

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXSUDATOS
RADICULARES DE *Cosmos sulphureus* CAV**

Letícia de Paula Leite

Bióloga

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXSUDATOS
RADICULARES DE *Cosmos sulphureus* CAV**

Letícia de Paula Leite

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

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

2024

L533a	Leite, Letícia de Paula Avaliação do potencial alelopático de exsudatos radiculares de <i>Cosmos sulphureus</i> Cav / Letícia de Paula Leite. -- Jaboticabal, 2024 57 p. : tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal Orientador: Pedro Luís da Costa Aguiar Alves 1. <i>Bidens sulphurea</i>. 2. Alelopatia. 3. Plantas daninhas. 4. Herbicidas naturais. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO ESPERADO NA SOCIEDADE

A partir dos resultados obtidos com essa pesquisa, espera-se que a utilização de métodos mais sustentáveis e menos impactantes ao meio ambiente tenha maior visibilidade na sociedade, na área de pesquisa acadêmica e, principalmente, para o setor agrícola, minimizando assim a utilização excessiva de herbicidas sintéticos e gerando novos conhecimentos e subsídios que permitam que mais pesquisas sejam realizadas visando o desenvolvimento de herbicidas naturais.

EXPECTED IMPACT ON SOCIETY

Based on the results obtained from this research, it is expected that the use of more sustainable methods that have less impact on the environment will have greater visibility in society, in the area of academic research and, mainly, for the agricultural sector, thus minimizing the excessive use of synthetic herbicides and generating new knowledge and subsidies that allow more research to be carried out aiming at the development of natural herbicides.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

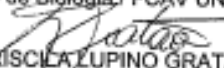
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXSUDATOS
RADICULARES DE *Cosmos sulphureus* CAV

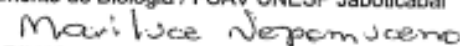
AUTORA: LETÍCIA DE PAULA LEITE

ORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES

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


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


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


Dra. MARILUCE PASCOINA NEPOMUCENO (Participação Presencial)
Autônoma / PONTAL/SP

Jaboticabal, 25 de julho de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LETÍCIA DE PAULA LEITE – nascida em 16 de junho de 1995, na cidade de Catanduva-, estado de São Paulo, filha de Cleusa Aparecida da Silva Barbosa e José Antônio Leite. Licenciada em Ciências Biológicas pelo Instituto Municipal de Ensino Superior - IMES Catanduva, no ano de 2016. Bacharela em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal (UNESP/FCAV), no ano de 2022. No mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal). Desde 2022 vem desenvolvendo pesquisas na área de Matologia, com ênfase em biologia e manejo de plantas daninhas, interferências de plantas daninhas e alelopatia, junto ao Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA), participando de eventos científicos nacionais e internacionais na mesma área de pesquisa.

“A ciência não é apenas para aqueles que querem ser cientistas. É para quem quer fazer perguntas, quem quer descobrir, quem quer saber o que está acontecendo ao seu redor.”

Rosalind Franklin

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, que proporcionaram a mim toda educação, amor e apoio durante essa jornada.

A minha querida amiga e irmã de alma, Bruna Dal’Pizol Novello.

AGRADECIMENTOS

A Deus, porque sem ele não seria possível completar essa linda jornada que tive o prazer de trilhar durante esses dois anos, para que eu pudesse concretizar mais esse sonho.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves, pela paciência, ensinamentos, disponibilidade e dedicação à carreira como pesquisador e professor. A você, minha eterna gratidão, por ter me acolhido no LAPDA e me mostrado quão linda a área da alelopatia pode ser.

A minha irmã da alma, Bruna Dal’Pizol Novello, por me mostrar um pouco do mundo da agronomia, pela generosidade, ensinamentos e dedicação a este trabalho, que também é seu. Bruna, obrigada por me ensinar o significado de companheirismo e amizade e por estar ao meu lado nos melhores e piores momentos, sua amizade e seu amor foram indispensáveis para concluir essa etapa de forma mais leve. Você é uma pessoa iluminada!

As minhas queridas amigas Laura Matos Ribera e Mariana Dias Meneses, por todo apoio, ensinamentos, pelas trocas de energia e conhecimento. Obrigada pela amizade, preocupação, companheirismo e por me incluírem em suas vidas. Compartilhar a vida e momentos com vocês é incrível e deixa tudo mais leve.

A minha melhor amiga, Bianca Henrique Gabriel, que está presente na minha vida desde a graduação. A você agradeço a tudo, por todos momentos que vivemos juntas no nosso apartamento 32, pelo companheirismo, ensinamentos, risos e por todo apoio. Eu sempre serei grata à sua amizade, você é meu orgulho e minha inspiração. Parte do meu coração é seu.

A minha querida amiga, Letícia Lima, por todos momentos compartilhados no LAPDA e, principalmente, fora dele. A sua amizade e companheirismo foi essencial para que meus dias em Jaboticabal fossem melhores, *você é luz*. Aos meus amigos e companheiros de laboratório Josiel Marcos Soares e José Luiz de Lima Martins, pelo auxílio, colaboração e por tornar o dia a dia no laboratório mais alegre e leve. Ao José Luiz, meu querido orientado, obrigada por toda ajuda e contribuição para que este trabalho pudesse ser realizado e, principalmente, pela amizade que foi fundamental para tornar os meus dias melhores aqui em Jaboticabal.

Aos meus queridos amigos da pós-graduação, Treyce, Francisco, Eduarda, João, Gabriela e Ailton. Obrigada por todo apoio, conhecimento compartilhado e por ótimos momentos de convivência. Eu sempre os levarei em meu coração.

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

Ao Laboratório de Plantas Daninhas – LAPDA e a todos funcionários do Departamento de Biologia, em especial ao querido José Valcir Fidelis Martins, que sempre está disposto a ajudar a todos em todos os momentos. Sou grata a você!

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 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo 2022/04333-3) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão do auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho (bolsas de mestrado), possibilitando que todos os objetivos propostos fossem concluídos.

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

A todos que participaram dessa etapa da minha vida, *meu muito obrigada.*

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Alelopatia: Histórico e Conceitos.....	3
2.2. Metabólitos secundários: aleloquímicos.....	5
2.3. Rotas de liberação de aleloquímicos	8
2.4. Aplicações práticas da alelopatia: metabólitos secundários como bioherbicidas	10
2.6. Prospecção de bioherbicidas: uma alternativa ecológica.....	11
2.7. <i>Cosmos sulphureus</i> : a espécie selecionada	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Método de Garrafas Invertidas.....	15
3.2. Bioensaios de fitotoxicidade.....	16
3.3. Bioensaios de alongamento de coleóptilo de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L)	17
3.4. Análise radicular por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	18
3.5. Análise dos resultados	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1. Fitotoxicidade de exsudato radicular de <i>Cosmos sulphureus</i> CAV. na germinação e crescimento inicial de espécies receptoras.	20
4.2. Bioensaio de alongamento de coleóptilo de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L).....	30
4.3. Efeitos de concentrações do exsudato radicular de <i>Cosmos sulphureus</i> no estágio vegetativo sobre a germinação e crescimento inicial de espécies receptoras	33
4.4. Análise radicular de espécies receptoras por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	40
5. CONCLUSÃO	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXSUDATOS RADICULARES DE *Cosmos sulphureus* CAV

RESUMO – *Cosmos sulphureus* Cav. é uma Asteraceae que foi introduzida no Brasil como planta ornamental, apresentando-se atualmente como uma espécie de planta daninha e como fonte potencial de compostos alelopáticos. Alguns de seus metabólitos secundários são responsáveis por inibir a germinação e crescimento inicial de plantas daninhas, como *Amaranthus viridis* e *Panicum maximum*. Em virtude disso, objetivou-se estudar o efeito alelopático de exsudatos radiculares de *C. sulphureus* em três estágios fenológicos sobre a germinação e desenvolvimento de diferentes espécies de plantas daninhas. Para isso, exsudatos radiculares de *C. sulphureus* foram coletados e utilizados para o desenvolvimento de bioensaios de alongamento de coleóptilo, germinação e desenvolvimento inicial das espécies receptoras. Os resultados obtidos indicaram potencial alelopático inibitório do exsudato radicular de *C. sulphureus* sobre todas as variáveis e espécies avaliadas, sendo o estágio de desenvolvimento vegetativo o que apresentou maior percentual de inibição sobre a germinação e crescimento inicial de *Amaranthus viridis*, *Eleusine indica*, *Lactuca sativa*, *Portulaca oleraceae*, *Panicum maximum* e *Sorghum bicolor*, bem como a presença de necrose radicular, demonstrando que mesmo em baixas concentrações possui um efeito significativo como bioherbicida.

Palavras-chave: Alelopatia, *Bidens sulphurea*, bioherbicidas, planta-daninha, *Panicum maximum*

EVALUATION OF THE ALLELOPATHIC POTENTIAL OF ROOT EXUDATES OF *Cosmos sulphureus* CAV

ABSTRACT- *Cosmos sulphureus* Cav. is an Asteraceae that was introduced in Brazil as an ornamental plant, and is currently a weed species and a potential source of allelopathic compounds. Some of its secondary metabolites are responsible for inhibiting the germination and initial growth of weeds, such as *Amaranthus viridis* and *Panicum maximum*. Therefore, the aim of this study was to study the allelopathic effect of root exudates of *C. sulphureus* at three phenological stages (vegetative, flowering and senescence) on the germination and development of different weed species. For this purpose, root exudates of *C. sulphureus* were collected and used to develop bioassays of coleoptile elongation, germination and initial development of the recipient species. The results obtained indicated an allelopathic inhibitory potential of the root exudate of *C. sulphureus* on all variables and species evaluated, with the vegetative development stage presenting the highest percentage of inhibition on the germination and initial growth of *Amaranthus viridis*, *Eleusine indica*, *Lactuca sativa*, *Portulaca oleraceae*, *Panicum maximum* and *Sorghum bicolor*, as well as the presence of root necrosis, demonstrating that even at low concentrations it has a significant effect as a bioherbicide.

Keywords: Allelopathy, *Bidens sulphurea*, bioherbicides, weed, *Panicum maximum*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização química de ER de <i>C. sulphureus</i> em seus diferentes estágios de desenvolvimento	19
Tabela 2. Caracterização química de ER de <i>C. sulphureus</i> Cav. (vegetativo) em diferentes concentrações (ppm).	20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de garrafas invertidas utilizado para coleta dos exsudatos radiculares de <i>Cosmos sulphureus</i>	15
Figura 2. Porcentagem de germinação das espécies receptoras sobre efeito do ER de <i>C. sulphureus</i> em três estágios de desenvolvimento.	22
Figura 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) das espécies receptoras sobre efeito do ER de <i>C. sulphureus</i> em três estágios de desenvolvimento.....	23
Figura 4. Comprimento da parte aérea das espécies receptoras sobre efeito do ER de <i>C. sulphureus</i> em três estágios de desenvolvimento.	25
Figura 5. Comprimento radicular das espécies receptoras sobre efeito do ER de <i>C. sulphureus</i> em três estágios de desenvolvimento.....	27
Figura 6. Efeito do ER em estágio vegetativo de <i>C. sulphureus</i> sobre o alongamento radicular de <i>S. bicolor</i> . (A) Raiz do tratamento controle (B) ER vegetativo (C) Detalhe da presença de necrose radicular, ausência de pelos radiculares e raízes secundárias.	28
Figura 7. Massa seca total das espécies receptoras sobre efeito do ER de <i>C. sulphureus</i> em três estágios de desenvolvimento.....	30
Figura 8. Alongamento de coleóptilo de trigo sobre efeito dos ER de <i>C. sulphureus</i> em três estágios de desenvolvimento fenológico	31
Figura 9. Comprimento de coleóptilo de trigo sob efeito do ER de <i>C. sulphureus</i> no estágio de desenvolvimento fenológico vegetativo e em diferentes concentrações (50, 100, 200, 400 e 800ppm).	32
Figura 10. Curva dose-resposta de diferentes concentrações (ppm) do ER vegetativo de <i>C. sulphureus</i> sobre o crescimento da parte aérea de espécies receptoras <i>A. viridis</i> , <i>E. indica</i> , <i>L. sativa</i> , <i>P. maximum</i> , <i>P. oleraceae</i> e <i>S. bicolor</i>	35
Figura 11. Curva dose-resposta de diferentes concentrações (ppm) do ER vegetativo de <i>C. sulphureus</i> sobre o crescimento radicular de espécies receptoras <i>A. viridis</i> , <i>E. indica</i> , <i>L. sativa</i> , <i>P. maximum</i> , <i>P. oleraceae</i> e <i>S. bicolor</i>	37
Figura 12. Efeito do ER vegetativo de <i>C. sulphureus</i> sobre o alongamento radicular de <i>L. sativa</i> . (A) Raiz do tratamento controle (B) ER vegetativo (C) Detalhe da presença de necrose radicular, ausência de pelos radiculares e raízes secundárias.....	38

Figura 13. Efeito do ER vegetativo de <i>C. sulphureus</i> sobre o alongamento radicular de <i>P. oleraceae</i> . (A) Raiz do tratamento controle (B) ER vegetativo demonstrando presença de necrose radicular, ausência de pelos radiculares e raízes secundárias.	38
Figura 15. Análise microscópica de varredura de raízes de <i>Amaranthus viridis</i> na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de <i>C. sulphureus</i> .	41
Figura 16. Análise microscópica de varredura de raízes de <i>Eleusine indica</i> na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de <i>C. sulphureus</i> .	42
Figura 17. Análise microscópica de varredura de raízes de <i>Lactuca sativa</i> na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de <i>C. sulphureus</i> .	43
Figura 18. Análise microscópica de varredura de raízes de <i>Panicum maximum</i> na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de <i>C. sulphureus</i> .	44
Figura 19. Análise microscópica de varredura de raízes de <i>Portulaca oleraceae</i> na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de <i>C. sulphureus</i> .	45
Figura 20. Análise microscópica de varredura de raízes de <i>Sorghum bicolor</i> na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de <i>C. sulphureus</i> .	46

1. INTRODUÇÃO

Há cerca de 15 anos, produtores da região de Franca (SP) observaram a presença de uma "margaridinha" em suas lavouras de café, a qual demonstrava a capacidade de inibir a germinação e o crescimento do capim-colonião (*Panicum maximum* L.), uma planta daninha. Mesmo sem compreender o mecanismo dessa inibição, eles passaram a semeá-la como parte da estratégia de manejo para conter a queda na produtividade de seus cultivos e, a partir disso, trouxeram as informações ao Laboratório de Planta Daninha (LAPDA) para que pudessem esclarecer qual mecanismo estaria relacionado com o efeito observado.

A espécie posteriormente identificada como *Cosmos sulphureus* (Cav) (sinônimo: *Bidens sulphurea* (Cav)), é uma planta herbácea nativa da América Central, pertencente à família Asteraceae e ao gênero *Bidens* (Volet, 2020). Neste trabalho exploratório (Silva et al., 2017) foi possível concluir que o efeito observado a nível de campo ocorria devido a produção de compostos provenientes do metabolismo secundário da espécie, o que lhe conferia a característica alelopática, que é compartilhada com outros representantes da família Asteraceae (Andrushchenko e Levon, 2021; Lopes et al., 2022).

De acordo com Molisch (1937), a alelopatia refere-se ao efeito planta-planta, direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, causado pela liberação de compostos biologicamente ativos derivados do metabolismo secundário das plantas, através de volatilização, exsudação radicular, lixiviação ou decomposição de resíduos vegetais (Ghayal et al., 2018; Scavo et al., 2019; Zhao et al., 2022). Os metabólitos secundários, denominados aleloquímicos, podem pertencer às três principais classes: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (Kostina-Bednarz et al., 2023), e de acordo com seu grau de fitotoxicidade, podem ocasionar efeitos deletérios nas espécies receptoras.

No trabalho de Silva et al. (2017), foram isolados de 26 compostos de folhas e raízes de *C. sulphureus*, sendo três lactonas sesquiterpênicas descritas pela primeira vez na literatura: costunolida, reynosina e santamarina, apresentando inibição sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *P. maximum* e *Amaranthus viridis* (Silva et

al., 2017). Outros metabólitos, como os flavonoides provenientes de suas flores e inflorescências (Saleem et al., 2019), cosmonidina, sulferetina, luteolina, buteína (Iwashina et al., 2019), flavonóis, antocianinas e chalconas (Andrushchenko; Levon, 2021) também foram descritos na literatura para a espécie em questão, demonstrando efeitos inibitórios sobre a germinação e crescimento de plantas daninhas (Respatie et al., 2019; Respatie et al., 2021), fator que poderia auxiliar no controle e manejo dessas espécies invasoras.

A presença de plantas daninhas em áreas agrícolas tem sido apontada como uma das principais causas de perda de produtividade (Lopes et al., 2022; Respatie et al., 2021), podendo reduzir em até 93% da produção agrícola se não manejadas de forma correta (Schedenffeldt et al., 2022). Ademais, a presença dessas espécies invasoras gera, ainda, a depreciação de qualidade dos cultivares, que ocasiona a diminuição do valor de mercado dessas culturas e, consequentemente, o aumento do custo de produção para os agricultores (Respatie et al., 2021). Desta forma, o emprego de ferramentas que possam auxiliar o manejo dessas espécies invasoras e que seja economicamente viável é de extrema importância para o setor agrícola.

Dentre os métodos utilizados no controle para o manejo de plantas daninhas, o químico é o mais empregado e mais eficiente, principalmente em grandes áreas de cultivo, uma vez que os herbicidas sintéticos apresentam alta eficácia e viabilidade de custo (Lopes et al., 2022; Lykogianni et al., 2021). Contudo, sua utilização excessiva contribui significativamente com o desequilíbrio ambiental a partir da contaminação de cursos d'água, degradação de solos, tornando-se um obstáculo para o alcance da sustentabilidade.

Outro ponto importante sobre o emprego de controle químico é a seleção de biótipos resistentes. Atualmente, diversas espécies são resistentes a determinados grupos químicos (Lopes et al., 2022; Christoffoleti et al., 1994), o que dificulta o controle nessas áreas agrícolas e pode aumentar a necessidade de aplicação herbicidas sintéticos, aumentando, consequentemente, o risco de contaminação ambiental.

Alternativas mais sustentáveis têm ganhado destaque nos últimos anos para o controle de plantas daninhas, sendo a alelopatia uma das possíveis práticas a ser empregada para o controle dessas espécies invasoras.

Contudo, apesar de *C. sulphureus* apresentar-se potencialmente inibitória sobre a germinação e desenvolvimento de espécies receptoras, nem todas as formas de liberação de aleloquímicos foi explorada até a atualidade. Esse fator somado a necessidade de uma solução para controle de plantas daninhas de uma forma menos impactante ao meio ambiente torna a espécie um alvo de estudos para verificar seu possível potencial bioherbicida sobre espécies receptoras, podendo tornar-se a ferramenta de controle comercialmente viável a longo prazo, incluindo-a no manejo integrado das plantas daninhas.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar o possível efeito alelopático de exsudatos radiculares de *Cosmos sulphureus* (Cav) em três estágios de desenvolvimento (vegetativo, florescimento e senescência) da planta e seu efeito sobre a germinação e crescimento inicial das espécies: *Amaranthus viridis*, *Eleusine indica*, *Lactuca sativa*, *Panicum maximum*, *Portulaca oleraceae* e *Sorghum bicolor*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Alelopatia: Histórico e Conceitos

A alelopatia é uma ciência antiga relatada há aproximadamente 2.000 anos atrás. Segundo Rice (1984), o primeiro registro na literatura sobre as possíveis interações alelopáticas planta-planta ocorreu em 300 a.C, por Theophrastus, que notou a capacidade inibitória do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) sobre as espécies invasoras presentes no ambiente onde encontrava-se inserido. Em 1 d.C, Plínio, discípulo de Aristóteles, fez a mesma observação sobre o grão-de-bico, bem como para a noqueira (*Juglans* spp.) sobre as culturas próximas.

Séculos depois (XVI), Lee Shi-Je descreveu efeitos fitotóxicos e curativos de plantas medicinais e uma possível interação entre as plantas devido aos seus componentes químicos (Souza Filho, 2023). Ainda de acordo com o autor Souza Filho (2023), Culpeper (Séc. XVII), observou que a presença do manjerição (*Ocimum basilicum*. L) era prejudicial ao desenvolvimento da arruda (*Ruta graveolens*).

