



Efeito alelopático de extratos foliares de *Portulaca oleracea* e *Raphanus raphanistrum* sobre a germinação de sementes de *Lactuca sativa* L.

Allelopathic effect of *Portulaca oleracea* and *Raphanus raphanistrum* leaves extracts on seed germination of *Lactuca sativa* L.

M. F. Santos; J. P. Santos; A. H. Gonçalves; S. C. Mendonça; J. E. B. P. Pinto; S. K. V. Bertolucci*

Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras da Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 3037, 37200-900, Lavras, MG, Brasil.

*suzan@ufla.br

(Recebido em 25 de julho de 2022; aceito em 10 de abril de 2023)

A alelopatia é um processo importante nos ecossistemas vegetais e seus estudos são de grande interesse para agricultura. Os aleloquímicos podem substituir os herbicidas sintéticos, com a vantagem de não terem efeitos residuais ou tóxicos. Objetivou-se avaliar a atividade alelopática e sua correlação com o teor de compostos de fenólicos e potencial antioxidante de *Portulaca oleracea* e *Raphanus raphanistrum* a partir de diferentes preparações extrativas e concentrações na germinação de *Lactuca sativa*. Foram utilizados três métodos extrativos: refluxo em água; maceração dinâmica em água e maceração dinâmica com solventes de polaridade crescente. Os extratos concentrados em evaporador rotatório foram diluídos em água, obtendo-se as concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹). Os parâmetros de germinação avaliados foram percentagem e índice de velocidade de germinação e comprimentos do hipocótilo e da radícula de *L. sativa*. O efeito alelopático foi correlacionado com o teor de compostos fenólicos (fenóis, flavonóides e dihidroflavonóides totais) e com o potencial antioxidante [poder quelante (PQ) e capacidade antioxidante total (CAT)]. Os extratos aquosos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* expressaram maior potencial em suprimir a germinação, índice de velocidade de germinação e comprimentos radicular e do hipocótilo de *Lactuca sativa* nas maiores concentrações. Os extratos aquosos apresentaram menores teores de compostos fenólicos e CAT, mas indicaram maior potencial quelante. Conclui-se que os efeitos alelopáticos dos extratos são dependentes da concentração e do método de extração. Porém, os extratos aquosos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* apresentam maior atividade alelopática contra *L. sativa*, sobretudo na concentração de 10 g.L⁻¹.

Palavras-chave: alelopatia, extratos vegetais, fitotoxicidade.

Allelopathy is an important process in plant ecosystems and its studies are of great interest to agriculture. Allelochemicals can replace synthetic herbicides, with the advantage of having no residual or toxic effects. The objective was to evaluate the allelopathic activity and its correlation with the content of phenolic compounds and antioxidant potential of *Portulaca oleracea* and *Raphanus raphanistrum* the radish from different extractive preparations and concentrations in the germination of *Lactuca sativa*. Three extractive methods were used: reflux in water; dynamic maceration in water and dynamic maceration with solvents of increasing polarity. The extracts concentrated in rotary evaporator were diluted in water, obtaining concentrations (0, 2, 4, 6, 8 and 10 g.L⁻¹). The germination parameters evaluated were germination percentage and velocity index and lengths of hypocotyl and radicle of *L. sativa*. The allelopathic effect was correlated with the content of phenolic compounds (total of phenols, flavonoids and dihydroflavonoids) and with the antioxidant potential [Chelating Power (PQ) and Total Antioxidant Capacity (CAT)]. The aqueous extracts of *P. oleracea* and *R. raphanistrum* expressed greater potential in suppressing germination, index of germination speed and root and hypocotyl lengths of *L. sativa*, in the highest concentrations. The extracts watery showed lower levels of phenolic compounds and CAT, but indicated greater chelating potential. In conclusion, the allelopathic effects of the extracts were dependent on the concentration and the extraction method. However, the aqueous extracts of *P. oleracea* and *R. raphanistrum* have allelopathic activity against *L. sativa*, especially at a concentration of 10 g.L⁻¹.

Keywords: allelopathy, herbal extracts, phytotoxicity.

1. INTRODUÇÃO

As plantas possuem a capacidade de liberar no meio ambiente diversos metabólitos secundários, neste caso, aleloquímicos, que podem interferir de forma positiva ou negativa no desenvolvimento da vegetação adjacente [1]. Os aleloquímicos podem estar presentes em todos os órgãos das plantas [2]. Eles variam de acordo com a composição, concentração e a distribuição na planta, podendo ser liberados para o meio ambiente através da decomposição de resíduos vegetais, exsudação pelas raízes, volatilização e lixiviação da superfície das folhas por decorrência da chuva e/ou neblina [3].

Os compostos químicos liberados podem afetar a germinação de sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas vizinhas pela interrupção de vários mecanismos fisiológicos, como: fotossíntese, respiração, equilíbrio hídrico e hormonal [4]. A germinação das sementes é a etapa mais importante no crescimento e desenvolvimento das plantas [5]. Estudos sobre o efeito alelopático na germinação de sementes de diferentes espécies de plantas têm sido realizados tais como: tomatinho (*Solanum pimpinellifolium* L. - Solanaceae) [6], falso-anil (*Tephrosia cinerea* (L.) Pers. - Leguminosae) [7], carqueja (*Baccharis articulata* (Lam.) Pers. - Asteraceae) [8], feijãozinho (*Sesbania virgata* (Cav.) Pers. - Leguminosae) [9].

Estudos envolvendo a alelopatia são de grande interesse para a agricultura, pois, muitas das substâncias químicas apresentam grande potencial para o uso no controle de plantas daninhas de culturas e ainda, possuem a capacidade de inibir a germinação e o crescimento vegetal [10]. Além disto, é uma técnica natural de baixo custo, não poluente e que não requer equipamentos sofisticados para sua aplicação [11].

Muitas plantas são inerentemente resistentes a toxinas vegetais específicas ou possuem mecanismos antioxidantes de defesa contra aleloquímicos produzidos por outras espécies [12]. Segundo Abd-elgawad e El-shora (2015) [13], os aleloquímicos podem causar estresse oxidativo em plantas-alvo e, com isto, ativar o mecanismo antioxidante de defesa. Os antioxidantes são compostos que possuem a capacidade de desacelerar o processo de oxidação, através da inibição de radicais livres e complexação de metais. Para a sobrevivência dos vegetais várias substâncias antioxidantes são produzidas para a captura dos radicais livres tais como os flavonoides e diversos outros compostos fenólicos [14].

Popularmente conhecida por beldroega, a *Portulaca oleracea* L. (Portulacaceae) é uma espécie considerada daninha, com hábito de crescimento herbáceo, que se adapta a vários tipos de clima [15]. Encontra-se vegetando em áreas olerícolas com cultivos de batata, beterraba, cebola, cenoura, tomate, entre outros [16]. Já a *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae) é uma espécie herbácea anual, conhecida popularmente como nabiça, de ocorrência nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil que em áreas cultivadas infesta, principalmente, cultivos de alface, batata, cenoura e pomares de pêssego [16].

