

Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas

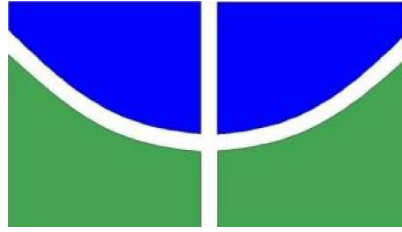
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**Potencial alelopático do arbusto nativo *Lepidaploa aurea* e implicações
para restauração ecológica no Cerrado**

Polliana Gomes Lopes

Brasília, DF

Abril de 2022



Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**Potencial alelopático do arbusto nativo *Lepidaploa aurea* e implicações
para restauração ecológica no Cerrado**

Polliana Gomes Lopes

Orientadora: Profa. Dra. Mercedes Maria da Cunha Bustamante

Tese submetida ao Departamento de Ecologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Brasília, DF

Abril de 2022

Dedicatória

Eu dedico este trabalho ao meu filho e amor da minha vida Dante Gomes Lopes. Você tornou a conclusão deste trabalho mais difícil, mas também me ensinou uma capacidade infinita de superação. Por você eu consegui.

*“O vencedor não será o mais forte,
será aquele que melhor se adaptar”*

Charles Darwin

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora Professora Mercedes Bustamante, pelos ensinamentos, paciência, dedicação e comprometimento com a orientação deste trabalho. Obrigada por contribuir para o meu crescimento profissional e pessoal, e especialmente pela amizade e empatia durante esses seis anos de parceria.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos durante parte do Doutorado.

Ao meu marido e companheiro de vida Huanderson Ritchelly Rocha Lopes, pelo apoio constante neste projeto e em todas as outras áreas da minha vida. Obrigada pela doação e dedicação que foram fundamentais para o meu êxito acadêmico, sem você eu não teria conseguido. Esse doutorado é tanto meu quanto seu.

À Professora Sarah Oliveira, pela amizade, apoio, parceria e contribuição na realização deste trabalho. Pela disponibilização do espaço, estagiários, materiais e equipamentos do Laboratório de Alelopatia Alfredo Gui Ferreira do Departamento de Botânica.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ecologia pelos ensinamentos que foram essenciais para a conclusão deste Doutorado.

Aos professores Heloísa Sinatora Miranda, Edison Ryoiti Sujii e Cássia Beatriz Munhoz pela avaliação do Projeto de Qualificação e contribuições para a melhoria deste estudo.

À Equipe do laboratório de Ecologia de Ecossistemas pelas contribuições nas atividades práticas e discussões a respeito do projeto.

Aos técnicos do Departamento de Ecologia: Maria, Regina, Leandro e Wesley pelo apoio nas atividades laboratoriais e em casa de vegetação.

Aos estagiários do laboratório de Alelopatia Alfredo Gui Ferreira do Departamento de Botânica, Mateus e Thomas, e ao Ademar aluno do mestrado em Ecologia, pela ajuda nos bioensaios laboratoriais (Cap. 2 da presente tese).

À estagiária do laboratório de Alelopatia Alfredo Gui Ferreira do Departamento de Botânica, Luíza, pela condução do bioensaio laboratorial (Cap. 2 da presente tese).

Ao Sr. Fábio Fonseca e ao técnico Evandro Calisto da Estação Experimental da Biologia pelo apoio na execução de um dos bioensaios em casa de vegetação (Cap. 2 da presente tese).

Aos professores da Universidade Federal do Tocantins – UFT, Thiago Portelinha, Moisés Arantes Neto e Guilherme Benko pela disponibilização dos espaços laboratoriais e da casa de vegetação e pelo apoio na execução de um dos bioensaios (Cap. 3 da presente tese).

Aos estagiários do curso de Engenharia Ambiental da UFT, Samuel e Lys, pela ajuda na montagem de um dos experimentos em casa de vegetação (Cap. 3 da presente tese).

Aos colegas de curso, Maxmiller Cardoso e Silvia Barbosa, pelo apoio na execução das análises estatísticas e elaboração dos gráficos.

À minha querida amiga Mariana Moura, pela tradução do Capítulo 1 da presente tese.

Aos meus pais e irmãos pelo amor, carinho e incentivo constantes.

À minha prima Jane Kelly, pelo empréstimo do computador na reta final da escrita desta tese.

E aos membros da banca examinadora que aceitaram o convite para avaliar o trabalho.

Sumário

Resumo Geral.....	1
General Abstract	3
Introdução Geral	5
Chapter 1- Allelopathy in the context of Biological Invasions and Ecological Restoration: A Systematic Global Review.....	17
Abstract.....	18
1. Introduction	19
2.Methods	22
3. Results and Discussion	25
3.1. Allelopathic Interactions in Invaded Environments: Where do they occur and which species are studied?	25
3.1.1. Biological invasions approach	30
3.1.2. Ecological Restoration approach.....	32
3.2. Allelopathic evaluation in the context of biological invasions: important methodological aspects	36
3.3. Allelopathy <i>versus</i> competition for resources in the context of biological invasions	39
4. Future Directions	44
References	46
Capítulo 2- Avaliação do potencial alelopático da serapilheira do arbusto <i>Lepidaploa aurea</i> em condições controladas.....	56
Resumo	57
1. Introdução.....	60
2. Objetivos.....	64
3. Hipóteses	64
4. Material e Métodos.....	65
4.1. Espécies estudadas	65
4.2. Avaliação da fitotoxicidade das folhas senescentes de <i>L. aurea</i> em decomposição em condições laboratoriais.....	67

4.3. Avaliação do potencial alelopático da serapilheira de <i>L. aurea</i> em casa de vegetação	68
4.4. Avaliação da velocidade de decomposição da serapilheira de <i>L. aurea</i>	71
4.5. Avaliação de características químicas do solo.....	72
5. Resultados.....	73
5.2. Avaliação do potencial alelopático da serapilheira de <i>L. aurea</i> em decomposição em casa de vegetação	75
5.3. Avaliação da velocidade de decomposição serapilheira de <i>L. aurea</i>	82
5.4. Avaliação das características químicas do solo	85
6. Discussão	89
6.1. Avaliação da fitotoxicidade das folhas senescentes de <i>L. aurea</i> em decomposição em condições controladas	89
6.2. Avaliação do potencial alelopático da serapilheira de <i>L. aurea</i> em decomposição em casa de vegetação	91
6.3. Avaliação da velocidade de decomposição da serapilheira de <i>L. aurea</i>	93
6.4. Avaliação de características químicas do solo.....	95
7. Conclusões.....	97
Referências Bibliográficas.....	98
Capítulo 3- Competição e potencial alelopático radicular: efeitos de <i>Lepidaploa aurea</i> sobre uma gramínea exótica invasora e uma nativa do Cerrado	106
Resumo	107
Abstract.....	108
1. Introdução.....	109
2. Objetivos.....	114
3. Hipóteses	114
4. Material e Métodos	115
4.1. Espécies estudadas	115
4.2. Avaliação do potencial alelopático radicular de <i>L. aurea</i> , da competição por recursos abaixo do solo e da interação entre os dois mecanismos, em casa de vegetação	116
4.3. Análises das características químicas do solo.....	119
4.4. Análise da comunidade microbiana do solo	120
5. Resultados.....	122
5.1. Avaliação do potencial alelopático radicular de <i>L. aurea</i> , da competição por recursos abaixo do solo e da interação entre os dois mecanismos, em casa de vegetação	122

5.2. Análises das características químicas do solo.....	129
5.3. Avaliação da comunidade microbiana do solo	134
6. Discussão	141
7. Conclusão	147
Referências Bibliográficas	148
Conclusão Geral.....	154
Referências bibliográficas	157

Lista de Figuras e Tabelas

Capítulo 01:

Table 1 – Parameters and their variables evaluated in allelopathy/phytotoxicity studies of invaded environments. The search was carried out in the “Web of Science” database through Portal de Periódicos Capes and included 72 articles.

Figure 1 – Number of allelopathy studies in the context of biological invasions and/or ecological restoration from 2000 to 2020.

Table 2 – Evaluated species in 72 articles on allelopathy in the context of biological invasions and/or ecological restoration published from 2000 to 2020. The focus of the species (invasive or native), the life form and the place of origin are described. Some of the invasive species were evaluated in more than one study, and some studies addressed more than one species.

Figure 2 – (a) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions by continent or region and (b) Percentage of life forms studied in allelopathy bioassays in the context of biological invasions.

Figure 3 – (a) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions focusing on invasive native or alien species and (b) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions by approach (biological invasions or ecological restoration).

Figure 4 - (a) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions by study system (laboratory, greenhouse and field) and their combinations, (b) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions for each type of main conclusion and (c) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions for each type of main conclusion (positive or negative).

Figure 5- Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions that do or do not address competition in their methodology.

Capítulo 02:

Tabela 1- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta comprimento aéreo e comprimento radicular de *Lactuca sativa*, sete dias após a germinação e em solo incubado com folhas senescentes de *Lepidaploa aurea* em decomposição por 7, 18, 28 e 39 dias. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste *a posteriori* Dunnett.

Figura 1- Comprimento (mm) da parte aérea de *Lactuca sativa* em solo incubado com folhas senescentes de *Lepidaploa aurea* em decomposição por 7, 18, 28 e 39 dias. A barra mais escura indica o tratamento de solo incubado com lixiviados de folhas de *L. aurea* e a barra na cor branca indica o controle. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre tratamentos de incubação do solo com serapilheira. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Figura 2- Comprimento (mm) da parte aérea de *Lactuca sativa* em solo incubado com folhas senescentes de *Lepidaploa aurea* em decomposição por 7, 18, 28 e 39 dias. A barra mais escura indica o tratamento de solo incubado com lixiviados de folhas de *L. aurea* e a barra na cor branca indica o controle. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre tratamentos de

incubação do solo com serapilheira. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Tabela 2- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta: comprimento aéreo, comprimento radicular, biomassa aérea, biomassa radicular, superfície radicular total, comprimento radicular total e número de bifurcações radiculares das espécies alvo *U. decumbens* e *P. atratum* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram carvão ativado e serrapilheira de *L. aurea* e os tratamentos: com carvão/com serrapilheira, com carvão/sem serrapilheira, sem carvão/com serrapilheira e sem carvão/sem serrapilheira. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Figura 3- Comprimento e biomassa aéreas das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serrapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação, (a) Comprimento aéreo e (b) Biomassa aérea. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serrapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Figura 4- Comprimento e biomassa radiculares das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serrapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação, (a) Comprimento radicular e (b) Biomassa radicular. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serrapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Figura 5- (a) Superfície radicular total e (b) Comprimento radicular total das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serrapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serrapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Figura 6- Número de bifurcações radiculares das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serrapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serrapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Tabela 3- Média dos valores da taxa de decomposição de serrapilheira (k), meia vida de serrapilheira e tempo de residência ($1/k$) da serrapilheira de material vegetal proveniente de experimento realizado em casa de vegetação para determinação da velocidade de decomposição da serrapilheira de *Lepidaploa aurea* em dois tratamentos: solo com carvão ativado e solo sem carvão ativado.

Tabela 4- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta: Taxa de decomposição de serapilheira (k), Meia Vida de serapilheira (T50%) e Tempo de residência (1/k) da serapilheira de material vegetal proveniente de experimento realizado em casa de vegetação para determinação da velocidade de decomposição da serapilheira de *Lepidaploa aurea* em dois tratamentos: solo com carvão ativado e solo sem carvão ativado. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição quasi e teste Dunnett para a comparação das médias entre os tratamentos.

Figura 7- Valores da meia vida da serapilheira (T50%) e tempo de residência da serapilheira (1/k) de *Lepidaploa aurea* ao longo de 90 dias em solo com carvão ativado e sem carvão ativado. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta e a curva de tendência dos dados foi apresentada em modelo exponencial. Os pontos foram levemente deslocados para melhor visualização.

Tabela 5 – Resultados das análises estatísticas para os dados de análises físico-químicas de solos onde foram avaliados os parâmetros pH-H₂O, P, K, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³, H+Al, SB, t, T, V, P rem, m, MO e N-total. O solo analisado é proveniente de bioensaio para avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T1 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos sem carvão/sem serapilheira (sc/ss), sem carvão/com serapilheira (sc/cs), com carvão/sem serapilheira (cc/ss) e com carvão/com serapilheira (cc/cs) do T2 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Figura 6 – Intervalo de valores dos parâmetros pH em H₂O, P, K, Ca²⁺, Mg²⁺, H+Al, SB, t, T, V, P rem, MO e N total. O solo analisado era proveniente de bioensaio para avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T1 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos sem carvão/sem serapilheira (sc/ss), sem carvão/com serapilheira (sc/cs), com carvão/sem serapilheira (cc/ss) e com carvão/com serapilheira (cc/cs) do T2 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Capítulo 03:

Tabela 1- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta: comprimento aéreo, comprimento radicular, biomassa aérea, biomassa radicular, superfície radicular total, comprimento radicular total e número de bifurcações radiculares das espécies alvo *U. decumbens* e *P. notatum* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram ausência de alelopatia e ausência de competição, e os tratamentos: sem alelopatia/sem competição, sem alelopatia/com competição, com alelopatia/sem competição e com alelopatia/com competição. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Figura 1- Comprimento e biomassa aéreos de *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator competição e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator alelopatia para cada espécie isoladamente. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos, que foi executado par a par.

Figura 2- Comprimento e biomassa radiculares de *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator competição e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator alelopatia para cada espécie isoladamente. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos, que foi executado par a par.

Figura 3- Superfície radicular total e Comprimento radicular totalde *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator competição e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator alelopatia para cada espécie isoladamente. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos, que foi executado par a par.

Figura 4- Número de bifurcações radiculares de *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os valores dentro de cada tratamento. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Tabela 2 – Resultados das análises estatísticas para os dados de análises físico-químicas de solos onde foram avaliados os parâmetros pH-H₂O, P, K, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³, H+Al, SB, t e T. O solo analisado é proveniente de bioensaio para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T0 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos com alelopatia/com competição (sc/sm), com alelopatia/sem competição (sc/cm), sem alelopatia/com competição (cc/sm) e sem alelopatia/ com competição (cc/cm) do T1 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Tabela 3 – Resultados das análises estatísticas para os dados de análises físico-químicas de solos onde foram avaliados os parâmetros V, m, MO,P rem, S, B, Cu, Mn, Fe e Zn. O solo analisado é proveniente de bioensaio para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T0 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos com alelopatia/com competição (sc/sm), com alelopatia/sem competição (sc/cm), sem alelopatia/com competição (cc/sm) e sem alelopatia/ com competição (cc/cm) do T1 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Figura 5 - Curvas de rarefação da comunidade bacteriana obtida por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA de amostras de solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação a gramínea exótica invasora *U. decumbens* em casa de vegetação para avaliação da

competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição: sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição, com alelopatia/com competição). O gráfico (a) indica a diversidade microbiana baseada na riqueza observada e o gráfico (b) indica a diversidade microbiana baseada no índice de Shannon.

Figura 6 - Curvas de rarefação da comunidade bacteriana obtida por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA de amostras de solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação a gramínea nativa *P. notatum* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição: sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição, com alelopatia/com competição). O gráfico (a) indica a diversidade microbiana baseada na riqueza observada e o gráfico (b) indica a diversidade microbiana baseada no índice de Shannon.

Figura 7 - Frequência relativa dos filos representativos da comunidade bacteriana (abundantes e raros) do solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* ou com a gramínea nativa *P. notatum* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição). Os tratamentos de *U. decumbens* são: sem alelopatia/sem competição (amostras de Bra01 a Pas04), sem alelopatia/com competição (amostras de Pas06 a Pas09), com alelopatia/sem competição (amostras de Pas11 a Pas14) e com alelopatia/com competição (amostras de Pas16 a Pas19). Os tratamentos de *P. notatum* são: sem alelopatia/sem competição (amostras de Pas21 a Pas24), sem alelopatia/com competição (amostras de Pas26 a Pas29), com alelopatia/sem competição (amostras de Pas31 a Pas34) e com alelopatia/com competição (amostras de Pas36 a Pas39).

Tabela 4- Resultados das análises estatísticas da diversidade da comunidade microbiana em solo no qual foi plantado o arbusto nativo *L. aurea* em associação com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram carvão ativado (ausência de alelopatia) e malha filtro (ausência de competição). Executamos PERMANOVA para os dados de diversidade baseados na riqueza observada e no Índice de Shannon, considerando o $q\ value < 0.005$ de significância. O teste comparou os fatores do Grupo 1: carvão ativado (ausência de alelopatia), malha filtro (ausência de competição) e a interação entre os dois fatores; e os fatores resultantes no Grupo 2: com carvão ativado (ausência de alelopatia) /com malha filtro (ausência de competição), sem carvão ativado (presença de alelopatia)/com malha filtro (ausência de competição) e sem carvão (presença de alelopatia/sem malha filtro (presença de competição)).

Tabela 5- Resultados das análises estatísticas da diversidade da comunidade microbiana em solo no qual foi plantado o arbusto nativo *L. aurea* em associação com a gramínea nativa *P. notatum* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram carvão ativado (ausência de alelopatia) e malha filtro (ausência de competição). Executamos PERMANOVA para os dados de diversidade baseados na riqueza observada e no Índice de Shannon, considerando o $q\ value < 0.005$ de significância. O teste comparou os fatores do Grupo 1: carvão ativado (ausência de alelopatia), malha filtro (ausência de competição) e a interação entre os dois fatores; e os fatores resultantes no Grupo 2: com carvão ativado (ausência de alelopatia) /com malha filtro (ausência de competição), sem carvão ativado (presença de alelopatia)/com malha filtro (ausência de competição) e sem carvão (presença de alelopatia/sem malha filtro (presença de competição)).

Figura 8 - Análise de componentes principais (PCA) - dados relativos- das comunidades bacterianas associadas ao solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* junto com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em dois diferentes tratamentos de adição de carvão ativado em T0 (antes do plantio das espécies): com carvão ativado e sem carvão ativado; e em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição) no

tempo T1 (após o desmonte do bioensaio): sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição e com alelopatia/com competição.

Figura 9 - Análise de componentes principais (PCA) - dados relativos das comunidades bacterianas associadas ao solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação a gramínea nativa *P. notatum* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em dois diferentes tratamentos de adição de carvão ativado em T0 (antes do plantio das espécies): com carvão ativado e sem carvão ativado; e em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição) no tempo T1 (após o desmonte do bioensaio): sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição e com alelopatia/com competição.