No início do século XIX, De Candolle fez observações que inferiam que compostos químicos liberados via exsudação radicular das plantas seria a possível causa de problemas em solos agrícolas (Rice, 1984).

Mas, apesar dos relatos anteriores, foi somente em 1937 com Hans Molisch que a alelopatia ficou conhecida como uma interação planta-planta. Molisch cunhou o termo “*Allelopathie*”, de origem grega, “*allellon*” (mútuo) + “*páthos*” (*sofrimento*), descrevendo-o como “qualquer efeito direto ou indireto de uma planta sobre a outra”, a partir das suas observações sobre o efeito do hormônio vegetal etileno na maturação dos frutos (Molisch, 1937).

Posteriormente, Eloy Rice ao lançar seu livro denominado “*Allelopathy*” trouxe um novo olhar sobre o conceito da alelopatia, uma vez que descreveu além dos efeitos negativos, interações positivas de uma planta sobre a outra, ocasionadas pela presença de compostos químicos liberados no ambiente (Rice, 1984).

Em 1996, a Sociedade Internacional de Alelopatia (ISA) descreveu a alelopatia de uma forma mais abrangente como “qualquer processo que envolva metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos” (ISA, 1996).

Apesar de ser um fenômeno antigo, a alelopatia era frequentemente questionada pelos ecologistas da comunidade científica, os quais a relacionavam e classificavam erroneamente como uma forma de competição entre plantas. A competição envolve a disputa por recursos limitantes, como água, luz e nutrientes, essenciais para o crescimento e desenvolvimento das espécies (Hsueh, Fan e Chang, 2020; Yang et al., 2015). No entanto, a alelopatia atua de maneira diferente, através da liberação de substâncias químicas do metabolismo secundário das plantas no ambiente (Rice, 2012).

A liberação dessas substâncias químicas no ambiente pode interferir diretamente ou indiretamente, especialmente de forma inibitória, sobre a germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas receptoras, como demonstrado em estudos recentes (Zhao et al., 2022; Respatie et al., 2021; Lqbal et al., 2019), desta forma, classificando a alelopatia como um tipo de interferência entre plantas doadoras e receptoras.

Devido a esses fatores, os estudos sobre alelopatia têm se concentrado principalmente na sua aplicação no setor agrícola, visando a redução do uso de insumos químicos e o aumento da sustentabilidade em sistemas ecológicos. Essa atenção é justificada, uma vez que tal interferência pode afetar significativamente o

estabelecimento e a distribuição de plantas daninhas dentro de um ecossistema, devido aos efeitos fitotóxicos dos metabólitos secundários (Cheng e Cheng, 2015; Araújo et al., 2021).

2.2. Metabólitos secundários: aleloquímicos

O conjunto de todas as reações bioquímicas realizadas pelos organismos vivos é denominado “reações metabólicas”. Essas reações podem originar-se tanto do metabolismo primário, que ocorre em todos os organismos basicamente pelas mesmas vias e processos metabólicos, quanto através do metabolismo secundário, que é específico de acordo com cada organismo e ocorre principalmente nos vegetais (Thirumurugan et al., 2018; Anurag et al., 2015). O metabolismo bioquímico é responsável por gerar uma ampla variedade de moléculas químicas que desempenham papéis essenciais e não essenciais na manutenção dos processos vitais do organismo, como nos processos fotossintéticos, respiratórios, síntese de proteínas e lipídeos (Pagare et al., 2015; Setyorini e Antarlina, 2022).

Os metabólitos secundários são compostos químicos de baixo ou alto peso molecular, originados do metabolismo secundário (Lqbal et al., 2019; Gindri, 2018), e são produzidos em condições específicas de crescimento do organismo (Agostini-Costa et al., 2012). No reino vegetal, esses compostos não são amplamente distribuídos, sendo sintetizados apenas por determinados grupos de plantas (Setyorini e Antarlina, 2022). Apesar de sua concentração ser limitada, uma ampla variedade de estruturas químicas destes compostos é encontrada, podendo ser restrita a determinadas famílias, gêneros ou espécies (Mera et al., 2019).

Embora os estudos sobre metabólitos secundários pareçam ser recentes, químicos orgânicos começaram suas investigações durante o século XIX e início do século XX, explorando o potencial dessas moléculas naturais para o desenvolvimento de fármacos (Lqbal e Fry, 2012). Atualmente, essas moléculas naturais têm sido amplamente estudadas devido ao seu potencial benefício para os seres humanos, incluindo seu papel como agentes antitumorais, antibióticos, reguladores do crescimento de plantas e melhoradores da produtividade agrícola (Thirumurugan et al., 2018).

Pot et al. (2019) citam que os metabólitos secundários desempenham frequentemente papéis cruciais nas respostas das plantas a estímulos ambientais adversos, conferindo-lhes proteção e contribuindo para a alta diversidade intraespecífica (Carrington et al., 2018; Agostini-Costa et al., 2019). Portanto, o metabolismo secundário está intimamente ligado às interações da planta com seu ambiente (Pot et al., 2019), podendo influenciar a estrutura ecológica das comunidades por meio de sua liberação, inibindo ou promovendo o desenvolvimento de espécies vegetais.

A liberação desses compostos biológicos no ambiente pode resultar em alterações que os tornam mais ou menos potentes (Lqbal et al., 2019), influenciando assim o estabelecimento de outras espécies próximas. Segundo Thirumurugan et al. (2018), há atualmente uma descrição de mais de 2.140.000 metabólitos secundários, os quais variam e os classificam com base em estrutura química, composição, solubilidade em solventes orgânicos ou água, função e via de síntese. (Mera et al., 2019; Pagare et al., 2015; Haig, 2008).

Assim, de acordo com seu potencial de fitotoxicidade, funções como a germinação, estabelecimento e desenvolvimento das raízes podem ser afetadas (Respatie et al., 2019), estresse oxidativo, peroxidação lipídica e alterações nas paredes celulares, que podem ocasionar a morte celular programada em diversas espécies (Soin et al., 2022).

Nos vegetais, os aleloquímicos mais comuns são os fenóis, cumarinas, terpenoides, flavonoides, derivados do ácido benzoico, alcaloides, ligninas, glicosídeos, quininas, entre outros, que são estimados em torno de dez mil compostos alelopáticos nas plantas (Zhao et al., 2022; Lqbal et al., 2019; Scavo et al., 2019). Contudo, atualmente classifica-se os aleloquímicos em três grupos principais: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (Mera et al., 2019).

Os terpenos ou (latim: "*tepertine*" (*Balsamum terebinthinae*)) constituem uma das maiores famílias de produtos do metabolismo secundário vegetal com alta variabilidade estrutural (Sunar et al., 2023). Com mais de 23.000 moléculas descritas na literatura (Pattanaik e Linberberg, 2015), essa classe de compostos é amplamente distribuída entre o reino vegetal, contudo ainda de acordo com Jasim et al., (2023) somente poucos podem ser produzidos por cada espécie vegetal.

Segundo Parveen (2018), a estrutura química dos terpenos consiste basicamente em cinco unidades de isopreno de carbono (C5) unidas entre si, com alta variabilidade na disposição estrutural. A união dessas moléculas de isopreno dá origem a subclasses dos terpenos: monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e politerpenos (Parida e Deb, 2023).

Essas moléculas voláteis podem ser sintetizadas a partir do Acetil CoA (rota do ácido mevalônico) ou através de glicosídeos como o piruvato e o 3-fosfoglicerato (rota do metirritol fosfato (MEP)) (Zhao et al., 2009; Jasim et al., 2023) e por diferentes partes das plantas como tecidos vegetativos, flores e raízes (Raven; Evert e Eichhorn, 2001) e interferir em diversos processos biológicos e ecológicos das plantas a partir da interação alelopática (Duke; Oliva, 2004), como no crescimento e desenvolvimento de plantas daninhas como *Amaranthus retroflexus*, *Portulaca oleraceae* e *Lolium perene*, sendo considerados como potenciais fontes de herbicidas naturais (Granã et al., 2013; Scavo et al., 2019).

Os compostos fenólicos, ou fenóis, são as estruturas químicas mais amplamente documentadas na literatura. Mais de 8.000 estruturas desses metabólitos secundários são encontradas naturalmente em plantas (Haig, 2008), originando-se das vias metabólicas de síntese a partir do Acetil CoA (via do ácido mevalônico) ou da via do ácido chiquímico (Li et al., 2010).

Ainda de acordo com os autores (Li et al., 2010), esses compostos químicos são caracterizados estruturalmente por possuírem um grupo hidroxila (-OH) ligado a um anel hidrocarboneto aromático, o que lhes confere odor característico e os classificam como compostos importantes no mecanismo de defesa do vegetal (Zhao et al., 2009; Tanwir et al., 2017). Reigosa et al. (1999) cita que fenóis como ácidos ferúlico, ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido vanílico e p-vanilina apresentam efeitos alelopáticos inibitórios sobre determinadas espécies de plantas daninhas (*Chenopodium album* L., *Plantago lanceolata* L., *Solanum nigrum* L.), podendo também interagir com bactérias simbiotes (Einhellig, 2002) e atrair polinizadores (Li et al., 2010).

Os alcaloides também compõem uma extensa classe de metabólitos secundários, com mais de 20.000 representantes e exibindo uma ampla variedade

estrutural (Zhao et al., 2019), esses compostos são encontrados em aproximadamente 25% das plantas (Gutiérrez-Grijalva et al., 2020). Provenientes da via metabólica de aminoácidos e do chiquimato (ácido chiquímico) (Aniszewski, 2015), os alcaloides são compostos basicamente por átomos de nitrogênio em diferentes posições, o que define sua classificação em: alcalóides heterocíclicos ou alcalóides não heterocíclicos (Evans, 2009).

Segundo Mazid et al. (2011), os alcaloides desempenham funções variadas nas plantas, incluindo proteção contra predadores. Contudo, quando liberados no ambiente podem ser inibidores do crescimento das plantas a partir de diferentes mecanismos de ação, como interferência no DNA, integridade da membrana celular, atividade enzimática e consequentemente atuando como inibidores da biossíntese de proteínas das espécies receptoras (Latif et al., 2017). Tais características conferem a esses compostos uma potencialidade para o uso como bioherbicidas, uma vez que há relatos destes compostos inibindo o crescimento e desenvolvimento de espécies de plantas daninhas a partir de diferentes modos de ação (Almeida et al., 2024).

2.3. Rotas de liberação de aleloquímicos

Algumas espécies alelopáticas sintetizam aleloquímicos através de suas vias bioquímicas do metabolismo secundário, de acordo com a classe em questão de forma com que estes sejam translocados e armazenados em determinados tecidos vegetais, como folhas, caules, flores e raízes, até serem liberados no ambiente circundante (Kato-Noguchi, 2024), onde irão desencadear interações químicas entre as espécies doadoras e receptoras (Hierro e Callaway, 2021). Esse mecanismo é uma ferramenta de extrema importância para o estabelecimento das espécies.

Na literatura, são descritas quatro rotas de liberação dos metabólitos secundários produzidos por espécies alelopáticas, sendo elas: lixiviação, volatilização, decomposição e exsudação (Ghayal et al., 2018; Kato-Noguchi, 2024). De acordo com a classe de compostos produzidos pelas espécies alelopáticas, as rotas de liberação podem ser distintas, como explica Parida e Deb (2023).

A lixiviação dos compostos alelopáticos ocorre devido o contato de partículas líquidas com diferentes tecidos vegetais (folhas e caule) (Hussain, 2020), fazendo com

que estes sejam liberados e lixivem para o solo ou em plantas adjacentes a espécie receptora (Singh et al, 2021). De acordo com Kostina-Bednarz et al. (2023), os compostos mais comuns presentes em lixiviados de espécies alelopáticas são os compostos fenólicos, como relatado por Singh et al. (2021) na espécie *Leucaena leuco-cephala* (Lam.) e Del Moral e Müller (1969) com *Eucalyptus globulus*.

A segunda rota direta de liberação é a volatilização, onde compostos como os terpenoides são volatilizados através dos estômatos presentes nas folhas (Hussain, 2020) e podem interagir com as espécies receptoras de duas principais formas: através da solubilização em água, que permite que os compostos químicos caiam no solo e exerçam efeitos alelopáticos ou através da absorção direta pelos estômatos da espécie receptora (Singh et al., 2021). Assim como ocorre com outros compostos aleloquímicos, a liberação de compostos voláteis é responsável por ocasionar efeitos inibitórios sobre a germinação e desenvolvimento de espécies receptoras, de acordo com sua receptividade.

Compostos alelopáticos também podem ser liberados no ambiente através da decomposição de materiais vegetais pela ação de microrganismos, como folhas, caules e flores, o que torna a decomposição uma forma indireta de alelopatia e limita a capacidade alelopática desses compostos (Hussain, 2020; Singh et al., 2021). Conforme citado por Qin et al. (2018), os aleloquímicos liberados pela decomposição do material vegetal podem afetar indiretamente o crescimento e desenvolvimento inicial das plantas receptoras (Kato-Noguchi e Kurniadie, 2021).

A exsudação radicular é uma das principais rotas de liberação de aleloquímicos no solo. Rice (1984) utiliza o termo “exsudato radicular” para descrever todas substâncias orgânicas liberadas através das raízes, estas que se acumulam no solo e interagem direta ou indiretamente com plantas ou microrganismos presentes no ambiente (Liu et al., 2013). Ácidos fenólicos, ferúlico e saponinas são exemplos de compostos exsudados pelas raízes de espécies vegetais que interagem com fatores bióticos e abióticos presentes no solo (He et al., 2009;), contudo, segundo Almeida (1988) é necessário um acúmulo de compostos no solo para que o efeito alelopático sobre outras espécies receptoras sejam claramente observadas.

2.4. Aplicações práticas da alelopatia: metabólitos secundários como bioherbicidas

A alelopatia tem se mostrado cada vez mais promissora para ser aplicada de maneira benéfica à sociedade e ao meio ambiente, especialmente no contexto do setor agroindustrial. Além de ser vantajosa para os ecossistemas agrícolas no cultivo coletivo ou sucessivo de pequenas e grandes culturas (Scognamiglio et al., 2013), a alelopatia também pode ser empregada de forma benéfica no controle integrado de plantas daninhas (Trezzi et al., 2016).

Espécies de plantas daninhas têm sido descritas como fortes inibidoras da produtividade e qualidade final de cultivares (Schedenfeldt et al., 2022). Devido a isso, o controle químico têm sido amplamente empregado para tentar manejá-las nas áreas agrícolas sendo a alternativa mais eficaz aos olhos dos produtores. Embora apresente uma alta eficiência no controle de plantas daninhas e um baixo custo de mão de obra especializada, Moraes (2019) e Sousa et al. (2015) citam que o emprego intensivo de defensivos agrícolas é responsável por ocasionar um conjunto de externalidades negativas irreversíveis, diretas ou indiretas nos seres humanos e meio ambiente, como o surgimento de plantas daninhas resistentes à herbicidas.

De acordo com Christoffoleti et al. (1994), os primeiros relatos de plantas daninhas resistentes à herbicidas se deram entre as décadas de 70 a 80, mas a partir desse, tem sido relatado um crescente aumento de resistente à diversas classes de herbicidas. Até então, há relatos de mais de 500 casos de resistência a herbicidas em 260 espécies de plantas daninhas, sendo 167 herbicidas e 23 modos de ação em 70 países (HEAP, 2024). O motivo se deve ao uso extensivo e repetitivo de herbicidas com mesmo mecanismo de ação pelos agricultores, uma vez que os herbicidas são uma das formas de controle mais eficientes e economicamente viáveis, como já mencionado.

Esses fatores têm levados muitos grupos de estudos a buscarem alternativas agrícolas mais ecologicamente corretas e menos impactantes ao meio ambiente e a saúde humana, como o emprego de compostos bioativos, como os aleloquímicos, que proporcionem o manejo adequado dessas pragas nas áreas agrícolas (Lopes et al., 2022; Scavo, 2019). Alguns autores citam que o controle integrado das plantas daninha a partir da alelopatia pode ser realizado através de técnicas como rotação de

cultura, consorciação, uso de "*mulching*", ou considerando-a uma fonte potencial de herbicidas naturais ou bioherbicidas (Trezzi et al., 2016; Kostina-Bednarz; Plonka e Barchanska, 2023).

Denomina-se rotação de cultura quando diferentes espécies, incluindo aquelas com efeitos alelopáticos, são cultivadas em um mesmo ambiente seguindo ordens específicas (Kostina-Bednarz et al., 2023). Segundo Scavo e Mauromicale (2022), a rotação cria um ambiente dinâmico que pode ser desfavorável para o desenvolvimento de plantas daninhas. A consorciação de culturas também é uma alternativa economicamente viável e favorável ao ecossistema. Neste caso, o cultivo da cultura principal de interesse adjunta a cultura alelopática, como o *Sorghum* spp. (Abbas et al., 2021), pode reduzir a incidência da planta daninhas devido a liberação de aleloquímicos (Bachheti et al., 2020).

Outra alternativa economicamente viável é o "*mulching*", estratégia adotada por muitos agricultores que desejam obter um aumento de matéria orgânica no solo e inibir a propagação de espécies invasoras (Zhao et al., 2009). Neste caso, resíduos vegetais da cultura alelopática são depositados sobre a superfície do solo e liberam compostos químicos capazes de suprimir a germinação de espécie daninhas (Abbas et al., 2021).

Desta forma, sabendo que os compostos alelopáticos podem ser potencialmente utilizados para o manejo integrado de plantas daninhas, nos últimos anos, a busca por ferramentas biotecnológicas que possam facilitar a compreensão do modo de ação desses compostos, bem como torna-los viável economicamente para produção em larga escala, tem sido uma alternativa proposta por empresas e instituições de pesquisas. Assim, pesquisas na área da ciência alelopática com foco na prospecção de herbicidas tem sido cada vez mais comuns, recebendo altos investimentos do setor agrícola e tecnológico.

2.6. Prospecção de bioherbicidas: uma alternativa ecológica

Com a intenção de reduzir a utilização de herbicidas sintético, pesquisadores têm se dedicado para compreender como os compostos bioativos produzidos por essas espécies podem ser utilizados para o desenvolvimento de bioinsumos que

possam ser convenientes para o setor agrícola, como os bioherbicidas. Ademais, a descoberta de novas substâncias e seus modos de ação poderá, ainda, prover esqueletos estruturais para a síntese de herbicidas análogos capazes de controlar plantas infestantes em áreas agrícolas, incluindo espécies daninhas resistentes.

O desenvolvimento de bioherbicidas não é um processo fácil, uma vez que envolve um processo complexo que se inicia a partir da identificação e estudo da espécie alelopática (Soltys et al., 2013). É necessário extrair, purificar e identificar as estruturas químicas das moléculas responsáveis pelos efeitos alelopáticos, compreender seu modo e ação, determinar o tempo de residência no solo (meia vida), efeito no ambiente e espécies alvo, e, principalmente, a toxicidade das moléculas na saúde humana e ambiental e, somente a partir disso, testa-se uma possível produção em larga escala da molécula, caso seja economicamente viável (Motmainna et al., 2021; Anwar e Qureshi, 2022).

Entretanto, a prospecção de herbicidas naturais a partir de compostos alelopáticos é complexa, uma vez que essas moléculas apresentam algumas limitações de aplicação. Segundo Motmainna et al. (2021), fatores como a meia vida curta dos produtos alelopáticos pode ser um fator limitante para aplicação prática, uma vez que o bioherbicida deve permanecer no ambiente tempo suficiente para ter o efeito desejado. Além disso, outros fatores como a rápida degradação, estabilidade ambiental limitada e a concentração dos aleloquímicos têm sido limitantes para o processo, o que acaba tornando inviável economicamente (Kostina-Bednarz et al., 2023).

Apesar da complexidade envolvendo o processo de desenvolvimento de bioherbicidas, pensar nas vantagens que esses podem trazer à sociedade, ao setor agrícola e ao meio ambiente é o que mantém as pesquisas ao redor do mundo. Dayan e Duke (2010) descreve que os produtos naturais provenientes do metabolismo secundário vegetal oferecem ampla diversidade estrutural, o que pode permitir que possuam modos de ação inéditos. Ademais, há pouca sobreposição desses compostos com as moléculas sintéticas presentes atualmente no mercado (Dayan e Duke, 2014).

Kostina-Bednarz et al. (2023) descrevem vantagens que os bioherbicidas podem apresentar em comparação ao controle químico, como meia vida curta,

efetividade mesmo em baixas concentrações e um alto potencial no controle de plantas daninhas, mais específico e inócuo ao ecossistema.

