intensification. *Field Crops Research* **292**: 108819. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2023.108819>
17. Jabran, K., Mahajan, G., Sardana, V. and Chauhan, B.S. (2015). Allelopathy for weed control in agricultural systems. *Crop Protection* **72**: 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.03.004>
18. Kostina-Bednarz, M., Plonka, J. and Barchanska, H. (2023). Allelopathy as a source of bioherbicides: Challenges and prospects for sustainable agriculture. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* **22**: 471-504. <https://doi.org/10.1007/s11157-023-09656-1>
19. Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Varela, R.M. and Galindo, J.C.G. (2007). Allelopathy - A natural alternative for weed control. *Pest Management Science* **63**: 327-348. <https://doi.org/10.1002/ps.1342>
20. Macías, F.A., Molinillo, J.M.G. and Galindo, J.C.G. (2019). Allelopathy and natural herbicide discovery. *Pest Management Science* **75**: 1-12.
21. Qasem, J.R. (2013). Applied allelopathy in weed management: An update. In: *Allelopathy: Current Trends and Future Applications*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 251-297. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30595-5_11

22. Rodriguez, E., Towers, G.H.N. and Mftcheu, J.C. (1976). *Biological Activities of Sesquiterpene Lactones*. Pergamon Press, Oxford. **15**: 1573-1580.
23. Scavo, A. and Mauromicale, G. (2021). Crop allelopathy for sustainable weed management in agroecosystems: Knowing the present with a view to the future. *Agronomy* **11**: 2104. pp. 23. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112104>
24. Scavo, A., Pandino, G., Restuccia, A., Lombardo, S., Pesce, G.R. and Mauromicale, G. (2019). Allelopathic potential of leaf aqueous extracts from *Cynara cardunculus* L. on the seedling growth of two cosmopolitan weed species. *Italian Journal of Agronomy* **14**: 78-83. <https://doi.org/10.4081/ija.2019.1373>
25. Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R. and Gniazdowska, A. (2013). Allelochemicals as bioherbicides: present and perspectives. In: *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*. InTech, Rijeka, Croatia, pp. 517-542.
26. Valli, M., Dos Santos, R.N., Figueira, L.D., Nakajima, C.H., Castro-Gamboa, I., Andricopulo, A.D. and Bolzani, V.S. (2013). Development of a natural products database from the biodiversity of Brazil. *Journal of Natural Products* **76**: 439-444. <https://doi.org/10.1021/np3006875>