Resumo Geral

A invasão por plantas exóticas tem sido uma barreira na restauração ecológica, que tem motivado a busca de estratégias de controle de invasoras em áreas a serem restauradas. Nesse sentido, o presente estudo foi elaborado em três capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma revisão da literatura sobre o estudo da alelopatia no contexto de invasões biológicas e restauração ecológica. Encontramos diferença acentuada no número de estudos por região ou continente, com a maioria deles realizados na América do Norte. Houve também maior porcentagem de estudos sobre espécies exóticas invasoras do que nativas, bem como estudos focados em invasões biológicas ao invés de restauração ecológica. Quanto aos métodos, houve maior quantidade de estudos desenvolvidos em condições controladas do que em condições naturais. A maioria dos estudos avaliou a alelopatia isoladamente, com apenas alguns trabalhos abordando a competição por recursos em sua metodologia. O segundo capítulo parte de estudos anteriores que apontaram o arbusto nativo *Lepidaploa aurea* como uma espécie com potencial para uso em plantios de restauração ecológica em áreas de Cerrado invadidas por gramíneas africanas, pois possui altas taxas de germinação, crescimento e cobertura do solo. O arbusto também apresentou fitotoxicidade em bioensaios laboratoriais com extratos foliares e extratos e lixiviados radiculares contra a gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens*. No entanto, estudos anteriores não avaliaram se a fitotoxicidade se aplicava à serapilheira. Assim, o segundo capítulo avaliou inicialmente se solos incubados por diferentes períodos com lixiviados de serapilheira de *L. aurea* possuíam ação fitotóxica sobre a espécie alvo *Lactuca sativa* em condições laboratoriais. Os ensaios mostraram que a serapilheira de *L. aurea* possui baixa fitotoxicidade, com a maior parte dos efeitos provocando o estímulo da planta alvo. Na sequência, foi realizado um experimento em vasos, em condições de casa de vegetação, para avaliação do potencial alelopático de *L. aurea*. A gramínea exótica invasora *U. decumbens* e a gramínea nativa *P. atratum* foram cultivadas isoladamente em vasos com e sem serapilheira do arbusto e com e sem adição de carvão ativado e após 90 dias os vasos foram desmontados para avaliar o crescimento e a biomassa da parte aérea e sistema radicular. Adicionalmente, avaliou-se a arquitetura das raízes. Concomitantemente, em um experimento paralelo, também em casa de vegetação, determinou-se a velocidade de decomposição da serapilheira por meio do cálculo da taxa de decomposição (k), da meia vida (T50%) e do tempo de residência (1/k). O solo do bioensaio em casa de vegetação com a serapilheira de *L.*

aurea foi coletado para realização de análises químicas. Os resultados demonstraram que a serapilheira *L. aurea* em decomposição possui baixo potencial alelopático sobre as espécies alvo, pois não provocou efeitos sobre o desenvolvimento de *U. decumbens* e *P. atratum* em casa de vegetação. A serapilheira de *L. aurea* apresentou baixa taxa de decomposição e tempo de residência elevado e não modificou as características químicas do solo. Por fim, o terceiro capítulo avaliou o potencial alelopático dos exsudados radiculares de *L. aurea* em um experimento em casa de vegetação em combinação com a competição por recursos abaixo do solo. Para isso, foi feito o plantio do arbusto em associação com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* ou com a gramínea nativa *Paspalum notatum* em vasos com e sem adição de carvão ativado (para atenuação da alelopatia) e com e sem inserção de malha filtro nos vasos (para atenuação da competição). O solo deste bioensaio foi coletado para análises químicas e de metagenômica da comunidade bacteriana. Foi constatado que a competição abaixo do solo entre *L. aurea* e *U. decumbens* e o potencial alelopático de *L. aurea* não produziram efeitos no desenvolvimento da gramínea exótica invasora, no entanto, na ausência da alelopatia, a competição entre de *L. Aurea* e *P. notatum* provocou efeitos negativos no crescimento aéreo e radicular da gramínea nativa. A duas interações (competição e alelopatia) modificaram as características químicas do solo, mas não a composição da comunidade bacteriana. Possivelmente algumas das modificações químicas no solo influenciaram os efeitos observados no crescimento de *P. notatum* por meio da redução de Ca^{2+} . O baixo potencial alelopático de *L. aurea* sobre *U. decumbens*, assim como a falta de efeitos da competição por recursos abaixo do solo no desenvolvimento da gramínea exótica em casa de vegetação, podem indicar que o bom desempenho do arbusto em plantios de restauração ecológica de áreas invadidas não é influenciado por essas duas interações. No entanto, aparentemente o arbusto é um bom competidor contra a gramínea nativa, que é uma espécie forrageira com comportamento e características semelhantes a grande parte das gramíneas exóticas invasoras de metabolismo C4. Portanto, seria válido estender as avaliações aqui realizadas para outras gramíneas exóticas invasoras presentes no Cerrado brasileiro.

Palavras chave: aleloquímicos, microbiota, novas armas, nutrientes, substrato.

General Abstract

Invasion by exotic plants has obstructed efforts of ecological restoration, motivating the search for strategies to control invasive species in areas to be restored. Focused on this problem, the present study is divided in three chapters. The first one is a literature review on allelopathy in the context of biological invasions and ecological restoration. There is a marked difference in the number of studies by region or continent — most of them were carried out in North America. There are also a higher percentage of studies on invasive species rather than native species, as well as studies focused on biological invasions rather than ecological restoration. As for the methods, there were more studies carried out under controlled conditions than under natural conditions. Most studies evaluated allelopathy in isolation, and only a few of them addressed competition for resources. The second chapter is based on previous studies that pointed out the native shrub *Lepidaploa aurea* as a species with potential for use in ecological restoration plantations in Cerrado areas invaded by African grasses, for its high rates of germination, growth and soil cover. This shrub also presented phytotoxicity in laboratory bioassays using leaf extracts and root leachates against the invasive exotic grass *Urochloa decumbens*. However, previous studies did not assess whether this finding applied to leaf litter. Thus, the second chapter initially evaluates whether soils incubated with *L. aurea* litter leachates for different periods had phytotoxic action on the target species *Lactuca sativa* under laboratory conditions. The assays found that *L. aurea* has low phytotoxicity, with most of the effects stimulating the target plant. Subsequently, an experiment was carried out in pots under greenhouse conditions to evaluate the allelopathic potential of *L. aurea*. The alien invasive grass *U. decumbens* and the native grass *P. atratum* were cultivated separately in pots with and without the shrub litter and with and without the addition of activated charcoal. After 90 days, the pots were dismantled to evaluate the growth and the biomass of the shoot and root system. The root architecture was also evaluated. Concomitantly, in a parallel experiment, also in a greenhouse, the litter decomposition rate was determined by calculating the decomposition rate (k), the half-life (T50%) and the residence time ($1/k$). The soil with *L. aurea* litter from the greenhouse bioassay was collected for chemical analysis. The results showed that the decomposing litter *L. aurea* has low allelopathic potential on the target species, as it did not cause any effects on the development of *U. decumbens* and *P. atratum* in the greenhouse. The litter of *L. aurea* showed a low rate

of decomposition and high residence time and did not change the chemical characteristics of the soil. Finally, the third chapter evaluates the allelopathic potential of *L. aurea* root exudates combined with competition for resources below the ground in a greenhouse experiment. The shrub was planted in association with the invasive alien grass *U. decumbens* or with the native grass *Paspalum notatum* in pots with and without activated carbon (to attenuate allelopathy) and with and without mesh filters (to attenuate the competition). The soil was collected for a chemical and metagenomic analysis of the bacterial community. It was found that underground competition between *L. aurea* and *U. decumbens* and the allelopathic potential of *L. aurea* had no effect on the development of the invasive exotic grass, however, in the absence of allelopathy, competition between *L. aurea* and *P. notatum* caused negative effects on aerial and root growth of the native grass. The two interactions (competition and allelopathy) altered the soil chemical characteristics, but not the bacterial community composition. Possibly some of the chemical changes in the soil influenced the observed effects on the growth of *P. notatum* through the reduction of Ca^{2+} . The low allelopathic potential of *L. aurea* on *U. decumbens*, as well as the lack of effects of competition for belowground resources on the development of exotic grass in the greenhouse, may indicate that the good performance of the shrub in ecological restoration plantations of invaded areas is not influenced by these two interactions. However, apparently the shrub is a good competitor against the native grass, which is a forage species with behavior and characteristics similar to most invasive exotic grasses with C4 metabolism. Therefore, it would be valid to extend the evaluations carried out here to other invasive exotic grasses present in the Brazilian Cerrado.

Keywords: allelochemicals, microbiota, new weapons, nutrients, substrate.

Introdução Geral

As invasões biológicas estão incluídas entre as mudanças ambientais globais (Millenium Ecosystem Assessment 2005; Courchamp et al. 2017) que vêm desafiando a conservação da biodiversidade e de ecossistemas (Mack et al. 2000; TEEB 2010). No Cerrado, as mudanças de uso da terra predominantemente para implantação de agricultura e pecuária, têm sido responsáveis pela conversão de grandes áreas de ecossistemas naturais em pastagens plantadas, na maioria das vezes, com gramíneas C4 africanas (Pivello 2011, Damasceno et al. 2018). Entre tais espécies, algumas se deslocam para áreas naturais resultando em invasões biológicas (Lockwood et al.2007; Sampaio e Schmidt 2013).

A maioria das teorias propostas para explicar o sucesso de plantas exóticas invasoras em novos ambientes é baseada na competição por recursos e assume que as espécies que prevalecem são aquelas com capacidade competitiva superior (Bakker e Wilson 2001). De fato, há evidências que sugerem que os mecanismos baseados em recursos desempenham um papel importante no sucesso de invasões de plantas (Hiero e Callaway 2003; Nickerson e Flory 2015). Muitas plantas exóticas invasoras, por exemplo, crescem rapidamente e são altamente eficientes na captação, uso e alocação de recursos limitados (Daehler 2003; Hagan et al. 2013), características que explicam, em parte, as alterações e impactos na comunidade de plantas nativas dos locais invadidos.

Embora a competição por recursos provavelmente desempenhe um papel importante na maioria das invasões de plantas exóticas, os mecanismos baseados em recursos isoladamente podem não explicar adequadamente o sucesso de algumas espécies exóticas invasoras (Vila et al. 2011; Pysek et al. 2012). A propensão de certas espécies de formar monoculturas densas, por exemplo, sugere que interações adicionais

também podem estar envolvidas nos processos de invasões biológicas (Hiero e Callaway 2003), como por exemplo, a capacidade de afetar quimicamente as plantas vizinhas, por meio da liberação de compostos secundários desconhecidos e tóxicos contra a comunidade nativa (Callaway e Aschehoug 2000; Callaway e Ridenour 2004; Uddin et al. 2020).

O controle das invasões biológicas em ambientes naturais por meio de técnicas de restauração ecológica vem demonstrando resultados positivos (Balandier et al. 2009; Palma e Laurence 2015). Em áreas campestres e savânicas, caracterizadas pela coexistência de gramíneas, arbustos e árvores, plantios de restauração com o uso da técnica de semeadura direta têm se mostrado eficientes para o restabelecimento de espécies nativas (Balandier et al. 2009; Campos-Filho et al. 2013; Pellizzaro et al. 2017). Para o sucesso desta técnica, a escolha das espécies que serão utilizadas nos plantios é de fundamental importância e a identificação de características de espécies nativas que dificultem a invasão por espécies exóticas pode ser útil (Popovici et al. 2011; Cummings et al. 2012; Christina et al. 2015; Palma e Laurence 2015).

Assim como acontece com grande parte das plantas exóticas invasoras, alguns estudos pontuam que certas características funcionais podem ser importantes para o sucesso das espécies nativas usadas em restauração ecológica, como por exemplo, boa capacidade competitiva (Pearson e Vitousek 2001; Jones et al. 2004; Joo Kim et al. 2008; Pysek et al. 2012) e potencial alelopático contra as espécies invasoras (Cummings et al. 2012; Ning et al. 2016).

Alelopátia é a influência positiva ou negativa que compostos secundários produzidos por uma planta, quando liberados no meio ambiente, tem sobre o crescimento de plantas vizinhas, sendo denominados de aleloquímicos os metabólitos secundários envolvidos nas interações alelopáticas (Ferreira 2004). A alelopátia é um

fenômeno natural e tem sido reconhecido como um importante mecanismo ecológico que influencia a dominância vegetal, a sucessão, a formação de comunidades vegetais e de vegetação clímax (Chon e Nelson 2010; Meiners 2014).

Os aleloquímicos podem ser encontrados em diferentes concentrações em várias partes das plantas (folhas, caules, raízes, rizomas, sementes, flores e até pólen) (Bertin et al. 2003; Gatti et al. 2004) e a sua liberação no ambiente varia entre espécies. As vias de liberação de aleloquímicos mais comuns são a exsudação e a deposição na superfície da folha com posterior lavagem pela chuva, a exsudação de compostos voláteis de partes vivas da planta, a decomposição de resíduos vegetais (por exemplo, serapilheira ou raízes mortas) e a exsudação radicular (Olofsdotter et al. 2002; Chon et al. 2006; Sangeetha e Baskar 2015). Portanto, é importante considerar o maior número de partes das plantas e de vias de liberação de aleloquímicos ao se analisar o potencial alelopático de espécies vegetais.

Diferentes tipos de estresse abiótico e biótico podem alterar a produção e liberação de aleloquímicos durante o ciclo das plantas. Seca, irradiação e temperatura (Cseke e Kaufman 2006), limitação de nutrientes (Einhellig 1996), presença de competidores (Fitzpatrick et al. 2019), e danos causados por insetos (Thelen et al. 2005) têm sido apontados como fatores que podem causar aumento da liberação de aleloquímicos de plantas.

Uma vez liberados no solo pela planta doadora, os aleloquímicos entram em um complexo sistema solo-planta em que diversos fatores afetam sua disponibilidade e, conseqüentemente, sua influência efetiva nas plantas-alvo (Kruse et al. 2000; Pires e Oliveira 2011). A lixiviação, alguns processos físico-químicos, a degradação microbiana e a absorção pelas plantas são fatores que podem reduzir a concentração de aleloquímicos no solo (Inderjit 2001; Gomes et al. 2017).

Sendo assim, compreender as interações alelopáticas entre plantas em uma comunidade não é uma tarefa simples (Inderjit e Nilsen 2003; Del Fabbro et al. 2014). Uma série de mecanismos deve ser considerada como, por exemplo, o tempo de permanência dos aleloquímicos nos tecidos vegetais após sua liberação da planta e o papel do substrato e dos microrganismos na atividade alelopática (Macías et al. 2007; Lankau 2009; Cipollini et al. 2012; Parepa e Bossdorff 2016). Neste sentido, a alelopatia precisa ser investigada tendo em conta a influência do ambiente (Lankau 2009; Reigosa et al. 2013; Shannon-Firestone e Firestone 2015) e as características das espécies envolvidas (Chon e Nelson 2010; Meiners et al. 2012; Meiners et al. 2014).

Em condições naturais, as interações entre plantas ocorrem em intensa associação e testes para evidenciar efeitos alelopáticos de plantas *in situ* podem revelar a importância relativa da alelopatia em comparação com os efeitos da competição por recursos. Portanto, avaliar a alelopatia de forma isolada pode gerar resultados que não se reproduzem em comunidades naturais (Hiero e Callaway 2003; Qin et al. 2018).

Apesar da alelopatia normalmente poder estar subjacente aos efeitos da competição entre plantas invasoras e nativas, desenhos experimentais para determinar se os efeitos de uma planta sobre outra são devidos à alelopatia são pouco implementados (Nickerson e Flory 2015). Para separar os efeitos da competição por recursos dos da alelopatia, experimentos podem ser conduzidos onde as plantas nativas são cultivadas com e sem competição com as espécies exóticas invasoras e os potenciais compostos alelopáticos no solo são manipulados no local (Nilsson 1994, Qasem 2017).

Em experimentos de restauração ecológica realizados desde 2012 no Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros (GO) e na Reserva Biológica da Contagem (DF), a espécie arbustiva nativa do cerrado, *Lepidaploa aurea* (Asteraceae), demonstra grande sucesso no estabelecimento e cobertura do solo (Sampaio et al. 2015; Pelizzaro et al.

2017). Em locais onde há este arbusto é comum observar a sua ocorrência em manchas densas e nestas áreas é possível observar uma significativa redução na ocorrência de gramíneas invasoras sem, contudo, aparentemente afetar a presença de outras espécies nativas, especialmente arbóreas (Lopes et al. 2016). Isto talvez indique mecanismos de controle específico de espécies exóticas.

Propriedades fitotóxicas de *L. aurea* foram identificadas em três experimentos em condições laboratoriais, tanto em espécies modelo (cultivares comumente usados em testes de alelopatia) (Lopes et al. 2017) como em espécies de gramíneas exóticas invasoras (Lopes et al. 2018). O primeiro bioensaio utilizou como espécies alvo as espécies modelos *Solanum lycopersicum*, *Raphanus sativus*, *Lactuca sativa* e *Sorghum bicolor*, que foram expostas a várias concentrações de extratos aquosos de folhas jovens e de raízes de *L. aurea* em placas de Petri cobertas com papel filtro e em solo autoclavado e não autoclavado, e apresentaram inibição tanto da parte aérea como da parte radicular (Lopes et al. 2017). O segundo bioensaio foi feito com cinco espécies alvo: duas gramíneas exóticas invasoras *Urochloa decumbens* e *Andropogon gayanus*; e três espécies nativas, sendo uma gramínea: *Loudetiopsis chrysothrix* e duas arbóreas: *Copaifera langsdorffii* e *Acacia polyphylla*. Para a realização deste bioensaio também foram utilizados extratos aquosos de folhas jovens e de raízes de *L. aurea*, que foram dispostos em sementeiras preenchidas com vermiculita de textura fina. Os extratos inibiram o crescimento das duas gramíneas exóticas invasoras, mas não provocaram efeitos nocivos sobre as espécies nativas (Lopes et al. 2018). No terceiro bioensaio, foram usadas as mesmas espécies alvo do segundo experimento, as quais foram plantadas em sementeiras contendo solo com lixiviados de *L. aurea*, no qual a planta foi previamente cultivada por seis meses. Neste último bioensaio, o crescimento radicular

de *U. decumbens* foi inibido e o crescimento aéreo de *C. langsdorffii* foi estimulado (Lopes et al. 2018).

Apesar das evidências de fitotoxicidade foliar e radicular em *L. aurea*, estudos em condições mais próximas das naturais ainda são necessários para entender alguns dos mecanismos da interação alelopática, como por exemplo, as modificações nas características do solo durante a interação com as plantas alvo, os efeitos da serapilheira de *L. aurea* ao longo do seu período de decomposição e os efeitos de exsudados radiculares do arbusto em interação com a competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea* e outras espécies.

As observações de campo de que a presença de *L. aurea* afeta de forma mais evidente o desenvolvimento de gramíneas exóticas do que o de espécies nativas podem ser explicadas pela hipótese “homeland security” (segurança ou defesa de território) proposta por Cummings et al. (2012), que estabelece que plantas introduzidas podem ser particularmente suscetíveis a aleloquímicos produzidos por espécies de plantas nativas locais, uma vez que não possuem uma história evolutiva compartilhada. No entanto, antes de aceitar esta hipótese como verdadeira, outros aspectos precisam ser observados, como, por exemplo, se a suscetibilidade aos aleloquímicos de *L. aurea* não é influenciada por questões relacionadas às características morfológicas, fisiológicas ou funcionais das espécies alvo (Meiners 2014). A realização de bioensaios usando espécies alvo exóticas e nativas com características morfofisiológicas e funcionais semelhantes é necessária para compreender esses mecanismos.