Alguns estudos já demonstraram a atividade alelopática dessas espécies [17-19]. No entanto, é sabido que diferentes métodos de obtenção de extratos alteram sua composição química e, conseqüentemente sua atividade biológica. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a atividade alelopática e sua correlação com o teor de compostos de fenólicos e potencial antioxidante de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* a partir de diferentes preparações extrativas e concentrações na germinação de *Lactuca sativa* (L.) - Asteraceae.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos e no Laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal de Lavras (UFLA). O material vegetal foi herborizado e incorporado ao acervo do Herbário PAMG da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), sob registro PAMG 57858 e 57809 respectivamente para as espécies *P. oleracea* e *R. raphanistrum*.

Sementes de ambas espécies foram diretamente semeadas em vasos de plástico (10 L) contendo como substrato solo e areia (1:1) e mantidos em casa de vegetação e irrigadas por microaspersão. Aos 75 dias após a semeadura, as folhas das plantas foram colhidas e desidratadas em estufa de circulação de ar a 40 ± 2 °C, até peso constante. Em seguida, o material foi pulverizado em moinho de facas e, imediatamente submetido aos processos de extração.

Os extratos (10% p/v) foram preparados empregando três métodos de extração: 1) refluxo com água ultrapura por 20 minutos (AQR); 2) maceração dinâmica em água ultrapura com agitação constante de 146 rpm por 24 h (AQM); e, 3) maceração dinâmica, nas mesmas condições do anterior, com solventes de polaridades crescentes [diclorometano (MDCM), acetato de etila (MAE), butanol (MBU) e água ultrapura (MAUP)], o que resultou em seis extratos. Todos os extratos foram filtrados a vácuo e concentrados em evaporador rotatório a 50 °C, sob pressão reduzida. Os extratos concentrados foram armazenados em frascos de vidro e conservados em freezer a -20°C, até as análises. Em seguida, os extratos foram ressuspensos em água ultrapura nas concentrações de 0, 2, 4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹.

Para avaliar o efeito alelopático dos extratos, foram utilizadas sementes de *Lactuca sativa*, devido a sua sensibilidade ao contato com os aleloquímicos. O bioensaio foi conduzido em placas de Petri forradas com papel de filtro umedecidos com 4 mL dos extratos de cada concentração. Foram realizados dois bioensaios, um para cada espécie (*P. oleracea* e *R. raphanistrum*), em delineamento experimental inteiramente casualizado com seis extratos (AQR, AQM, MDCM, MAE, MBU e MAUP), seis concentrações (0, 2, 4, 6, 8, e 10 g.L⁻¹) e cinco repetições.

As placas de Petri foram mantidas sobre temperatura constante de 24 °C em incubadora tipo B.O.D com fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, durante 168 h. O critério selecionado para medir o processo de germinação foi a protrusão radicular a cada 24 h após a aplicação dos extratos. Após a protrusão da radícula (24 h) foram medidos o comprimento radicular (CR) e o comprimento do hipocótilo (CH) com um paquímetro digital (mm). A percentagem de germinação (PG) e o índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado pela equação de [20].

Compostos fenólicos têm sido apontados como responsáveis por propriedades alelopáticas e antioxidantes [21]. Portanto, a quantificação de compostos fenólicos totais e do potencial antioxidante foram determinados, a fim de correlacionar estes parâmetros com a atividade fitotóxica observada em *L. sativa*. A quantificação dos fenóis totais foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Slinkard e Singleton (1977) [22]. Os resultados foram expressos em miligrama equivalentes em ácido gálico por grama de material vegetal seco (mg EAG/g). A quantificação de flavonoides foi determinada pelo método de Ahn et al. (2007) [23], sendo seu conteúdo total expresso em miligramas equivalentes em quercetina por grama de material vegetal seco (mg EQ/g). Enquanto que, a quantificação de dihidroflavonoides foi realizada de acordo com Popova et al. (2004) [24], cujos resultados foram expressos em miligrama equivalentes em naringenina por grama de material vegetal seco (mg EN/g). Os ensaios de atividade antioxidante empregaram os métodos espectrofotométricos não-enzimáticos de Capacidade antioxidante total (CAT) e poder quelante. A CAT foi determinada pelo método de redução do molibdato de amônio descrito por Prieto et al. (1999) [25] e o poder quelante dos extratos foi avaliado de acordo com Miguel (2010) [26].

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando a plataforma R versão 4.1.2. Os dados obtidos foram submetidos a testes de homogeneidade das variâncias (Levene e Bartlett, $p \geq 0,05$) e normalidade (Shapiro-Wilk, $p \geq 0,05$), utilizando o pacote “car” [27]. Os dados que não atenderam as pressuposições foram submetidas análise não-paramétrica, utilizando o teste Kruskal-Wallis com auxílio do pacote “easynova” [28]. Além disso, foi realizada uma análise de regressão linear generalizada da família Poisson com auxílio do pacote “tidyverse” [29]. Foi realizado também análises de componentes principais (PCA) utilizando os Pacote “FactoMineR” [30] e “Factoextra” [31].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade alelopática dos extratos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* sob a germinação de sementes de alface foi dependente da concentração e do tipo de extrato. De acordo com o teste Kruskal-Wallis houve diferença significativa entre os extratos para todas as variáveis analisadas em ambos os bioensaios. Os dados de percentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento radicular e comprimento do hipocótilo estão apresentados na Tabela 1. Todas as variáveis apresentaram distribuição não-paramétrica.

Tabela 1: Percentagem de Germinação (PG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Comprimento do Hipocótilo (CH) e Comprimento Radicular (CR) em função dos extratos de *Portulaca oleracea* e *Raphanus raphanistrum* em diferentes concentrações.