2.7. *Cosmos sulphureus*: a espécie selecionada

Representantes da família Asteraceae têm sido objeto de estudos em diversas partes do mundo devido aos seus potenciais alelopáticos (Andrushchenko e Levon, 2021; Lopes et al., 2022). Segundo Araújo (2021) e Respatie et al. (2019), várias espécies de porte reduzido têm sido identificadas como plantas daninhas, interferindo no desenvolvimento e estabelecimento de outras espécies por meio da liberação de compostos químicos como lactonas, terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos. Esse fenômeno é exemplificado no gênero *Bidens*, que há algum tempo vem sendo considerado uma fonte potencial de compostos secundários com função alelopática (Araújo, 2021; Andrushchenko e Levon, 2021).

Cosmos sulphureus (Cav) (sinônimo: *Bidens sulphurea* (Cav)) é uma planta herbácea endêmica da América Central, atualmente naturalizada no Brasil como espécie ornamental (Volet, 2020; Silva et al., 2017). Popularmente conhecida como “cosmos-amarelo”, “picão grande” ou ainda “áster do México” (Silva et al., 2017; Marques e Nakajima, 2015), *C. sulphureus* está amplamente distribuída em áreas urbanas e agrícolas, principalmente durante o verão, seu período de floração ocorre de agosto a dezembro (Silva et al., 2017; Lorenzi, 2014; Araújo et al., 2021; Ortega-Medrano et al., 2023). Segundo Pallavi et al. (2023) fatores como luminosidade ideal e espaços abertos favorecem seu desenvolvimento, chegando até 3,0 metros. Esses fatores somados a sua capacidade de produção de metabólitos secundários rendeu a espécie o título de planta daninha.

De acordo com Araújo et al. (2021), espécies constituintes da família Asteraceae são capazes de alterar a composição, estrutura ou função dos ecossistemas onde estão inseridas, devido à sua maior competitividade e potencial alelopático em comparação com espécies nativas. Apesar de apresentar diversas propriedades biológicas de interesse, *Cosmos sulphureus* é uma das plantas menos estudadas no gênero *Bidens*, especialmente no que diz respeito à determinação de seu potencial alelopático.

Em um estudo exploratório conduzido por Silva et al., (2017), foram isolados 26 compostos das folhas e raízes de *Cosmos sulphureus*, dos quais três foram descritos pela primeira vez. Os principais compostos identificados no extrato foliar incluem as lactonas sesquiterpênicas: costunolida, reynosina e santamarina, que demonstraram atividade inibitória sobre espécies daninhas como *Panicum maximum* e *Amaranthus viridis*.

Outros metabólitos secundários produzidos por *C. sulphureus* como flavonoides (Saleem et al., 2019), cosmonidina, sulferetina, luteolina, buteína (Iwashina et al., 2019), compostos fenólicos, taninos condensados (Ortega-Medrano et al., 2023), flavonóis, antocianinas e chalconas (Andrushchenko e Levon, 2021) foram descritos na literatura, encontrados em diferentes tecidos vegetais da espécie.

Entretanto estudos sobre a espécie *C. sulphureus* estão mais amplamente voltados para sua aplicação na área medicinal (Araújo-Neto, 2011; Saleem et al., 2019; Ou et al., 2024), carecendo, até o momento, de informações com foco agrônômico.

Além disso, embora a espécie *C. sulphureus* demonstre potencial inibitório sobre a germinação e desenvolvimento de espécies receptoras (Gharpure et al., 2023; Silva et al., 2017), nem todas as formas de liberação de seus aleloquímicos foram exploradas até o momento. Este fato, somado à necessidade de encontrar soluções menos impactantes para o controle de plantas daninhas no ecossistema, torna *C. sulphureus* um alvo de estudos para investigar seu potencial bioherbicida por meio da exsudação radicular.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Aquênios de *Cosmos sulphureus* (Cav) foram coletados em áreas próximas à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal (21°14'37.41"SGr e 48°17'54.84"WGr) e armazenados em câmara fria (11°C) até o momento de serem utilizados.

3.1 Método de Garrafas Invertidas

Para a caracterização do potencial alelopático de *C. sulphureus* por exsudação radicular (ER), foi conduzido um experimento seguindo a metodologia descrita por Silva (2017). Foram utilizadas 24 garrafas plásticas de 2 litros, pintadas na cor prata e posicionadas verticalmente de maneira invertida, com o auxílio de um suporte metálico para que a região do bocal ficasse voltada para baixo. Cada garrafa foi preparada com uma camada de 5 cm de brita seguida por 25 cm de areia esterilizada, de modo a filtrar a substância exsudada e direcioná-la diretamente para uma mangueira plástica (Figura 1).



Figura 1. Sistema de garrafas invertidas utilizado para coleta dos exsudatos radiculares de *Cosmos sulphureus*

Em 10 de junho de 2022, oito aquênios de *C. sulphureus* (planta doadora) foram colocados para germinar diretamente nas garrafas invertidas. Devido ao diâmetro das unidades experimentais (20 cm), vinte dias após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, deixando apenas seis plantas por garrafa para permitir um desenvolvimento adequado. A irrigação foi realizada diariamente, duas vezes ao dia, com água deionizada e solução nutritiva de Furlani et al. (1999) a 100% de força em dias intercalados durante todo o período experimental.

Para o tratamento controle, foram adotadas garrafas sem a presença da espécie selecionada, sendo apenas preenchida com areia esterilizada e uma camada

de brita. Assim como o tratamento, as garrafas que constituíram o tratamento controle também foram irrigadas diariamente intercalando-se a mesma solução nutritiva.

Vinte dias após a emergência (junho de 2022), foram iniciadas as coletas dos materiais biológicos que se estendeu até dezembro de 2022. O período de coleta do exsudato radicular (ER) foi de junho ao final de agosto para o vegetativo, setembro a outubro para o estágio de florescimento e dezembro para a senescência. Todo o material coletado durante nos três estágios de desenvolvimento foi armazenado em frascos âmbar refrigerados. Como controle, foi utilizada a solução coletada das garrafas sem plantas de *Cosmos sulphureus*.

Adicionalmente, parte do exsudato coletado nos três estágios de desenvolvimento passou pelo processo de eliminação de sais pela coluna de Amberlite Xad-4 por filtração a vácuo (Bomba de vácuo com compressor Prismatec 131 2VC - Lubrificada a óleo - 38 l/min - 695 mmHg), liofilizado utilizando-se o Liofilizador Enterprise II, e posteriormente diluído para as concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 ppm.

3.2. Bioensaios de fitotoxicidade

Foram realizados dois bioensaios de fitotoxicidade com os exsudatos obtidos através do método de garrafas invertidas: um com os exsudatos brutos dos três estágios de desenvolvimento (vegetativo, florescimento e senescência) e outro apenas com o vegetativo nas concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 ppm, seguindo metodologia descrita por Macías; Castellano e Molinillo (2000).

Como plantas alvo foram utilizadas espécies alvo padrão e plantas daninhas. Como STS foram utilizadas as respectivas espécies de eudicotiledôneas e monocotiledônea *Lactuca sativa* L. (alface) e *Sorghum bicolor* L. (sorgo); e como plantas daninhas as monocotiledôneas *Panicum maximum* Jacq (campim-colonião), *Eleusine indica* (capim-pé-de-galinha) e eudicotiledôneas *Amaranthus viridis* L. (caruru-de-mancha) e *Portulaca oleraceae* L. (beldroega).

Para os bioensaios com ER dos três estágios de desenvolvimento, vinte e cinco sementes de cada espécie foram distribuídas equidistantemente sobre papel

Whatman n°1 acondicionados em placas de Petri esterilizadas (9 cm) e umedecidas com 5 ml dos tratamentos e controle, sendo seladas e acondicionadas em câmara de germinação regulada para 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas, por um período de oito dias.

Nos bioensaios do ER vegetativo nas concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 ppm, foram adotadas 10 sementes para as espécies *A. viridis*, *E. indica*, *L. sativa*, *P. maximum* e *P. oleraceae* e, cinco sementes para *S. bicolor*, sendo essas distribuídas equidistantemente sobre papel Whatman n°1 acondicionados em placas de Petri esterilizadas (3 cm) e umedecidas com 1 ml dos tratamentos e controle, sendo seladas e acondicionadas em câmara de germinação regulada para 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas, por um período de oito dias.

Para os exsudatos brutos dos três estágios de desenvolvimento, diariamente avaliou-se o número de sementes germinadas (%G) e a partir disso, foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG). Para o ER vegetativo, apenas avaliou-se o número final de sementes germinadas (%G). Para ambos, após o período experimental de 8 dias, foram medidos os comprimentos da parte aérea e da raiz e determinada seu tamanho final. Somente para o bioensaio com ER bruto, determinou-se as respectivas massas secas das espécies receptoras após secagem em estufa com circulação forçada de ar a 60°C.

Para os bioensaios de fitotoxicidade o delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em quadruplicata.

3.3. Bioensaios de alongamento de coleóptilo de trigo (*Triticum aestivum* L.)

Foram realizados dois bioensaios de coleóptilo de trigo (*Triticum aestivum* L.) utilizando os exsudatos obtidos pelo método das garrafas invertidas: um bioensaio com os exsudatos brutos dos três estágios de desenvolvimento (vegetativo, florescimento e senescência) e outro apenas com exsudatos do estágio vegetativo, nas concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 ppm, conforme descrito por Fernandez (2003).

Neste, sementes de trigo foram germinadas em câmara de germinação por 72 horas, em condições de escuro completo, e os coleóptilos originados foram cortados

em guilhotina sobre luz verde, obtendo-se partes de 5 mm. Cinco fragmentos destes coleóptilos foram colocados em tubos de ensaio contendo exsudatos radiculares (bruto ou diluído) de *C. sulphureus*. Os tubos foram mantidos em rotação dentro de câmara de germinação a 25°C por 24 horas. Avaliou-se, após o período de incubação, o tamanho final dos coleóptilos.

Para este experimento, utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Cada Eppendorf foi considerado como uma unidade experimental.

3.4. Análise radicular por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a análise radicular por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foram realizados bioensaios de germinação utilizando o exsudato radicular (ER) vegetativo bruto, conforme descrito anteriormente no item 3.2, utilizando as mesmas espécies receptoras. Após o oitavo dia de germinação, foram selecionadas dez plântulas e segmentos de raízes de 10 milímetros de comprimento foram obtidos com o auxílio de uma lâmina metálica. Esses segmentos foram então acondicionados em Eppendorfs contendo solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), que é utilizada para fixação do material biológico.

Após três dias de fixação, as raízes foram retiradas da solução de Karnovsky, lavadas três vezes com solução tampão fosfato e posteriormente pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% por 24 horas. Após esse período, as amostras foram novamente lavadas três vezes com solução tampão e desidratadas em série de álcool (30%, 50%, 70%, 80%, 90% e 100%).

Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem a ponto crítico (Bray, 2008). Após a secagem a ponto crítico, os segmentos de raízes foram montados em "stubs" e submetidos à metalização com ouro. Por fim, todas as amostras foram analisadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura para a observação detalhada do material biológico.

3.5. Análise dos resultados

Os dados obtidos nos bioensaios contendo os três estágios de desenvolvimento foram submetidos à análise de variância pelo teste F, com as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade pelo programa estatístico Agroestat (Barbosa e Maldonado, 2011). Os resultados obtidos do estágio vegetativo em diferentes concentrações foram submetidos a análise de regressão (Origin 2018). Todos resultados também foram apresentados como porcentagens em relação ao controle, sendo que “zero” representam o controle, valores positivos representa estímulo, e negativos, inibição.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antecedendo aos bioensaios de germinação e alongamento de coleóptilo de trigo, os exsudatos radiculares (ER) dos três estádios de desenvolvimento (vegetativo, florescimento e senescência), bem como o ER vegetativo em diferentes concentrações (50ppm, 100ppm, 200ppm, 400ppm e 800ppm) foram caracterizado quanto ao pH, osmolalidade, brix e condutividade (Tabela 1 e 2), a fim de comprovar se os valores apresentados encontravam-se dentro dos limites adequados para que não interferissem sobre a germinação e crescimento inicial das espécies receptoras.

Tabela 1. Caracterização química de ER de *C. sulphureus* em seus diferentes estágios de desenvolvimento

	pH	Osmolalidade (mosmol/kg)	Condutividade (μ S/cm)	Brix (%)
Controle	7,92	101	9	0
Vegetativo	7,76	100	560	0
Florescimento	7,88	99	568	0
Senescência	7,87	111	663	0

Tabela 2. Caracterização química de ER de *C. sulphureus* Cav. (vegetativo) em diferentes concentrações (ppm).

	pH	Osmolalidade mosmol/kg	Condutividade (μ S/cm)	Brix (%)
Controle	5,8	100	0	0
50ppm	6,6	121	51	0
100ppm	6,7	148	118	0
200ppm	7,2	145	225	0
400ppm	7,6	147	396	0
800ppm	7,8	157	708	0

4.1. Fitotoxicidade de exsudato radicular de *Cosmos sulphureus* CAV. na germinação e crescimento inicial de espécies receptoras.

O processo de germinação é uma das etapas mais importantes para a perpetuação das espécies; portanto, se houver efeito adverso que afete essa fase, todo desenvolvimento da planta pode ser comprometido. Neste trabalho, observou-se que para as variáveis porcentagem de germinação (%G) (Figura 2) e índice de velocidade de germinação (IVG) (Figura 3), todas as espécies receptoras foram afetadas negativamente pela presença do exsudato radicular de *C. sulphureus*, exceto *L. sativa* e *P. oleraceae*, que ao contrário das demais, apresentaram um estímulo positivo. Cruz-Silva et al. (2015) observaram que a germinação de *L. sativa* não foi afetada na presença do extrato foliar de *Bidens sulphurea* L., isso, segundo Silva et al. (2017) pode estar relacionado ao fato de ambas pertencerem a família Asteraceae.

Para *P. maximum* e *S. bicolor*, o ER foi responsável por ocasionar redução tanto da germinação (em média 79,08% e 4%, respectivamente) quanto da sua velocidade (em média 17,16% e 7,66%, respectivamente), em relação ao tratamento controle, nos três estágios de desenvolvimento, sendo que, para *A. viridis* e *E. indica*, apenas os exsudatos de *C. sulphureus* nos estágios vegetativo e florescimento ocasionaram redução dessas variáveis. Contudo, não foram observadas diferenças significativas entre estes estágios estudados.

Estudos demonstram que os aleloquímicos liberados pela exsudação radicular podem contribuir significativamente para a redução da ocorrência de plantas daninhas nas grandes culturas (Kakar; Xuan; Khanh, 2023; Kato-Noguchi; Kato, 2022). No presente estudo, foi possível observar que algumas espécies são mais sensíveis ao contato com estes metabólitos secundários, assim como observou Vieites-Álvarez et al. (2024) utilizando ER de *Fagopyrum* spp. em diferentes espécies de plantas daninhas. Foi observado que a intensidade de inibição também varia de acordo com a espécie estudada, demonstrando possível seletividade a esses compostos químicos presentes no exsudato de *C. sulphureus*, efeito semelhante ao observado com as moléculas dos herbicidas sintéticos.

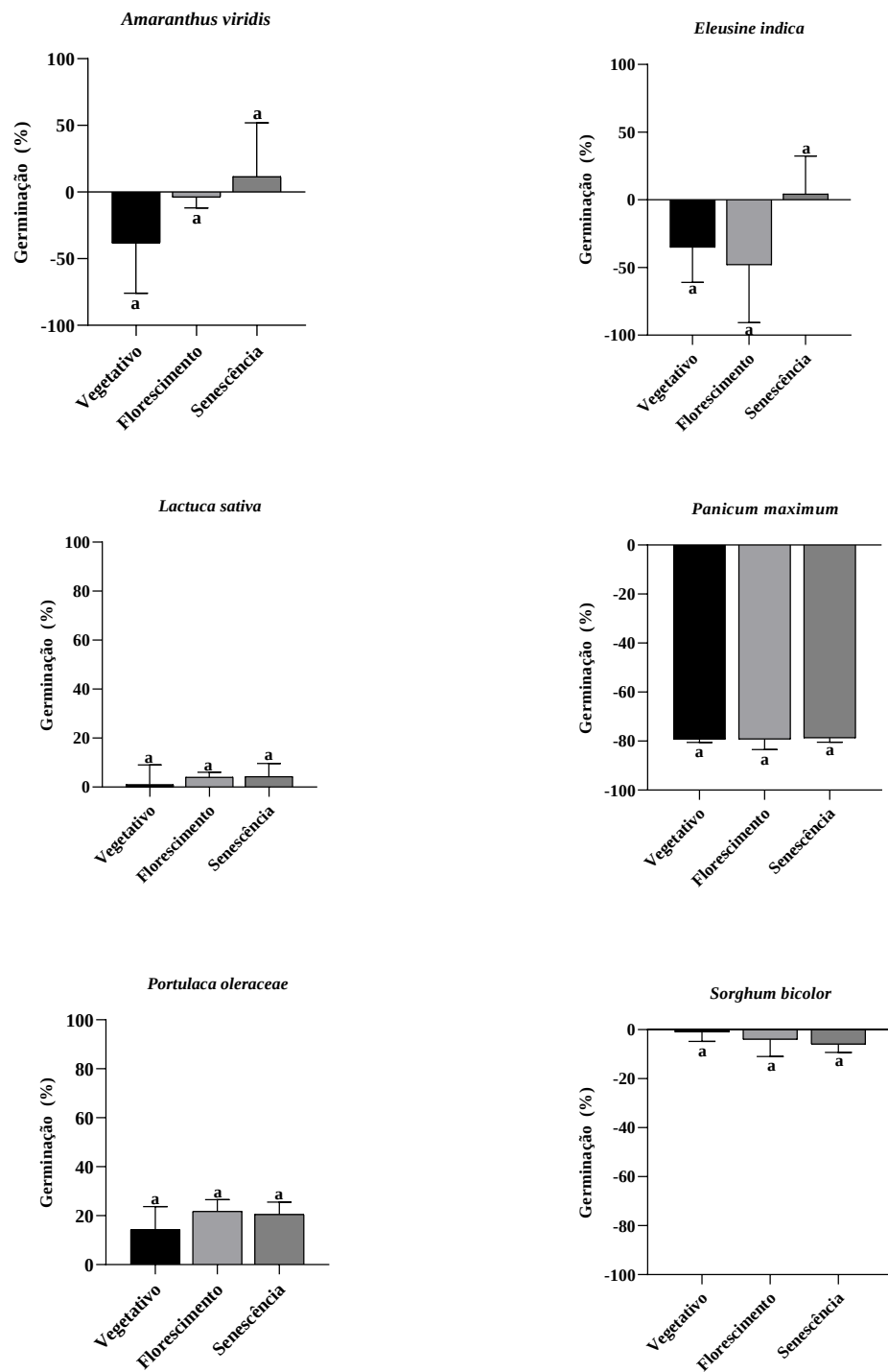


Figura 2. Porcentagem de germinação das espécies receptoras sobre efeito do ER de *C. sulphureus* em três estágios de desenvolvimento. (Obs: valores expressos como diferença percentual do controle; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade).