Com base em informações prévias sobre a potencial fitotoxicidade de *L. aurea* (Lopes et al. 2017), assim como o seu bom desempenho em projetos de restauração ecológica de áreas invadidas por gramíneas africanas no Cerrado (Sampaio et al. 2015,

Pellizzaro et al. 2017), o objetivo geral deste estudo é identificar experimentalmente o potencial alelopático de *L. aurea* sobre uma gramínea exótica invasora e outra nativa.

O estudo encontra-se dividido em três capítulos descritos a seguir com seus objetivos gerais:

O capítulo 1 apresenta uma revisão sistemática sobre estudos de alelopatia no contexto de invasões biológicas ou de restauração ecológica, e teve o objetivo de apontar as lacunas relacionadas ao escopo geográfico, à aplicação prática e aos aspectos metodológicos dos estudos de alelopatia em ambientes invadidos por plantas exóticas ao redor do mundo.

O capítulo 2 expõe um trabalho no qual foram realizados três bioensaios com a serapilheira de *L. aurea* em decomposição com a finalidade de identificar o potencial alelopático da planta sobre o crescimento inicial de uma gramínea exótica invasora (*U. decumbens*) e outra gramínea nativa (*Paspalum atratum*), em condições de casa de vegetação.

Por fim, o capítulo 3 apresenta a avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático radicular de *L. aurea* sobre duas gramíneas, uma exótica invasora (*U. decumbens*) e uma nativa (*Paspalum notatum*), usando uma metodologia para atenuação dos dois mecanismos de interferência, de forma que seus efeitos foram observados isoladamente e em interação.

Referências bibliográficas

- Bakker J and Wilson S (2001) Competitive abilities of introduced and native grasses. *Plant Ecol* 157(2): 119-127
- Balandier P, Frochot H and Sourisseau A (2009) Improvement of direct tree seeding with cover crops in afforestation: Microclimate and resource availability induced by vegetation composition. *Forest Ecol Manag* 257:1716-1724
- Bertin C, Yang X and Weston LA (2003) The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil* 256:67-83
- Callaway RM and Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521-523
- Callaway RM and Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2:436-443
- Campos-Filho EM, Da Costa JN, De Sousa OL and Junqueira RG (2013) Mechanized Direct-Seeding of Native Forests in Xingu, Central Brazil. *Journal of Sustainable Forestry* 32:702-27
- Chon SU and Nelson CJ (2010) Allelopathy in Compositae plants: a review. *Agron Sust Dev* 30:349-358
- Chouchamp F, Fournier A, Bellard C, et al. (2017) Invasion biology: specific problems and possible solutions. *Trends Ecol Evol* 32: 13-22
- Christina M, Rouified S, Vallier F, Meiffren G, Bellvert F and Piola F (2015) Allelopathic effect of a native species on a major plant invader in Europe. *Sci Nat* 102(3): 1-8
- Cipollini D, Rigsby CM and Barto EK (2012) Microbes as targets and mediators of allelopathy in plants. *J. Chem. Ecol.* 38: 714-727
- Cseke LJ and Kaufman PB (2006) Regulation of metabolite synthesis in plants. *Nat Prod Plants*: 91-122
- Cummings JA, Parker IM and Gilbert GS (2012) Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration, *Plant Ecol* 213:1975-1989
- Daehler CC (2003) Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: implications for conservation and restoration. *Annual Rev EcolEvolSyst* 34(1): 183-211
- Damasceno G, Souza L, Pivello VR, Gorgone-Barbosa E, Giroldo PZ and Fidelis A (2018) Impact of invasive grasses on Cerrado under natural regeneration. *Biol Invasions* 20(12): 3621-3629
- Del Fabbro C, Gusewell S and Prati D (2014) Allelopathic effects of three plant invaders on germination of native species: a field study. *Biol Invasion* 16:1035-1042

- Einhellig FA (1996) Interactions involving allelopathy in cropping systems, *Agron. J.* 88:886-893
- Ferreira AG (2004) Interferência, competição e alelopatia. In: Ferreira AG & Borghetti F (eds). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed p.251-262
- Fitzpatrick CR, Mustafa Z and Viliunas J (2019) Soil microbes alter plant fitness under competition and drought. *J Evol Biol* 32 (5): 438-450
- Gatti AB, Perez SC and Lima MIS (2004) Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Bot Bras* 18:459-472
- Gomes MP, Garcia QS, Barreto LC, Pimenta LPS, Matheus MT and Figueredo CC (2017) Allelopathy: An overview from micro-to macroscopic organisms, from cells to environments, and the perspectives in a climate-changing world. *Biologia* 72(2): 113-129
- Hagan DL, Jose S and Lin C (2013) Allelopathic Exudates of Cogongrass (*Imperata cylindrica*): Implications for the Performance of Native Pine Savanna Plant Species in the South eastern US. *J Chem Ecol* 39: 312-322
- Hierro JL and Callaway RM (2003) Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant Soil* 256:29-39
- Inderjit (2001) Soil:environmental effects on allelochemical activity. *Agron J* 93:79-84.
- Inderjit, Kaur M, Foy CL (2001) On the significance of field studies in allelopathy. *Weed Technol* 15:792-797
- Inderjit and Nilsen ET (2003) Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: progress and problems. *Crit Rev Pl Sci* 22:221-238
- Jones ER, Wishnie MH, Deago J, Sautu A and Cerezo A (2004) Facilitating natural regeneration in *Saccharum spontaneum* (L.) grasslands within the Panama Canal watershed: effects of tree species and tree structure on vegetation recruitment patterns. *For Ecol Manag* 191:171-183
- Joo Kim T, Montagnini F and Dent D (2008) Rehabilitating abandoned pastures in Panama: control of the invasive exotic grass, *Saccharum spontaneum* L., using artificial shade treatments. *J Sustain For* 26:192-203
- Kruse M, Strandberg M and Strandberg B(2000) Ecological effects of allelopathic plants – a review. NERI Technical Report No. 315, National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark
- Lankau R (2010) Soil microbial communities alter allelopathic competition between *Alliaria petiolata* and a native species. *Biol Invasions* 12:2059-2068
- Lockwood JL, Hoopes MF and Marchetti MP (2007) *Invasion Ecology*. Victoria, Australia: Blackwell

- Lopes PG (2016) Alelopatia em *Lepidaploa aurea* (Asteraceae) como ferramenta de restauração ecológica: potencial para o controle de gramíneas exóticas invasoras no Cerrado. Dissertation, University of Brasília, Brasília
- Lopes PG, Oliveira SCC, Salles KA, et al. (2018) Allelopathy of a native shrub can help control invasive grasses at sites under ecological restoration in a Neotropical savanna. *Plant Ecol Div* 11(4):527-538
- Lopes PG, Salles KA, Oliveira SCC, Sampaio AB and Schmidt IB (2017) Evidence of phytotoxicity in a fast growing shrub useful for savanna restoration in Central Brazil. *Braz J Bot* 40(3): 643-649
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M and Bazzaz FA (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Applications* 10:689-710
- Macías FA, Molinillo JMG, Varela RM, Galindo JGC (2007) Allelopathy - a natural alternative for weed control. *Pest Manag Sci* 63: 327-348
- Meiners SJ (2014) Functional correlates of allelopathy potential in a successional plant community. *Plant Ecol* 215: 661-672
- Millennium Ecosystem Assessment (2005) *Ecosystems and Human Well-Being: Current State and Trends: Findings of the Condition and Trends Working Group*, Island Press
- Meiners SJ, Kong C-H, Ladwig LM, et al. (2012) Developing an ecological context for allelopathy. *Plant Ecol* 213: 1861-1867
- Nickerson K and Flory SL (2015) Competitive and allelopathic effects of the invasive shrub *Schinus terebinthifolius* (Brazilian peppertree). *Biol Invasions* 17: 555-564
- Nilsson MC (1994) Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. *Oecologia* 98:1-7
- Ning L, Yu FH and Van Kleunen M (2016) Allelopathy of a native grassland community as a potential mechanism of resistance against invasion by introduced plants. *Biol Invasions* 18:3481-3493
- Olofsson M, Jensen LB and Courtois B (2002) Improving crop competitive ability using allelopathy - An example from rice. *Plant Breed* 121:1-9
- Palma AC and Laurance SGW (2015) A Review of the Use of Direct Seeding and Seedling Plantings in Restoration: What Do We Know and Where Should We Go? *Appl Veg Sci*. 18:561-68
- Parepa M and Bossdorf O (2016) Testing for allelopathy in invasive plants: it all depends on the substrate! *Biol Invasions* 18: 2975-2982
- Pearson HL and Vitousek PM (2001) Stand dynamics, nitrogen accumulation, and symbiotic nitrogen fixation in regenerating stands of *Acacia koa*. *Ecol Appl* 11:1381-1394

- Pellizzaro KF, Cordeiro AOO, Alves M, et al. (2017) Cerrado restoration by direct seeding: field establishment and initial growth of 75 trees, shrubs and grass species. *Braz J Bot* 4:1-13
- Popovici J, Bertrand C, Jaquemoud D, Bellvert F, Fernandez MP, et al. (2011) An allelochemical from *Myrica gale* with strong phytotoxic activity against highly invasive *Fallopia x bohemica*taxa. *Molecules MDPI* 16: 2323-2333
- Pires NM andOliveira VR (2011) Alelopatia. Embrapa Hortaliças – Capítulo 5 livro técnico-científico, pp 95-124
- Pivello VR (2011) Invasões Biológicas no Cerrado Brasileiro: Efeitos da Introdução de Espécies Exóticas sobre a Biodiversidade. *ECOLOGIA. INFO* 33. Disponível em: <http://www.ecologia.info/cerrado.htm>. Acesso em 23 de dezembro de 2021
- Pysek P, Jarosik V, Hulme PE, Pergl J, Hejda M, Schaffner U and Vila M (2012) A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems: the interaction of impact measures, invading species traits and environment. *Glob Change Biol* 18:1725-1737
- Qasem JR (2017) A new technology separating allelopathy from competition in pot experiments. *Int J Agric Sc Food Technol* 3: 19-25
- Qin F, Liu S and Yu S (2018) Effects of allelopathy and competition for water and nutrients on survival and growth of tree species in *Eucalyptus urophylla* plantations. *For Ecol Manag* 424: 387-395
- Reigosa M, Gomes AS, Ferreira AG and Borghetti F (2013) Allelopathic research in Brazil. *Acta Bot Bras* 27:629-646
- Sampaio AB, Vieira DLM, Cordeiro AOO, et al. (2015) Guia de restauração do cerrado, volume 1: semeadura direta. Universidade de Brasília e Rede de Sementes do Cerrado, Brasília
- Sampaio AB and Schmidt IB (2013) Espécies exóticas invasoras em unidades de conservação federais do Brasil. *Biod Bras* 3: 32-49
- Sangeetha C and Baskar P (2015) Allelopathy in weed management: A critical review. *Afri J Agric Res* 10(9): 1004-1015
- Shannon-Firestone S and Firestone J (2015) The allelopathic potential of invasive species is determined by the context of the plant community and soil. *Plant ecol* 216 (3): 491-502
- TEEB (2010) *The Economics of Ecosystems and Biodiversity: Ecological and Economic Foundations*, Earthscan
- Thelen GC, Vivanco JM, Newingham B, et al. (2005) Insect herbivory stimulates allelopathic exudation by an invasive plant and the suppression of natives. *EcolLet* 8(2): 209-217

Uddin MN, Asaeda T, Shampa SH and Robinson RW (2020) Allelopathy and its coevolutionary implications between native and non-native neighbors of invasive *Cynara cardunculus* L. *Ecol Evol* 10(14): 7463-7475

Vila M, Espinar JL, Hejda M, Hulme PE, Jarosik V, Maron JL, Pergl J, Schaffner U, Sun Y and Pysek P (2011) Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on

Chapter 1

Allelopathy in the context of Biological Invasions and Ecological Restoration: A Systematic Global Review

Abstract

Allelopathy has been studied in the context of biological invasions in the past few decades. Most of the studies consider this interaction as one of the characteristic of introduced plants that facilitate the success of biological invasions. The study of allelopathy in invaded environments can also focus on the ecological restoration of these areas. These types of work have become more common in the last decade and, generally, they intend to investigate allelopathic interactions as a form of defense of territory or resistance to invasion. There is a wide range of methods and approaches regarding allelopathy studies on invasive or native species. In order to understand allelopathy relating biological invasions, we proceeded to a global quantitative systematic review, considering studies published in the last 20 years, based on nine predefined parameters. We found a significant difference in the number of studies by region or continent, with most of them carried out in North America while megadiverse regions in the tropics remain understudied. There was also a higher percentage of studies on invasive alien species rather than native ones, as well as studies focused on biological invasions rather than ecological restoration. Regarding the methods, there was a greater amount of studies developed under controlled conditions than under natural conditions. Most studies evaluated allelopathy alone with only a few addressed competition for resources as one of the mechanisms influencing biological invasions. Priority should be given to allelopathy studies in invaded environments in Africa, Central and South America and Oceania, with the use of native grass and tree species, aiming at the ecological restoration, because these two forms of life were little considered in the studies. It is also important to include the competition for resources in the evaluation of the allelopathic potential of plants, as well as to conduct more studies under natural conditions.

Keywords: New Weapons, homeland security, phytotoxicity, plant life form.

1. Introduction

Plants constitute a significant part of existing invasive species and threaten the balance of ecosystems and the integrity of plant communities around the world (Richardson et al. 2000; Murrel et al. 2011; Hagan et al. 2013; Diagne et al. 2021).

The good performance of invasive plants in colonizing new environments has been attributed to a variety of mechanisms that offer advantages over native species (Levine et al. 2003; Cipollini and MacCalain 2008; Godoy 2019). These advantages include: inherent ecological characteristics such as higher rates of growth, reproduction, and resource use (Grotkopp et al. 2002; Funk and Vitousek 2007; Chabrierie et al. 2019); rapid evolution against threats in the colonized area (Bossdorf et al. 2005); release of natural enemies and consequent increased competitive capacity (Keane and Crawley 2002) and the production of phytotoxic compounds unknown by the invaded community (Callaway and Aschehoug 2000; Callaway and Ridenour 2004; He et al. 2008; Simberloff et al. 2021).

Allelopathy, or the effect caused by secondary metabolites of some plants on the development of neighboring plants (Ferreira and Aquila 2000; Pires and Oliveira 2011), has been discussed in the context of biological invasions since Rabotnov (1982) proposed an evolutionary approach to this interaction. The author argues that allelopathic interactions are insignificant or neutral in co-evolved plant communities, in which species share a biogeographic region, whereas they are strong in communities whose members do not share an evolutionary past. In general, the main focus of these studies is to evaluate the allelopathic potential of the invasive alien species on the native community (Barbosa et al. 2008; Thorpe et al. 2009; Douglas et al. 2011; Gibson et al. 2011; Portales-Reyes et al. 2015; Mello and de Oliveira 2016).

Rabotnov's (1982) ideas influenced studies on allelopathy in invaded environments. In general, research in this strand of work intends to assess whether the phytotoxic or allelopathic effects of invasive plants in the introduced area are also observed in the native community of their original area. Based on this, Callaway and Ridenour (2004) proposed New Weapons Theory, focused on the analysis of allelopathy considering the biogeographic factor, suggesting plants without an evolutionary history of coexistence are more likely to suffer inhibitory effects when in contact with unknown chemical compounds.

Ecological impacts of invasive alien species include competition, predation, hybridization with native species, changes in ecosystem processes, loss of biodiversity and increased occurrence of plagues and diseases (Grosholz 2002; Bruno et al. 2005; Hess et al. 2019). The increased environmental degradation caused by biological invasions, in turn, progressively facilitates the establishment of introduced alien species and the emergence of new invasion processes (Dickey et al. 2018).

An efficient way of controlling invasive alien species is to manage ecosystems enabling the restoration of native vegetation and the original ecosystem processes. This practice is known as ecological restoration and considered a very effective technique to combat biological invasions (Balandier et al. 2009; Durigan et al. 2013; Palma and Laurence 2015; Hess et al. 2019). The practice of ecological restoration requires not only the evaluation of the characteristics of the introduced species, but also those of the native species of the invaded site. In fact, it is well established that successful biological invasion depends, among other factors, on interactions between alien species and the local native community (Verhoeven et al. 2009; Pearse et al. 2013; Qin et al. 2013; van Kleunen et al. 2015).

Native plants with high rates of growth, reproduction and establishment can be useful to maximize the success of ecological restoration of invaded environments, because these characteristics directly relate to a good competitive capacity (Wishnie et al. 2007). Another important parameter to be considered in the selection of native species for ecological restoration projects is their allelopathic potential, since allelopathy in native species can be a mechanism for inhibiting the development of competing alien species (Cummings et al. 2012; Christina et al. 2015; Ning et al. 2016). When evaluating the allelopathic potential of native species, it can be expected the occurrence of a process opposed to that proposed in the New Weapons Theory, in which the allelochemicals of resident plants, unknown to the invasive alien species, might have an inhibitory effect on their development (Popovici et al. 2011; Christina et al. 2015; Ning et al. 2016). This is the main premise of Homeland Security hypothesis (Cummings et al. 2012).

In addition to the selection of native species with allelopathic potential, efforts to control invasive alien plants and restore invaded areas can be optimized with the establishment of native species that are resistant or less susceptible to invasive allelopathic compounds (Alford et al. 2009; Barto et al. 2010; Whu et al. 2015; Lyytinen and Lindström 2019).

Since Rabotnov (1982), there were more studies on allelopathic interactions related to biological invasions, especially in the last 20 years. All over the world, it is possible to find works that use allelopathy not only for a better understanding of ecosystem dynamics, but also for a more applied perspective (da Silva et al. 2017; Lone et al. 2019; Kalisz et al. 2021). However, there still are few studies that intend to manage invaded areas. These studies are mostly under controlled conditions. The evaluation of allelopathy under natural conditions is still not prioritized.

Understanding how and where allelopathy has been studied regarding biological invasion processes and ecological restoration is important to assess the current outlook of research in this area, pointing out some of the existing biases and contributing to the planning of potential corrective actions. In this systematic review of allelopathy, quantitative data were used to highlight general and current trends in allelopathy research related to biological invasions, focusing on pre-defined approaches and methods used by the authors. The purpose of this work was to point out the gaps related to the geographic scope, the practical application and the methodological aspects of allelopathy studies in environments invaded by alien plants around the world.

2. Methods

The research was conducted on Portal de Periódicos Capes (<https://www.periodicos.capes.gov.br>), through Web of Science database, using the term “allelopathy” in combination with the terms “biological invasions” and “ecological restoration”, with filter option enabled for the last 20 years (from 2000 to 2020), considering only peer-reviewed articles. These terms should appear in the titles, abstracts or keywords. The search results found 355 articles, added to the search base until October 20, 2020.

To be selected, the articles should have attended the following requirements: (a) only direct or indirect allelopathic interactions among plants; (b) allelopathy in a context of biological invasions and/or ecological restoration and (c) an experimental work or a review article. After evaluating the 355 articles, we selected 63 of them. There were also included other nine articles that were not found in this search but obtained in previous selections. They were added due to their relevance to the matter at hand, and

all of them met the pre-established selection requirements. Thus, after selection, there were 72 articles analyzed.

The information on the 72 articles was classified according to nine parameters, each one of them with its specific variables (tab. 1). Regarding parameter 1 (Study Region), when the study was not carried out in the field, but in a controlled environment, it was considered the place where the donor species were collected or the greenhouse where the experiment was carried out.