Variáveis	Concentração (g.L ⁻¹)	Extratos de <i>Portulaca oleracea</i>					
		AQR	AQM	MDCM	MAE	MBU	MAUP
PG	0	95,04 a	95,04 a	94,88 a	90,88 a	94,56 a	91,84 a
	2	89,60 b	65,14 c	95,68 a	91,52 ab	88,64 bc	89,28 b
	4	91,04 a	50,25 b	91,36 a	91,52 a	90,80 a	89,12 ab
	6	90,56 a	20,76 b	94,08 a	88,48 ab	90,24 a	87,84 ab
	8	85,09 a	0,00 b	86,88 a	85,76 a	87,20 a	88,78 a
	10	0,00 d	0,00 d	92,96 a	82,56 bc	86,24 b	79,39 c
IVG	0	22,34 a	22,34 a	22,53 a	20,88 a	21,35 a	22,05 a
	2	20,40 ab	16,35 b	22,55 a	20,67 a	20,94 a	19,46 ab
	4	17,52 bc	9,21 c	22,86 a	20,77 ab	21,22 ab	16,32 bc
	6	12,50 bc	4,85 c	21,85 a	18,80 a	19,63 a	13,34 b
	8	8,64 b	0,00 c	20,55 a	17,88 a	18,97 a	10,19 b
	10	0,00 c	0,00 c	20,37 a	18,93 a	19,62 a	6,65 b
CH (mm)	0	19,53 a	19,21 a	13,35 b	6,43 c	11,37 b	12,80 b
	2	12,98 a	6,55 bc	13,28 a	5,53 c	11,61 ab	13,21 a
	4	11,41 b	4,75 c	14,20 a	6,57 c	11,54 b	13,67 ab
	6	9,64 bc	3,85 d	13,39 a	6,07 cd	12,26 ab	13,89 a
	8	6,54 b	0,00 c	11,39 a	5,67 bc	12,19 a	10,10 a
	10	0,00 c	0,00 c	13,40 a	5,89 b	11,41 a	8,29 b
CR (mm)	0	31,89 b	31,51 b	40,39 ab	43,48 a	36,26 ab	34,87 ab
	2	13,14 d	15,15 d	38,67 ab	40,55 a	26,51 bc	19,28 cd
	4	8,92 d	4,05 e	40,05 a	35,46 b	29,91 b	11,44 c
	6	2,34 c	2,05 c	39,18 a	35,82 a	26,01 b	11,98 b
	8	1,35 d	0,00 e	43,73 a	26,97 b	28,62 b	4,14 c
	10	0,00 d	0,00 d	39,92 a	27,18 b	29,67 b	3,29 c
Variáveis	Concentração (g.L ⁻¹)	Extratos de <i>Raphanus raphanistrum</i>					
		AQR	AQM	MDCM	MAE	MBU	MAUP
PG	0	77,60 b	77,60 b	83,93 a	83,92 a	83,92 a	84,48 a
	2	79,23 cd	76,26 d	85,12 ab	86,72 a	83,68 ab	81,29 bc
	4	60,36 c	60,96 c	87,36 a	84,80 ab	82,56 ab	79,60 b
	6	52,26 bc	42,40 c	84,70 a	82,40 a	80,81 a	58,98 b
	8	16,96 d	1,15 e	78,30 a	81,60 a	74,21 b	46,19 c
	10	1,15 c	0,00 c	75,49 a	80,32 a	75,20 a	7,87 b
IVG	0	14,44 b	14,44 b	19,10 a	19,10 a	19,10 a	19,10 a
	2	11,45 b	9,95 b	19,20 a	18,72 a	18,53 a	10,64 b
	4	7,06 b	7,08 b	18,93 a	17,41 a	16,52 a	9,02 b
	6	5,51 b	3,86 b	19,03 a	16,92 a	15,32 a	5,40 b
	8	2,00 bc	0,89 c	16,80 a	18,45 a	13,99 a	4,29 b
	10	0,35 b	0,00 b	14,30 a	16,57 a	12,40 a	1,81 b
CH (mm)	0	5,68 d	7,38 dc	12,96 a	10,22 ab	9,19 bc	9,19 bc
	2	8,10 b	8,08 b	12,73 a	11,97 a	5,50 c	9,05 b
	4	5,42 c	9,87 ab	13,22 a	7,57 bc	6,03 c	7,83 bc
	6	3,97 d	3,93 d	12,54 a	8,77 ab	6,41 bc	5,17 cd
	8	1,28 e	0,00 f	11,39 a	8,79 b	6,33 c	4,23 d
	10	0,18 cd	0,00 d	13,18 a	8,57 ab	6,33 b	1,01 c
CR (mm)	0	29,62 a	31,47 a	35,90 a	35,35 a	34,48 a	34,96 a
	2	12,79 b	14,49 b	31,41 a	33,48 a	37,19 a	20,24 b
	4	8,58 c	5,59 d	30,44 b	34,41 ab	36,36 a	8,42 cd
	6	2,34 d	0,00 e	29,08 b	34,40 a	34,25 a	6,41 c
	8	1,07 bc	0,00 c	27,30 a	31,24 a	30,82 a	3,54 b
	10	0,00 b	0,00 b	27,31a	31,94 a	30,01 a	0,53 b

*Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis (p ajustado de Bonferroni). Maceração em água por refluxo (AQR), maceração dinâmica em água (AQM), maceração dinâmica com solvente de diferentes polaridades: diclorometano (MDCM), acetato de etila (MAE), butanol (MBU), água ultrapura (MAUP).

Os extratos AQM e AQR a 10 g.L⁻¹ de *P. oleracea* apresentaram o maior efeito inibitório na germinação de *L. sativa* (Tabela 1). Resultado semelhante foi observado para os extratos de *R. raphanistrum*, cuja percentagem de germinação de sementes de *L. sativa* foi fortemente inibida pelos extratos aquosos (AQM, AQR e MAUP) na concentração de 10 g.L⁻¹ (Tabela 1). A inibição dos parâmetros de germinação das sementes de *L. sativa* indicou efeitos fitotóxicos dos extratos aquosos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* para essa cultura.

O efeito alelopático dos extratos aquosos sobre a germinação de *L. sativa*, pode ser melhor visualizado pelas curvas concentração-resposta, estimadas pelo modelo de regressão linear generalizadas da família Poisson representadas nas Figuras 1 e 2. Os extratos aquosos de ambas as espécies promoveram uma redução no índice de velocidade de germinação de *L. sativa* com o aumento da concentração de 0 para 10 g.L⁻¹. A perda de vigor influenciada por esses extratos pode estar relacionada a diversos fatores no processo de germinação, pois na fase de embebição, substâncias alelopáticas podem penetrar juntamente com a água e, inibir ou retardar a multiplicação ou crescimento das células e, conseqüentemente retardar a germinação [32].

Na Figura 1A, observa-se uma redução de 53,63% e 95,21% na percentagem de germinação para AQR e AQM, respectivamente, com o aumento da concentração dos extratos de 0 para 10 g.L⁻¹. Para os demais extratos, foi observado uma redução média de 7,91% de acordo as estimativas do modelo GLM para *P. oleracea*.

Em relação ao índice de velocidade de germinação, este reduziu 81,97%, 96,52% e 66,03% com o aumento nas concentrações dos extratos AQR, AQM e MAUP, respectivamente, com o aumento da concentração dos extratos de 0 para 10 g.L⁻¹ (Figura 1B). Para os demais extratos, foi observado uma redução média de 11,79% para *P. oleracea*. Esses resultados demonstraram que os efeitos alelopáticos dos extratos são dependentes da concentração, do método extrativo, assim como do solvente utilizado.

Os extratos AQR e AQM afetaram negativamente o comprimento do hipocótilo, promovendo uma redução de 83,92% e 97,86%, respectivamente, com o aumento da concentração dos extratos de 0 para 10 g.L⁻¹. Para os extratos MDCM, MAE e MBU de *P. oleracea* houve uma redução média de 5,38% (Figura 1C).

O comprimento radicular foi fortemente afetado pelos extratos AQR, AQM e MAUP de *P. oleracea* que inibiram mais de 90% do comprimento radicular com o aumento da concentração dos extratos (Figura 1D). Magiero et al. (2009) [33] observaram a redução de 100% no crescimento da radícula de *L. sativa* e de *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) com a aplicação do extrato aquoso de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) na concentração 200 mg mL⁻¹. Rashidi et al. (2021) [17] estudando a interação entre a *P. oleracea* e as espécies do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L. - Leguminosae), cebola (*Allium cepa* L. - Amaryllidaceae), beterraba (*Beta vulgaris* L. - Amaranthaceae), fava (*Vicia faba* L. - Leguminosae) e ervilha (*Pisum sativum* L. - Leguminosae) sobre parâmetros de crescimento de sementes e plântulas observaram efeito alelopático contra o feijoeiro e o alho.