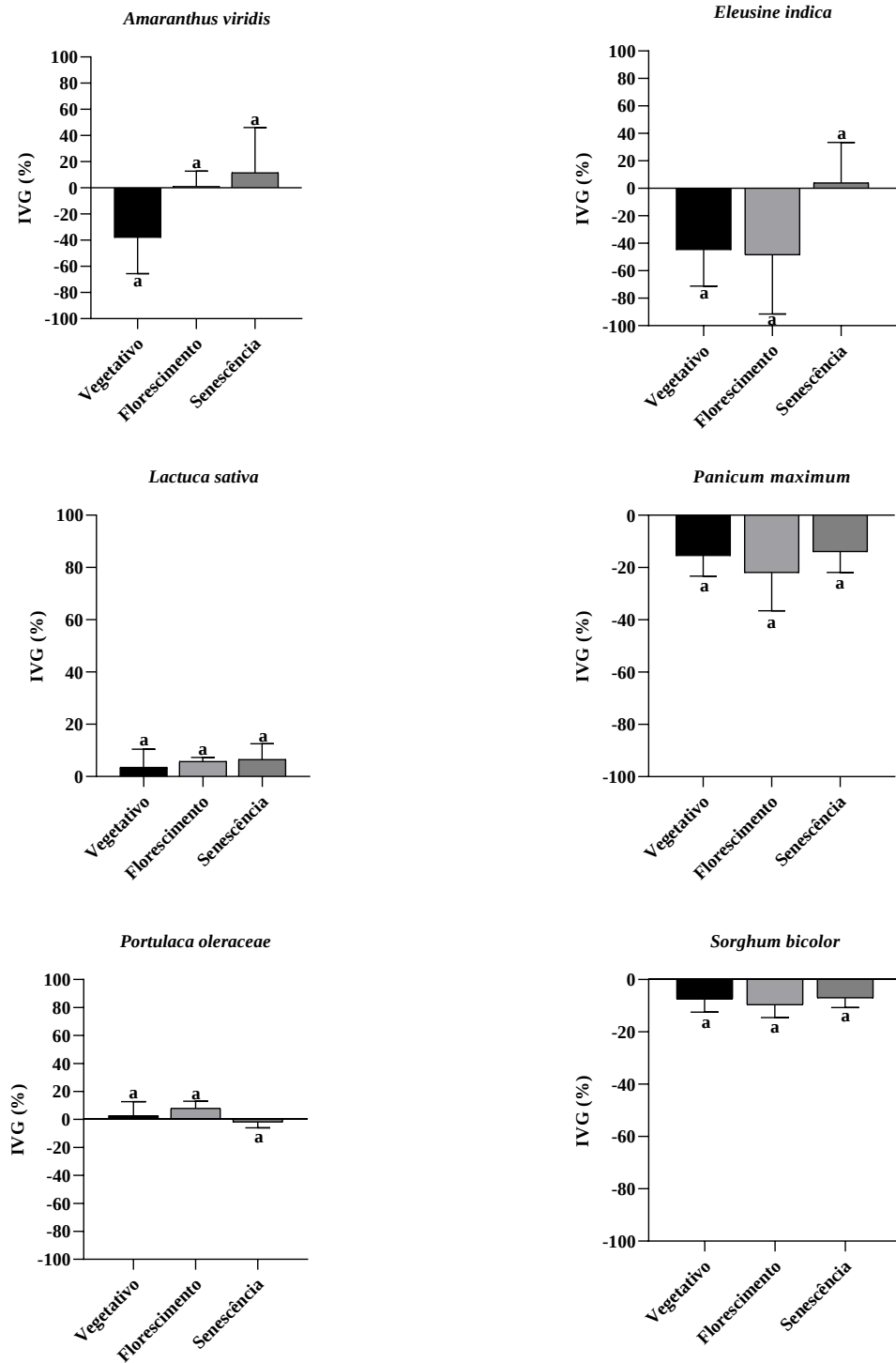


Figura 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) das espécies receptoras sobre efeito do ER de *C. sulphureus* em três estágios de desenvolvimento. (Obs: valores expressos como diferença percentual do controle; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade).

De forma geral, a variável parte área (PA) também foi afetada significativamente pela presença do ER de *C. sulphureus*, apresentando um menor crescimento quando comparada ao tratamento controle (Figura 4).

Rice (1984) cita que o efeito dos aleloquímicos no ambiente geralmente está relacionado a sua concentração, quando há uma baixa disponibilidade desses compostos produzidos pelas espécies, ao invés de ocorrer um efeito inibitório, ele pode ser promotor do crescimento e desenvolvimento inicial de plântulas. Isso explicaria o fato de ter ocorrido uma promoção do desenvolvimento da parte aérea de *A. viridis* e *L. sativa* quando foram expostas ao exsudato de *C. sulphureus* em determinados estágios fenológicos, uma vez que a produção de aleloquímicos pode ser diretamente influenciada por esse fator.

Neste estudo, dentre os estágios fenológicos analisados, o ER proveniente do estágio vegetativo foi o que proporcionou o maior percentual de redução da parte aérea, em média 68,84% em comparação ao controle, diferindo, assim, significativamente dos exsudatos em pleno florescimento e senescência, exceto para a espécie *P. maximum*.

A tendência decrescente do comprimento da parte aérea observada, difere dos resultados relatados por Respatie et al. (2019) utilizando extratos de diferentes partes de *C. sulphureus*, no qual não houve inibição significativa do hipocótilo das plantas teste. Com isso, pode-se inferir que as espécies estudadas podem responder de maneira diferente quando em contato com os compostos alelopáticos (Kostina-Bednarz et al., 2023).

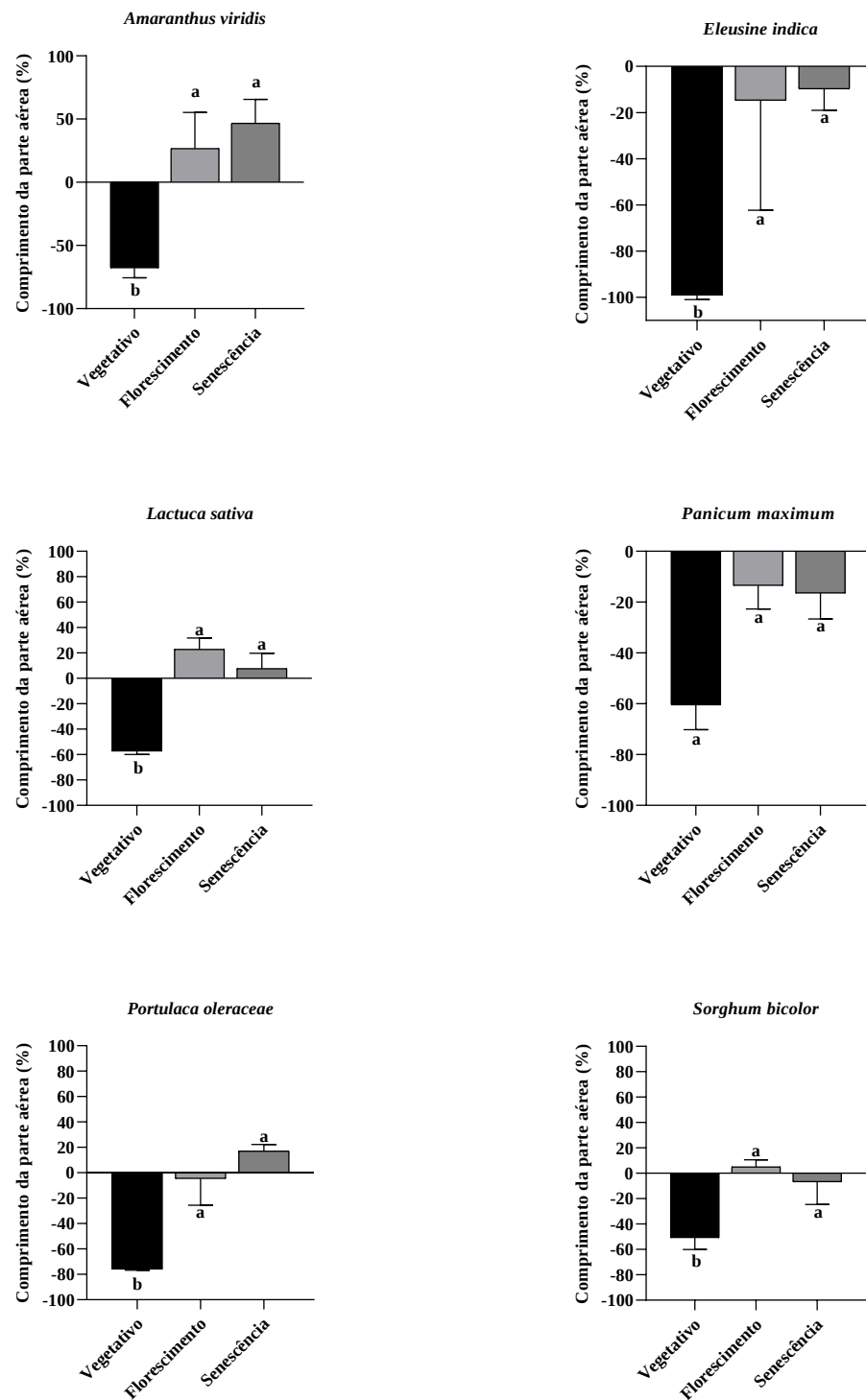


Figura 4. Comprimento da parte aérea das espécies receptoras sobre efeito do ER de *C. sulphureus* em três estágios de desenvolvimento. (Obs: valores expressos como diferença percentual do controle; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade).

Sabe-se que a radícula é o primeiro órgão da plântula a interagir com os compostos alelopáticos (Respatie et al., 2019). Desta forma, qualquer sensibilidade à essas substâncias ocasionariam respostas fisiológicas variadas, como a inibição do crescimento das mesmas ou, segundo Kostina-Bednarz et al., (2023), alterações morfológicas das raízes. Neste trabalho, a raiz foi a variável mais afetada pela presença do ER de *C. sulphureus* (Figura 5), ocorrendo variação de sensibilidade pelas espécies receptoras. Assim como ocorreu com a parte aérea, o estágio vegetativo foi o que proporcionou maior percentual de redução, chegando a 90,07% em relação ao tratamento controle.

Para *A. viridis*, *L. sativa* e *P. oleraceae*, todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si e tiveram forte efeito inibidor sobre o alongamento das raízes, sendo o vegetativo o mais efetivo (79,8% de redução). Os exsudatos radiculares de *C. sulphureus* nos estágios vegetativo e senescência também foram responsáveis por ocasionar redução significativa em *E. indica*, porém quando em pleno florescimento, o exsudato promoveu estímulo em comparação ao tratamento controle.

Para *P. maximum*, os exsudatos em estágio vegetativo e senescência foram responsáveis por ocasionar redução do comprimento das raízes em comparação ao controle (83,92% e 21,5%, respectivamente) mas o exsudato na senescência não diferiu estatisticamente do florescimento.

Ainda para a variável raiz, o ER em estágio vegetativo foi responsável por reduzir aproximadamente 90% o desenvolvimento das raízes de *Sorghum bicolor*, diferindo estatisticamente dos demais. Apesar do ER florescimento ter causado redução em comparação ao controle, não diferiu estatisticamente da senescência, que promoveu um estímulo quando em contato com as plântulas de *S. bicolor*.

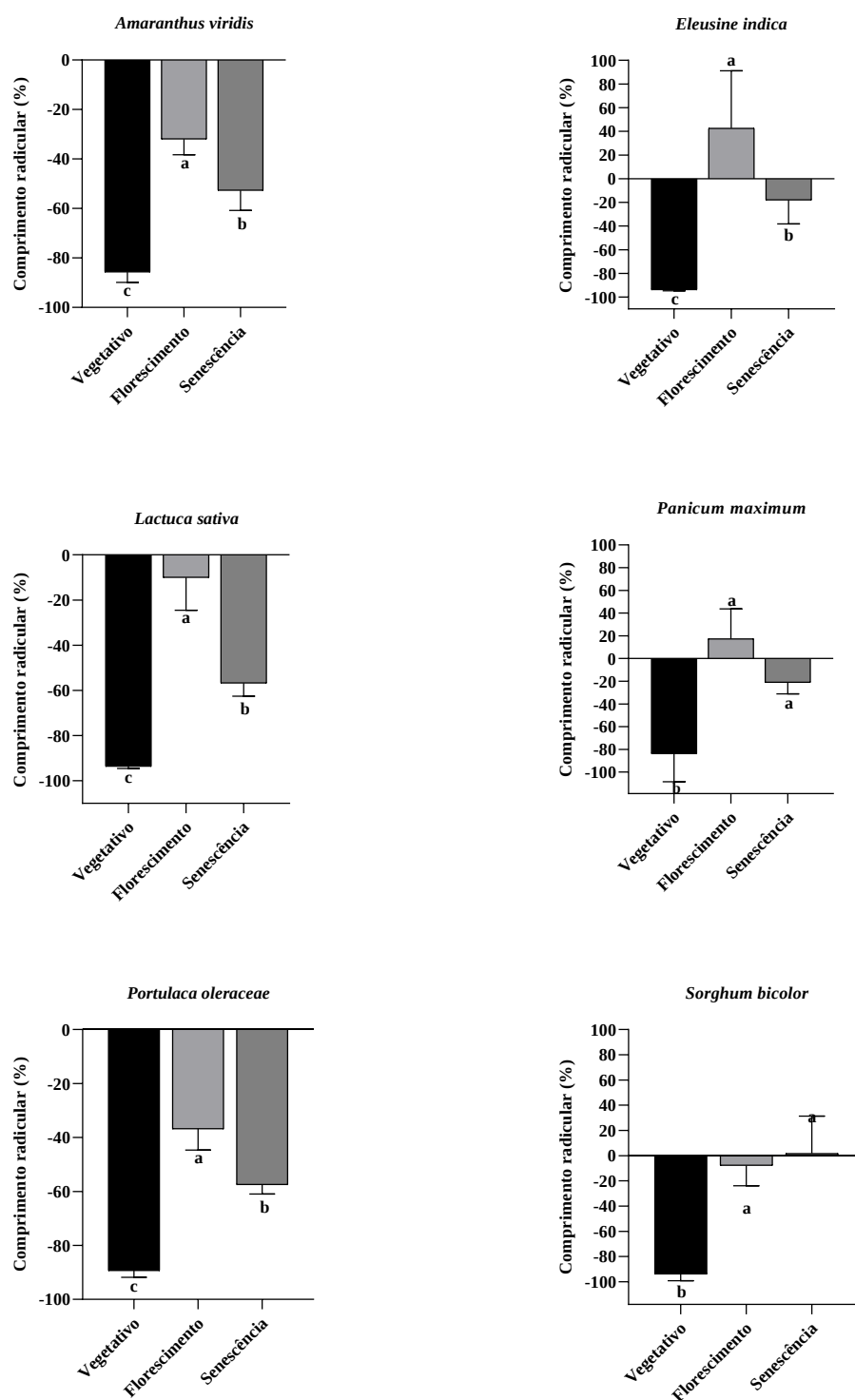


Figura 5. Comprimento radicular das espécies receptoras sobre efeito do ER de *C. sulphureus* em três estágios de desenvolvimento.

(Obs: valores expressos como diferença percentual do controle; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade).

Além da redução do alongamento das raízes, observou-se, visualmente, efeito de necrose radicular e ausência de pelos radiculares para algumas espécies, como *S. bicolor* (Figura 6), quando em contato com o ER vegetativo de *C. sulphureus*, efeitos possivelmente relacionados com a presença de compostos alelopáticos, como lactonas sesquiterpênicas ou ácidos fenólicos (Silva et al., 2017; Kumar et al., 2020) ou ácidos fenólicos (Kostina-Bednarzet al., 2023). Kumar et al., (2020) demonstraram que a presença de ácidos fenólicos, como a cumarina, ocasionou deformidade em raízes, concordando com a afirmação de Kostina-Bednarz et al., (2023), sobre a presença de aleloquímicos ocasionarem deformidades morfológicas nas raízes.

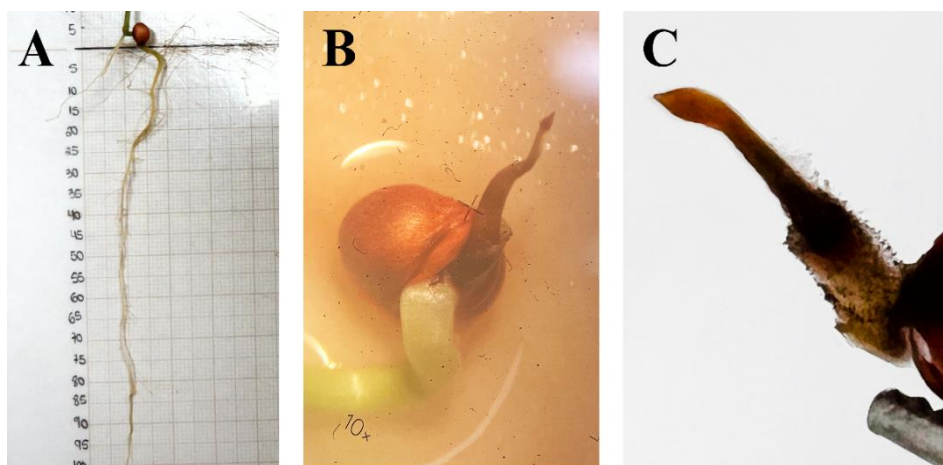


Figura 6. Efeito do ER em estágio vegetativo de *C. sulphureus* sobre o alongamento radicular de *S. bicolor*. (A) Raiz do tratamento controle (B) ER vegetativo (C) Detalhe da presença de necrose radicular, ausência de pelos radiculares e raízes secundárias.

Tais efeitos morfológicos nas raízes foram observados somente para o exsudato em estágio vegetativo, o que possivelmente estaria relacionado ao fato de que nesta fase de desenvolvimento *C. sulphureus* seria capaz de produzir uma maior quantidade de metabólitos secundários, sejam eles lactonas sesquiterpênicas, compostos fenólicos ou flavonóides (Silva et al., 2017; Kumar et al., 2020; Respatie et al., 2019).

Scheffer-Basso, Fiorentin e Favaretto (2019) demonstraram que o estágio fenológico pode influenciar a produção de metabólitos secundários e, consequentemente, na atividade alelopática das plantas. Assim como ocorreu com o ER de *C. sulphureus* neste estudo, os autores citados constataram um maior efeito

inibitório sobre a germinação, alongamento do hipocótilo e radícula com extratos foliares provenientes de plantas em estágio vegetativo sobre *Lactuca sativa* e *Trifolium repens*.

Esse efeito inibitório mais significativo apresentado pelo ER vegetativo sob o desenvolvimento da parte aérea das espécies receptoras pode estar relacionada ao fato de que durante a fase inicial de desenvolvimento de *C. sulphureus*, possivelmente há uma maior produção de metabólitos secundários pelas raízes. Tanwir et al. (2017) constataram maior produção de aleloquímicos no centeio (*Secale cereale*) quando se encontrava nos estágios iniciais de desenvolvimento, sugerindo que grande parte das espécies possuem um maior potencial alelopático nessa etapa fenológica. Isso, possivelmente, pode funcionar como uma estratégia para o estabelecimento dessa planta no ambiente onde está inserida, uma vez que a alelopátia é uma estratégia utilizada para, geralmente, inibir outras espécies em sua proximidade (Kostina-Bednarz et al., 2023).

O acúmulo de biomassa seca total também foi analisado a fim de verificar se o ER radicular seria responsável por reduzi-la (Figura 7). Neste estudo, as espécies *A. viridis* e *P. oleraceae* não apresentaram biomassa seca suficiente para pesagem e, por isso, não foram expressas graficamente.

Para *E. indica*, os ER nos estágios vegetativo e florescimento foram responsáveis por ocasionar redução próxima a 100% no acúmulo da biomassa seca total em comparação ao controle, mas não houve diferença significativa entre estes. O mesmo ocorreu para a espécie *L. sativa*.

S. bicolor e *P. maximum* também tiveram a biomassa seca reduzida quando em contato com o material botânico de *C. sulphureus*. Neste caso, apenas *P. maximum* apresentou diferença no acúmulo de biomassa total entre os estágios, sendo o vegetativo o mais significativo, chegando a uma média de 73,7% de redução da massa seca em comparação ao tratamento controle (0).

Essa diferença de resposta observada entre as espécies alvo deve-se ao fato de que cada uma possui um nível de sensibilidade variado a esses metabólitos secundários, por isso algumas apresentam respostas mais acentuadas quando em contato com o ER. De forma geral, a provável presença de aleloquímicos produzidos

pela exsudação radicular de *C. sulphureus* foi responsável por suprimir o acúmulo de biomassa seca pelas espécies receptoras testadas.