We also evaluated parameters related to the focal species of the study. Parameter 2 refers to if the plant was native or alien invasive to understand whether allelopathy was approached as a mechanism to promote the success of the biological invasion (if the focal species was an alien one) or as a defense or resistance mechanism against invasion (if the focal species was native). Parameter 3 regards the plant life form of the focal species.

We defined the parameter 4 (Study Approach) to identify among all the selected studies related to biological invasions, those that addressed ecological restoration. According to this parameter, for the variable “ecological restoration”, it was considered not only studies that evaluated allelopathy in already implemented ecological restoration projects, but also studies that aimed to control invasive species or that could contribute to the planning of potential ecological restoration actions.

Parameter 5 (Study Category) separates experimental works from review or opinion articles, here considered in the same category. This distinction was necessary because parameters 6, 7, 8 and 9 (Study System, Approach to Competition, Main Result and Main Conclusion) were not considered in the evaluation of review articles. Parameter 3 (Life Form) was only considered in works focused on a specific species.

Parameter 6 (Study System) was included to evaluate the methods used in the studies. In general, laboratory bioassays only determine the phytotoxicity of the evaluated plant (Inderjit and Weston 2000; Blum 2011), whereas bioassays under greenhouse conditions can define phytotoxicity or allelopathic potential, and allelopathy itself might be observed, but not necessarily, under natural or field conditions (Lankau et al. 2010).

Parameter 7 (Approach to Competition) was included to separate studies which evaluated only allelopathy as one of the mechanisms explaining success or resistance to invasion, from studies that included, in addition to allelopathic effects, competition for resources as an important variable in the dynamics of biological invasions.

According to parameter 8 (Main Result), the “positive” variable indicates the studies in which it was possible to verify the occurrence of phytotoxicity, allelopathic potential or allelopathy of the plant of interest, and the “negative” variable refers to the studies in which there was no such evidence.

Even after carrying out field experiments and achieving positive results, some of the reviewed studies were not thoroughly incisive in their conclusions, mostly indicating only probable allelopathic potential. So, in parameter 9 (Main Conclusion), it was considered what the study concluded, regard less of the study system.

Table 1 – Parameters and their variables evaluated in allelopathy/phytotoxicity studies of invaded environments. The search was carried out in the “Web of Science” database through Portal de Periódicos Capes and included 72 articles.

Evaluated Parameter	Specific Variables
1- Study Region	Africa, Central America, North America, South America, Asia, Europe and Oceania
2- Focal Species	Invasive and Native
3- Life Form	Trees, Shrubs, Grasses and Herbs
4- Study Approach	Biological Invasions and Ecological Restoration
5- Study Category	Experimental and Review
6- Study System	Field, Greenhouse and Laboratory
7- Approach to Competition	No and Yes
8- Main Result	Negative and Positive
9- Main Conclusion	Allelopathy, Phytotoxicity, Allelopathic Potential and Potential Allelopathy Resistance

3. Results and Discussion

3.1. Allelopathic Interactions in Invaded Environments: Where do they occur and which species are studied?

Most of them were executed in the 2010s, and 2015 was the year with the most published studies on the subject (fig. 1). Allelopathy studies focused on biological invasions have been carried out in all continents. The most contemplated continent was North America, with 38% of the total (fig. 2a) — except for a Canadian study (Harnden et al. 2011); all of them were carried out in the United States of America (USA). Europe and Asia presented a very similar number, adding up to 43% of the total. Africa, Central America and Oceania were poorly represented in terms of studies recovered by the review — Africa and Oceania were contemplated with two studies each (Goodall et al. 2010, Ghebrehiwot et al. 2013; Ens et al. 2009; Uddin et al. 2014), and Central America only one study (Cummings et al. 2012). South American studies were mainly carried out in Brazil, and only one study took place in Venezuela (Perez et al. 2012).

The unequal regional distribution of studies is worrisome, since biological invasions are a global challenge. If this problem ought to be really understood and effectively addressed, efforts to assess how allelopathic interactions influence the process of biological invasions must be prioritized in regions that are least contemplated by these types of research. It is important to point out that in a significant part of the least contemplated areas there is great biological diversity or there are zones defined as biodiversity hotspots (Meyers et al.2000; Garcia et al.2014; Trew and Maclean 2021), which makes prioritizing these studies even more urgent.

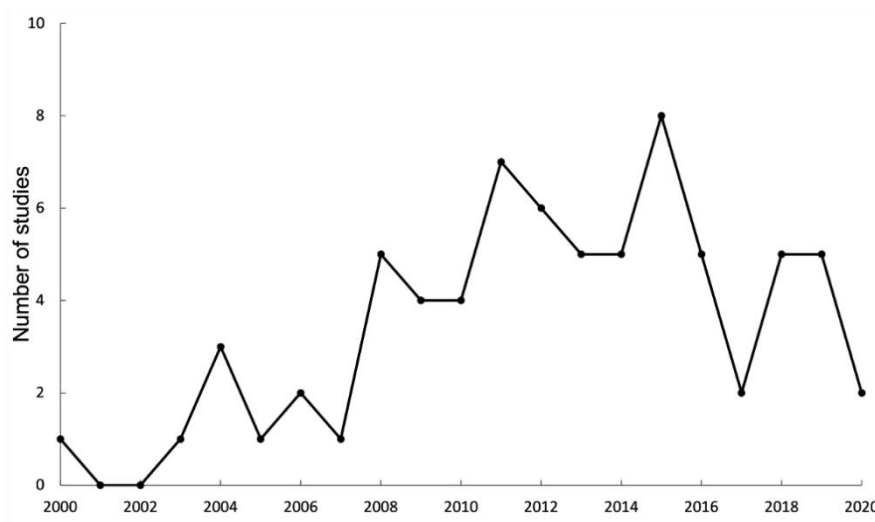


Figure 1 – Number of allelopathy studies in the context of biological invasions and/or ecological restoration from 2000 to 2020.

The studies examined focal species belonging to all defined life forms (grasses, herbs, shrubs and trees) (tab. 2), with a higher percentage for herbs (53%). They were followed by the group of shrubs (22%), and trees and grasses were the least studied group, representing about 15% and 14% of the total, respectively. A small percentage of the studies was carried out with species of more than one life form (12%) —among them, only one study included three of the four life forms (Hagan et al. 2013). The reported percentages correspond to life forms that were evaluated individually and to all combinations found (shrub + tree, shrub + herb, grass + herb, and grass + herb + shrub + tree) (fig. 2b).

Table 2 –Evaluated species in 72 articles on allelopathy in the context of biological invasions and/or ecological restoration published from 2000 to 2020. The focus of the species (invasive or native), the life form and the place of origin are described. Some of the invasive species were evaluated in more than one study, and some studies addressed more than one species.

Species	Focus	Life form	Place of origin	References
<i>Acacia dealbata</i>	Invasive	tree	Australia	Lorenzo et al. 2016
<i>Acropilon repens</i>	Invasive	herb	North America	Alford et al. 2009; Ni et al. 2010
<i>Ageratina adenophora</i>	Invasive	herb	Mexico	Thapa et al. 2020
<i>Ailanthus altissima</i>	Invasive	tree	Asia	Gomez-Aparicio and Canham 2008; Catalán et al. 2013 Prati and Bossdorf 2004; Stinson et al. 2006; Cipollini and MacClean 2008; Cipollini and Flint 2013; Portales-Reyes et al. 2015
<i>Alliaria petiolata</i>	invasive	herb	Eurasia	
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	invasive	herb	South America	Ni et al. 2020
<i>Andropogon gerardii</i>	native	grass	North America	Greer et al. 2014
<i>Anthriscus sylvestris</i>	native	herb	Europe	Lyytinen & Lindström 2019
<i>Aristida junciformis</i>	invasive	grass	Africa	Ghebrehiwot et al. 2014
<i>Artemisia vulgaris</i>	invasive	herb	Eurasia	Barney et al. 2009
<i>Bothriochloa ischaemum</i>	invasive	grass	Africa	Greer et al. 2014
<i>Bromus inermis</i>	native	grass	Asia	Adomako et al. 2019
<i>Bunias orientalis</i>	invasive	herb	Asia	Del Fabbro and Prati 2015
<i>Campuloclinium macrocephalum</i>	invasive	herb	South America	Goodall et al 2010
<i>Carpobrotus edulis</i>	invasive	herb	South Africa	Novoa et al. 2012
<i>Caryocar brasiliense</i>	native	tree	Brazil	Allem et al. 2014
<i>Centaurea diffusa</i>	invasive	herb	Eurasia	Hierro and Callaway 2003; Callaway and Aschehoug 2000; Callaway and Ridenour 2004
<i>Centaurea maculosa</i>	invasive	herb	Eurasia	Callaway et al. 2005; He et al. 2008; Alford et al. 2009; Thorpe et al. 2009
<i>Chrysanthemoides monilifera</i>	invasive	shrub	Africa	Ens et al. 2009
<i>Cichorium intybus</i>	native	herb	Asia	Adomako et al. 2019
<i>Conyza canadensis</i>	invasive	herb	North America	Del Fabbro and Prati 2015
<i>Cynanchum nigrum</i>	invasive	herb	Europe	Dougglas et al. 2011
<i>Cynanchum rossicum</i>	invasive	herb	Europe	Dougglas et al. 2011

<i>Cynara cardunculus</i>	invasive	herb	Europe	Uddin et al. 2014
<i>Cytisus scoparius</i>	invasive	shrub	Europe	Grove et al. 2012
<i>Dactylis glomerata</i>	native	grass	Europe	Ning et al. 2016
<i>Daucus carota</i>	native	herb	Europe	Ning et al. 2016
<i>Eragrostis curvula</i>	invasive	grass	Africa	Ghebrehiwot et al. 2014
<i>Erigeron annuus</i>	invasive	herb	Asia	Del Fabbro et al. 2014; Del Fabbro and Prati 2015
<i>Eucalyptus urophylla</i>	invasive	tree	Indonesia	Qin, Liu and Yu 2018; Qin and Yu 2019
<i>Eupatorium odoratum</i>	invasive	herb	South and Central America	Ni et al. 2020
<i>Fallopia × bohémica</i>	invasive	herb	Asia	Murrell et al. 2011; Piola et al. 2013; Parepa & Bossdorf 2016
<i>Fallopia japonica</i>	invasive	herb	Asia	Piola et al. 2013; Del Fabbro and Prati 2015
<i>Fallopia sachalinensis</i>	invasive	herb	Asia	Piola et al. 2013
<i>Festuca arundinacea</i>	invasive	grass	Europe	Renne et al. 2004
<i>Festuca elata</i>	native	grass	Asia	Adomako et al. 2019
<i>Festuca rubra</i>	invasive	grass	Europe	Harnden et al. 2011
<i>Heracleum mantegazzianum</i>	invasive	herb	Eurasia	Del Fabbro and Prati 2015; Loydi et al. 2015
<i>Hyparrhenia hirta</i>	invasive	grass	Africa	Ghebrehiwot et al. 2014 Del Fabbro et al. 2014; Del Fabbro and Prati 2015; Loydi et al. 2015;
<i>Impatiens glandulifera</i>	invasive	herb	Asia	Bieberich et al. 2018,
<i>Impatiens pallida</i>	invasive	herb	Mexico	Barto et al. 2010
<i>Imperata cylindrica</i>	invasive	grass	Asia	Hagan et al. 2013
<i>Ixeridium sonchifolium</i>	native	herb	Asia	Adomako et al. 2019
<i>Lantana camara</i>	invasive	shrub	South and Central America	Negi et al. 2019
<i>Lepidaploa aurea</i>	native	shrub	Brazil	Lopes et al. 2017, 2018
<i>Leucaena leucocephala</i>	invasive	shrub	Mexico	Mello and de Oliveira 2016; Chen et al. 2018
<i>Ligustrum vulgare</i>	invasive	shrub	Europe	Shannon-Firestone and Firestone 2015
<i>Lolium perenne</i>	native	grass	Asia	Adomako et al. 2019; Ning et al. 2016 Cipollini and MacClean 2008; Cipollini and Flint 2013; Shannon-Firestone and Firestone 2015
<i>Lonicera maackii</i>	invasive	shrub	Eurasia	
<i>Lupinus polyphyllus</i>	invasive	herb	South America	Del Fabbro and Prati 2015; Loydi et al. 2015

<i>Megathyrsus maximus</i>	invasive	grass	Africa	Ghebrehiwot et al. 2014
<i>Mikania micrantha</i>	invasive	herb	South America	Wu et al. 2015; Ni et al. 2020
<i>Myrica Gale</i>	native	shrub	Europe	Popovici et al. 2011
<i>Phedimus stoloniferus</i>	invasive	herb	Eurasia	Del Fabbro and Prati 2015
<i>Plantago lanceolata</i>	native	herb	Europe	Ning et al. 2016
<i>Plantago virginica</i>	invasive	herb	North America	Wang et al. 2015
<i>Poa pratensis</i>	native	grass	Asia	Ning et al. 2016; Adomako et al. 2019
<i>Prunella vulgaris</i>	native	herb	Europe	Ning et al. 2016
<i>Pteridium arachnoideum</i>	invasive	herb	South America	De Jesus Jatobá et al. 2016
<i>Rhamnus cathartica</i>	invasive	shrub	Asia	Knight et al 2007
<i>Ranunculus ficaria</i>	invasive	herb	Europe	Cipollini and Scharadin 2011; Cipollini and Flint 2013
<i>Robinia pseudoacacia</i>	invasive	tree	USA	Catalán et al. 2013
<i>Sambucus ebulus</i>	native	herb	Europe	Christina et al. 2015
<i>Schinus terebinthifolius</i>	invasive	tree	South America	Nickerson & Flory 2015
<i>Schizachyrium scoparium</i>	native	grass	North America	Greer et al. 2014
<i>Senecio inaequidens</i>	invasive	herb	Africa	Del Fabbro and Prati 2015
<i>Sesbania virgata</i>	native	tree	Brazil	Del Fabbro and Prati 2015; Mignoni et al. 2018
<i>Solidago canadensis</i>	invasive	herb	North America	Yuan et al. 2012; Yuan et al. 2014; Del Fabbro and Prati 2015
<i>Solidago gigantea</i>	invasive	herb	North America	Del Fabbro et al. 2014
<i>Themeda triandra</i>	invasive	grass	Africa	Ghebrehiwot et al. 2014
<i>Trifolium pratense</i>	native	herb	Asia	Adomako et al. 2019
<i>Trifolium repens</i>	native	herb	Asia	Adomako et al. 2019
<i>Ttpha x glauca</i>	invasive	grass	South America	Larkin et al 2012
<i>Ulmus pumilla</i>	invasive	tree	Asia	Catalán et al. 2013
<i>Urochloa decumbens</i>	invasive	grass	Africa	Barbosa et al. 2008
<i>Vincetoxicum nigrum</i>	invasive	herb	Europe	Gibson et al. 2011
<i>Vincetoxicum rossicum</i>	invasive	herb	Europe	Gibson et al. 2011
<i>Wedelia trilobata</i>	invasive	herb	Brazil	Ni et al. 2020

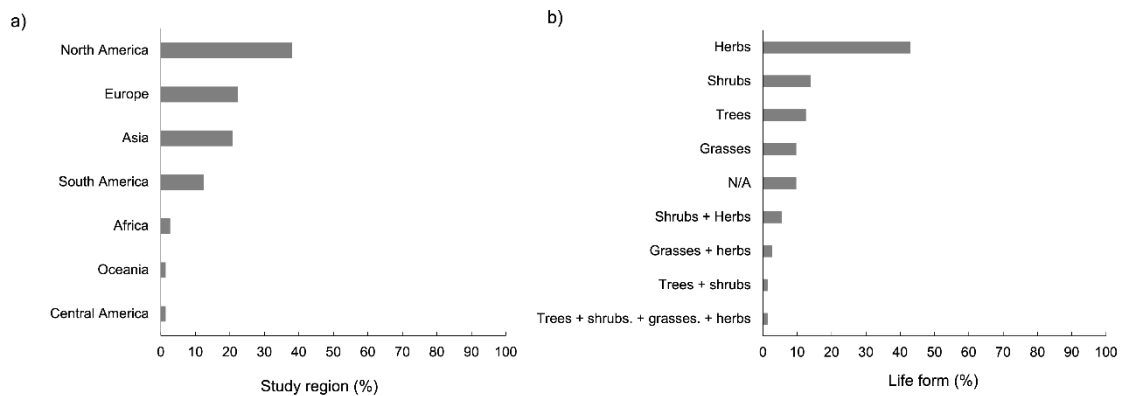


Figure 2 – (a) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions by continent or region and (b) Percentage of life forms studied in allelopathy bioassays in the context of biological invasions.

The low percentage of studies on grasses is surprising, especially in tropical and subtropical regions outside Africa, considering that the introduced perennial African C4 grasses represent a major challenge for the conservation of biodiversity in these regions (Barbosa et al. 2008; Foxcroft et al. 2010; Davies and Nafus 2013; Gaertner et al. 2014; Visser et al. 2016).

The majority of the reviewed studies were carried out with invasive alien species (fig. 3a), using the biological invasions approach (fig. 3b), focused on the New Weapons Theory or simply intending to identify the allelopathic potential or phytotoxicity of the introduced plant.

From an environmental point of view, the reduced number of studies on native species and related to the ecological restoration of invaded areas can be considered a problem. It is fundamental to understand how the invasion occurs and which mechanisms are responsible for the process. However, assessing how native communities respond to the invasion and looking for ways to address the problem or restore the invaded area is also extremely important (Cummings et al. 2012; Whu et al. 2015).

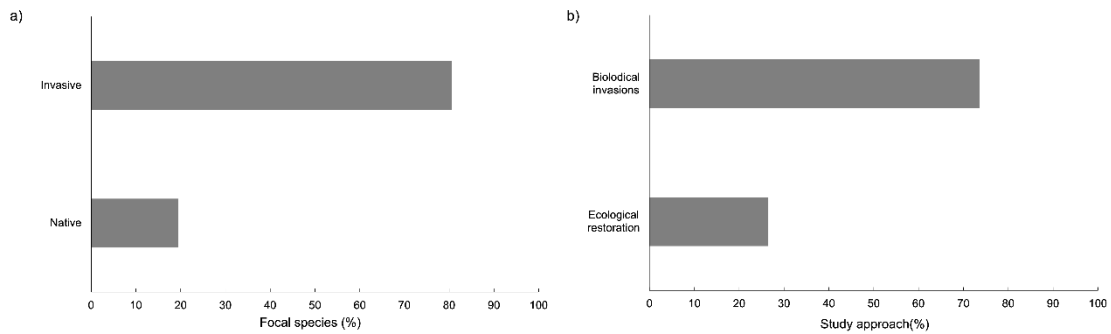


Figure 3 – (a) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions focusing on invasive native or alien species and (b) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions by approach (biological invasions or ecological restoration).

3.1.1. Biological invasions approach

Most of the studies was predominantly focused on the mechanisms that facilitate biological invasions. An important part of these studies aimed to test whether the place of origin of the species and the evolutionary factor had some influence on the occurrence of potential allelopathic effects, which would relate to the increased success of biological invasions. Two of them that served as the basis for the New Weapons Theory stand out among the studies.