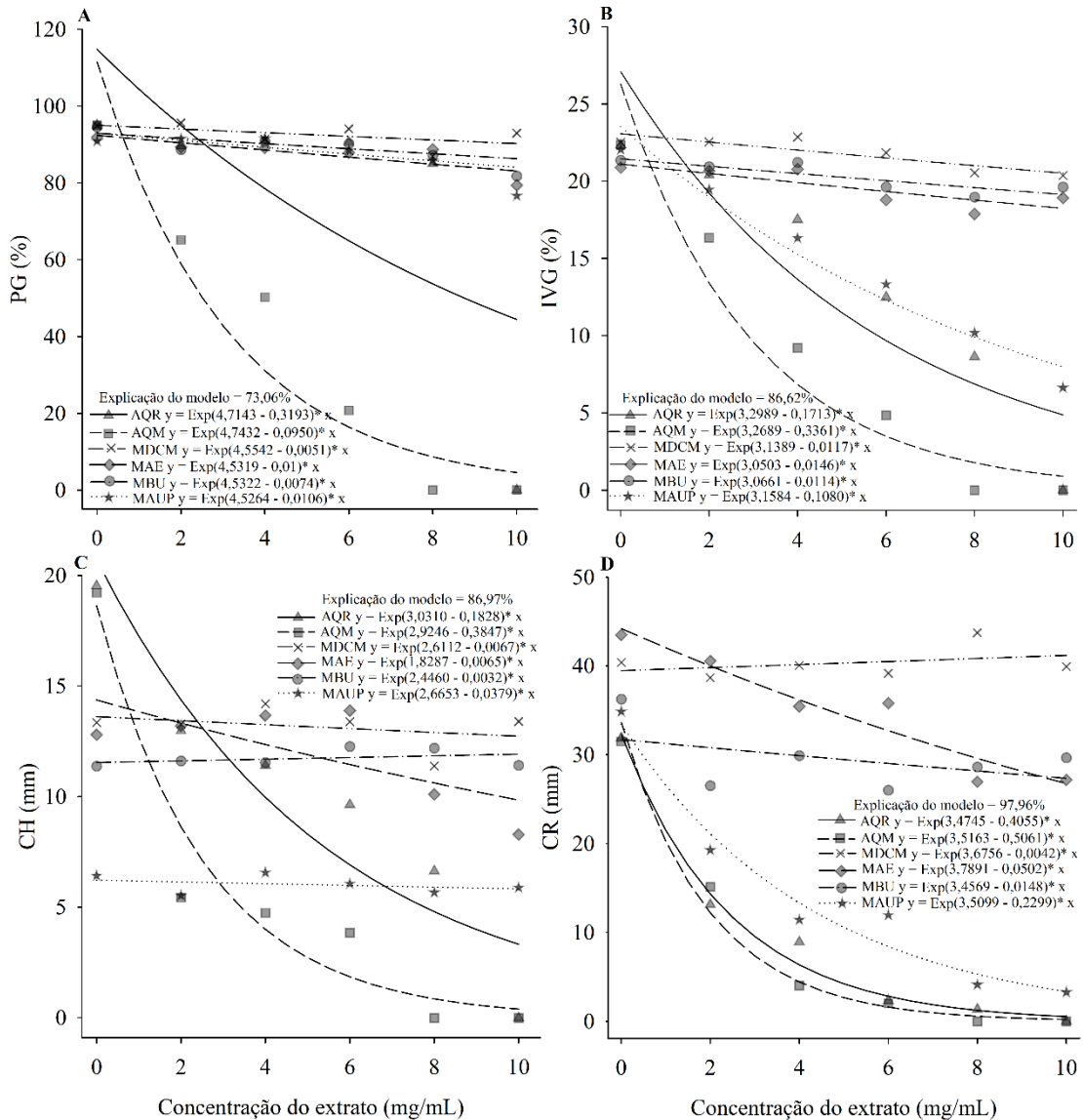


Figura 1: Representação gráfica da proporção média e correspondentes proporções ajustadas pelo modelo de regressão linear generalizada (Poisson) para as variáveis de respostas. **A:** Percentagem de Germinação (PG), **B:** Índice de Velocidade de Germinação (IVG), **C:** Comprimento do Hipocótilo (CH) e **D:** Comprimento Radicular (CR) em função dos extratos de *Portulaca oleracea* em diferentes concentrações. Maceração em água por refluxo (AQR), maceração dinâmica em água (AQM), maceração dinâmica com solvente de diferentes polaridades: diclorometano (MDCM), acetato de etila (MAE), butanol (MBU), água ultrapura (MAUP).

Nos extratos AQR, AQM e MAUP de *R. raphanistrum* houve redução de 84,48%, 90,68% e 71,76%, respectivamente, na percentagem de germinação (PG) com o aumento da concentração dos extratos de 0 para 10 g.L⁻¹. Para os demais extratos, observou-se uma redução média de 9,67% (Figura 2A). Shehata (2014) [34] verificou que o extrato aquoso da semente de beldroega em baixas concentrações (10 e 25%) estimulou a germinação e o comprimento radicular das sementes de *Cichorium endivia* L. (Asteraceae). Já em altas doses (50, 75 e 100%) houve influência negativa no desenvolvimento das sementes.