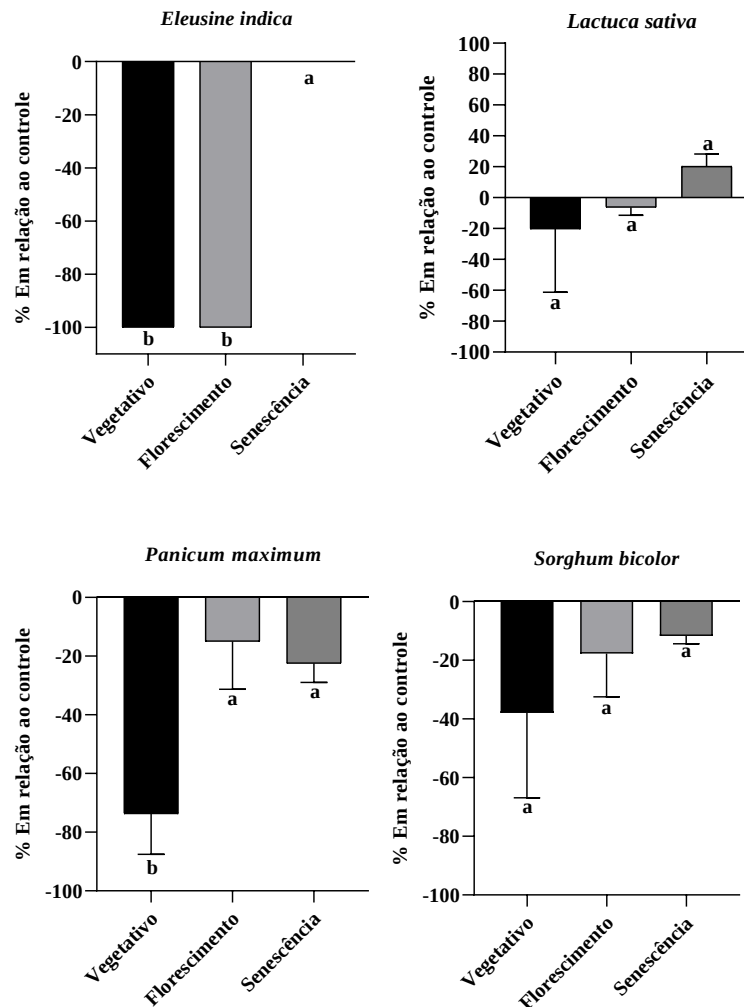


Figura 7. Massa seca total das espécies receptoras sobre efeito do ER de *C. sulphureus* em três estágios de desenvolvimento.

(Obs: valores expressos como diferença percentual do controle; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade).

4.2. Bioensaio de alongamento de coleóptilo de trigo (*Triticum aestivum* L)

De forma geral, os três estágios de desenvolvimento fenológico de *C. sulphureus* foram responsáveis por inibir significativamente o alongamento dos coleóptilos de trigo (Figura 8). Assim como ocorreu nos bioensaios de fitotoxicidade, os coleóptilos que ficaram submersos no ER em estágio vegetativo apresentaram um maior percentual

de redução em comparação ao controle, chegando a aproximadamente 31%, mas não diferiu estatisticamente do ER na senescência.

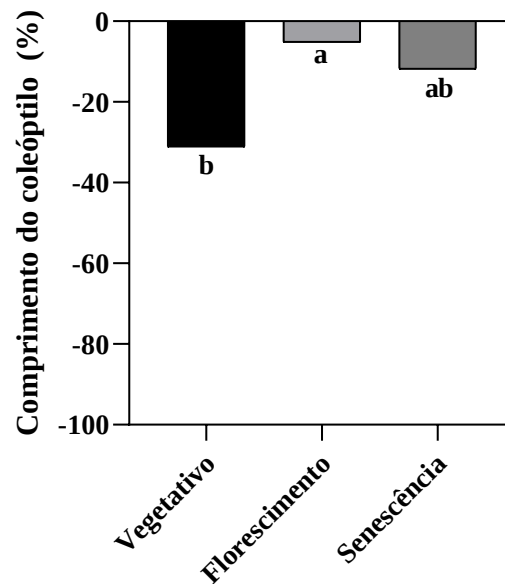


Figura 8. Alongamento de coleóptilo de trigo sobre efeito dos ER de *C. sulphureus* em três estágios de desenvolvimento fenológico (Obs: valores expressos como diferença percentual do controle; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade).

Silva et al. (2017) ao trabalharem com diferentes frações de ER de *C. sulphureus* constataram maior inibição do alongamento dos coleóptilos de trigo quando estes foram expostos ao ER no estágio vegetativo, o que corrobora os dados obtidos neste estudo. Ainda de acordo com os autores, a presença de lactonas sesquiterpênicas (custonolida, reinosina e santamarina) foi responsável por ocasionar esse percentual de redução. Desta forma, pode-se inferir que o mesmo pode ter ocorrido com o ER de *C. sulphureus*.

Scheffer-Basso et al. (2019) verificaram que a maturidade da planta pode ter forte influência sob a produção de aleloquímicos, uma vez que quando se encontram em estágios mais desenvolvidos, como no florescimento, existem alterações metabólicas para produção de novas substâncias consideradas essenciais para planta e para a floração, conseqüentemente, isso diminuiria a produção de metabólitos secundários para poupar gastos.

Desta forma, pensando-se que no estágio vegetativo as plantas são capazes de produzir mais substâncias alelopáticas, como relata Omezzine et al. (2014), direcionar as pesquisas para esse estágio de desenvolvimento parece uma estratégia adequada para verificar seu grau de toxicidade com o aumento de concentração.

É de conhecimento geral que as concentrações de substâncias químicas podem ocasionar respostas distintas nas plantas alvo. Neste caso, quando o tecido indiferenciado de *T. aestivum* foi exposto às concentrações de 50, 100 e 200 ppm do ER de *C. sulphureus* no estágio vegetativo, observou-se promoção no crescimento, após a qual, com o aumento das doses, diminuição no tamanho dos coleóptilos, fenômeno descrito na literatura como hormese alelopática (Perveen et al., 2019; Molisch, 1937). Ao se realizar o teste de comparação de médias, foi constatada diferença significativa do ER na concentração de 800 ppm em relação às demais (Figura 9).

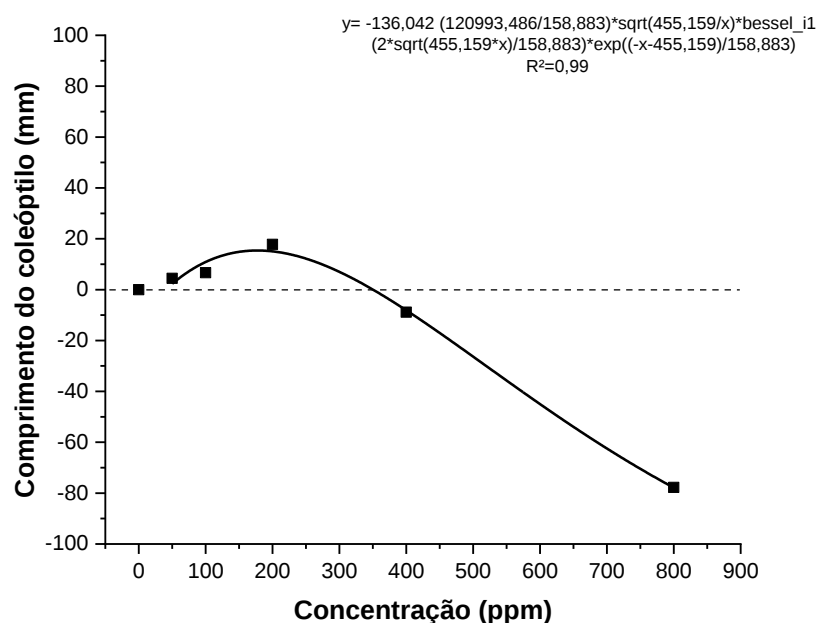


Figura 9. Comprimento de coleóptilo de trigo sob efeito do ER de *C. sulphureus* no estágio de desenvolvimento fenológico vegetativo e em diferentes concentrações (50, 100, 200, 400 e 800ppm).

A hormese tem sido descrita como um efeito estimulador de determinadas substâncias de acordo com suas doses, em que, segundo Duke et. al. (2006) pode estimular em baixa dose e inibir em altas doses. Esse efeito pode ocorrer em diversas classes biológicas, inclusive com substâncias alelopáticas produzidas pelas plantas

(Liu et al., 2010). Rice (1984) demonstrou que os aleloquímicos em baixa concentração podem estimular o crescimento inicial de plântulas, mas em altas concentrações o efeito é inverso.

Perveen et al. (2019), em seu estudo realizado com extrato aquoso foliar de *Moringa oleífera*, também constataram efeito de hormese alelopática sob o desenvolvimento inicial de *Lepidium sativum*. Abbas et al. (2019), em uma revisão, citam que diversas espécies podem ser afetadas por esse efeito de hormese ocasionado por diversos compostos alelopáticos. Assim, entende-se que as concentrações dos metabólitos secundários presentes em espécies vegetais também é um fator importante no desenvolvimento de um bioherbicida.

Todo efeito estimulatório e inibitório observado neste bioensaio com coleótilos de trigo possivelmente relaciona-se com a presença de compostos alelopáticos, como as lactonas sesquiterpênicas, ácidos fenólicos ou flavonoides que podem estar presentes na composição deste ER radicular. Sabendo que muitos estudos comprovam a presença destes aleloquímicos em diferentes partes de *C. sulphureus* (Silva et al., 2017; Andrushchenko e Levon, 2021; Respatie et al., 2020) essa seria uma hipótese a ser comprovada futuramente a partir da etapa de isolamento.

Neste caso, provou-se que o ER vegetativo de *C. sulphureus* pode ocasionar inibição significativa do alongamento dos coleótilos de trigo já a partir da concentração de 400 ppm, com efeito mais efetivo na maior concentração (800 ppm).

4.3. Efeitos de concentrações do exsudato radicular de *Cosmos sulphureus* no estágio vegetativo sobre a germinação e crescimento inicial de espécies receptoras

Ao avaliar a %G, verificou-se que as concentrações do ER vegetativo de *C. sulphureus* não diferiram entre si para todas as espécies receptoras, exceto para *E. indica* e *S. bicolor*, que apresentaram maior porcentagem de inibição da germinação em comparação ao controle quando expostas ao exsudato em 800ppm, devido a isso, a variável não foi expressa graficamente.

Apesar do efeito alelopático dos exsudatos radiculares de diversas espécies mostrarem-se inibidores da germinação de plantas daninhas com o aumento da

concentração (Kato-Noguchi e Kato, 2022; Akter; Sultana 2019; Akter et al., 2023), neste estudo não se observou significativas reduções dessa taxa de germinação. Liu et al. (2024) ao exporem *Betula albosinensis* aos exsudatos radiculares de *Poa annua* e *Potentilla fragoroides* também não observaram inibição significativa na germinação de sementes, assim como observaram Wang et al. (2022) com exsudato de *M. truncatula* sob a germinação de alfafa.

Essa ausência de inibição pode estar relacionada ao método de ação dos aleloquímicos presentes no exsudato radicular de *C. sulphureus*. Kostina-Bednarz et al. (2023) citam que os metabólitos podem ter diferentes efeitos sob determinadas variáveis de acordo com a espécie alelopática e a classificação química da classe de compostos exsudados; por exemplo, no caso do ER de *M. truncatula*, a germinação não foi afetada, mas o crescimento do hipocótilo sim (Wang et al., 2022), como ocorreu no presente estudo.

Scavo et al. (2020) ao estudarem o efeito das lactonas sesquiterpênicas presentes em extrato foliar de uma espécie de Asteraceae (*Cynara cardunculus*), verificaram que a porcentagem de germinação das espécies receptoras também não foi afetada pela presença deste composto, inferindo que o modo de ação desses compostos alelopáticos é em outros parâmetros fisiológicos.

Assim, para verificar o grau de supressão de diferentes concentrações do ER vegetativo de *C. sulphureus* em outros parâmetros fisiológicos, o desenvolvimento inicial das plântulas foi avaliado a partir de uma curva dose-resposta. De forma geral, o alongamento da parte aérea de todas as espécies receptoras foi afetado negativamente pela presença do ER, demonstrando um decaimento exponencial, exceto para *E. indica* que apesar de ter apresentado uma porcentagem de inibição em relação ao controle, aos 800ppm apresentou uma resposta semelhante a 100ppm (Figura 10).

Amaranthus viridis, *P. oleraceae* e *S. bicolor* apresentaram porcentagens de reduções do desenvolvimento da parte aérea de 47,97%, 74,04% e 32,92% (Figura 10), respectivamente, quando comparadas ao tratamento controle (0). Neste caso, a partir da concentração aproximada de 100 ppm já se observou um efeito alelopático inibitório máximo na curva dose-resposta. Para *E. indica*, *L. sativa* e *P. maximum*, também houve decaimento exponencial a partir de 400ppm do ER, apesar de

demonstrar um efeito mais atenuado nas concentrações mais baixas e, até um estímulo em 50ppm.

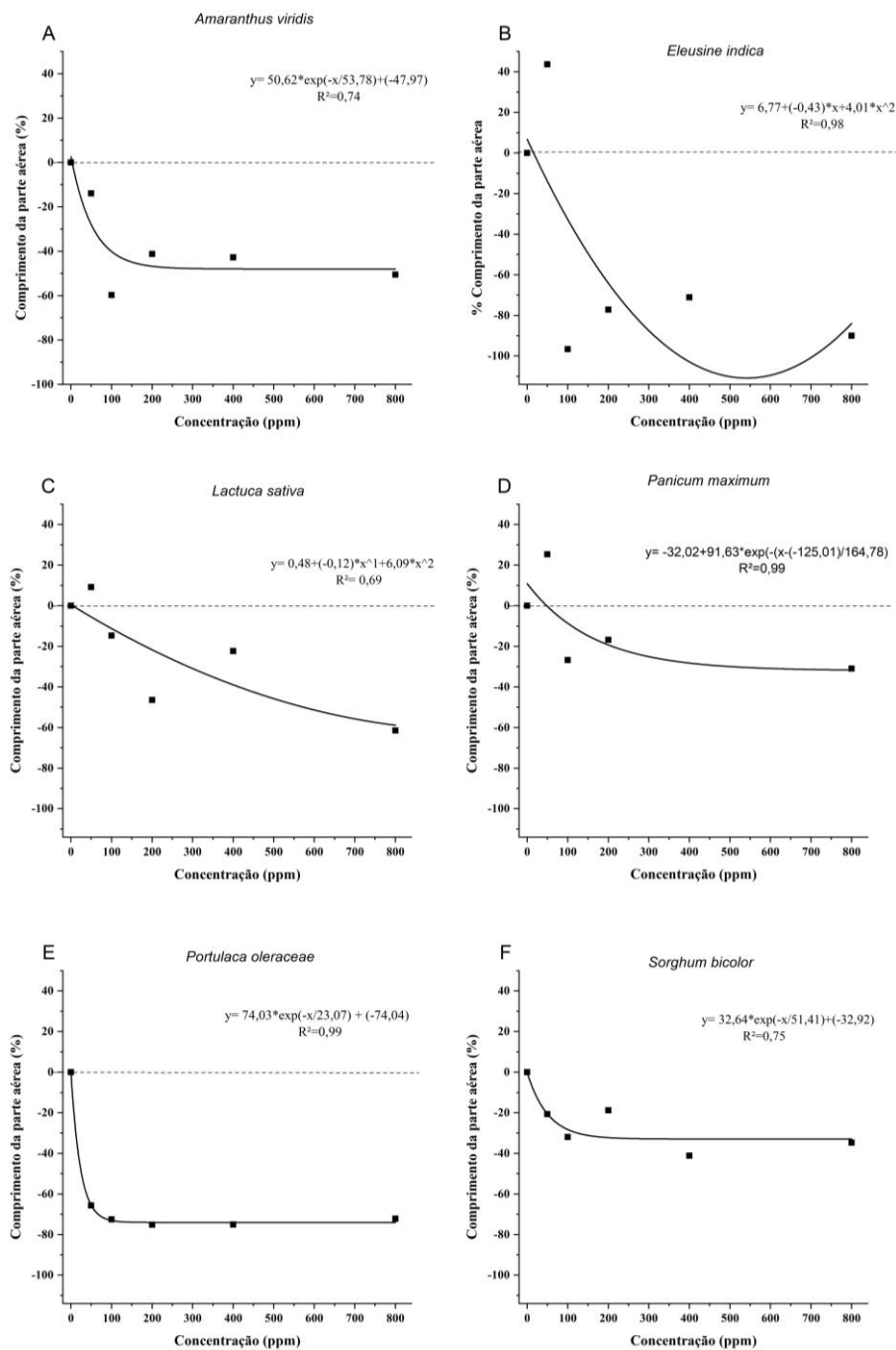


Figura 10. Curva dose-resposta de diferentes concentrações (ppm) do ER vegetativo de *C. sulphureus* sobre o crescimento da parte aérea de espécies receptoras *A. viridis*, *E. indica*, *L. sativa*, *P. maximum*, *P. oleraceae* e *S. bicolor*.

Assim como ocorreu com o alongamento da parte aérea das espécies receptoras testadas nesta pesquisa, em um estudo realizado por Vela et al. (2021) compostos obtidos das folhas de *Moquiniastrum pulchrum* também foram responsáveis por ocasionar efeitos inibitórios sobre o desenvolvimento da parte aérea de *A. viridis*, assim como extrato de *Juglans nigra* L. demonstrou potencial bioherbicida pré-emergente para o controle de *P. oleraceae* (Khamare et al., 2022).

Segundo Ain et al. (2023), respostas distintas das plantas receptoras podem ser observadas quando em contato com os aleloquímicos, como ocorreu neste presente estudo e que, geralmente, esse papel supressor está relacionado a obstrução de mecanismos metabólicos e fisiológicos essenciais para as plantas. Kostina-Bednarz et al. (2023) relataram que as taxas fotossintética e respiratória e metabolismo oxidativo podem ser altamente suprimidos e desestabilizados pela presença desses compostos aleloquímicos, como as lactonas sesquiterpênicas, resultando em respostas inibitórias no desenvolvimento inicial das plântulas.

Assim, partindo do pressuposto de que *C. sulphureus* produz lactonas sesquiterpênicas como metabólitos secundários e, que estes possuem alto grau de fitotoxicidade (Silva et al., 2017; Scavo et al., 2020), pode-se inferir que o efeito inibitório no alongamento da parte aérea pode estar relacionado com a presença destes compostos majoritários na planta.

Além do crescimento da parte aérea, o das raízes também foi avaliado para as concentrações do ER vegetativo de *C. sulphureus*. Majoritariamente, a presença do material exsudado pela espécie testada foi responsável por ocasionar redução exponencial do comprimento das raízes de acordo com o aumento das concentrações (Figura 11). Neste caso, a partir da concentração mais baixa (50 ppm), algumas espécies já apresentaram o efeito alelopático inibitório máximo.

A. viridis, *E. indica* *P. oleraceae* e *S. bicolor* apresentaram, respectivamente, 46,9, 91,5, 89,8 e 67,4% de redução do alongamento de suas raízes em comparação ao tratamento controle (0). Enquanto para *L. sativa* e *P. maximum*, o efeito inibitório máximo foi constatado com 200 ppm, chegando a 69,08 e 80,01, respectivamente, de redução.