They focused on the herb *Centaurea diffusa*, originally from Eurasia and considered an aggressive invasive in the USA. First, Callaway and Ridenour (2000) demonstrated that grasses, which co-occur with *C. diffusa* in their region of origin are not affected by their allelochemicals; on the other hand, grasses native to North America, neighboring *C. diffusa* at the introduced site, show strong susceptibility to the same allelopathic compounds. Thus, the authors suggest that some invasive alien plants can use competitive and allelopathic mechanisms, which are not present in the natural communities invaded by them, disrupting inherent and co-evolved interactions between long-associated native species. Therefore, they corroborated the ideas of Rabotnov (1982) on the influence of the evolutionary factor on the allelopathic patterns of plant

communities. A later study assessed the effects of chemical compounds from *C. diffusa* on species native to its introduced area and on species from the Caucasus, its place of origin, and observed that the invasive species suppressed the growth of North American species about 70% more than that of Caucasian species (Callaway and Ridenour 2004). It was in this study that the New Weapons Theory was presented.

Also, a concomitant research on a focal shrub species, aiming to prove the evolutionary aspect of allelopathy in the context of biological invasions, primarily contributed to the establishment of the New Weapons Theory (Mallik and Pellissier 2000). The comparison of the effects of leaf and humus extracts from *Vaccinium myrtillus*, an allelopathic understory shrub native to Eurasian coniferous forests, on a neighboring alien plant from North America (*Picea mariana*) and a co-occurring native plant (*Picea abies*) found that *V. myrtillus* produced more pronounced biochemical effects on the alien plant than on the native plant.

Studies based on the approach of the biological invasion that did not consider the evolutionary and biogeographic aspects in their methodologies, although in smaller numbers, were also extensively represented in the USA. For example, in a two-year field experiment, the allelochemicals produced by *Ailanthus altissima*, an invasive tree originally from China, had significant adverse effects on seedling growth of three dominant native species of trees in temperate forest communities in Connecticut (Gómez-Aparicio and Canham 2008).

Europe was the second most represented continent in the review, and, as in most other continents, studies on herbs predominates. However, an extremely problematic and aggressive invasive genus of herbs in the European continent stands out regarding the approach of the biological invasion. The genus *Fallopia* is native to East Asia, and some species have rapidly expanded across Europe and North America, where they

have modified ecological systems, altering nutrient cycles (Dassonville et al. 2007; Dassonville et al. 2011) and threatening native biodiversity (Vanderhoeven, Dassonville and Meerts 2005; Gerber et al. 2008). A selection of genotypes with different molecular profiles of hybrids of invasive alien herbs *Fallopia × bohemica*, *Fallopia japonica* and *Fallopia sachalinensis* tested for differences in the composition of their secondary metabolites (Piola et al. 2013), resulting in the identification of five families of chemical compounds (flavonoids, anthraquinones, and stilbenes, including piceid and resveratrol), with allelochemicals known to be involved in invasive strategies (Weir, Park and Vivanco 2004; Fan, Hostettmann and Lou 2010). According to the authors, the result of the study might partly explain why the studied species are listed among the 100 most invasive plants in the world (Global Invasive Species Database – <http://www.issg.org/database/welcome/>).

Impatiens is another originally Asian genus, with some species introduced in Europe and a strong potential for invasiveness. For example, in Central Europe, the shrub *Impatiens glandulifera* is one of the most common and easily identified invasive plants (Perrins et al. 1993). Furthermore, in a laboratory and greenhouse study in Germany, the invasive *Impatiens glandulifera* was observed to produce allelopathic substances that potentially reduce growth and alter the initial successional stages of native vegetation (Bieberich et al. 2018).

3.1.2. Ecological Restoration approach

Although in smaller numbers, studies focusing on ecological restoration in areas with invasive plants and using native plants as donor species, were identified in several regions, except for Oceania and Africa.

Restoring areas invaded by alien species is urgent on all continents. That is the case of, for example, neotropical savanna regions, where African invasive grasses represent a major challenge for ecological restoration and ecosystem management (Almeida-Neto et al. 2010; Lannes et al. 2012). In South America, more specifically in Brazilian Cerrado, these invasive alien species have altered the recruitment and growth of native species and affected the structure and composition of plant communities, as well as soil microbiota and fire regime (Pivello et al. 1999a; Hoffmann and Haridasan 2008; Almeida-Neto et al. 2010). Some areas invaded by African grasses in central Cerrado, have already been subjected to successful ecological restoration. Two species, the tree *Caryocar brasiliense* and the shrub *Lepidaploa aurea*, were evaluated in terms of their phytotoxicity on the development of the invasive African grass *Urochloa decumbens*, and demonstrated significant effects in inhibiting its initial growth (Allem et al. 2005; Lopes et al. 2017). The confirmed phytotoxicity of native plants on *U. decumbens* might indicate a possible allelopathic potential, which needs confirmation by experiments closer to natural conditions or field experiments.

Although African grasses are successful invasive alien plants in South America, species of other life forms have also become an identified problem on this continent. For instance, in the south eastern region of Brazil, the large-sized leguminous tree *Leucaena leucocephala*, native to Mexico and Central America, is a very successful invasive alien species, and has been able to modify and affect native forest and savanna ecosystems (Zenni and Ziller 2011). The successful invasion of this plant can be partly explained by its high-volume seed production and the fact that it has been used for reforestation along riverbanks and in the recovery of degraded areas (Feria et al. 2011; Marques et al. 2014). An experiment to support control efforts of invasion of *L. leucocephala* in that area demonstrated that leachate from seeds of the native leguminous tree *Sesbania*

virgata has strong phytotoxic potential on the invasive species, with effects on the germination inhibition, seedling development and storage mobilization and indicating that the production of allelochemicals might be important for the performance of *S. virgata* under natural conditions, contributing to prevent recruitment and restrict the growth of *L. leucocephala* (Mignoni et al. 2018).

In Europe, studies focused on controlling invasive species of the *Fallopia* genus might contribute to potential restoration projects in areas invaded by these herbs. In France, for example, the alien invasive *F. x bohemica* showed sensitiveness to the allelochemicals produced by the native herb *Sambucus ebulus* (Christina et al. 2015) and suggested a new type of biotic resistance, not well studied so far, following the New Weapons hypothesis reversely and corroborating the Homeland Security hypothesis (Cummings et al. 2012). Also, another study in France found that extracts from the leaves and fruits of the native shrub *Myrica gale* also exhibit phytotoxic activity against the invasive *F. x bohemica*, reinforcing the argument for the development of natural shields with native allelopathic species against invasive alien species (Popovici et al. 2011). These results might be helpful for further evaluation of species that could potentially be used in the ecological restoration of areas dominated by *F. x bohemica* in that region.

Also proving the Homeland Security hypothesis (Cummings et al. 2012), a broader study carried out in Germany (Ning et al. 2016) evaluated the allelopathic potential of six native species on 18 invasive and non-invasive plants. Most of the invasive plants selected for the experiment are problematic. Nevertheless, the native plant community imposed allelopathic effects on the introduced plants. These effects were neutralized or reduced by using activated charcoal, suggesting that the allelopathic

potential of the native plant community might support the resistance to the invasion of introduced species.

One of the mechanisms that can reduce the invasiveness of plant communities is a greater diversity of native species, which results in a greater diversity of native allelopathic compounds in general (Fargione and Tilman 2005). Bioassays performed in China with various levels of richness and density of different native plant life forms to observe their allelopathic effects on the development of the invasive alien herb *Solidago canadensis*, originally from North America, indicated that the greater the diversity and density of the native species, the greater the resistance to the invasion (Adomako et al. 2019). Also, the use of activated charcoal neutralized the observed effects, proving the action of allelopathic potential of the native community on the invasive species.

Evaluating allelopathy of native plants using them as donor plants is very common in experiments that aim to control biological invasions of plants. However, studies that use native plants as target species, to identify their resistance against allelochemicals from invasive plant species, although less frequent, might also contribute to ecological restoration efforts in invaded areas. Most studies in this strand of work were carried out in the USA and focused on herb species, such as the Eurasian plant *Centaurea maculosa*, which is responsible for the invasion of millions of acres of semi-arid pastures in western North America. However, bioassays using native species from areas with and without the invasive *C. maculosa*, demonstrated that native grasses vary substantially in their susceptibility to catechin produced by the invasive *C. maculosa*, suggesting that the selection for resistance against *C. maculosa* and the tolerance to its allelochemicals might be occurring for several native species (Callaway et al. 2005). Thus, planting resistant native plants might provide a new tool to prevent invasive alien plants from spreading.

Following the same approach to identify native plants with resistance to allelochemicals from invasive plants, including *C. maculosa*, an evaluation of how flavonoid compounds from the invasive herbs *Acroptilon repens* and *Centaurea maculosa* affect legume-rhizobia symbiosis in four native leguminous species (Alford et al. 2009) found that plants inoculated with *Rhizobium* were resistant to allelochemicals from the herbs and proposed that these species might be suitable candidates for the restoration of areas invaded by *A. repens* and *C. maculosa*. However, an appropriate symbiotic rhizobia inoculation might be necessary for the project to succeed.

3.2. Allelopathic evaluation in the context of biological invasions: important methodological aspects

Phytotoxicity is the harmful effect some plants have on others and can be demonstrated under controlled laboratory conditions (Blum 2011; Reigosa et al. 2013). Allelopathy, first approached by Molisch (1937), has been defined as the ability of higher or lower plants to produce chemical substances that, when released into the environment of other plants, favorably or unfavorably influence their development. In other words, the results of laboratory bioassays generally demonstrate the phytotoxicity of the focal plant and do not suffice to indicate the allelopathic potential or allelopathy. The evaluation of compounds associated with allelopathy must preferentially be performed under natural conditions. The allelopathic potential, in turn, can be verified in an intermediate environment, such as in experiments carried out in greenhouses and microcosms (Inderjit and Weston 2000; Inderjit and Callaway 2003; Lankau 2009; Gomes et al. 2017).

It is important to consider that environmental conditions such as temperature, humidity, and light intensity, in interaction with the soil biota and the availability of

resources, can affect not only the production of allelochemicals but also the chemical structure, the degree of activity of the substances released in the medium and their availability to neighboring plants (Hadacek 2002; Macías et al. 2007; Reigosa et al. 2013).

We defined the study systems as laboratory, greenhouse (including bioassays), and field to understand some methodological aspects of the evaluated works (parameter 6). In only 24% of the studies, the experiments were conducted using more than one study system, and only two studies used the three systems alternately (Goodall et al. 2010; Lopes et al. 2018). Considering the three study systems and their combinations (laboratory + greenhouse, laboratory + field, greenhouse + field, and laboratory + greenhouse + field), we verified that most (47%) of the studies were carried out in a greenhouse, and the fewest of them (16%) in the field (fig. 4a).

Corroborating some authors (Inderjit and Callaway 2003; Lankau 2009), many of studies performed in the laboratory concluded that the evaluated plants were phytotoxic. All studies carried out in a greenhouse confirmed the allelopathic potential of the focal plant. Most of the field studies or those conducted in a combination of field + another system also concluded for the allelopathic potential, and only three of them indicated the allelopathy of the evaluated plant (fig. 4b).

Although the studies' predominance was in greenhouses that proved the allelopathic potential of the plants of interest, more studies evaluated the phytotoxicity of plants under controlled conditions than those carried out under natural conditions. In the expressive majority of the reviewed studies, the authors discuss the importance of performing bioassays in the field to correctly determine the allelopathic potential or the allelopathy of plants.

About 17% of the studies obtained a negative result (fig. 4c), evidencing that the hypotheses of most studies which concluded for the occurrence of phytotoxicity or allelopathy were corroborated.

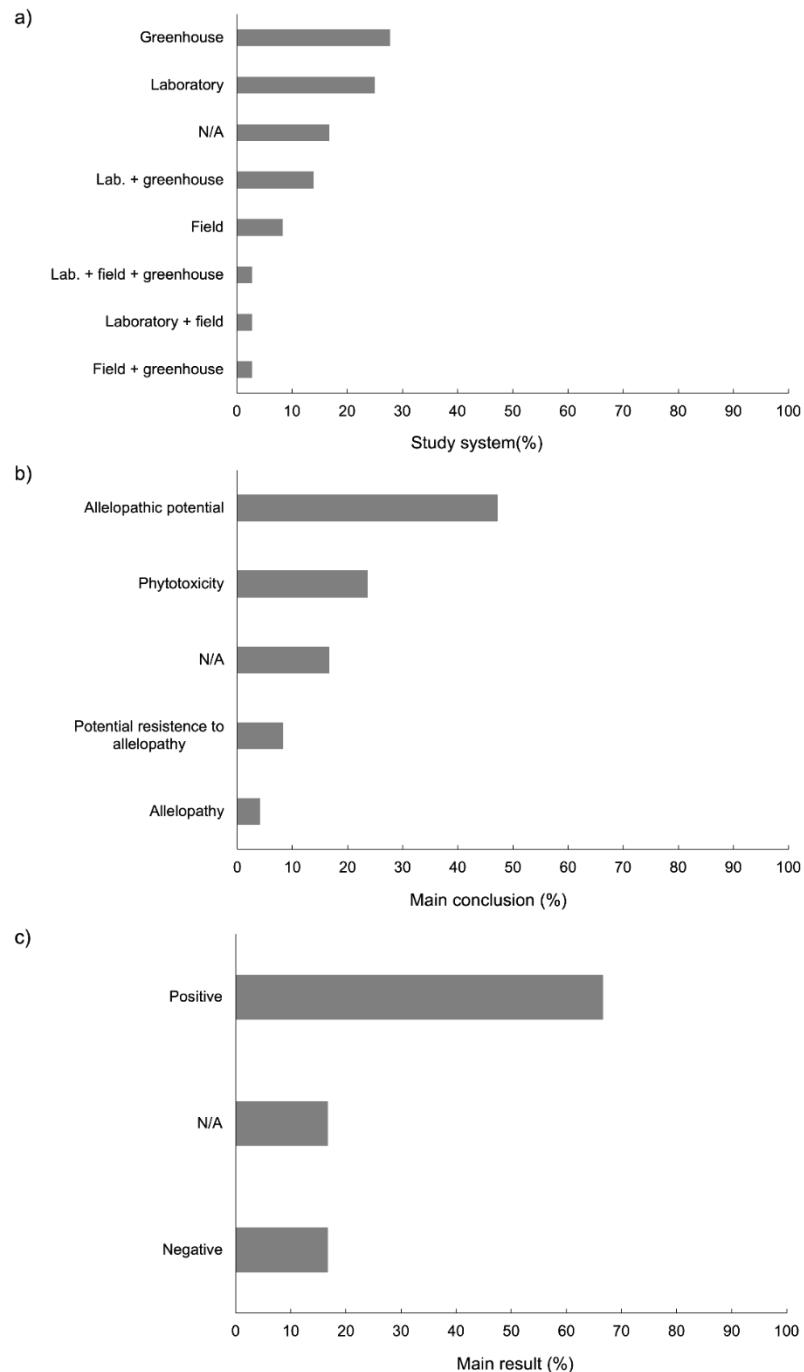


Figure 4 - (a) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions by study system (laboratory, greenhouse and field) and their combinations, (b) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions for each type of main conclusion and (c) Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions for each type of main conclusion (positive or negative).

Among the studies that obtained a negative result, that is, cases in which the authors' hypothesis was not supported, Renne et al. (2004) can be pointed out, because it was performed in two study systems (laboratory and greenhouse) using a wide variety of native species as target plants (total of 13 grasses and broadleaf plants). Although the authors point out the existence of the allelopathic potential of the invasive alien herb *Festuca arundinacea* (with and without endophiles), originally European, they found that its invasiveness was not the result of allelopathy, but probably of other mechanisms. It was suggested that the removal of the invasive species, followed by the reseeded of native species, could contribute to the rapid establishment of many native tall grass prairie plants.

Another relevant study that applied the three study systems in their methodology (laboratory, greenhouse, and field) (Goodall et al. 2011) in South Africa evaluated the role of allelopathy and competition in the invasiveness of the herb *Campuloclinium macrocephalum*, native to South America, in native pastures of South Africa. In the laboratory, it was observed that extracts from roots and stems of adult *C. macrocephalum* plants did not inhibit seed germination in any of the tested native species. Both in the greenhouse and in the field, the coexistence of native and alien plants, regardless of relative density, suggested that the species have different resource needs and that allelopathy was not an adequate causal mechanism to explain the invasiveness of *C. macrocephalum*.

3.3. Allelopathy versus competition for resources in the context of biological invasions

Studies focusing only on the allelopathic activity of plants can produce results that are sometimes limited in terms of interpretation (Fitter 2003; José et al. 2006;

Gomes et al. 2017). Indeed, allelopathic interference is hardly caused by a single isolated factor but rather by combining several substances and environmental conditions. Thus, allelopathy can be mistaken for competition for water, nutrients, and light under natural conditions (Nilsson 1994; Qsem 2017). However, there are clear examples of allelopathy and competition appearing as distinct phenomena in nature, although they can be pretty interrelated (Inderjit and Callaway 2003; Cipollini and MacClain 2008; Yuan et al. 2021).

Generally, indexes based on the identity and characteristics of the competing plant are used to determine the intensity of competition in a plant community (Weigelt and Jolliffe 2003). However, the environment, especially the soil, plays an essential role in plant-plant interactions, enabling the observation of various aspects, from the management of hostile environments (Lortie and Callaway 2006; Wipf et al. 2006, Maestre et al. 2009) to the occurrence of intense competition in resource-rich environments (Bertness and Callaway 1994; Craine 2005; Coomes et al. 2009).

In the study of allelopathic interactions, the environment has to be taken into account because the production of secondary compounds is costly for the plant, thus requiring the available nutrients (Cipollini et al. 2003; Karban 2011). So the availability of resources can influence the plant-plant interaction — both directly, through competition for resources, and indirectly, by altering the allelopathic potential of the species (Perepa and Bossdorf 2016).

Environmentally stressful conditions can amplify or modify the production and effects of allelochemicals (Reigosa et al. 2006; Blanco 2007; Hooper et al. 2009, Graneli and Salomon 2010; Tesio and Ferrero 2010; Varkitzi et al. 2010), so much so that the combination of stressful conditions and allelopathy can inhibit growth more than competition alone.

For this reason, a step towards making allelopathy research more reliable, especially under natural conditions, involves choosing bioassays in which it is possible to evaluate both the effects — of allelopathy alone and competition for resources. Therefore, one of the evaluated aspects of this review was whether the methodology addressed competition, which was found in approximately 30% of the studies (fig. 5).