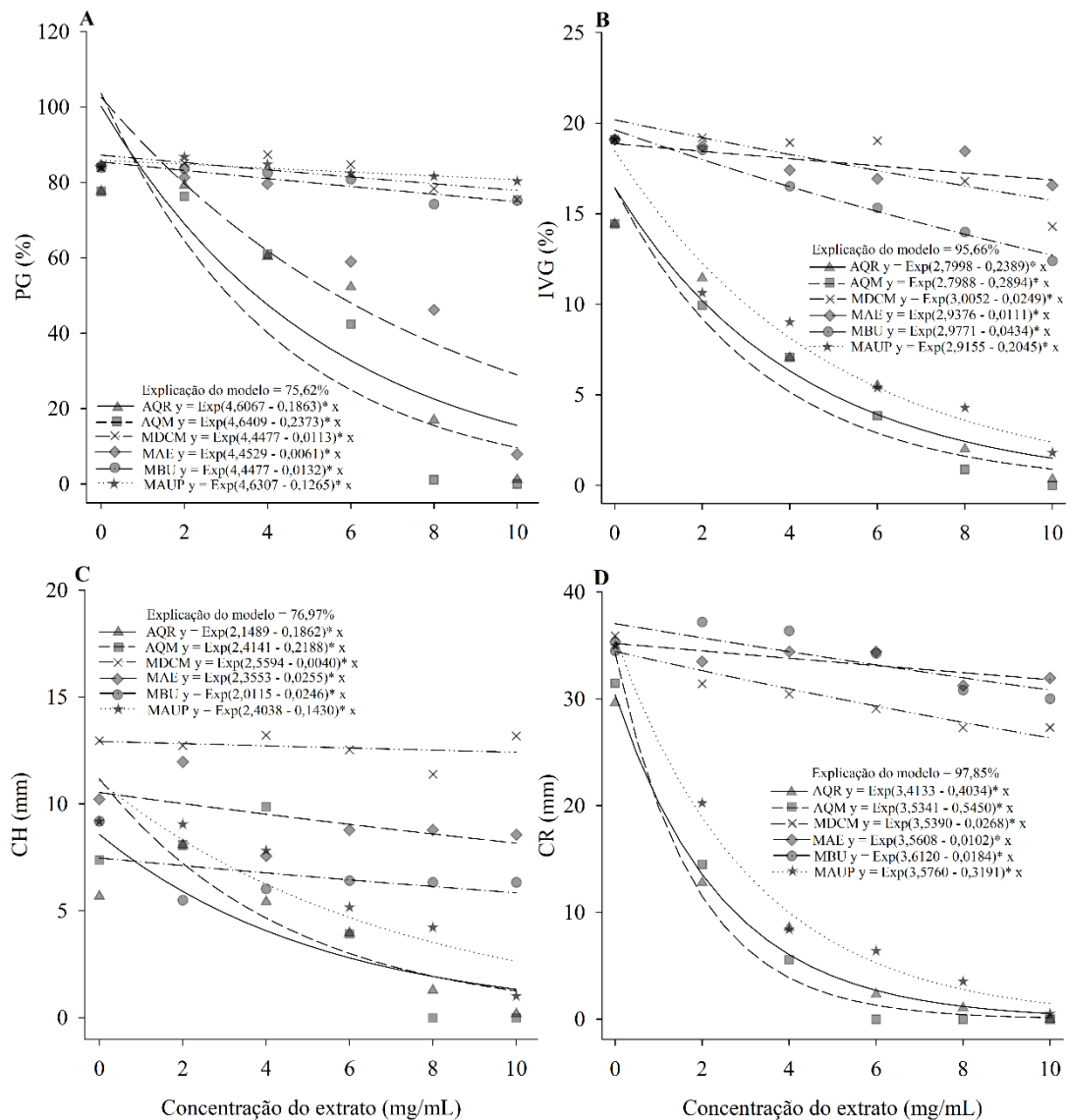


Figura 2: Representação gráfica da proporção média e correspondentes proporções ajustadas pelo modelo de regressão linear generalizada (Poisson) para as variáveis de respostas. A: Percentagem de Germinação (PG), B: Índice de Velocidade de Germinação (IVG), C: Comprimento do Hipocótilo (CH) e D: Comprimento Radicular (CR) em função dos extratos de *Raphanus raphanistrum* em diferentes concentrações. Maceração em água por refluxo (AQR), maceração dinâmica em água (AQM), maceração dinâmica com solvente de diferentes polaridades: diclorometano (MDCM), acetato de etila (MAE), butanol (MBU), água ultrapura (MAUP).

Os extratos AQR, AQM e MAUP reduziram o índice de velocidade de germinação em 90,68%, 84,48% e 71,76%, respectivamente, com o aumento da concentração dos extratos (Figura 1B). Para os demais extratos, foi observado uma redução média de 11,79% para *R. raphanistrum*. A redução no índice de velocidade de germinação é uma evidência do efeito alopatóico desses extratos no alongamento e divisão celular. De modo que, quanto o menor o índice velocidade de germinação, maior o tempo necessário para a germinação. Hoagland e Williams (2004) [35] perceberam que isso pode ocorrer pelo meio da ativação de mecanismos de desintoxicação celular, e que o tempo necessário para a ativação desse mecanismo retarda a germinação.

Em relação ao comprimento do hipocótilo da *L. sativa*, foi observado uma forte redução ocasionada pelos extratos aquosos AQR, AQM e MAUP, com o aumento da concentração dos extratos de 0 para 10 g.L⁻¹ (Figura 2C). Contrastando com esse resultado Wandscheer e Pastorini (2008) [19] não verificaram efeito significativo dos extratos de *R. raphanistrum* no crescimento do epicótilo em plântulas de alface. Todavia, houve efeito do extrato no crescimento do epicótilo

em plântulas de tomate na maior concentração do extrato, demonstrando que a resposta alelopática depende não só da interação entre espécies, mas do nível de concentração dos extratos.

O comprimento radicular foi fortemente afetado pelos extratos AQR, AQM e MAUP de *R. raphanistrum*. Esses extratos inibiram mais de 90% o comprimento radicular com o aumento da concentração dos extratos (Figura 2D). As raízes geralmente apresentam maior sensibilidade aos compostos químicos presentes nos extratos vegetais em comparação a outras partes das plantas, pois estão continuamente em contato direto com estas substâncias aleloquímicas em relação às demais estruturas das plântulas [36].

Algumas espécies contêm substâncias aleloquímicas que podem provocar a inibição do desenvolvimento de plântulas, sobretudo do comprimento radicular. De acordo com Sitthinoi et al. (2017) [37], o acúmulo dos compostos químicos pode provocar maior resposta no crescimento radicular, devido a inúmeros fatores intrínsecos pela sensibilidade da plântula à exposição ao aleloquímico.

Neste contexto, os impactos de substâncias aleloquímicas nos diversos processos fisiológicos de uma planta são dependentes da concentração. Essas substâncias podem, em baixas concentrações, atrasar a germinação e, em altas concentrações, penetrar nas sementes tornando-as inviáveis [38-40].

Compostos fenólicos são os aleloquímicos mais abundantes na natureza [21]. Os flavonóides caracterizam um grande grupo de metabólitos da classe dos compostos fenólicos, sendo os dihidroflavonóides um subgrupo dos flavonóides [41]. De acordo com Samanta et al. (2011) [42], o acúmulo de dihidroflavonóides no tegumento da semente inibe o crescimento do embrião, direta ou indiretamente. Em função disto foram doseados os teores de compostos fenólicos, flavonóides e dihidroflavonóides totais, assim como o potencial antioxidante dos diferentes extratos, a fim de correlacionar com o efeito fitotóxico.

Os teores de fenóis, flavonoides e dihidroflavonoides totais em ambas as espécies foram dependentes da polaridade dos extratos (Tabela 2). Os teores de fenóis totais foram maiores no extrato MAE independente da espécie. Os teores de flavonóides foram maiores em *P. oleracea* que em *R. raphanistrum*. Em *P. oleracea*, os extratos MDCM e MAE apresentaram maior concentração de flavonóides, enquanto que em *R. raphanistrum* foi o extrato MBU. *Raphanus raphanistrum* indicou maiores teores de dihidroflavonoides no extrato MDCM, enquanto *P. oleracea* no MBU (Tabela 2). Esses resultados demonstram as diferenças químicas entre os extratos e indicaram que extratos mais enriquecidos em compostos fenólicos inibiram a atividade alelopática.

Tabela 2: Compostos fenólicos e atividade antioxidante de diferentes extratos de *Portulaca oleracea* e *Raphanus raphanistrum*.