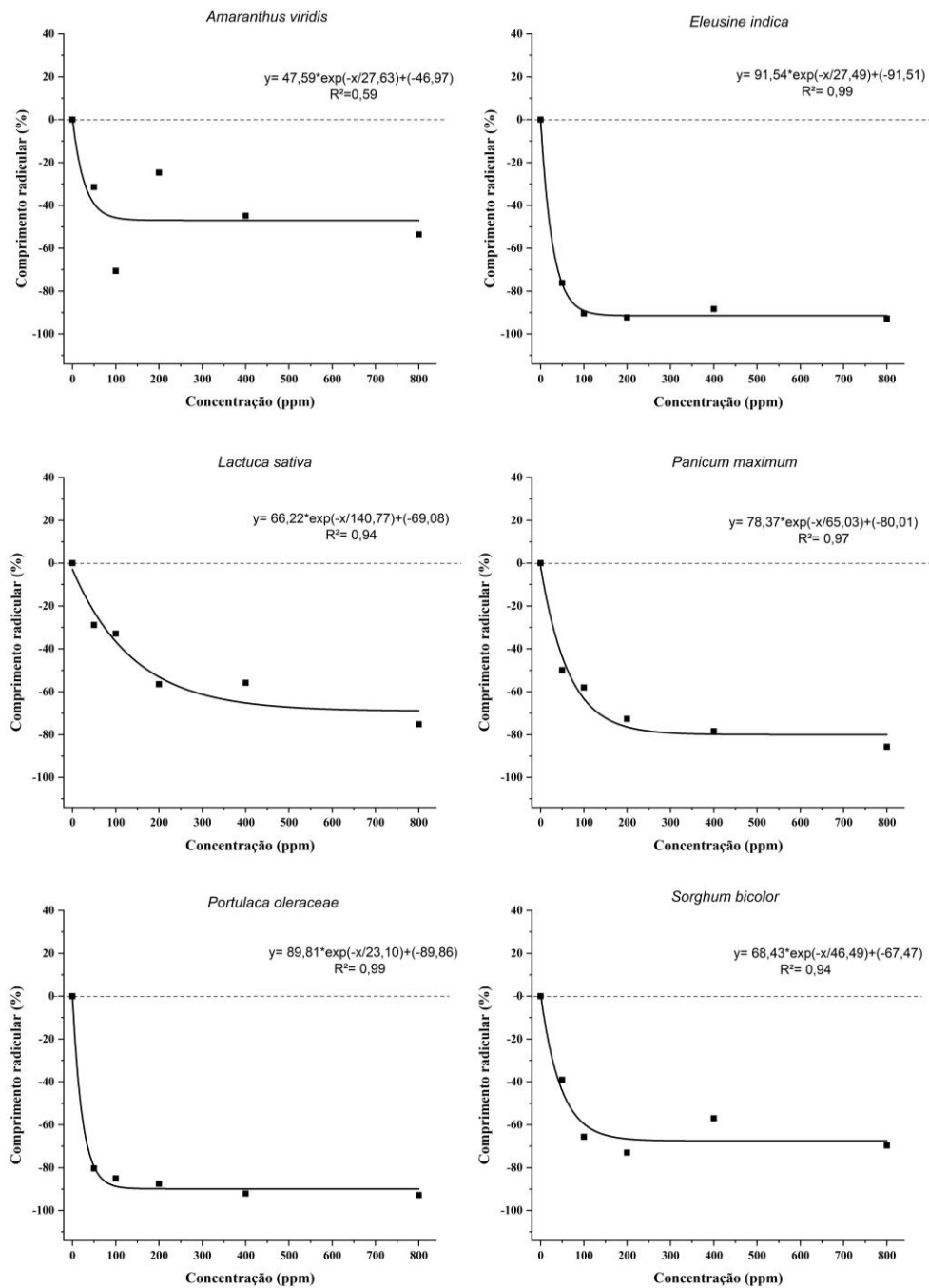


Figura 11. Curva dose-resposta de diferentes concentrações (ppm) do ER vegetativo de *C. sulphureus* sobre o crescimento radicular de espécies receptoras *A. viridis*, *E. indica*, *L. sativa*, *P. maximum*, *P. oleraceae* e *S. bicolor*.

Essa redução do alongamento e desenvolvimento das raízes pode resultar na inibição do desenvolvimento direto da planta, uma vez que, quando o sistema radicular se encontra danificado, diversas funções fisiológicas podem ser afetadas, como potencial de membrana, transporte de água e nutrientes para as plantas e,

possivelmente, um dano ao sistema oxidativo devido a uma alta produção de espécies reativas a oxigênio (EROS) (Kostina-Bednarz et al., 2023).

Assim como ocorreu nos primeiros bioensaios utilizando o ER de *C. sulphureus* em três estágios, observou-se que as concentrações do ER vegetativo ocasionaram deformidades nas pontas das raízes para algumas espécies como *L. sativa* (Figura 12) e *P. oleraceae* (Figura 13), como uma necrose radicular, ausência de raízes laterais e ausência de pelos radiculares.

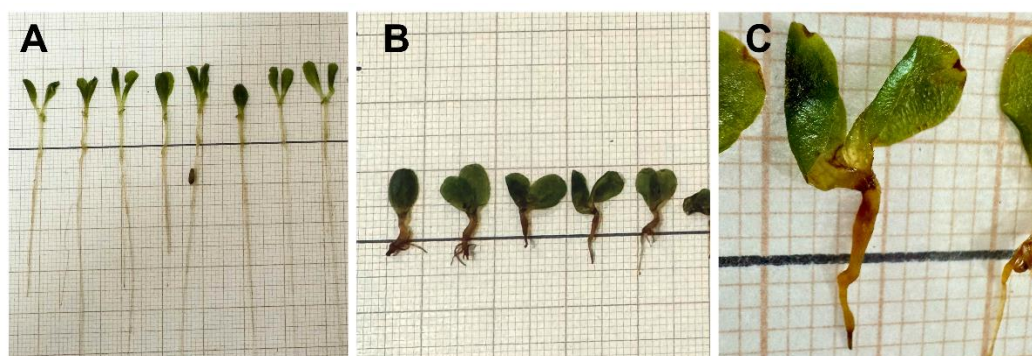


Figura 12. Efeito do ER vegetativo de *C. sulphureus* sobre o alongamento radicular de *L. sativa*. (A) Raiz do tratamento controle (B) ER vegetativo (C) Detalhe da presença de necrose radicular, ausência de pelos radiculares e raízes secundárias.

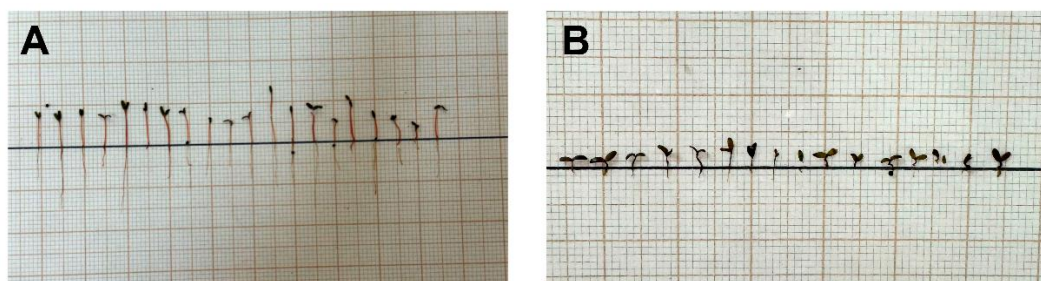


Figura 13. Efeito do ER vegetativo de *C. sulphureus* sobre o alongamento radicular de *P. oleraceae*. (A) Raiz do tratamento controle (B) ER vegetativo demonstrando presença de necrose radicular, ausência de pelos radiculares e raízes secundárias.

No caso de *C. sulphureus*, muitos podem ser os compostos aleloquímicos envolvidos nessas respostas inibitórias relatadas. Respatie et al. (2019; 2017) e Andrushchenko e Levon (2021) descrevem as Asteraceae e, particularmente *C. sulphureus* como uma fonte potencial para herbicidas naturais devido a composição alelopática de suas flores (ácidos fenólicos, flavonóides, antocianinas), bem como Silva et al. (2017) utilizando extrato foliar de *C. sulphureus*, da qual isolou lactonas

sesquiterpênicas e comprovou seu efeito inibitório sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plantas daninhas. Desta forma, infere-se que as respostas inibitórias relatadas neste trabalho podem estar diretamente relacionadas com a presença destes aleloquímicos.

Diante desses fatos, efeitos morfológicos observados nas raízes das espécies receptoras possivelmente podem estar relacionados a presença destes compostos no ER, o que explicaria o fato das raízes apresentarem ausência de pelos radiculares e raízes secundárias. O estudo realizado por Sathishkumar et al. (2020) com ácido benzóico e cinâmico provenientes de *Eucalyptus* spp. também demonstrou a ausência de raízes laterais, como aqui relatado.

Os sesquiterpenos também tem sido relatado na literatura como inibidores do alongamento radicular e causador de deformidades nas raízes. Landi et al. (2020) utilizando nerobidol em plântulas de *Arabidopsis thaliana* constataram efeito fitotóxico no alongamento das raízes, bem como na sua morfologia; neste caso, ao expor a espécie a diferentes concentrações (ppm) constataram uma necrose nas pontas das raízes, bem como a ausência de pelos radiculares de acordo com o aumento das concentrações, tal qual observado neste trabalho (Figura 12 e 13).

Outros estudos com aleloquímicos demonstram que as alterações morfológicas nas raízes, como inibição de alongamento e ausência de pelos radiculares podem estar diretamente relacionadas com a capacidade destes compostos provenientes de espécies alelopáticas de alterarem as concentrações e ação do ácido indolacético (IAA) (Araniti et al., 2017; Graña et al., 2013), o que seria uma explicação possível para os resultados observados nesta pesquisa e que podem ser a vir comprovados com estudos futuros.

Desta forma, sabendo-se que a inibição do alongamento radicular e da parte aérea está diretamente relacionada com a presença de aleloquímicos (Kostina-Bednarz et al., 2023), infere-se que *C. sulphureus* contém substâncias alelopáticas em seu exsudato radicular que são capazes de afetar negativamente o desenvolvimento das espécies *A. viridis*, *E. indica*, *L. sativa*, *P. maximum*, *P. oleraceae* e *S. bicolor*, mesmo em baixas concentrações (50 a 100ppm), podendo ser considerada potencialmente como fonte de bioherbicida, caso as moléculas químicas

isoladas comportem-se de maneira desejada para o desenvolvimento de um novo composto biológico.

Apesar do aumento da concentração de aleloquímicos possuir um efeito inibitório maior (Ain et al., 2023), o desenvolvimento de um bioherbicida se tornaria inviável, devido ao baixo rendimento destes compostos. Desta forma, o efeito de uma baixa concentração desses aleloquímicos presentes no ER vegetativo de *C. sulphureus* pode ser considerado um resultado importante para pesquisas que buscam o desenvolvimento de bioherbicidas, uma vez que a concentração tem sido considerada um fator limitante para o prosseguimento dessas pesquisas (Kostina-Bednarz et al., 2023; Zorrilla et al., 2024).

Refletindo sobre um herbicida natural como uma alternativa para reduzir a adaptação das plantas daninhas e, conseqüentemente, o uso excessivo de herbicidas sintéticos, o uso de compostos naturais em baixas doses com alta eficácia poderia ser uma boa escolha para práticas agrícolas mais sustentáveis. Contudo, um estudo mais aprofundado é necessário para isolar e compreender o mecanismo de ação destes aleloquímicos presentes no exsudato radicular de *C. sulphureus*, para que futuramente possam ser utilizados.

4.4. Análise radicular de espécies receptoras por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

É corrente que, mesmo que as etapas da germinação e o padrão morfológico sejam controlados geneticamente, o crescimento e a morfologia das raízes são influenciados por sinais ambientais e compostos químicos, podendo desencadear respostas fisiológicas que inibem, ou prejudicam os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas. No presente estudo, foi analisada a morfologia e anatomia das raízes das espécies receptoras por microscopia eletrônica de varredura (MEV), com o objetivo de caracteriza-las morfolologicamente, as quais estão ilustradas abaixo.

A figura 13 revelou que para o controle de *Amaranthus viridis* há presença significativa de pêlos radiculares bem desenvolvidos por toda sua extensão (Figura 13A), notando-se também células de superfície rugosa (Figura 13B) e a ponta da coifa

lisa e bem definida (Figura 13C), uma vez que a coifa é responsável pela proteção do tecido vegetal, esse fator pode ter contribuído para o favorecimento do crescimento radicular do controle de *A. viridis*.

Entretanto, quando as raízes foram expostas ao ER, observou-se a ausência de pêlos radiculares e um acentuado efeito de curvatura na ponta da raiz (Figura 13D), bem como seu espessamento. Já no tratamento controle, as células apresentaram superfície lisa com coifa pouco definida e granulosa (Figuras 13E, 13F). Os pêlos radiculares estão diretamente relacionados a absorção de água e nutrientes (Gregory, 2009), devido a isso, sua má formação poderia justificar o menor crescimento radicular do tratamento em comparação ao controle.

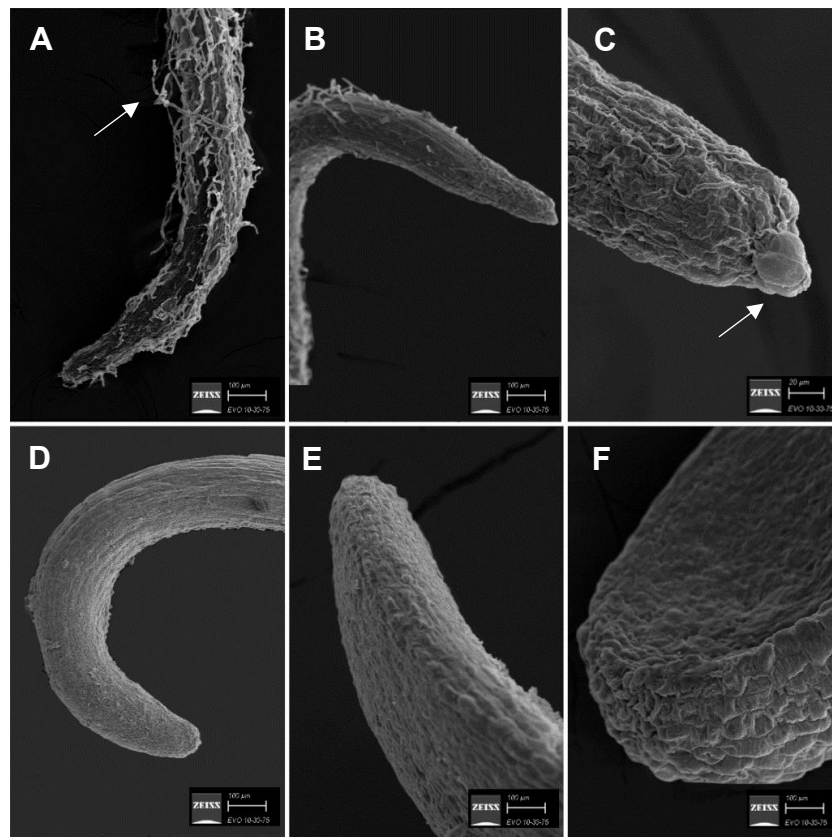


Figura 14. Análise microscópica de varredura de raízes de *Amaranthus viridis* na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de *C. sulphureus*.

As raízes das plantas do tratamento controle de *Eleusine indica* também apresentaram presença de pelos radiculares bem desenvolvidos (Figura 14A) e células de superfície rugosa (Figura 14B), características esperadas para o controle que podem ter contribuído positivamente para o crescimento radicular e da parte aérea da espécie. Enquanto isso, ao tratar as raízes com ER, os pelos radiculares não

se desenvolveram (Figura 14C), assim como aconteceu com as raízes de leguminosas expostas à extratos alelopático de diversas espécies relatadas por Halsall et al., (1995). Observou-se também uma deformidade na coifa (Figura 14D) e um estrangulamento da região lisa (Figura 14C), provavelmente relacionado à técnica de secagem a ponto crítico. Visto que essa é uma região mais hidratada, ao realizar a secagem o material vegetal perde água para o ambiente, resultando no estrangulamento relatado para essa e as demais espécies que apresentaram a mesma característica, não relacionando-se com a presença do exsudato radicular, dado que também ocorreu para os tratamentos controle.

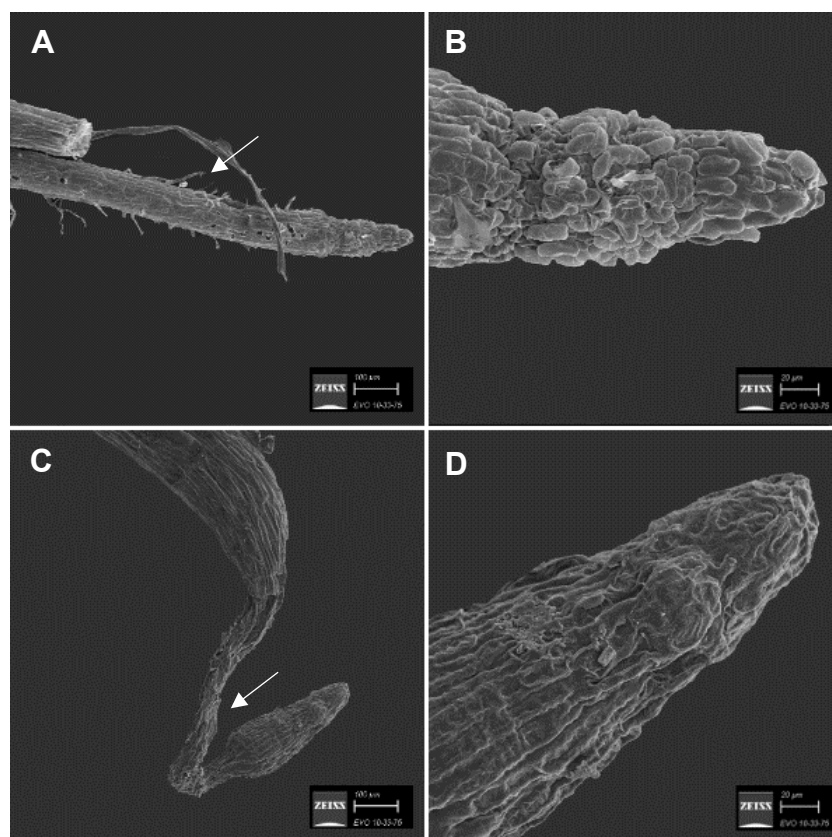


Figura 15. Análise microscópica de varredura de raízes de *Eleusine indica* na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de *C. sulphureus*.

Quando se comparou o controle com o tratamento com ER, notou-se que as raízes das espécies do controle apresentaram crescimento radicular considerável (Figura 15A e 15B) e superfície celular rugosa e com células uniformes (Figura 15C), o que possivelmente contribuiu para o desenvolvimento de pelos radiculares a partir dos tricoblastos para essa espécie, aumentando a superfície de absorção de águas e nutrientes e o crescimento radicular (Rodrigues et al., 2015).

Ao expor as raízes ao ER, as imagens de MEV elucidaram uma redução no crescimento radicular de *L. sativa*, ausência total de pelos radiculares o que conferiu uma superfície lisa a raiz (Figura 15D), assim como deformidade na região da coifa (Figura 15F) devido a necrose do ápice. Shi et al., (2020) ao aplicar o extrato foliar de *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. em *L. sativa* também observou danos irreparáveis e rompimento radicular, dando origem a espaços entre as células, assim como ocorreu no presente estudo (Figura 15E), fato relacionado ao efeito fitotóxico do ER vegetativo de *C. sulphureus*.

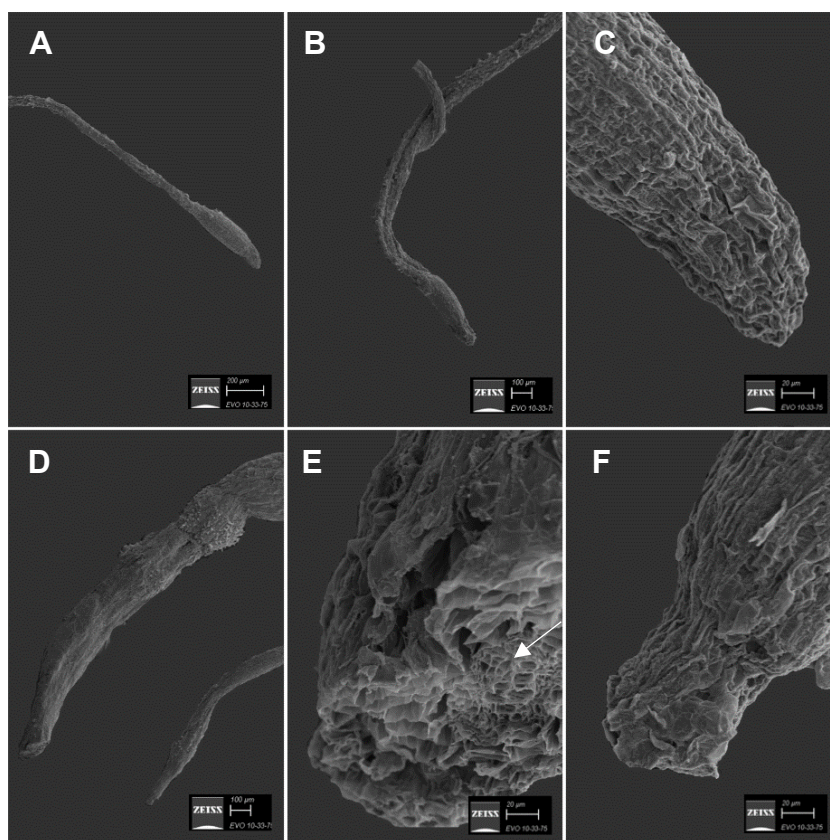


Figura 16. Análise microscópica de varredura de raízes de *Lactuca sativa* na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de *C. sulphureus*.