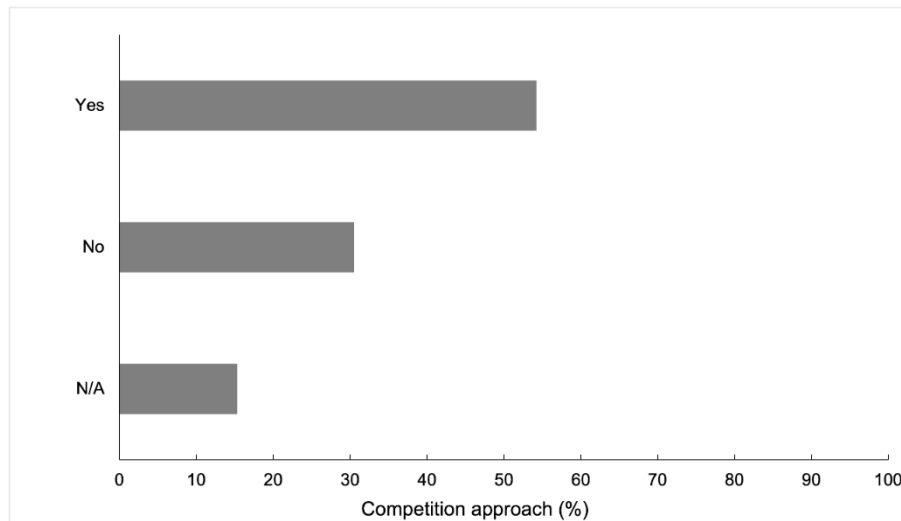


Figure 5- Percentage of allelopathy studies in the context of biological invasions that do or do not address competition in their methodology.

In studies that address both allelopathy and competition for resources as potential mechanisms for the occurrence of successful biological invasions, three types of conclusion were observed: (1) allelopathy was the mechanism responsible for the inhibitory effects on the growth of target plants; (2) competition was the mechanism responsible for the inhibitory effects on the growth of target plants; and (3) neither allelopathy nor competition were the mechanisms responsible for the inhibitory effects on the growth of target plants, but the change in microhabitat properties. In addition, no studies identified inhibitory effects caused by allelopathy and competition conjunctly.

As examples of studies that obtained the type of conclusion (1), two of them were conducted in the field and thus were able to assess allelopathy of focal plants robustly. In the USA, bioassays under natural conditions examined the effects of the

invasive herb *Ranunculus ficaria*, originally Portuguese, on the growth and reproduction of the native herb *Impatiens capensis* (Cipollini and Scharadin 2011) and whether the effects were caused by allelopathy, competition for nutrients or some combination of the two interactions. Allelopathic potential caused the greatest inhibitory effects on the development of the native plant. Similar results were obtained in a field experiment in China assessed the relative importance of allelopathy and competition for resources in groups of native species seedlings in a plantation of the invasive tree *Eucalyptus urophylla*, originally Indonesian (Qin, Liu e Yu 2018). The additional fertilization and irrigation increased initial seedling growth, but this advantage disappeared over time, demonstrating that competition for resources was a minor factor and that allelopathy was more important in inhibiting the growth and survival of the seedlings.

For the type of conclusion (2), there was no field study. However, a greenhouse study using two life forms (trees and herbs) (Nickerson and Flory 2015) analyzed the competitive and allelopathic effects of the Brazilian invasive shrub *Schinus terebinthifolius* on native plants of pine communities in Florida, USA. Experimental pots with invasive and native species planted alone or together were, treated with activated charcoal, to attenuate the allelopathic effects, and fertilizers, to evidence the effects of competition for resources. The invasive species significantly declined the performance of native plants. Tree biomass was reduced by 85%, and herb biomass was reduced by 83% in pots with *S. terebinthifolius* compared to non-invaded controls. Furthermore, the addition of activated charcoal to the soil did not attenuate the effects of *S. terebinthifolius* on native species, indicating that the effect of allelochemicals exuded by the roots of the invasive species was probably not responsible for the suppressive effects on native species; instead, it was caused by the competition for resources.

Regarding the type of conclusion (3), a field study in Spain tested the effect of the Australian invasive tree *Acacia dealbata* on the establishment of co-occurring native and invasive species to assess the effects of direct competition, changes in microhabitat and soil properties, and the release of allelopathic compounds from the invasive species (Lorenzo et al. 2016). The results demonstrated that the main factor affecting seedling establishment was changes in microhabitat rather than competition for resources or allelopathy. Soil modifications caused by *A. dealbata* promoted the establishment of its seedlings, contributing to the progress of the invasion and that the allelochemicals released by *A. dealbata* and the competition for resources do not seem to play a fundamental role in the establishment of native and invasive plants under field conditions.

The reduced percentage of works that include competition as a variable in allelopathy experiments in invaded environments can also be considered one of the gaps to address in future studies. As already discussed, the evaluation of the phytotoxicity or allelopathy of invasive and native plant communities is an important mechanism to be considered for the successful ecological restoration of invaded areas (Cummings et al. 2012; Catalan et al. 2013; Del Fabbro et al. 2014). However, the inclusion of variables related to competition, both below and above the ground, might bring out more reliable results, especially in bioassays conducted under natural conditions, because the more variables and environmental factors considered, the more robust will be the conclusion over the effects caused by allelopathic compounds on the plant community.

4. Future Directions

Allelopathy studies related to biological invasions have gradually increased over the last two decades, with particular attention to evaluating of the allelopathic potential of introduced plants as one of the mechanisms responsible for a successful invasion.

A well-studied strand of work using introduced species, especially in the 2000s, was the evaluation of allelopathy considering the biogeographic factor, to test the New Weapons Theory. These studies predominantly carried out with herbs significantly contributed to understanding the role of allelopathy in invaded environments. However, a more practical and applied approach to the ecological restoration of these environments only started to be strongly considered at the beginning of the last decade. Even today, many studies are still developing.

Although the allelopathic potential of native plants and their resistance to allelochemicals from invasive plants are important factors, they still lack further considerations in studies of allelopathic interactions in invaded environments. Therefore, allelopathy studies in the context of ecological restoration should be a priority to find effective solutions to the problem of biological invasions.

This review showed a large discrepancy in the number of studies carried out by region or continent. Most works were conducted in North America, specifically in the United States, while Africa, Central America, and Oceania were poorly represented. The imbalance of the geographical distribution of studies demands special attention, given that biological invasions and the consequent need for ecological restoration are a global problem.

One of the main discussions over allelopathy studies is the methodological approach, which has been criticized over the last two decades. In the 2000s, there was a

consensus that these studies were difficult to conduct and limited their conclusions (José et al. 2006). However, over time methods and approaches have notably advanced, with the development of robust bioassays and chemical analyses, providing substantial evidence of allelopathy, or at least the phytotoxicity of the plant of interest (Gomes et al. 2017).

Some of the problems that attracted critics on the relevance of allelopathy are still present, such as many laboratory studies using artificial substrates and extraction procedures with chemical reagents rather than field experiments. Nevertheless, most of the reviewed studies were carried out in a greenhouse or semi-natural environment, seeking an approximation to or interaction with natural conditions. Another methodological gap is the evaluation of allelopathy in isolation without considering the role of competition for resources as an influencing mechanism on biological invasions. The review confirmed this fact since only 30% of the studies evaluated the two forms of interaction. Assessing allelopathy and competition separately and conjunctly in the same experiment is key to understanding the real reason for the observed invasiveness patterns, considering that the two interactions are strongly interrelated.

Seeking to address the abovementioned gaps would be a crucial contribution to applying the knowledge about allelopathy to effectively solve applied questions such as restoration projects in invaded areas.

References

- Adomako MO, Ning L, Tang M, et al. (2019) Diversity and density mediated allelopathic effects of resident plant communities on invasion by an exotic plant. *Plant Soil* 440: 581-592
- Alford ER, Vivanco JM and Paschke MW (2009) The effects of flavonoid allelochemicals from knapweeds on legume–rhizobia candidates for restoration. *Restor Ecol* 17(4): 506-514
- Allem LN, Gomes ASand Borghetti F (2014) Pequi leaves incorporated into the soil reduce the initial growth of cultivated, invasive and native species. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86: 1761-1768
- Almeida-Neto M, Prado PI, Kubota U, Bariani JM, Aguierr GH and Lewinsohn TM(2010)Invasive grasses and native Asteraceae in the Brazilian Cerrado. *Plant Ecol* 209:109-122
- Balandier P, Frochot H and Sourisseau A (2009) Improvement of direct tree seeding with cover crops in afforestation: Microclimate and resource availability induced by vegetation composition. *Forest Ecol. Manag* 257:1716-1724
- Global Database of Invasive Species (2020) Available at (<http://www.issg.org/database/welcome/>). Accessed December 24, 2020
- Barbosa EG, Pivello VR and Meirelles ST (2008) Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the brazilian Cerrado. *Braz arch biol technol* 51(4): 825-831
- Barney JN, Sparks JP, Greenberg J, Whitlow TH and Guenther A (2009) Biogenic volatile organic compounds from an invasive species: impacts on plant–plant interactions. *Plant Ecol* 203(2): 195-205
- Barto K, Friese C and Cipollini D (2010) Arbuscular mycorrhizal fungi protect a native plant from allelopathic effects of an invader. *J Chem Ecol* 36: 351-360
- Bertness MDand Callaway R (1994) Positive interactions in communities. *Trends Ecol Evol* 9:191-193
- Bieberich J, Lauerer M, Drachsler M, Heinrichs J, Müller S and Feldhaar H (2018) Species and developmental stage-specific effects of allelopathy and competition of invasive *Impatiens glandulifera* on co-occurring plants. *PLOS One* 11:1-9
- Blanco JA (2007) The representation of allelopathy in ecosystem level forest models. *Ecol. Modell.* 209: 65-77
- BLUM U (2011) Plant-plant allelopathic interactions. In: *Plant-Plant Allelopathic Interactions*. Springer, Dordrecht pp. 1-7
- Bossdorf O, Auge H, Lafuma L, et al. (2005)Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecol* 144: 1-11

- Callaway RM and Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521-523
- Callaway R, Ridenour W, Laboski T, Weir T and Vivanco J (2005) Natural selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants. *J Ecol* 93(3): 576-583
- Callaway RM and Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2:436-443
- Catalan P, Vazquez-de-Aldana BR, de las Heras P, Fernandez-Seral A and Perez-Corona ME (2013) Comparing the allelopathic potential of exotic and native plant species on understory plants: Are exotic plants better armed? *Anal Biol* 35: 65-74
- Chabrierie O, Massol F, Facon B, et al (2019) Biological invasion theories: Merging perspectives from population, community and ecosystem scales. Preprints 2019100327 v2
- Chen F, Liu K, Xie Z, Liu M and Chen C (2018) Effects of decomposing leaf litter of *Leucaena leucocephala* on photosynthetic traits of *Cynodon dactylon* and *Medicago sativa*. *New For* 49(5): 667-679
- Christina M, Rouified S, Vallier F, Meiffren G, Bellvert F and Piola F (2015). Allelopathic effect of a native species on a major plant invader in Europe. *Sci Nat* 102(3): 1-8
- Cipollini D, Purrington CB and Bergelson J (2003) Costs of induced responses in plants. *Bas Appl Ecol* 4(1): 79-89
- Cipollini KA and Flint W (2013) Comparing allelopathic effects of root and leaf extracts of invasive *Alliaria petiolata*, *Lonicera maackii*, and *Ranunculus ficaria* on germination of three native woodland. *Ohio J Sci* 112: 37-43
- Cipollini KA and McClain GY (2008) Separating Above and Belowground Effect of *Alliaria petiolata* and *Lonicera maackii* on the Performance of *Impatiens capensis*. *Am Midl Nat* 160:117-128
- Cipollini KA and Schradin KD (2011) Guilty in the court of public opinion: Testing presumptive impacts and allelopathic potential of *Ranunculus ficaria*. *Am Midl Nat* 166: 63-74
- Coomes DA, Kunstler G, Canham CD and Wright E (2009) A greater range of shade-tolerance niches in nutrient-rich forests: an explanation for positive richness productivity relationships? *J Ecol* 97:705-717
- Craine JM (2005) Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *J Ecol* 93: 1041-1052
- Cummings JA, Parker IM and Gilbert GS (2012) Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration. *Plant Ecol* 213:1975-1989
- Dassonville N, Vanderhoeven S, Gruber Wand Meerts P (2007) Invasion by *Fallopia japonica* increases topsoil mineral nutrient concentrations. *Écoscience* 14: 230-240

- Dassonville N, Guillaumaud N, Piola F, Meerts Pand Poly F (2011) Niche construction by the invasive Asian knotweeds (species complex *Fallopia*): Impact on activity, abundance and community structure of denitrifiers and nitrifiers. *Biol Invasions* 13: 1115-1133
- Davies KM and Nafus AM (2013) Exotic annual grasses invasion alters fuel amounts, continuity and moisture content. *Int J Wild Fire* 22: 353-358
- De Jesus Jatoba L, Varela RM, Molinillo JMG, Din ZU, Gualtieri SCJ, Rodrigues-Filho E and Macías FA (2016) Allelopathy of bracken fern (*Pteridium arachnoideum*): New evidence from green fronds, litter, and soil. *PLoS ONE* 11: 1-16
- Del Fabbro C, Gusewell S and Prati D (2014) Allelopathic effects of three plant invaders on germination of native species: a field study. *Biol Invasion* 16: 1035-1042
- Del Fabbro C and Prati D (2015) The relative importance of immediate allelopathy and allelopathic legacy in invasive plant species. *Bas appcol* 16(1): 28-35
- Diagne C, Leroy B, Vaissière AC, et al. (2021) High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature* 592(7855): 571-576
- Dickey JW, Cuthbert RN, Rea M, et al. (2018) Assessing the relative potential ecological impacts and invasion risks of emerging and future invasive alien species. *NeoBiota* 40: 1.
- Douglass CH, Weston LA and Wolfe D (2011) Phytotoxicity and potential allelopathy in Pale (*Cynanchum rossicum*) and Black swallowwort (*C. nigrum*). *Invasive Plant Sci Mgmt* 4: 133-141
- Durigan G, Guerin N and Costa JMNM (2013) Ecological restoration of Xingu basin headwaters: motivations, engagement, challenges and perspectives. *Philos Trans R Soc B* 368:1-9
- Ehlers BK and Thompson J (2004) Do co-occurring plant species adapt to one another? The response of *Bromus erectus* to the presence of different *Thymus vulgaris* chemotypes. *Oecologia* 141: 511-518
- Ens EJ, Bremner JB, French K, et al. (2009) Identification of volatile compounds released by roots of an invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*), and their inhibition of native seedling growth. *Biol Invasions* 11: 275-287
- Fan P, Hostettmann K and Lou H (2010) Allelochemicals of the invasive neophyte *Polygonum cuspidatum* Sieb. and Zucc. (Polygonaceae). *Chemoecology* 2: 223-227
- Fargione JE and Tilman D (2005) Diversity decreases invasion via both sampling and complementarity effects. *Ecol Lett* 8:604-611
- Ferreira AG and Áquila MEA (2000) Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Rev Bras Fisiol Veg* 12:175-204

- Feria MJ, Lopez ZF, Garcia JC, Perez A, Zamudio MAM and Alfaro A (2011) Valorization of *Leucaena leucocephala* for energy and chemicals from auto-hydrolysis. *Biom Bioe* 35: 2224-2233
- Fitter A (2003) Making Allelopathy Respectable. *Science* 301:1337–1338
- Foxcroft LC, Richardson DM, Rejmánek M and Pysek P (2010) Alien plant invasions in tropical and sub-tropical savannas: patterns, processes and prospects. *Biol Invasions* 12: 3913-3933
- Funk JL and Vitousek PM (2007) Resource-use efficiency and plant invasion in low-resource systems. *Nature* 446 (7139): 1079
- Gaertner M, Biggs R, Beest HC, Molofsky J and Richardson DM (2014) Invasive plants as drivers of regime shifts identifying high-priority invaders that alter feedback relationships. *Divers Dist* 20: 733-744
- Garcia RA, Cabeza M, Rahbek C and Araújo MB (2014) Multiple dimensions of climate change and their implications for biodiversity. *Science* 344(6183): 1247579
- Gerber E, Krebs C, Murrell C, Moretti M, Rocklin R and Schaffner U (2008) Exotic invasive knotweeds (*Fallopia* spp.) negatively affect native plant and invertebrate assemblages in European riparian habitats. *Biol Cons* 141: 646-654
- Ghebrehiwot HM, Aremu AO and Van Staden J (2013) Evaluation of the allelopathic potential of five South African mesic grassland species. *Plant Growth Regul* 72: 155-162
- Gibson DM, Krasnoff SB, Biazzo J, et al. (2011) Phytotoxicity of Antofine from Invasive Swallow-Worts. *J Chem Ecol* 37: 871-879
- Godoy O (2019) Coexistence theory as a tool to understand biological invasions in species interaction networks: Implications for the study of novel ecosystems. *Func Ecol* 33(7): 1190-1201
- Gomes MP, Garcia QS, Barreto LC, Pimenta LPS, Matheus MT and Figueredo CC (2017) Allelopathy: An overview from micro-to macroscopic organisms, from cells to environments, and the perspectives in a climate-changing world. *Biol* 72(2): 113-129
- Gómez-Aparicio L and Canham CD (2008) Neighborhood analyses of the allelopathic effects of the invasive tree *Ailanthus altissima* in temperate forests. *J Ecol* 96:447-458
- Goodall J, Witkowski ETF, Ammann S, et al. (2010) Does allelopathy explain the invasiveness of *Campuloclinium macrocephalum* (pompom weed) in the South African grassland biome? *Biol Invasions* 12: 3497-3512
- Graneli E and Salomon PS (2010) Factors influencing allelopathy and toxicity in *Prymnesium parvum*. *J Am Water Resour Assoc* 46:108-120

- Greer MJ, Wilson GW, Hickman KR and Wilson SM (2014) Experimental evidence that invasive grasses use allelopathic biochemicals as a potential mechanism for invasion: chemical warfare in nature. *Plant soil* 385(1): 165-179.
- Grotkopp E, Rejmánek Mand Rost TL (2002) Towards a causal explanation of plant invasiveness: seedling growth and life-history strategies of 29 pine (*Pinus*) species. *Am Nat* 159: 396-419
- Grove S, Haubensak KA and Parker IM (2012) Direct and indirect effects of allelopathy in the soil legacy of an exotic plant invasion. *Plant Ecol* 213(12): 1869-1882
- Hadacek F (2002) Secondary metabolites as plants traits: Current assessment and future perspectives. *Crit Rev Plant Sci* 21(4): 273-322
- Hagan DL, Jose S and Lin C (2013) Allelopathic Exudates of Cogongrass (*Imperata cylindrica*): Implications for the Performance of Native Pine Savanna Plant Species in the South eastern US. *J Chem Ecol* 39: 312-322
- Harnden J, MacDougall AS and Sikes BA (2011) Field-based effects of allelopathy in invaded tallgrass prairie. *Botany* 89(4): 227-234
- He W, Feng Y and Ridenour WM (2008) Novel weapons and invasion: biogeographic differences in the competitive effects of *Centaurea maculosa* and its root exudate catechin. *Oecologia* 159: 803-815
- Hess MC, Mesléard Fand Buisson E (2019) Priority effects: emerging principles for invasive plant species management. *Ecol Eng* 127: 48-57
- Hierro JL and Callaway RM (2003) Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant soil* 256(1): 29-39
- Hoffmann WA and Haridasan M (2008) The invasive grass, *Melinis minutiflora*, inhibits tree regeneration in a Neotropical savanna. *Austral Ecol* 33: 29-36
- Hooper E, Condit R and Legendre P (2002) Responses of 20 native tree species to reforestation strategies for abandoned farmland in Panama. *Ecol Appl* 12: 1626-1641
- Inderjit and Callaway RM (2003) Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant Soil* 256: 1-11
- Inouye Band Stinchcombe JR (2001) Relationships between ecological interaction modifications and diffuse coevolution: similarities, differences, and causal links. *Oikos* 95: 353-360
- Inderjit and Weston LA (2000) Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction on field responses? *J Chem Ecol* 26(9): 2111-2118
- José S, Williams R and Zamora D (2006) Belowground ecological interactions in mixed-species forest plantations. *For Ecol Manage* 233: 231-239
- Kalisz S, Kivlin S and Bialic-Murphy L (2021) Allelopathy is pervasive in invasive plants. *Biol Invasions* 23(2): 367-371