Espécie	Extratos	Fenóis (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	Dihidro- flavonoides (mg EN/g)	Poder Quelante (IC ₅₀ =mg/mL)	CAT (mg EAA/g)
<i>Portulaca oleracea</i>	AQR	1,91±0,04 d	3,15±0,02 c	3,32±0,01 e	0,08±0,00 c	8,31±0,10 c
	AQM	0,95±0,02 e	3,57±0,04 c	2,78±0,01 f	0,08±0,00 c	5,76±0,22 e
	MDCM	2,36±0,01 c	20,09±0,09 a	9,65±0,01 c	0,98±0,01 a	11,34±0,47 b
	MAE	5,20±0,06 a	19,60±0,09 a	11,17±0,18 b	0,25±0,05 b	16,01±0,50 a
	MBU	3,34±0,08 b	10,69±0,49 b	15,50±0,01 a	0,20±0,02 b	11,44±0,27 b
	MAUP	1,93±0,08 d	1,97±0,08 d	3,71±0,06 d	0,06±0,00 c	7,14±0,46 d
<i>Raphanus raphanistrum</i>	AQR	4,28±0,05 e	3,14±0,06 b	2,93±0,29 d	0,002±0,0 d	4,31±0,05 c
	AQM	5,57±0,07 d	2,04±0,14 c	9,41±0,05 b	0,002±0,0 d	2,91±0,12 d
	MDCM	1,29±0,002 f	0,93±0,04 e	16,16±0,40 a	1,25±0,11 a	8,39±0,02 b
	MAE	9,40±0,01 a	0,45±0,09 f	9,25±0,25 b	0,17±0,0 c	8,81±0,19 a
	MBU	8,28±0,01 b	8,72±0,09 a	9,25±0,25 b	1,11±0,02 b	8,8±0,02 a
	MAUP	8,13±0,09 c	1,62±0,10 d	5,02±0,51 c	0,002±0,0 d	4,42±0,02 c

Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, $p \leq 0,01$ pelo teste de Kruskal–Wallis (soma das classificações e p ajustado de Bonferroni). Maceração em água por refluxo (AQR), maceração dinâmica em água (AQM), maceração dinâmica com solvente de diferentes polaridades: diclorometano (MDCM), acetato de etila (MAE), butanol (MBU), água ultrapura (MAUP).

Inderjit et al. (2002) [43] observaram que os efeitos de combinações binárias dos ácidos fenólicos *p*-hidroxibenzóico, *p*-cumárico e ferúlico no crescimento da raiz de azevém (*Lolium perenne* L. - Poaceae) foram dependentes da concentração de cada composto na mistura, uma vez que os compostos podem agir de forma antagônica em altas concentrações, mas aditivamente em baixas concentrações. Mais recentemente, Bravetti et al. (2020) [44], após testar misturas binárias e multicompostas de seis ácidos fenólicos, descobriram que os ácidos ferúlico e *p*-cumárico, na razão molar de 5:2, inibiram de forma mais potente a germinação de (*Solanum lycopersicum* L. – Solanaceae), sugerindo que o efeito sinérgico depende da combinação dos ácidos e de sua proporção.

A investigação do conteúdo de compostos fenólicos e do potencial antioxidante dos extratos auxilia na compreensão dos mecanismos anti-estresse e de autodefesa antioxidante mediada por estes fitoquímicos [45]. Os extratos aquosos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* apresentaram o maior potencial de quelação (Tabela 2), indicando que o mecanismo de fitotoxicidade dessas espécies pode estar associado a complexação com íons metálicos. O ensaio de poder quelante utiliza a ferrozina, que pode ser doseada por espectrofotometria de absorção molecular no UV a partir de complexos com Fe^{2+} . Na presença de outros agentes quelantes, a formação do complexo é interrompida, dando origem a uma diminuição da cor vermelha do complexo ferrozina- Fe^{2+} . Com isto, a medição da taxa de redução de cor permite estimar a atividade quelante [26]. De acordo com Reigosa et al. (2006) [46], a inibição da captação de íons está diretamente relacionada à perturbação da membrana. A inibição da absorção de íons pode levar diretamente à ruptura do equilíbrio hídrico do vegetal, ou indiretamente, pela deficiência mineral resultante, alterar a relação hídrica.

O extrato MAE, de ambas as espécies, apresentou a CAT significativamente superior aos demais extratos. Embora, o extrato MBU não diferiu estatisticamente do extrato MAE em *R. raphanistrum* (Tabela 2). Essa superioridade pode ser devido ao maior teor de compostos fenólicos nesses extratos (fenóis, flavonóides e dihidroflavonóides). Devido às propriedades redox dos compostos fenólicos, eles desempenham um papel importante na absorção e neutralização de radicais livres, extinguindo o oxigênio singlete e tripleto, ou decompondo peróxidos [47]. Neste sentido, a baixa capacidade antioxidante observada nos extratos aquosos AQR, AQM e MAUP das duas espécies pode ter favorecido o aumento de danos oxidativos, o que explicaria a baixa germinabilidade e perda do vigor das sementes de alface nesses extratos.

A partir da análise de componentes principais (PCA) é possível estudar a relação entre as preparações extrativas de *P. oleracea* e de *R. raphanistrum* com as variáveis de respostas mensuradas, confirmando as discussões anteriores. A representação gráfica dos dois primeiros componentes principais (PC1 + PC2) de *P. oleracea* (Figura 3A), demonstra que a variância acumulada foi de 88,7% da variação total observada, já que a primeiro componente principal explica 74,6% e a segunda 14,1%. Já os dois componentes principais (PC1 + PC2) de *R. raphanistrum* responderam por 85,0% da variância total dos dados (Figura 3B). Segundo Mardia et al. (1979) [48], se os primeiros componentes acumularem uma porcentagem relativamente alta da variação total, em geral, acima de 80%, eles explicam satisfatoriamente a variabilidade manifestada pelas amostras avaliadas.

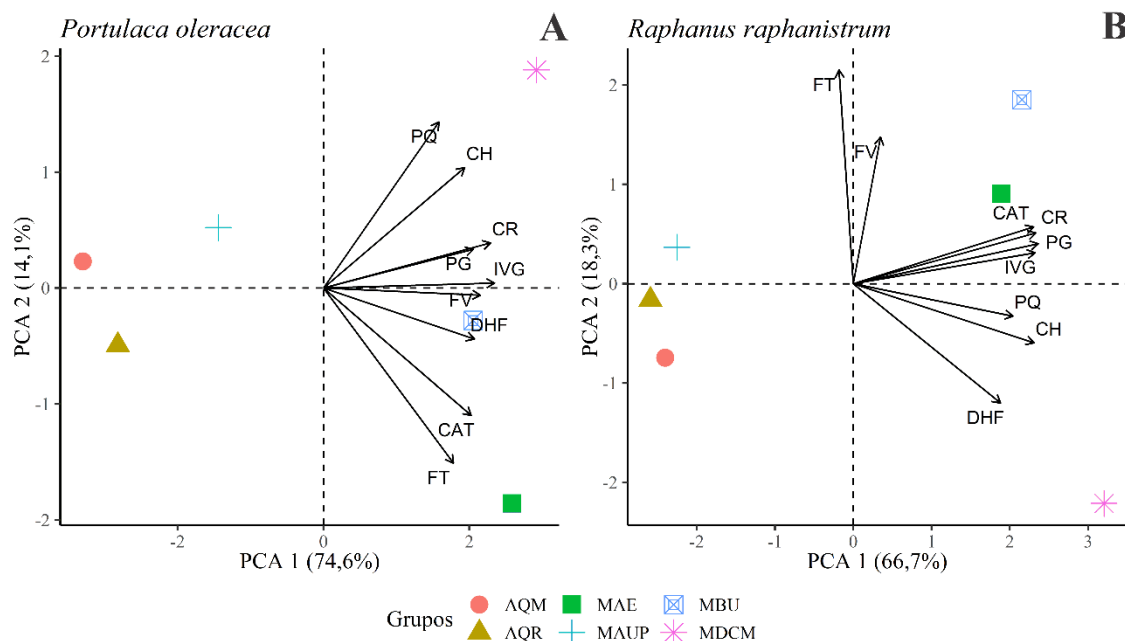


Figura 3: Representação gráfica da análise de componentes principais (PCA) relacionando as preparações extrativas de *Portulaca oleracea* e *Raphanus raphanistrum* com as variáveis de respostas analisadas. Maceração em água por refluxo (AQR), maceração dinâmica em água (AQM), maceração dinâmica com solvente de diferentes polaridades: diclorometano (MDCM), acetato de etila (MAE), butanol (MBU), água ultrapura (MAUP), Percentagem de Germinação (PG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Comprimento do Hipocótilo (CH), Comprimento Radicular (CR), teores de compostos fenólicos [fenóis totais (FT), flavonoides (FV), dihidroflavonoides (DHF)] e atividades antioxidantes [Capacidade antioxidante total (CAT), Poder quelante (PQ)].