Assim como os demais controles, para as raízes de *P. maximum* observou-se uma superfície celular rugosa (Figura 16C) e formação de pelos radiculares na zona pilífera (Figura 16B), bem como o crescimento radicular considerável relatado na Figura 4B. Já para o tratamento com ER vegetativo, notou-se projeções indicando início do desenvolvimento de pelos radiculares (16E), contudo, diferente do que ocorreu para os demais tratamentos, *P. maximum* exibiu uma superfície rugosa (Figura

16D) e danos teciduais observáveis (Figura 16F). Sabendo que as células da coifa (Pereira et al., 2017) e o meristema apical da raiz são as regiões mais afetadas por substâncias alelopáticas (Araniti et al., 2017; Soltys et al., 2012; Zhang et al., 2018), pode-se inferir que os compostos presentes no ER vegetativo de *C. sulphureus* sejam os responsáveis por limitar o crescimento e desenvolvimento radicular de *P. maximum*, bem como causar danos estruturais e celulares na espécie.

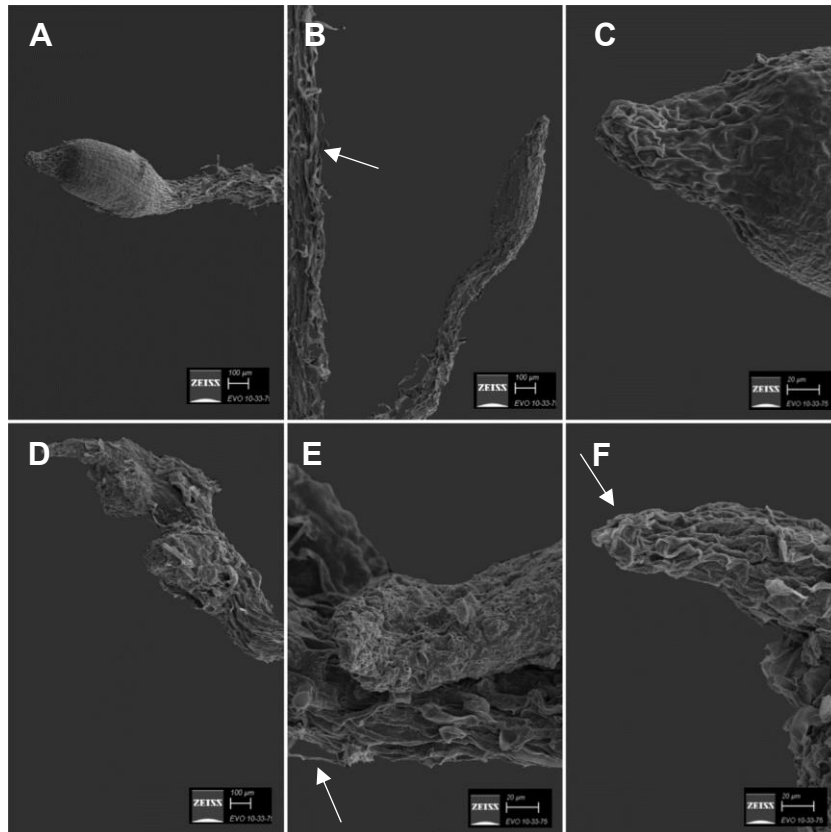


Figura 17. Análise microscópica de varredura de raízes de *Panicum maximum* na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de *C. sulphureus*.

Para o controle da espécie *Portulaca oleraceae*, notou-se nas raízes, formações de pelos radiculares (Figura 17A), superfície celular rugosa (Figura 17B) e coifa proeminente e bem definida (Figura 17C), características esperadas para plântulas não tratadas.

Opostamente ao controle, no tratamento com ER houve um pequeno alongamento da raiz (Figura 17D), fato também observado em outros trabalhos de alelopatia (Queiroz, 2015) onde houve diminuição do crescimento radicular e ausência de raízes primárias, como ocorreu para as plântulas de *P. oleraceae*. A superfície

celular apresentou-se desuniforme e rugosa (Figura 17E), com aparente necrose radicular. A desuniformidade celular demonstrada por MEV pode relacionar-se com a ausência de desenvolvimento dos pelos radiculares, uma vez que os tricoblastos que dão origem aos pelos radiculares são alongados e uniformes (Rodrigues et al., 2015), o que justificaria a presença de poucos pelos radiculares (Figura 17F).

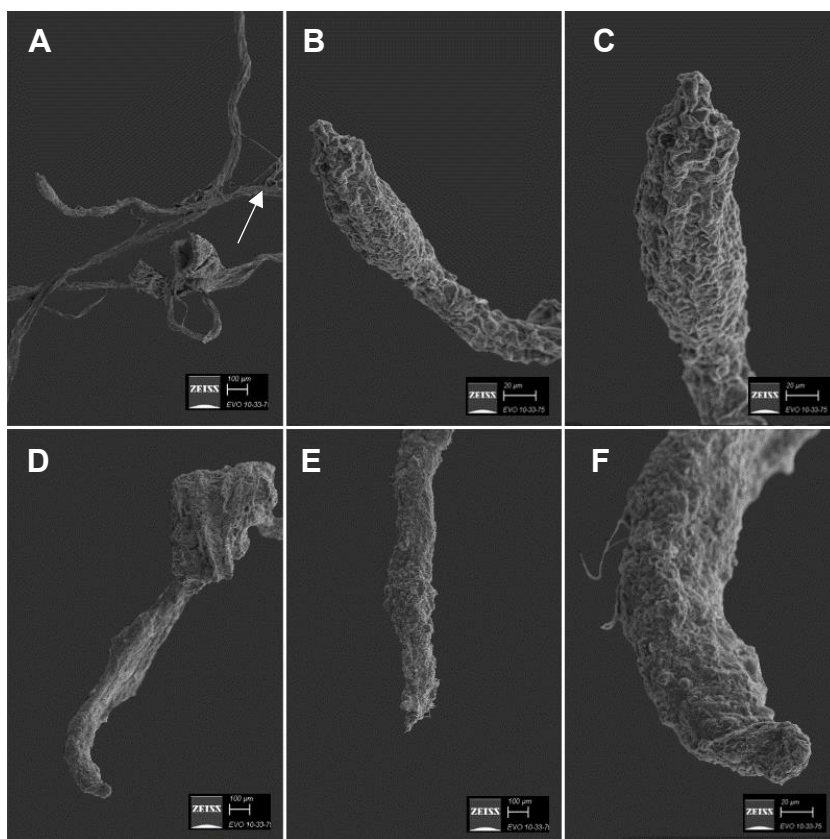


Figura 18. Análise microscópica de varredura de raízes de *Portulaca oleraceae* na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de *C. sulphureus*.

Assim como para os demais controles, para *Sorghum bicolor* houve um excelente desenvolvimento de pelos radiculares (Figura 18B), contribuindo para o aumento da superfície de absorção de água e nutrientes da espécie e, consequentemente, com o crescimento radicular notório (Figura 18A). Contrariamente ao controle, o tratamento com ER vegetativo foi responsável por reduzir significativamente o tamanho radicular como relatado na Figura 18D. Os pelos radiculares também foram observados no tratamento, contudo, com tamanho reduzido em comparação ao controle. Além disso, o ER de *C. sulphureus* também foi responsável por ocasionar oxidação e necrose radicular (Figura 18E), fazendo com

que o tecido se perdesse durante a execução da técnica para MEV, como ocorreu anteriormente para outras espécies receptoras.

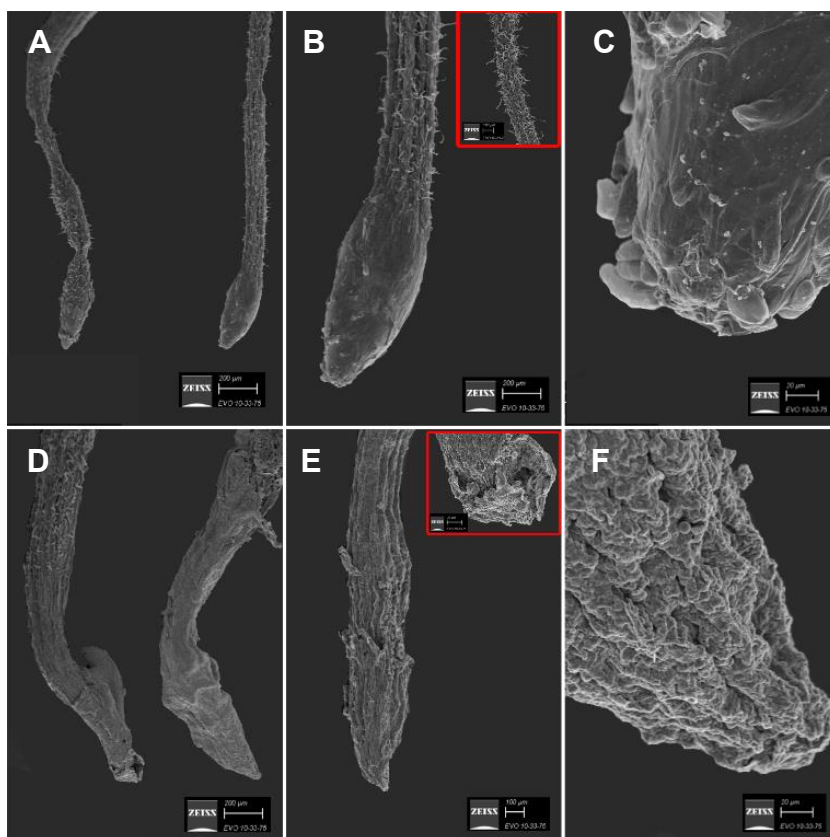


Figura 19. Análise microscópica de varredura de raízes de *Sorghum bicolor* na ausência (A, B, C) e presença (D, E, F) do ER radicular vegetativo de *C.sulphureus*.

Neste caso, a MEV foi fundamental para confirmar e elucidar os danos anatômicos e morfológicos causados pelo exsudato radicular vegetativo de *Cosmos sulphureus* em seis espécies estudadas: *Amaranthus viridis*, *Eleusine indica*, *Lactuca sativa*, *Portulaca oleraceae*, *Panicum maximum* e *Sorghum bicolor*. Os compostos do metabolismo secundário de *C. sulphureus* demonstraram ser responsáveis pela deterioração de estruturas cruciais para o crescimento e desenvolvimento dessas plantas, o que pode retardar ou mesmo impedir sua perpetuação no ambiente.

5. CONCLUSÃO

Pode-se concluir, portanto, que o exsudato radicular de *Cosmos sulphureus* possui um potencial alelopático nos três estágios de desenvolvimento, com efeito mais significativo no vegetativo, sendo capaz de inibir a germinação e desenvolvimento

inicial de *Amaranthus viridis*, *Eleusine indica*, *Panicum maximum* e *Portulaca oleraceae*, bem como de *Lactuca sativa* e *Sorghum bicolor*, ocasionando modificações morfológicas de suas raízes e inibindo o alongamento da parte aérea e radicular, mesmo em baixas concentrações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas T, Nadeem M, Tanver A, Chauhan B (2017) Can hormesis of plant-released phytotoxins be used to boost and sustain crop production? **Crop Protection** 93:69-76.

Agostini-Costa TS, Vieira RF, Bizzo HR, Silveira D e Gimenes MA (2012) Secondary Metabolites. **Embrapa Food Technology**.

Ain Q, Mushtaq W, Shadab M, Siddiqui MB (2023) Allelopathy: an alternative tool for sustainable agriculture. **Physiol Mol Biol Plants** 29(4):495-511.

Akter P, Ahmed AMA, Promie FK, Haque ME (2023) Root Exudates of Fifteen Common Weed Species: Phytochemical Screening and Allelopathic Effects on *T. aestivum* L. **Agronomy** 13:381.

Akter P, Sultana B (2019) Allelopathic effects, yields and qualitative phytochemical screening of root exudates of five weed species. **Malaysian Journal of Sustainable Agriculture** 3(1):44-48.

Almeida L, Gaspar YM, Silva AAR, Porcari AM, Lacerda JJJ, Araújo FDS (2024) Allelopathic effect and putative herbicidal allelochemicals from *Jatropha gossypifolia* on the weed *Bidens bipinnata*. **Acta Physiologiae Plantarum**, 46, 61 (2024).

Andrushchenko O, Vergun O, Rakhmetov D (2022) Antioxidant capacity of *Cosmos sulphureus* plants grown in the temperate climate. **Plant Introduction** 93:37-45.

Aniszewski T (ed) (2015) Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications. **Elsevier**, Pacific Grove, CA, p 496.

Anurag K, Irchaiya R, Yadaf A, Gupta N, Kumar S, Prakash A, et al. (2015) Metabolites in plants and its classification. **World J Pharm Pharm Sci** 4(1):287-305.

Araniti F, Bruno L, Sunseri F, Pacenza M, Forgione I, Bitonti MB, Abenavoli MR (2017) The allelochemical farnesene affects *Arabidopsis thaliana* root meristem altering auxin distribution. **Plant Physiol Biochem** 121:14–20.

Araújo C, Morgado C, Gomes A, Simas N (2021) Asteraceae family: a review of its allelopathic potential and the case of *Acmella oleracea* and *Sphagneticola trilobata*. **Rodriguésia** 72.

Araújo Neto AD (2011) *Bidens sulphurea* (Sch. Bip.): efeito fotodinâmico e antibiótico dos extratos etanólicos de suas flores. *Dissertação (Mestre em Química)*, Universidade Federal de Uberlândia.

Awan IU, Khan MA, Muhammad Z, Khan EA (2009) Weedmanagement in sunflower with allelopathic water extractand reduced doses of a herbicide. **Pak J Weed Sci Res**15:19–30 (2)

Bachheti A, Sharma A, Bachheti RK et al (2020) Plant allelochemicals and their various applications. In: MérillonJM, Ramawat K (eds) Coevolution of secondary metabolites. **Springer**, Switzerland, pp 441–465. (2)

Barbosa JC e Maldonado Júnior W (2011) AgroEstat versão 1.0. – Sistema para análise estatística de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista.

Bartesaghi S., Radi R. (2018). Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. **Redox Biol.** 14 618–625.

Bray D (2008) Critical Point Drying of Biological Specimens for Scanning Electron Microscopy. In: **Scanning Electron Microscopy: Methods and Protocols**, pp. 235.

Carrington Y, Guo J, Fillo A, Kwon J, Tran LT, Ehlting J (2018) Evolution of a secondary metabolic pathway from primary metabolism: shikimate and quinate biosynthesis in plants. **Plant Journal** 95:823-833.

Cheng F, Cheng Z (2015) Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. **Front Plant Sci** 6:1-1.

Chengcheng Zhao, Chungang Zhang, Fan He, Wenjie Zhang, Aijing Leng, Xixiang Ying, Two new alkaloids from *Portulaca oleracea* L. and their bioactivities, *Fitoterapia*, Volume 136, 2019, 104166

Christoffoleti PJ, Victoria Filho R, Silva CB da (1994) Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha** 12(1):13-20.

Cruz-Silva, CTA, Nasu, EGC, Pacheco, FP e Nobrega, LHP. (2015). Allelopathy of *Bidens sulphurea* L. aqueous extracts on lettuce development. **Revista Brasileira De Plantas Medicinai**s 17(4): 679–684.

Dayan FE e Duke SO (2014) Natural Compounds as Next-Generation Herbicides. **Plant Physiology** 166:1090-1105.

Dayan FE e Duke SO (2010) Natural products for weed management in organic farming in the USA. **Outlooks on Pest Management** 21(4):156-160.

Dayan FE, Howell J, Weidenhamer JD (2009) Dynamic root exudation of sorgoleone and its mechanism of action in planta. **Journal of Experimental Botany**, 60, 1032-1039.

Del Moral, Roger, and Cornelius H. Muller. 1969. Fog drip: a mechanism of toxin transport from *Eucalyptus globulus*. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 96(4):467-475.

Duke SO e OLIVA A (2004) Mode of action of phytotoxic terpenoids. In: MACÍAS, F. A. et al. Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals. **Boca Raton, CRC Press**, p. 201-216.

Duke SO, Cedergreen N, Velini ED, Belz RG (2006) Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks on Pest Management*, **New York** 17(1):29-33.

Einhellig FA (2002) The physiology of allelochemical action: Clues and views. In: REIGOSA, M.; PEDROL, N. **Allelopathy from Molecules to Ecosystems**. Vigo, Universidade de Vigo. p. 1-23.

Evans WC (2009) Trease and Evans' Pharmacognosy. Saunders Ltd., **Elsevier**, Edinburgh, p 616.

Fernandez AL (2003) Estudios Alelopáticos de Variedades Cultivadas de Girasol. SH222 Y Stella. *Tese (Doutorado em Ciências Químicas)*. 483p. Universidad de Cádiz, Puerto Real.

Furlani PR, Silveira LCP, Bolonhezi D e Faquim V. (1999). Cultivo hidropônico de plantas. Campinas: IAC. 52p. (**Boletim técnico**, 180).

Gharpure, P., Vaishali, B., Nivedita, G. (2023) Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of *Cosmos sulphureus* Cav. on *Sorghum bicolor* L., *Vigna aconitifolia* L., *Triticum aestivum* L. **Journal of Environmental Biology**, 61(2), 319-327.

Ghayal N, Biware M e Guarpure P (2018). Phytotoxic Effects of Leaf Leachates of Invasive Weeds *Cosmos sulphureus* and *Xanthium strumarium* on **Agricultural Crops**. **Biosciences Biotechnology Research Asia** 15:821-832.

Gindri DM (2018) ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM FUNÇÃO DA AÇÃO ALELOPÁTICA DE *Lantana camara* L. NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Bidens pilosa* L. E *Avena sativa* L.

Graña E, Sotelo T, Díaz-Tielas C, Araniti F, Krasuska U, Bogatek R, Reigosa MJ e Sánchez-Moreiras A (2013). Citral induces auxin and ethylene-mediated malformations and arrests cell division in *Arabidopsis thaliana* roots. **Journal of Chemical Ecology** 39: 271–282.

Gregory PJ, Bengough AG, Grinev D, Schmidt S, Thomas WTB., Wojciechowski T, Young IM (2009) Root phenomics of crops: opportunities and challenges. **Functional Plant Biology**, 36, 922-929.

Grossman RB, Reinsch TG (1992) Scheduling irrigation using climate-crop-soil data. **Agronomy Journal** 84:772-777.

Gutiérrez-Grijalva EP, Lopez-Martinez LX, Contretas L, Romero CAE, Heredia JB (2020) Plant Alkaloids: Structures and Bioactive Properties in: Plant-derived Bioactives. Springer, p. 85-88.

Haig T (2008) Allelochemicals in Plants. In: Zeng RS, Mallik AU, Luo SM (eds) *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. **Springer**, New York, NY. P 63-104.

Halsall DM, Leigh JH, Gollasch SE, Holgate M (1995) The role of allelopathy in legume decline in pastures. 1. Effects of pasture and crop residues on germination and survival of subterranean clover in the field and nursery. **Australian Journal of Agricultural Research** 46, 179-188.

- He CN, Gao WW, Yang JX, Bi W, Zhang XS, Zhao YJ (2009) Identification of autotoxic compounds from fibrous roots of *Panax quinquefolium* L. **Plant and Soil**, 318, 63-72.
- He W, Feng Y, Ridenour RM, Thelen GC, Diaconu, A, Callaway RM (2009) Novel weapons and invasion: biogeographic differences in the competitive effects of *Centaurea maculosa* and its root exudate ($\pm$)-catechin. **Oecologia**, 159, 803–815.
- HEAP IM (2024) Current Status of the International Herbicide-Resistant Weed Database. International Herbicide-Resistant Weed Database. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>.
- Hegde RS, Miller DA (1992) Scanning Electron Microscopy for Studying Root Morphology and Anatomy in Alfalfa Autotoxicity. **Journal of Environmental Quality**, 84(4), 618-621.
- Hierro JL, Callaway RM (2021) The Ecological Importance of Allelopathy. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 52:25-45.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water culture method for growing plants without soils. California Agricultural Experimental Station.
- Hsueh MT, Fan C, Chang WL (2020) Allelopathic Effects of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. Bip. on the Tuber Sprouting and Seedling Growth of *Cyperus rotundus* L. **Plants**. MDPI AG 9(6):742-760.
- Hussain WS (2020) ALLELOPATHY: ALLELOCHEMICALS A BRIEF REVIEW. **Plant Archives**: 20:(2) pp. 5556-5560.
- ISA- International Allelopathy Society (1996). Disponível em: <http://www.international-allelopathy-society.org/>. Acesso em 05 jun 2024.
- Ishak MS, Ismail BS, Yusoff N (2016) Allelopathic potential of *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit on the germination and seedling growth of *Ageratum conyzoides* L, *Tridax procumbens* L and *Emilia sonchifolia* (L) DC. **Allelopathy Journal** 37:109–122.
- Iwashina T, Amamiya K, Kamo T, Kitajima J, Mizuno T, Uehara A e Koizuka N (2019) 2'-Hydroxylated 3-Deoxyanthocyanin from the flowers of *Cosmos sulphureus* cultivars. **Natural Product Communications** 14(9):1-4.
- Jabran K, Mahajan G, Sardana V, Chauhan BS (2015) Allelopathy for weed control in agricultural systems. **Crop Protection** 72:57–65.
- Jasim I, Alwattar M, Muzher H (2023). Terpenoids as Natural Allelopathic Compounds in Plants. **Rafidain Journal of Science**. 32. 106-111.
- Kakar K, Xuan TD, Khanh TD (2023) Allelopathic Potential of Sweet Sorghum Root Exudates and Identification of the Relevant Allelochemicals. **Agrochemicals** 2:96-105.
- Karnovsky MJ (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. **Journal of Cell Biology** 27:137-138.
- Kato-Noguchi H (2024) Isolation and identification of allelochemicals and their activities and functions. **Journal of Pesticide Science**, 49(1): 1-14.