- Karban R (2011) The ecology and evolution of induced resistance against herbivores. *Funct Ecol* 25: 339-347
- Keane RM and Crawley MJ (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecol Evol* 17(4): 164-170
- Knight KS, Kurylo JS, Endress AG, Stewart JR and Reich PB (2007) Ecology and ecosystem impacts of common buckthorn (*Rhamnus cathartica*): a review. *Biol Invasions* 9(8): 925-937
- Lankau R (2010) Soil microbial communities alter allelopathic competition between *Alliaria petiolata* and a native species. *Biol Invasions* 12(7): 2059-2068
- Larkin DJ, Freyman MJ, Lishawa SC, Geddes P and Tuchman NC (2012) Mechanisms of dominance by the invasive hybrid cattail *Typha × glauca*. *Biol Invasions* 14(1): 65-77
- Levine JM, Vilá M, D. Antonio CM, et al. (2003) Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 775-781
- Lone PA, Dar JA, Subashree K, Raha D, et al. (2019) Impact of plant invasion on physical, chemical and biological aspects of ecosystems: A review. *Trop Plant Res* 6(3): 528-544.
- Lopes PG, Oliveira SCC, Salles KA, et al. (2018) Allelopathy of a native shrub can help control invasive grasses at sites under ecological restoration in a Neotropical savanna. *Plant Ecol Div* 11(4): 527-538
- Lorenzo P, Rodríguez J, González L and Rodríguez-Echeverría S (2017) Changes in microhabitat, but not allelopathy, affect plant establishment after *Acacia dealbata* invasion. *J Plant Ecol* 10 (4): 610-617
- Lortie CJ and Callaway RM (2006) Re-analysis of meta-analysis: support for the stress-gradient hypothesis. *J. Ecol* 94:7-16
- Loydi A, Donath TW, Eckstein RL and Otte A (2015) Non-native species litter reduces germination and growth of resident forbs and grasses: allelopathic, osmotic or mechanical effects? *Biol Invasions* 17(2): 581-595
- Lyytinen A and Lindstrom L (2019) Responses of a native plant species from invaded and uninvaded areas to allelopathic effects of an invader. *Ecol Evol* 9(10): 6116-6123
- Macías FA, Molinillo JMG, Varela RM and Galindo JGC (2007) Allelopathy - a natural alternative for weed control. *Pest Manag Sc* 63: 327-348
- Maestre FT, Callaway RM, Valladares F and Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J Ecol* 97: 199-205
- Mallik AU and Pellissier F (2000) Effects of *Vaccinium myrtillus* on spruce regeneration: testing the notion of coevolutionary significance of allelopathy. *J Chem Ecol* 26: 2197-2209

- Marques AR, Costa CF, Atman APF and Garcia QS (2014) Germination characteristics and seed bank of the alien species *Leucaena leucocephala* (Fabaceae) in Brazilian forest: ecological implications. *Weed Res* 54: 576-583
- Mealor BA, Hild AL and Shaw NL (2005) Native plant community composition and genetic diversity associated with long-term weed invasions. *West N Am Nat* 64: 503-513
- Mello TJ and de Oliveira AA (2016) Making a bad situation worse: an invasive species altering the balance of interactions between local species. *PLoS ONE* 11 (3): 1-17
- Mignoni DSB, Simões K and Braga MR (2018) Potential allelopathic effects of the tropical legume *Sesbania virgata* on the alien *Leucaena leucocephala* related to seed carbohydrate metabolism. *Biol Invasions* 20: 165-180
- Murrell C, Gerber E, Krebs C, Parepa M, Schaffner U and Bossdorf O (2011) Invasive knotweed affects native plants through allelopathy. *Am J Bot* 98(1): 38-43
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB and Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853
- Negi G, Sharma S, Vishvakarma SC, Samant SS, Maikhuri RK, Prasad RC and Palni L (2019) Ecology and use of *Lantana camara* in India. *Bot Review* 85(2): 109-130
- Ni GY, Schaffner U, Peng SL and Callaway RM (2010) *Acroptilon repens*, an Asian invader, has stronger competitive effects on species from America than species from its native range. *Biol Invasions* 12(11): 3653-3663
- Ni G, Zhao P, Ye Y, et al. (2020) High photosynthetic capacity and energy-use efficiency benefit both growth and chemical defense in invasive plants. *Chemoecology* 30: 69-78
- Nickerson K and Flory SL (2015) Competitive and allelopathic effects of the invasive shrub *Schinus molle* (Brazilian peppertree). *Biol Invasions* 17: 555-564
- Nilsson MC (1994) Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. *Oecologia* 98:1-7
- Ning L, Yu F and van Kleunen M (2016) Allelopathy of a native grassland community as a potential mechanism of resistance against invasion by introduced plants. *Biol Invasions* 18: 3481-3493
- Novoa A, González L, Moravcová L and Pyšek P (2012) Effects of soil characteristics, allelopathy and frugivory on establishment of the invasive plant *Carpobrotus edulis* and a co-occurring native, *Malcolmia littorea*. *PLoS ONE* 7: 1-11
- Palma AC and Laurance SGW (2015) A Review of the Use of Direct Seeding and Seedling Plantings in Restoration: What Do We Know and Where Should We Go? *Appl Veg Sci* 18:56-68
- Parepa M and Bossdorf O (2016) Testing for allelopathy in invasive plants: it all depends on the substrate. *Biol. Invasions* 18:2975-2982

- Pearse IS, Harris DJ, Karban R and Sih A (2013) Predicting novel herbivore-plant interactions. *Oikos* 122:1554-1564
- Pérez JE, Alfonsi C, Ramos C, Gómez JA, Muñoz C and Salazar SK (2012) How some alien species become invasive. Some ecological, genetic and epigenetic basis for bioinvasions. *Interciencia* 37(3): 238-244
- Perrins J, Fitter A and Williamson M (1993) Population biology and rates of invasion of three introduced *Impatiens* species in the British Isles. *J Biog* 20: 33-44
- Piola F, Bellvert F, Meiffren G, et al. (2013) Invasive *Fallopia* × *bohemica* interspecific hybrids display different patterns in secondary metabolites. *Ecosc* 20:230-239
- Pires NM and Oliveira VR (2011) Alelopatia. Embrapa Hortaliças – Capítulo 5 livro técnico-científico pp 95-124
- Pivello VR, Carvalho V and Lopes P (1999a). Abundance and distribution of native and alien grasses in a ‘Cerrado’ (Brazilian savanna) biological reserve. *Biotropica* 31:71-82
- Popovici J, Bertrand C, Jaquemoud D, Bellvert F, Fernandez MP, et al. (2011) An allelochemical from *Myrica gale* with strong phytotoxic activity against highly invasive *Fallopia x bohemica* taxa. *Molecules* 16: 2323-2333
- Portales-Reyes C, Van Doornik T, Schultheis EH, et al. (2015) A novel impact of a novel weapon: allelochemicals in *Alliaria petiolata* disrupt the legume-rhizobia mutualism. *Biol Invasions* 17: 2779-279
- Prati D and Bossdorf O (2004) Allelopathic inhibition of germination by *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). *American journal of Botany* 91(2): 285-288
- Qasem JR (2017) A new technology separating allelopathy from competition in pot experiments. *Int J Agric Sc Food Technol* 3(1): 019-025
- Qin F, Liu S and Yu S (2018) Effects of allelopathy and competition for water and nutrients on survival and growth of tree species in *Eucalyptus urophylla* plantations. *For Ecol Manag* 424: 387-395
- Qin F and Yu S (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi protect native woody species from novel weapons. *Plant Soil* 440(1): 39-52
- Qin RM, Zheng YL, Valiente-Banuet A, Callaway RM, et al. (2013) The evolution of increased competitive ability, innate competitive advantages, and novel biochemical weapons act in concert for a tropical invader. *New Phytol* 197:979-988
- Rabotnov TA (1982) Importance of the evolutionary approach to the study of allelopathy. *Ékologia* 3:5-8
- Reigosa M, Gomes AS, Ferreira AG and Borghetti F (2013) Allelopathic research in Brazil. *Acta Bot Bras* 27(4):629-646
- Reigosa MJ, Pedrol N and Gonzalez L (2006) Allelopathy: a physiological process with ecological implications. Dordrecht, the Netherlands: Springer

- Renne IJ, Rios BG, Fehmi JS and Tracy BF (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plants: a cause for encouragement? *Bas Appl Ecol* 5: 261-269
- Richardson DM, Pyšek P, Rejmánek M, Barbour MG, Panetta FD and West CJ (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definition. *Div Dist* 6: 93-107
- Shannon-Firestone S and Firestone J (2015) Allelopathic potential of invasive species is determined by plant and soil community context. *Plant ecol* 216(3): 491-502
- Simberloff D, Kaur H, Kalisz Sand Bezemer TM (2021) Novel chemicals engender myriad invasion mechanisms. *New Phyt* 232(3): 1184-1200
- Stinson KA, Campbell SA, Powell JR, et al. (2006) Invasive plant suppresses the growth of native tree seedlings by disrupting belowground mutualisms. *PLoS Biol* 4(5): 727-731
- Tesio F and Ferrero A (2010) Allelopathy, a chance for sustainable weed management. *Int J Sustain Dev World Ecol* 17:377-389
- Thapa LB, Kaewchumnong K, Sinkkonen A and Sridith K (2020) Airborne and belowground phytotoxicity of invasive *Ageratina adenophora* on native species in Nepal. *Plant Ecol* 221(10): 883-892
- Thorpe A, Thelen G, Diaconu A and Callaway R (2009) Root exudate is allelopathic in invaded community but not in native community: field evidence for the novel weapons hypothesis. *J Ecol* 97(4): 641-645
- Trew BT and Maclean IM (2021) Vulnerability of global biodiversity hotspots to climate change. *Glob Ecol Biog* 30(4): 768-783
- Uddin MN, Asaeda T, Shampa SH and Robinson RW (2020) Allelopathy and its coevolutionary implications between native and non-native neighbors of invasive *Cynara cardunculus* L. *Ecol Evol* 10(14): 7463-7475
- Vanderhoeven S, Dassonville N and Meerts P (2005) Increased topsoil mineral nutrient concentrations under exotic invasive plants in Belgium. *Plant Soil* 275: 169-179
- van Kleunen M, Dawson W and Maurel N (2015) Characteristics of successful alien plants. *Mol Ecol* 24:1954-1968
- van Wilgen BW, Zengeya TA and Richardson DM (2022) A review of the impacts of biological invasions in South Africa. *Biol Invasions* 24: 27-50 (2022)
- Varkitzi I, Pagou K, Graneli E, Hatzianestis I, Pyrgaki C, Pavlidou A, Montesanto B and Economou-Amilli A (2010) Unbalanced N:P ratios and nutrient stress controlling growth and toxin production of the harmful dinoflagellate *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge. *Harm Algae* 9:304-311
- Verhoeven KJF, Biere A, Harvey JA, et al. (2009) Plant invaders and their novel natural enemies: who is naive? *Ecol Lett* 12:107-117

- Visser V, Wilson JRV, Fish L, Brown C, Cook GD and Richardson DM (2016) Much more give than take South Africa as a major donor but infrequent recipient of invasive non-native grasses. *Glob Ecol Biog* 25:679-692
- Yuan L, Li JM, Yu FH, Oduor AM and van Kleunen M (2021) Allelopathic and competitive interactions between native and alien plants. *Biol Invasions* 23(10): 3077-3090
- Yuan Y, Tang J, Leng D, Hu S, Yong JWH and Chen X (2014) An invasive plant promotes its arbuscular mycorrhizal symbioses and competitiveness through its secondary metabolites: indirect evidence from activated carbon. *PLoS ONE* 9:e97163
- Yuan Y, Wang B, Zhang S, et al. (2012) Enhanced allelopathy and competitive ability of invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range. *J Plant Ecol* 6(3): 253-263
- Wang H, Zhou Y, Chen Y, Wang Q, Jiang L and Luo Y (2015) Allelopathic potential of invasive *Plantago virginica* on four lawn species. *PLoS ONE* 10: 1-12
- Weigelt A and Jolliffe P (2003) Indices of plant competition. *J Ecol* 91:707-720
- Weir TL, Park SW and Vivanco JM (2004) Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 472-479
- Wipf S, Rixen C and Mulder CPH (2006) Advanced snowmelt causes shift towards positive neighbour interactions in a subarctic tundra community. *Glob Change Biol* 12:1496-1506
- Wu H, Prtley J, Leerle D, Haig T and An M (2001) Screening Methods for the Evaluation of Crop Allelopathic Potential. *Bot Rev* 67(3):403-415
- Wu AP, Li ZL, He FF, Wang YH and Dong M (2015) Screening allelochemical-resistant species of the alien invasive *Mikania micrantha* for restoration in South China. *PLoS ONE* 10: 1-14
- Zenni RD and Ziller SR (2011) An overview of invasive plants in Brazil. *Braz J Bot* 34:431-446

Capítulo 2

Avaliação do potencial alelopático da serapilheira do arbusto

***Lepidaploa aurea* em condições controladas**

Resumo

As invasões biológicas por plantas exóticas estão aumentando em todo o mundo, exigindo novas abordagens para a prática da restauração ecológica em ambientes invadidos. A escolha das plantas nativas a serem utilizadas nos plantios é um componente essencial no planejamento da restauração. Plantas que apresentam características como altas taxas de germinação e sobrevivência, além de eficiência no uso de recursos e potencial alelopático costumam ser as melhores candidatas. Alguns estudos consideram as folhas das plantas o órgão que mais produz aleloquímicos e, por esse motivo, a serapilheira de algumas plantas costuma apresentar potencial alelopático contra espécies vizinhas. Estudos anteriores mostraram que o arbusto nativo *Lepidaploa aurea* é uma boa alternativa para uso em plantios de restauração ecológica no Cerrado brasileiro por produzir grandes quantidades de serapilheira e ter bom desempenho na reprodução, crescimento e cobertura do solo. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo (a) avaliar a fitotoxicidade de folhas senescentes de *L. aurea* em ambiente laboratorial sobre a espécie modelo *Lactuca sativa*, (b) avaliar o potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* sobre a gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens* e a gramínea nativa do Cerrado *Paspalum atratum* em vasos em casa de vegetação, (c) determinar as taxas de decomposição (k), meia-vida ($T_{50\%}$) e tempo de residência ($1/k$) da serapilheira de *L. aurea* em solo com irrigação constante nos tratamentos com e sem carvão ativado, e (d) avaliar as características químicas do solo sob a decomposição da serapilheira de *L. aurea*. Em condições de laboratório, as folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição apresentaram baixa fitotoxicidade sobre *L. sativa*, produzindo principalmente efeitos de estímulo do crescimento da planta alvo. Foi observado efeito inibitório apenas no tempo 18 dias de incubação do solo na parte aérea da planta alvo. No experimento em vasos em casa de vegetação, a serapilheira de *L. aurea* não causou alterações no desenvolvimento da parte aérea e da parte radicular das gramíneas alvo, sugerindo ausência ou baixo potencial alelopático em condições mais próximas das naturais. A adição de carvão ativado aos vasos no experimento em casa de vegetação provocou aumento da biomassa aérea, da superfície radicular total e do comprimento radicular total de *U. decumbens*. Ainda assim, não alterou as taxas de decomposição, meia-vida e tempo de residência da serapilheira de *L. aurea*. A presença de serapilheira no solo onde foi realizado o bioensaio em casa de vegetação não modificou as características químicas do solo, no entanto, o carvão ativado

isoladamente alterou alguns parâmetros químicos do solo, o que pode ter contribuído para o efeito que o carvão ativado provocou sobre a gramínea exótica invasora em casa de vegetação.

Palavras chave: alelopatia, metabólitos secundários, parte aérea, raiz, substrato.

Abstract

Biological invasions by exotic plants are increasing worldwide, demanding new approaches to the practice of ecological restoration in invaded environments. The choice of native plants to be used in restoration practices is an essential component in restoration planning. Plants that have characteristics such as high germination and survival rates, as well as resource efficiency and allelopathic potential are usually the best candidates. Some studies consider the plant leaves as the organ that produces the most allelochemicals and, for this reason, the litter of some plants usually has allelopathic potential against neighboring species. Previous studies have shown that the native shrub *Lepidaploa aurea* is a good alternative for use in no-till plantations of ecological restoration projects in the Brazilian Cerrado. It produces large amounts of leaf litter and performs well in reproduction, growth and ground cover. In this context, the present study aimed to (a) evaluate the phytotoxicity of senescent leaves of *L. aurea* in a laboratory environment on the model species *Lactuca sativa*, (b) evaluate the allelopathic potential of litter of *L. aurea* on the invasive exotic grass *Urochloa decumbens* and the native Cerrado grass *Paspalum atratum* in pots in a greenhouse, (c) determine the decomposition rates (k), half-life ($T_{50\%}$) and residence time ($1/k$) of litter of *L. aurea* in soil with constant irrigation in the treatments with and without activated charcoal, and (d) to evaluate the chemical characteristics of the soil under the decomposition of the litter of *L. aurea*. Under laboratory conditions, senescent leaves of decomposing *L. aurea* showed low phytotoxicity against *L. sativa*, producing mainly growth-stimulating effects on the target plant. Inhibitory effect was observed only in time of 18 days of soil incubation in the aerial part of the target plant. In the experiment in pots in a greenhouse, the litter of *L. aurea* did not change the development of the aerial part and the root part of the target grasses, suggesting absence or low allelopathic potential in conditions closer to natural ones. The addition of activated charcoal to the pots in the greenhouse experiment caused an increase in aerial biomass, total root surface and total root length of *U. decumbens*. Even so, it did not change the

decomposition rates, half-life and residence time of the litter of *L. aurea*. The presence of litter in the soil where the bioassay was carried out in a greenhouse did not change the chemical parameters evaluated, however, activated carbon alone altered some chemical parameters of the soil, which may have contributed to the effect that activated carbon had on target grasses in a greenhouse.

Keywords: allelopathy, root, secondary metabolites, shoot, substrate.

1. Introdução

A alelopatia é o processo que envolve a liberação de substâncias químicas no ambiente por plantas, as quais provocam a inibição ou, menos frequentemente, a estimulação do desenvolvimento de plantas vizinhas (Ferreira e Aquila 2000; Pires e Oliveira 2011; Ning et al. 2016; Gomes et al. 2017)

As substâncias alelopáticas são liberadas pelas plantas por lixiviação, volatilização, exsudação radicular ou decomposição de resíduos vegetais, e podem ser absorvidas pelas plantas alvo pela epiderme foliar ou pela raiz (Souza Filho e Alves 2002; Scavo et al. 2018). De um modo geral, estas substâncias podem apresentar instabilidade no ambiente e sofrer decomposição após sua liberação (Pires e Oliveira 2011; Hussain 2020). Em alguns casos, os compostos químicos liberados podem persistir no solo mesmo após a senescência e decomposição do material vegetal, o que pode causar efeitos no desenvolvimento de gerações de plantas vizinhas (Bonanomi et al. 2006; Bonanomi et al. 2011; Fernandez et al. 2013; Chomel et al. 2016; Huang et al. 2019).