Como pode ser observado nas Figuras 3A e 3B, os extratos de *P. oleracea* e de *R. raphanistrum* se separaram em dois grupos. Note que os extratos aquosos de ambas as espécies (AQM, AQR e MAUP) apresentaram uma correlação negativa com todas as variáveis de respostas avaliadas. No que tange as variáveis de atividade alelopática [Percentagem de germinação (PG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Comprimento do Hipocótilo (CH), Comprimento Radicular (CR)] confirmam-se a fitotoxicidade dos extratos aquosos de ambas as espécies. A correlação negativa dos extratos aquosos com as respostas do doseamento de compostos fenólicos (FT, FV e DHF) e da capacidade antioxidante total (CAT) corroboram os dados e discussões da Tabela 2. Como visto anteriormente, os menores teores de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante total foram observados nos extratos aquosos. Sim et al. (2010) [49] também observaram menores valores de compostos fenólicos totais de extratos aquosos quando comparados com extratos com solventes orgânicos.

Por outro lado, a correlação positiva dos extratos orgânicos com o poder quelante também corrobora com a menor atividade quelante destes extratos. O ensaio de poder quelante expressa a quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de ferrozina [50]. Desta forma, quanto maior o valor do IC₅₀ menor é a capacidade do extrato em quelar íons Fe²⁺, confirmando, assim, a maior atividade antioxidante dos extratos aquosos.

4. CONCLUSÃO

Os extratos aquosos (AQR, AQM e MAUP) de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* apresentam atividade alelopática contra *L. sativa*. No entanto, o extrato AQM de ambas as espécies é o de maior potencial alelopático, sobretudo na concentração de 10 g.L⁻¹.

5. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro e bolsas de estudos e pesquisa.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva MP, Dutra FB, Santos GdOB, Nascimento TJ, Crescenzo Fernandes G, Barbosa MC, et al. Uma breve abordagem teórica sobre o potencial alelopático em comunidades vegetais. *Res, Soc Dev.* 2022 Mar;11(4): e20511426021. doi: 10.33448/rsd-v11i4.26021
2. Bachheti A, Sharma A, Bachheti RK, Husen A, Pandey DP. Plant allelochemicals and their various applications. In: Mérillon J-M, Ramawat KG, editors. *Co-evolution of secondary metabolites*. Cham (DE): Springer International Publishing; 2020. p. 441-65.
3. Singh AA, Rajeswari G, Nirmal LA, Jacob S. Synthesis and extraction routes of allelochemicals from plants and microbes: A review. *Rev Anal Chem.* 2021 Sep;40(1):293-311. doi: 10.1515/revac-2021-0139
4. Zhao J, Yang Z, Zou J, Li Q. Allelopathic effects of sesame extracts on seed germination of moso bamboo and identification of potential allelochemicals. *Sci Rep.* 2022 Apr;12(1):6661. doi: 10.1038/s41598-022-10695-x
5. Babaie Zarch MJ, Mahmoodi S, Eslami SV, Zamani GR. Evaluation of emergence behavior of common millet (*Panicum miliaceum* L.) tumble pigweed (*Amaranthus albus* L.), lambsquarters (*Chenopodium album* L.) and purslane (*Portulaca oleracea* L.) under salinity stress. *Environ Stresses Crop Sci.* 2021 Apr;14(1):265-77. doi: 10.22077/escs.2020.2744.1720
6. Fioresi RdS, Rodrigues Filho J, Perin ITdAL, Da Silva RW, Dos Santos CR, Borges Corte V, et al. Efeito alelopático de *Solanum pimpinellifolium* L. sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Bidens pilosa*. *Sci plena.* 2021 Jul;17(6):060201. doi: 10.14808/sci.plena.2021.060201
7. La Salles AYZ, Souto JS, Borges CHA, Alencar LdS, Moreira FTdA. Allelopathic effect of *Tephrosia cinerea* L. (pers.) plant extracts in lettuce. *Eng Agric.* 2016 Aug;24(3):205-10. doi: 10.13083/reveng.v24i3.676
8. Schoffel A, Koefender J, Camera JN. Efeito alelopático do extrato de *Baccharis articulata* em sementes e plântulas de *Luffa cylindrica*. *Holos.* 2021 Set;37(6):1-11. doi: 10.15628/holos.2021.10563
9. Araujo ECG, Silva TC, Lima TVd. Efeitos alelopáticos de *Sesbania virgata* (cav.) Pers na germinação de sementes de alface. *Eng Agric.* 2018 Abr;26(2):101-9. doi: 10.13083/reveng.v26i2.862
10. Semerdjieva I, Atanasova D, Maneva V, Zheljazkov V, Radoukova T, Astatkie T, et al. Allelopathic effects of *Juniper* essential oils on seed germination and seedling growth of some weed seeds. *Ind Crops Prod.* 2022 Jun;180:114768. doi: 10.1016/j.indcrop.2022.114768
11. Oliveira YR, Silva PH, Abreu MC, Leal CB, Oliveira LP. Potencial alelopático de espécies da família Fabaceae Lindl. *Ensaios e Ciência.* 2020 Mai;24(1):65-74. doi: 10.17921/1415-6938.2020v24n1p65-74
12. Shitan N. Secondary metabolites in plants: transport and self-tolerance mechanisms. *Biosci, Biotechnol, Biochem.* 2016 Jul;80(7):1283-93. doi: 10.1080/09168451.2016.1151344
13. Abd-ElGawad A, El-Shora H. Physiological and biochemical responses of *Cucurbita pepo* L. mediated by *Portulaca oleracea* L. allelopathy. *Fresenius Environ Bull.* 2015 Jan;24:386-93.
14. Silva BF, Sousa Martins S, Queiroz Martins MG, Pereira AMG, Vale JPC, Santos HS, et al. Composição química, polifenóis totais, atividade antioxidante e citotóxica do Extrato Etanólico de Frutos da *Vitex gardneriana* Schauer. *Res, Soc Dev.* 2022 Mar;11(4):e52311427265-e. doi: 10.33448/rsd-v11i4.27265
15. Sdouga D, Ben Amor F, Ghribi S, Kabtni S, Tebini M, Branca F, et al. An insight from tolerance to salinity stress in halophyte *Portulaca oleracea* L.: Physio-morphological, biochemical and molecular responses. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019 May;172:45-52. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.12.082
16. Moreira HC, Bragança HBN. Manual de identificação de plantas infestantes. In: Moreira HJC, editor. *Hortifrúti*. Campinas (SP): FMC Agricultural Products; 2011. p. 1017.
17. Rashidi S, Reza Yousefi A, Goicoechea N, Pouryousef M, Moradi P, Vitalini S, et al. Allelopathic Interactions between Seeds of *Portulaca oleracea* L. and Crop Species. *Appl Sci.* 2021 Apr;11(8):3539. doi: 10.3390/app11083539
18. Bernardi D, De Nóbrega LHP, Rocha DM. Alelopatia do extrato aquoso de *Raphanus raphanistrum* sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de trigo e alface. *Varia Scie Agr.* 2018 out;5(1):39-48.
19. Wandscheer ACD, Pastorini LH. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. *Ciência rural.* 2008 Jul;38(4):949-53. doi: 10.1590/S0103-84782008000400007