Kato-Noguchi H, Kato M (2022) Allelopathy and Allelochemicals of *Solidago canadensis* L and *S. altissima* L for Their Naturalization. **Plants** 11(23):3235.

Khamare Y, Chen J, Marble SC (2022) Allelopathy and its application as a weed management tool: a review. **Frontiers In Plant Science** 13.

Kohli RK, Singh HP, Batish DR (1997) Phytotoxic potential of *Populus deltoides* Bartr ex Marsh. 1. Comparative contribution of different parts. **Indian Journal of Forestry** 20:300-304.

Kostina-Bednarz, M, Płonka, J e Barchanska, H (2023) Allelopathy as a source of bioherbicides: challenges and prospects for sustainable agriculture. Reviews In **Environmental Science And Bio/Technology** 22(2): 471-504.

Kumar S, Abedin M, Singh AK et al (2020) Role of phenolic compounds in plant-defensive mechanisms. In: Lone R, Shuab R, Kamili AN (eds) Plant phenolics in sustainable agriculture. **Springer**, Singapore, pp 517–532.

Landi, M, Misra, BB, Muto, A, Bruno, L e Araniti, F (2020). Phytotoxicity, Morphological, and Metabolic Effects of the Sesquiterpenoid Nerolidol on *Arabidopsis thaliana* Seedling Roots. **Plants** 9: 1347.

Latif S, Chiapusio G, Weston LA (2017) Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. In: Becard G (Ed.) Advances in Botanical Research: How Plants Communicate with Their Biotic Environment. **Academic Press**, pp 19-54.

Liu J, Xia R, Zhao W, Fang K, Kou Y, Liu Q (2024) Effects of plant root exudates at different successional stages on the seed germination and seedling growth of subalpine dominant tree species. **Geoderma** 443:116833.

Liu Q, Xu R, Yan Z, Jin H, Cui H, Lu L, Zhang D, Qin B (2013). Phytotoxic Allelochemicals from Roots and Root Exudates of *Trifolium pratense*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61(26), 6321-6327.

Liu Y, Chen X, Duan S, Feng Y, An M (2010) Mathematical modeling of plant allelopathic hormesis based on ecological-limiting-factor models. *Dose Response* 9(1):117-129.

Lopes RWN, MORAIS EM, LACERDA JJ, ARAÚJO FDS (2022) Bioherbicidal potential of plant species with allelopathic effects on the weed *Bidens bipinnata* L. **Scientific Reports** 12:13476.

Lorenzi H (2014) Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. **Instituto Plantarum**.

Lqbal A e Fry SC (2012) Potent Endogenous Allelopathic Compounds in *Lepidium sativum* Seed Exudate: Effects on Epidermal Cell Growth in *Amaranthus caudatus* seedlings. **Journal of Experimental Botany** 63:2595-2604.

Lqbal A, Shah F, Hamayun M, Hayat Z, Islam B, Rehman G, (2019) Plants are the possible source of allelochemicals that can be useful in promoting sustainable agriculture. *Fresenius Environ Bull* 28:1040-1049.

Lykogianni M, Bempelou E, Karamaouna F e Aliferis KA (2021) Do pesticides promote or hinder sustainability in agriculture? The challenge of sustainable use of pesticides in modern agriculture. **Science of The Total Environment** 795: 148625.

Maciás FA, Castellano D, Molinillo JMG (200) Search for a standart phytotoxic biossay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal Agricultural and Food Chemistry** 48(6):2512-2521.

Marques D, Nakajima J (2015) Heliantheae s.l. (Asteraceae) do Parque Estadual do Biribiri, Diamantina, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Hoehnea** 42:41-58.

Mazid M, Khan TA, Mohammad F (2011) Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. **Biologia Medica**, 3(2): 232-249.

Mera I, González F, Estefanía D, Morera V (2019). Secondary metabolites in plants: Main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. **Bionatura**. 4.

Miller DA (1996) Allelopathy in forage crop systems. **Agronomy Journal**. v. 88, n. 6, p. 854-859.

Molisch H (1937) Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopatia. Fisher, Jena.

Moraes RF (2019) AGROTÓXICOS NO BRASIL: PADRÕES DE USO, POLÍTICA DA REGULAÇÃO E PREVENÇÃO DA CAPTURA REGULATÓRIA. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. IPEA. Brasília.

Motmainna M, Shukor BA, Md. Kamal Uddin J et al (2021) Assessment of allelopathic compounds to develop newnatural herbicides: a review. **Allelopathy Journal** 52:21–4 (2).

Naby KY, Ali KA (2021) Allelopathic potential of *Sorghum bicolor* L Root Exudates on Growth and Chlorophyll Content of Wheat and Some Grassy Weeds. IOP **Conference Series: Earth and Environmental Science** 761(1):012085.

Omezzine F, Bouaziz M, Monique SJ Simmonds, RH (2014) Variation in chemical composition and allelopathic potential of mixoploid *Trigonella foenum-graecum* L with developmental stages. **Food Chemistry** 148:188-195.

Ortega-Medrano RJ, Ceja-Torres LF, Vázquez-Sánchez M, Martínez-Ávila GCG e Medina-Medrano JR (2023) Characterization of *Cosmos sulphureus* Cav. (Asteraceae): Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Chromatography Analysis. **Plants** 12: 896.

Ou H, Zuo J, Gregersen H, Liu XY (2024) Combination of supercritical CO₂ and ultrasound for flavonoids extraction from *Cosmos sulphureus*: Optimization, kinetics, characterization and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, 435, 137598. ISSN 0308-8146.

Pagare S, Bhatia M, Tripathi N, Pagare S, Bansal, YK (2015). Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview. Current Trends in **Biotechnology and Pharmacy**, 9(3): 293-304.

Pattanaik B, Lindberg P (2015) Terpenoids and their biosynthesis in cyanobacteria Life, 5(1): 269-293.

Perveen S, Mushtaq MN, Yousaf M e Sarwar N (2020) Allelopathic hormesis and potent allelochemicals from multipurpose tree *Moringa oleifera* leaf extract. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing With All Aspects Of Plant Biology** 155(1): 154-158.

Pott DM, Osorio S, Vallarino JG (2019) From Central to Specialized Metabolism: An Overview of Some Secondary Compounds Derived From the Primary Metabolism for Their Role in Conferring Nutritional and Organoleptic Characteristics to Fruit. **Front Plant Sci** 10:835.

Qin B, Yang G, Ma J, Wu T, Li W, Liu L (2018) Spatiotemporal changes of cyanobacterial bloom in large shallow eutrophic Lake Taihu, China. **Front. Microbiol.** 9:451.

Queiroz RL (2015) Alelopatia de manjeriç o e uso do preparado homeop tico Nux vomica em alface. 78 f. **Tese de Doutorado** – UNESP, Botucatu.

Raven P, Evert RF e Eichhorn SE (2001). Biologia vegetal. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856 p.

Reigosa M, Souto X, González L (1999) Effect of phenolic compounds on the germination of six weed species. **Plant Growth Regulation**, 28:83-88.

Respatie D, Prapto Y, Purwantoro A e Trisyono Y (2019) The potential of *Cosmos sulphureus* flower extract as a bioherbicide for *Cyperus rotundus*. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity** 20(10):13057.

Respatie DW, Yudono P, Purwantoro A, Trisyono A (2021) Effect Spraying Volume of *Cosmos sulphureus* Cav Flower Extract on Weed Dominance and Soybean Yield. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, 1-9.

Ribeiro LC, Rosa MM, Fernandes G, Gil E, Vilela AA (2022) Potential of *Bixa orellana* L. (Bixaceae) leaf extracts on the seed germination and seedling growth of *Lactuca sativa* L. **Planta Daninha** 40.

Rice E (1984) Allelopathy. **Elsevier**, Academic Press, Orlando, Florida.

Rodrigues V, Pereira D, Abreu D, Vilela R (2016) Allelopathic potential of extracts of *Senna multijuga* (Rich.) H.S. Irwin & Barneby on the germination and initial growth of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden seedlings. **Floresta e Ambiente** 23.

Saleem, M, Ali, HA, Akhtar, MF, Saleem, U, Saleem, A, e Irshad, I (2019). Chemical characterization and hepatoprotective potential of *Cosmos sulphureus* Cav and *Cosmos bipinnatus* Cav. **Natural Product Research** 33(6): 897–900.

Santos RC (2020) Caracterização química e biológica de espécies de *Cosmos* (Asteraceae) para possível aplicação na área de nutrição e fitoterapia. 170 f. **Tese (Doutorado)** – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.

Sathishkumar A, Srinivasan G, Subramanian E e Rajesh P (2020). Role of allelopathy in weed management: a review. *Agric Rev* 41:380–386.

- Scavo A, Abbate C, Mauromicale G (2019) Plant allelochemicals: agronomic, nutritional and ecological relevance in the soil system. **Plant Soil** 442:23-48.
- Scavo A, Rial C, Molinillo JMG, Varela RM, Mauromicale G, Macías FA (2020) Effectiveness of Cover Crop Residues Incorporated into the Soil as Bioherbicide: A Case Study with *Melilotus albus* and *Sorghum halepense*. **Agronomy** 10:1650.
- Scavo A, Varela RM, Cavarretta G, Molinillo JMG, Mauromicale G, Macías FA (2016) Allelopathic interference of wild oat (*Avena fatua* L.) on durum wheat (*Triticum durum* Desf.): identifying the traits of interference and characterizing the specific allelochemicals. **Plant Growth Regulation** 80:175-187.
- Schandry N, Becker C (2020) Allelopathic plants: models for studying plant–interkingdom interactions. **Trends PlantSci** 25:176–185
- Schedenffeldt BF, Santos PHV, Hirata ACS, Soares MR, Monquero PA (2022) INFLUENCE OF THE DENSITY AND DISTANCE OF *Digitaria horizontalis* Willd IN THE BIOMETRIC AND NUTRITIONAL PARAMETERS OF PRE- SPROUTED SEEDLINGS OF SUGARCANE. **Revista Caatinga** 35(3):528-536.
- Scheffer-Basso, SM, Fiorentin, FJR, e Favaretto, A (2019). Influence of Phenology and Post-Harvest Processing of Vegetal Material on the Allelopathy of Annoni Grass (*Eragrostis plana*) Extracts. **Planta Daninha** 37: e019175663.
- Scognamiglio M, D'Abrosca B, Esposito A, Pacifico S, Monaco P, Fiorentino A (2013) Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on Mediterranean biomes. **Phytochemistry Reviews** 12(4):803-830
- Setyorini D, Antarlina SS (2022) Secondary metabolites in sorghum and its characteristics. **Food Science and Technology**, 42, e49822.
- Sharma R, Sharma D, Rathi P, Mishra A (2021) Impact of Abiotic Stress on Plant Productivity and Physiological Responses. In: Singh M, Khushwaha HS, Yadav RK, Singh VK (eds) *Advances in Plant Physiology and Environmental Stress*. **Springer**, Singapore, pp 87-102.
- Shi H, Sun S, Liu X, Fan J, Wang J, Zhao, K, Wang W. (2020). Allelopathic Potential and Mechanism of Rosebay Willowherb [*Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.] Demonstrated on Model Plant Lettuce. **Phyton**, 89, 1-12.
- Shrivastava S, Kumar R, Shrivastava S, Singh P, Dubey NK (2021) Role of allelopathy in sustainable agriculture and forestry. **Plant Biology** 23(4):699-712.
- Silva, BP, Nepomuceno, MP, Varela, RM, Torres, A, Molinillo, JMG, Alves, PLCA e Macías, FA (2017). Phytotoxicity study on *Bidens sulphurea* sch bip as a preliminary approach for weed control. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 65: 5161-5172.
- Singh A K (2021) Inhibitory Effects of Aqueous Leaf Extract of *Parthenium hysterophorus* L. on Seed Germination and Seedling Growth of Some Cultivated Crops. **Indian Journal of Scientific Research**. 11(2):09-12.

Soares ARM, Silva RA, Lopes JC, Pereira AP, Brito CH (2021) Desempenho agrônomo de variedades de mandioca no Litoral Norte da Bahia. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais** 23.

Soin K, Klemencic ME, Koce JD (2022) Plant cell responses to allelopathy: from oxidative stress to programmed cell death. **Protoplasma** 259:1111–1124.

Soltys D, Krasuska U, Bogatek R, Gniazdowska A. Allelochemicals as bioherbicides-present and perspectives. In: Price AJ, Kelton JÁ.

Sousa AS; Duávi WC; Cavalcante RM; Milhome MAL, Nascimento RF (2015) Estimated Levels of Environmental Contamination and Health Risk Assessment for Herbicides and Insecticides in Surface Water of Ceará, Brazil. **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, 96(1): 90-95.

Sousa HSF, Leite AP, Silva EC da, Albuquerque FC de, Silva MVS da, Miranda RS de, Gondim RS, Xavier GR, Medeiros HGR (2022) Amla (*Emblica officinalis*) seed powder in allelopathic control of *Mimosa caesalpiniaefolia* weed. **Agroforestry Systems** 1-9.

Souto LS, Gonçalves WS, Leão NH, Lôbo Júnior M, Santos VS, Lourenço Jr J, Oliveira TNC (2022) Effects of *Melia azedarach* on the growth of corn and initial development of weeds. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 74.

Souza Filho APS (2023) A história das pesquisas em no Brasil alelopatia. EMBRAPA, 80p.

Sunar P, Dasgupta RK, Roy SD e Shil D (2023) A Review on Terpenoids. **Indian Research Journal of Pharmacy and Science** 10(1):2807-2816.

Tanwir F, Dionisio G, Adhikari KB, Fomsgaard IS e Gregersen PL (2017) Biosynthesis and chemical transformation of benzoxazinoids in rye during seed germination and the identification of a rye Bx6-like gene. **Phytochemistry** 140: 95-107.

Tarn TR, Moreau D, Corbin C, Airouche S, Ducrot PH, Lamaze T (2023) Rethinking allelopathy in a changing world. **J Chem Ecol** 49:1-22.

Tavares-Menezes J, Rodrigues HM, Silva AA, Pessanha CP, Louzada F (2019) Germinação e crescimento de mudas de alface submetidas a doses do extrato etanólico de plantas daninhas. **Planta Daninha** 37.

Teodoro GS, Mamedes-Rodrigues TC, Leandro LFS, Silva GF da, Rezende MM, Resende LV (2021) Nematicidal activity and allelopathic potential of *Acacia podalyriifolia* Benth. and *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. Forst. & G. Forst. plants on root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection** 146:105711.

Testa A, Ntalli N, Diacono M, Papa R, Miano T (2022) The role of cover crops in improving soil fertility and reducing environmental impacts in sustainable agriculture: A review. **Agriculture** 12(1):18.

Thirumurugan D, Alagappan C, Raja SSS, Vijayakumar R (2018) An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. In: Vijayakumar R (Ed.) Secondary Metabolites: Sources and Applications.

Trezzi MM, Vidal RA, Balbinot Junior AA, Bittencourt HH, Souza Filho APS (2016) Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. **Journal of Plant Interactions**, 11(1), 53-60.

Tripathi RS, Sahu HB, Sahu SK, Dubey NK (2021) Allelopathy: A sustainable approach for weed management in sustainable agriculture. In: Tripathi RS, Kumar A, Sahu HB, Sahu SK, Dubey NK (eds) *Advances in Allelopathy*. CRC Press, Boca Raton, pp 247-265.

Uddin MB, Khan NA, Shahidullah SM, Rana MS (2023) Phenolic and flavonoid contents in root exudates of *Ageratum conyzoides* and their potential allelopathic effects on wheat and mustard. **Acta Physiol Plant** 45:71.

Vailati C, Gnani E, Senatore A, Abenavoli MR (2017) The essential oils of *Solidago canadensis* and *S. altissima* (Asteraceae): analysis of their potential as allelopathic agents. **Biochemical Systematics and Ecology** 71:123-129.

Vela F, Anese S, Varela RM, Torres A, Molinillo JMG, Macías FA (2021) Bioactive Diterpenes from the Brazilian Native Plant (*Moquiniastrum pulchrum*) and Their Application in Weed Control. **Molecules** 26(15):4632.

Vieites-Álvarez Y, Hussain MI, Reigosa MJ, Kolmanič A, Meglič V, Čepková PH, Zhou, M Janovská, D e Sánchez-Moreiras AM (2024). Potential of different common (*Fagopyrum esculentum* Moench) and Tartary (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) buckwheat accessions to sustainably manage surrounding weeds. **European Journal of Agronomy** 153: 127040.

Volet DP (2022) *Cosmos in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB16072>>. Acesso em: 31 mar. 2022.

Wang C, Jiang K, Zhou J, Wu Y, Han L, Xia Y (2023) Allelopathy and nutrient release from decomposing leaf litter of Eucalyptus and Acacia species and their mixtures. **Forest Ecology and Management** 516:119424.

Wasiullah W, Ghani MI, Shaheen M, Hashem A, Al-Arjani ABF, Alqarawi AA, et al. (2023) Role of plant-beneficial bacteria and their volatile compounds in plant growth promotion and mitigation of abiotic stresses. **Environmental Science and Pollution Research International**.

Wu H, Pratley J, Lemerle D, An M, Liu D, Li Y (2001) Autotoxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Australian Journal of Agricultural Research** 52:1321-1327.

Xiao J, Li L, Xiao Y, Wang J, Yang Y, Wu D, et al. (2023) The occurrence and potential ecological risk of β -diketone antibiotics in the terrestrial environment: A review. **Journal of Hazardous Materials** 423:127066.

Xie H, Li X, Li Y, Guan Y, Wang C, Qiao J (2023) Enhanced stability of dark fermented beverage with *Lactobacillus kefir*: Antioxidant activity and volatile compounds. **Food Chemistry** 370:131123.

Xuan TD, Tran HT, Khanh TD, Chung MI (2006) Biological activity of essential oils of *Mentha* species as influenced by harvesting time and age of the plant.

Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences 71(4):1295-1300.

Yang M, Zhang X, Xu Y, Mei X, Jiang B, Liao J (2015). Autotoxic ginsenosides in the rhizosphere contribute to the replant failure of *Panax notoginseng*. *PloS One*, 10(2), e0118555.

Zeng RS, Mallik AU, Luo SM, Lei JL, Zhou XM (2020) Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry. **Springer Nature**, Switzerland.

Zhao C, Zhang C, He F, Zhang W, Leng A, Ying X (2019) Two new alkaloids from *Portulaca oleracea* L. and their bioactivities, **Fitoterapia** 136:104166.

Zhao J, Yang, Z, Zou J, Li QI (2022). Allelopathic effects of sesame extracts on seed germination of moso bamboo and identification of potential allelochemicals. **Scientific Reports** 12.

Zhao X, Zheng GW, Niu XM, Li WQ, Wang FS, Li SH (2009) Terpenes from *Eupatorium adenophorum* and their allelopathic effects on *Arabidopsis* seeds germination (dagger). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 28;57(2):478-82.

Zorrilla JG, Cárdenas DM, Rial C, Molinillo JMG, Varela RM, Masi M, Macías, FA (2024) Bioprospection of Phytotoxic Plant-Derived Eudesmanolides and Guaianolides for the Control of *Amaranthus viridis*, *Echinochloa crus-galli*, and *Lolium perenne* Weeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 72(3): 1797-1810.