20. Maguire JD. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 1962 Mar;2(2):176-7. doi: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x
21. Hoang Anh L, Van Quan N, Tuan Nghia L, Dang Xuan T. Phenolic allelochemicals: Achievements, limitations, and prospective approaches in weed management. *Weed Biol Manag.* 2021 Jun;21(2):37-67. doi: 10.1111/wbm.12230
22. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Vitic.* 1977 Jan;28(1):49-55.
23. Ahn M-R, Kumazawa S, Usui Y, Nakamura J, Matsuka M, Zhu F, et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem.* 2007 Jan;101(4):1383-92. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.03.045
24. Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V, Nikolova-Damyanova B, Sabatini AG, et al. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochem Anal.* 2004 Aug;15(4):235-40. doi: 10.1002/pca.777
25. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem.* 1999 May;269(2):337-41. doi: 10.1006/abio.1999.4019
26. Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules.* 2010 Dec;15(12):9252-87. doi: 10.3390/molecules15129252
27. Fox J, Weisberg S, Price B. Car: Companion to applied regression. Population. R Package Version 3.1-0. R Core Team. 2022. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=car>
28. Arnhold E, Arnhold ME. Easyanova: Analysis of variance and other important complementary analyses. R Package Version 8.0. R Core Team. 2022. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=easyanova>
29. Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, McGowan LDA, François R, et al. Welcome to the tidyverse. *J Open Source Softw.* 2022 Jul;4(43):1686. doi: 10.21105/joss.01686
30. Husson F, Josse J, Le S, Mazet J, Husson MF. FactoMineR: Multivariate exploratory data analysis and data mining. R Package Version 1.0.7. R Core Team. 2020. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR>
31. Kassambara A, Mundt F. Factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses. R Package Version 2.4. R Core Team. 2020. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>
32. El Id VL, Braga MR, Santos Junior NA. Germinação e desenvolvimento inicial de espécies florestais sob a ação da catequina, presente nas sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers.(Fabaceae). *Hoehnea.* 2020 Nov;47:e472020. doi: 10.1590/2236-8906-47/2020
33. Magiero EC, Assmann JM, Marchese JA, Capelin D, Paladini MV, Trezzi MM. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). *Rev Bras Pl Med.* 2009 Mar;11(3):317-24. doi: 10.1590/S1516-05722009000300014
34. Shehata HF. Allelopathic potential of *Portulaca oleracea* L. seed extracts on germination and seedling growth of *Cichorium endivia* L., *Lactuca sativa* L., *Echinochloa crus-galli* L., and *Brassica tournefortii* Gouan. *J Exp Biol Agric Sci.* 2014;2(4):388-96.
35. Hoagland RE, Williams RD. Bioassays: Useful tools for the study of allelopathy. In: Macias FA, Galindo JCG, Molinillo JMG, Cutler HG, editors. *Allelopathy: chemistry mode of action of allelochemicals.* Boca Raton (US): CRC Press; 2004. p. 315-41.
36. Pádua GVG, Demartelaere ACF, Souza Medeiros ML, Silva JN, Rodrigues MHBS, Preston HAF, et al. Influência do extrato de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir sobre a qualidade fisiológica em sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* (Benth). *Braz J Dev.* 2020 Nov;6(11):90475-88. doi: 10.34117/bjdv6n11-454
37. Sitthinoi P, Lertmongkol S, Chanprasert W, Vajrodaya S. Allelopathic effects of jungle rice (*Echinochloa colona* (L.) Link) extract on seed germination and seedling growth of rice. *Agric Nat Resour.* 2017 Jun;51(2):74-8. doi: 10.1016/j.anres.2016.09.004
38. Reigosa MJ, Sánchez-Moreiras A, González L. Ecophysiological approach in allelopathy. *Crit Rev Plant Sci.* 1999 Sep;18(5):577-608. doi: 10.1080/07352689991309405
39. Petersen J, Belz R, Walker F, Hurler K. Weed suppression by release of isothiocyanates from turniprape mulch. *Agron J.* 2001 Jan;93(1):37-43. doi: 10.2134/agronj2001.93137x
40. Radhakrishnan R, Alqarawi AA, Abd_Allah EF. Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018 Aug;158:131-8. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.04.018
41. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello Jd, Mentz L, Petrovick PR. *Farmacognosia da planta ao medicamento.* 5. ed. Porto Alegre (RS): Editora UFSC; 2007.
42. Samanta A, Das G, Das SK. Roles of flavonoids in plants. *Int J Pharm Sci Tech.* 2011 Jun;6(1):12-35.
43. Inderjit, Streibig JC, Olofsdotter M. Joint action of phenolic acid mixtures and its significance in allelopathy research. *Physiol Plant.* 2002 Apr;114(3):422-8. doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1140312.x

44. Bravetti MMdM, Carpinella MC, Palacios SM. Phytotoxicity of *Cortaderia speciosa* extract, active principles, degradation in soil and effectiveness in field tests. *Chemoecology*. 2020 Feb;30(1):15-24. doi: 10.1007/s00049-019-00294-0
45. Ahmad J, Bagheri R, Bashir H, Baig MA, Al-Huqail A, Ibrahim MM, et al. Organ-specific phytochemical profiling and antioxidant analysis of *Parthenium hysterophorus* L. *BioMed Res Int*. 2018 Jun;2018:9535232. doi: 10.1155/2018/9535232
46. Reigosa MJ, Pedrol N, González L. Allelopathy: A physiological process with ecological implications. 1. ed. Netherlands: Springer Dordrecht: Springer Science & Business Media; 2006.
47. Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin SM, Mahmud JA, et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*. 2020 Jul;9(8):681. doi: 10.3390/antiox9080681
48. Mardia KV, Kent JT, Bibby JM. Multivariate analysis. Probability and mathematical statistics London. New York (US): Academic Press; 1979.
49. Sim KS, Nurestri AMS, Norhanom AW. Phenolic content and antioxidant activity of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) extracts. *Pharmacogn Mag*. 2010 Jul;6(23):248-54. doi: 10.4103/0973-1296.66945
50. Souza AAM, Brasil DSB, Rodrigues CC, Freitas Almeida SM, Silva NMM, Rêgo JAR. Avaliação de atividades antioxidantes em plantas do gênero *Croton*. *Braz Appl Sci Rev*. 2020 Jul;4(4):2217-35.