Embora os efeitos dos metabólitos pós senescência sejam reconhecidos, a compreensão da sua dinâmica é frequentemente baseada em um grupo dominante de compostos, como taninos condensados, por exemplo (Schweitzer et al. 2004, 2008b), e estudos sobre a persistência de uma gama mais ampla de compostos individuais permaneceram escassos (Gallet e Lebreton 1995; Paaso et al. 2017).

Alguns estudos discutem que as folhas verdes e senescentes são partes da planta com alta atividade alelopática, no entanto, as folhas jovens são mais estudadas (Turk e Tawaha 2003; Li et al. 2013; da Silva et al. 2021). O potencial alelopático de folhas normalmente promove efeitos diretos sobre o crescimento das plantas alvo (da Silva et

al. 2021), contudo, também pode agir de forma indireta, afetando outras variáveis de desenvolvimento, como por exemplo a capacidade fotossintética (Gonzales et al. 1997; Chen et al. 2018), o mecanismo respiratório (Einhellig 1986) e a absorção de nutrientes (Pires e Oliveira 2011; Mohammadkhani e Servati 2017), o que acaba refletindo no crescimento de plantas co-ocorrentes (Sahoo et al. 2007; Lorenzo et al. 2011; Kato-Noguchi e Kurniadie 2021).

Durante o processo de decomposição da serapilheira, normalmente a liberação dos compostos fitoquímicos ocorre pela lixiviação de substâncias presentes nos resíduos, pelo rompimento de tecidos ou de células durante o processo, seguidos pelo extravasamento do seu conteúdo (Lankau 2010; Andrade et al. 2013; Aslam et al. 2017). Em alguns casos, os metabólitos decorrentes da decomposição são mais tóxicos do que o produto original (Pires e Oliveira 2011). Sendo assim, para compreender melhor a interação alelopática em bioensaios usando serapilheira ou folhas senescentes da planta doadora, além de análises dos efeitos no crescimento de plantas alvo, é aconselhável investigar a taxa de decomposição do material vegetal (da Silva et al. 2021).

Tem sido documentado que extratos aquosos de folhas, em geral, apresentam maior fitotoxicidade do que extratos de raízes sobre o desenvolvimento inicial de espécies alvo (Dorning e Cipollini 2006; Pereira et al. 2008). A fitotoxicidade de plantas, em geral, é avaliada em ambiente controlado (laboratorial), muitas vezes com o uso de solventes orgânicos, de extratos vegetais em altas concentrações, de espécies alvo muito sensíveis e de substrato inerte, como o papel filtro (Blum 2011; Reigosa et al. 2013). Portanto, a fitotoxicidade não deve ser considerada uma evidência de potencial alelopático, mas apenas um indício.

Gramíneas exóticas invasoras podem afetar negativamente a biodiversidade e a função ecossistêmica de savanas nativas (Flory e Clay 2010; Damasceno et al. 2018; Garcia et al. 2021). Espécies do gênero *Urochloa* (brachiarias) têm demonstrado grande capacidade de invadir e dominar rapidamente a camada herbácea de savanas neotropicais abertas (Damasceno et al. 2018), graças à sua alta eficiência na produção de biomassa (Williams e Baruch 2000), favorecida por uma estratégia eficaz de produção de sementes (Xavier et al. 2021) e potencial alelopático contra espécies nativas (Gorgone-Barbosa et al. 2008; Kobayashi e Kato-Noguchi 2015).

Em observações de campo em plantios de restauração ecológica no Cerrado do Distrito Federal e em Goiás, foi observado que a espécie arbustiva *Lepidaploa aurea* (Asteraceae) apresenta indícios de atividade alelopática, especialmente sobre a gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens*, uma vez que foi constatada a ocorrência de zonas de inibição de crescimento desta gramínea no entorno de populações do arbusto. Estas observações embasaram a investigação da fitotoxicidade da planta, a qual foi confirmada em três tipos bioensaios laboratoriais (Lopes et al. 2017, 2018). Nos dois primeiros bioensaios laboratoriais os extratos de folhas jovens de *L. aurea* demonstraram maior bioatividade do que os extratos radiculares. Foi observado que o efeito negativo do extrato foliar sobre crescimento inicial de uma das espécies alvo alcançou um valor dez vezes maior do que o extrato de raiz (Lopes et al. 2017), e seis vezes maior sobre o crescimento de *U. decumbens* (Lopes et al. 2018). Por último, no bioensaio usando o solo no qual *L. aurea* foi previamente cultivada, que possivelmente continha aleloquímicos radiculares da planta, foi constatado o estímulo do desenvolvimento da arbórea nativa *C. langsdorffii*, além da inibição de *U. decumbens* (Lopes et al. 2018).

A característica de *L. aurea* de produzir grande quantidade de folhas na estação chuvosa, as quais são depositadas no solo na estação seca, formando uma camada de serapilheira relativamente densa (cerca de 191g/m²), pode indicar que o arbusto investe mais na produção de aleloquímicos localizados em suas folhas (Lopes 2016). No entanto, é necessário lembrar que em observações de campo é possível visualizar que a serapilheira do arbusto normalmente recobre o solo durante todo o ano, indicando decomposição lenta em condições naturais.

Adicionalmente, foi demonstrado por Lima-Ribeiro e Prado (2007) que *L. aurea* se estabelece bem em áreas sob restauração ecológica no Cerrado, não interfere no estabelecimento das espécies arbóreas e não deve ser considerado como potencial espécie danosa ao restabelecimento da vegetação nativa. No entanto, é importante citar que apesar do bom desempenho em plantios de restauração, dos indícios de atividade alelopática observados em campo e da comprovada fitotoxicidade que *L. aurea* possui, Motta (2017) concluiu que o arbusto pode ter sua dinâmica populacional afetada de forma negativa pela presença da invasora *U. decumbens* nestas mesmas áreas de plantio.

Estudos comprovam que existem casos de plantas com fortes efeitos fitotóxicos detectados que não apresentam alelopátia em condições próximas das naturais (Renne et al. 2004; Pires e Oliveira 2011). Portanto, é necessário que o potencial alelopático de *L. aurea* seja avaliado em experimentos fora do ambiente laboratorial, para que a alelopátia da planta possa ser considerada como um dos mecanismos de defesa contra a invasão por *U. decumbens*.

Com base nas constatações de campo em áreas de restauração ecológica (Lima-Ribeiro e Prado 2007; Motta 2017; Pellizzaro et al. 2017) e considerando a fitotoxicidade comprovada nas folhas jovens e raízes de *L. aurea* sobre espécies modelo e sobre a gramínea exótica invasora *U. decumbens* em laboratório (Lopes et al. 2017,

2018), este estudo tem a finalidade de identificar o potencial alelopático da serapilheira da planta sobre o crescimento inicial de uma gramínea exótica invasora e outra gramínea nativa de Cerrado, em condições de casa de vegetação.

2. Objetivos

- Avaliar a fitotoxicidade de folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição em laboratório utilizando *Lactuca sativa* como alvo;
- Avaliar o potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* sobre o crescimento aéreo e radicular de duas espécies de gramíneas, uma exótica invasora (*U. decumbens*) e outra nativa (*P. atratum*), plantadas em vasos e em condições de casa de vegetação;
- Avaliar a taxa de decomposição (k), a meia vida (T50%) e o tempo de residência ($1/k$) da serapilheira de *L. aurea* em um período de 90 dias de decomposição sob condições de irrigação em casa de vegetação;
- Avaliar se as características químicas do solo sofrem alterações em decorrência da decomposição da serapilheira de *L. aurea* sobre o substrato.

3. Hipóteses

- As folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição possuem atividade fitotóxica sobre o modelo *Lactuca sativa* em condições laboratoriais, considerando que foi comprovada a fitotoxicidade de folhas jovens e de raízes do arbusto em estudo anterior (Lopes et al. 2017, 2018);
- A serapilheira de *L. aurea* possui potencial alelopático com efeitos mais acentuados sobre o crescimento de *U. decumbens* do que sobre o de *P. atratum*, pois foi constatado em estudo anterior que aleloquímicos de folhas jovens e

raízes *L. aurea* inibiram o crescimento da gramínea exótica invasora e estimularam o crescimento de outras duas plantas nativas (Lopes et al. 2018);

- A serapilheira de *L. aurea* possui baixas taxas de decomposição apesar da irrigação em condições de casa de vegetação, pois em observações de campo é possível visualizar que a serapilheira do arbusto permanece no solo durante todo o ano, inclusive na estação chuvosa;
- A incorporação da serapilheira de *L. aurea* ao solo promove a modificação de algumas de suas características químicas ligadas à fertilidade, pois foi documentada a existência de aleloquímicos que tem a capacidade de afetar a dinâmica de nutrientes no solo (Meiklejohn 1962; Rice 1984).

4. Material e Métodos

4.1. Espécies estudadas

A espécie doadora, *Lepidaploa aurea* Mart. ex DC. (Asteraceae) – vulgarmente conhecida como amargoso - é um arbusto nativo do Cerrado muito ramificado, de altura média de 1 metro, que possui caule com pêlos acinzentados e folhas simples, alternas, de pecíolo curto e com tricomas nas duas superfícies. É encontrada especialmente em áreas de Cerrado do Brasil central (Farias et al.2002). Possui fitotoxicidade comprovada em laboratório sobre o crescimento aéreo e radicular de outras espécies de plantas, entre elas a gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster (Poaceae) (Lopes et al. 2017, 2018). Os bioensaios que detectaram a fitotoxicidade foram realizados com extratos de folhas jovens e raízes do arbusto e em solo no qual *L. aurea* foi previamente cultivada por nove meses, e afetaram tanto a parte aérea quanto a parte radicular da planta alvo.

A espécie alvo utilizada nos bioensaios laboratoriais, *Lactuca sativa* L. – alface - é uma planta anual originária de clima temperado, pertencente à família Asteracea (Chon et al. 2005), cultivada em condições de campo ou em solução nutritiva (hidropônica), se destaca, entre as hortaliças, como a de maior valor comercial no Brasil, sendo a sexta em importância econômica e oitava em termos de produção (Oliveira 2005). A espécie é comumente utilizada em testes de fitotoxicidade devido a sua alta sensibilidade e taxas de crescimento conhecidas (Aragão et al. 2017).

A gramínea *Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster (Poaceae) – vulgo braquiária - é uma forrageira de origem africana, perene, ereta ou decumbente, entouceirada, rizomatosa, com enraizamento nos nós inferiores em contato com o solo, denso pubescente, de coloração geral verde-escura, de 30-90 cm de altura (Loch 1977; Valle 2017). Possui características que a tornam extremamente bem-sucedida na colonização de áreas abertas degradadas: altas taxas de crescimento, desempenho fotossintético muito eficiente, altas taxas de regeneração, uso efetivo de nutrientes e também grande tolerância à defoliação e à herbivoria (Kolar and Lodge 2001; Ramos et al. 2009; Blackburn et al. 2011; Motta 2017).

A espécie *Paspalum atratum* Swallen (Poaceae) – capim pojuca - é uma gramínea nativa do Cerrado, perene, com rizomas longos e profundos e com colmos de até 130 cm de comprimento, com grande potencial forrageiro (Maciel et al. 2009). Apresenta alta produção e grande velocidade de rebrota (Karia and Andrade 2001; Caramasch 2015). A produtividade desta gramínea é maior em regiões com períodos chuvosos mais prolongados e secas menos severas (Ramos et al. 2009). Assim como outras espécies do mesmo gênero, esta espécie possui metabolismo fotossintético C4 (Klink and Joly 1989), sendo, portanto, bem adaptada a ambientes de pleno sol.

4.2. Avaliação da fitotoxicidade das folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição em condições laboratoriais

Para avaliar a fitotoxicidade das folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição foram conduzidos experimentos em condições controladas no Laboratório de Alelopatia Alfredo Gui Ferreira do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília, DF, Brasil.

Folhas secas de *L. aurea* em fim do processo de senescência, ainda ataxadas à planta, foram coletadas manualmente, em outubro de 2021, no Jardim Louise Ribeiro, situado no Instituto de Ciências Biológicas do Campus Universitário Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília, DF. Neste mesmo mês também foi realizada coleta de solo (Latosolo Vermelho) em uma área de campo sujo do Cerrado (SEMA/DF 2022) próximo ao Laboratório de Termobiologia Luiz Gouvêa Labouriau, pertencente ao mesmo campus universitário, localizado a menos de 1 km de distância do Jardim Louise Ribeiro. O solo foi coletado abaixo de 50 cm de profundidade, para diminuir a influência de compostos produzidos por outras espécies de plantas no local de coleta.

Para a execução do experimento foram separados 24 recipientes de alumínio de 16cm de comprimento, 12cm de largura e 4cm de profundidade, os quais foram preenchidos com 500g de solo (previamente seco ao ar livre, peneirado e homogeneizado). Sobre 20 destes recipientes foram depositados fragmentos tela de náilon de malha de 2 x 2mm e 3,6g de folhas senescentes de *L. aurea* (previamente secas em estufa a 70°C por 48h) (Lopes 2016). Os quatro recipientes restantes foram mantidos sem folhas (controle). Os recipientes com folhas e os do controle foram embebidos com água destilada com o auxílio de uma pisseta até molhar todas as folhas e umedecer o solo até o ponto de escoamento. O procedimento de irrigação foi repetido uma vez por semana até o fim do experimento.

Após 7, 18, 28 e 39 dias (T7, T18, T28 e T39) de incubação dos solos com a serapilheira foram escolhidos aleatoriamente seis recipientes: cinco bandejas com folhas e um sem folhas (controle). Os solos destes seis recipientes foram retirados, separados das folhas em decomposição, e colocados em células de sementeiras plásticas, divididas em caixas Gerbox. Para cada tratamento, em cada tempo, foram estabelecidas cinco caixas Gerbox com cinco células cada, e para o controle foi separada apenas uma caixa. Em cada célula foram colocadas cinco sementes de *L. sativa*. Após sete dias de germinação em fotoperíodo de 12h, temperatura ambiente média de 25°C e manutenção do nível de água, as plântulas foram retiradas das células para a medição das partes aéreas e radiculares que foram analisadas utilizando o software ImageJ[®].

Para a análise estatística foi utilizado o Programa R Core Team (2021). Foi detectada a ausência de normalidade e de homocedasticidade nos dados após realização do teste Shapiro-wilk, e como a transformação dos dados não foi possível optou-se por executar o GLM (Modelo Linear Generalizado) com distribuição gamma (não paramétrica), que foi o modelo que melhor representou os dados. As médias dos tratamentos foram comparadas com o teste *a posteriori* Dunnett, com nível de significância de 0,05.

4.3. Avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* em casa de vegetação

Para avaliar o potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* nas duas espécies de gramíneas, exótica invasora (*U. decumbens*) e nativa (*P. atratum*), foi conduzido experimento em vasos em condições de casa de vegetação na Estação Experimental da Biologia da Universidade de Brasília, localizada em Brasília – DF, Brasil.

Serapilheira de *L. aurea* foi coletada em três áreas de Cerrado *sensu stricto* do Distrito Federal (DF), em margens de estradas não pavimentadas, duas delas localizadas na Universidade de Brasília, distantes cerca de 4km uma da outra, e a terceira área localizada no entorno da Reserva Biológica da Contagem, à aproximadamente 20km das duas primeiras áreas. As coletas foram realizadas entre os meses de maio e julho de 2017. Todo o material coletado foi posteriormente misturado e seco em estufa a 60° por 48h.

As sementes das espécies de gramíneas alvo utilizadas no bioensaio foram adquiridas no comércio local.

O experimento consistiu em um fatorial completo de dois fatores com dois níveis cada: (i) vaso com e sem serapilheira; (ii) vaso com e sem adição de carvão ativado. A combinação entre os dois níveis dos dois fatores entre si correspondeu a: (i) vasos sem serapilheira + sem carvão, (ii) vasos sem serapilheira + com carvão; (iii) vasos com serapilheira + sem carvão e (iv) vasos com serapilheira + com carvão. Cada tratamento teve uma repetição de 20 vasos por planta alvo, perfazendo um total de 40 vasos/planta alvo/tratamento, 160 vasos no total. O carvão ativado é largamente utilizado em experimentos de alelopatia, pois tem a capacidade de adsorver compostos orgânicos em geral e assim atenuar os efeitos dos compostos alelopáticos (Callaway and Ridenour 2004; Del Fabbro et al. 2014).

Os vasos tinham o volume de 2,5L e eram perfurados no fundo. Foram preenchidos com uma camada de argila expandida e em seguida com solo (Latosolo Vermelho) + areia de textura fina (mistura 4:1 solo e areia). Os componentes do substrato (solo e areia) foram adquiridos no comércio local. Em metade dos vasos foi acrescentado o carvão ativado (20 ml/L) (Del Fabbro et al. 2014). Depois da incorporação do carvão ativado ao substrato, foi depositada serapilheira de *L. aurea* em

metade dos vasos com carvão ativado e em metade dos vasos sem carvão ativado. Os vasos foram organizados em bancadas de 1m de largura por 8m de comprimento.

Sementes das espécies alvo foram pré-germinadas em laboratório, onde cresceram em sementeiras por um período de 15 dias e, em seguida, foram transplantadas para os vasos. Optou-se pela pré-germinação das sementes das espécies alvo para padronizar o tamanho das plântulas transplantadas por vaso. Inicialmente foram transplantados três (3) indivíduos para cada vaso e após duas semanas dois deles foram retirados e apenas um indivíduo foi mantido.

As plantas alvo cresceram por um período de três meses com irrigação contínua, a cada dois dias, com o uso de regadores manuais e observando sempre a manutenção de 100% capacidade de campo dos vasos. Durante o período de crescimento das espécies alvo foi feito o rodízio dos vasos a casa quinze dias para reduzir a influência da variação de luminosidade sobre o crescimento das plantas. Depois de 90 dias o experimento foi desmontado e foram medidos o comprimento, com uso de régua, e a biomassa seca das partes aéreas e radiculares de todas as plantas. Antes da secagem (em estufa à 60°C por 48h), as raízes das plantas coletadas foram fotografadas para posterior análise da arquitetura das raízes, por meio das variáveis superfície radicular total, comprimento radicular total e número de bifurcações radiculares, com o uso do software Winrhizo 2008^a – Basic, Reg, Pro and Arabidopsis for Root Measurement, Canadá.

Para a análise estatística foi utilizado o Programa R Core Team (2021). Foi detectada a ausência de normalidade e de homocedasticidade nos dados após realização do teste Shapiro-wilk, e como a transformação dos dados não foi possível optou-se por executar o GLM (Modelo Linear Generalizado) com distribuição gamma (não paramétrica), que foi o modelo que melhor representou os dados. As médias dos tratamentos foram comparadas com o teste *a posteriori* Dunnett, com nível de

significância de 0,05. Para a comparação entre os tratamentos foram avaliadas as espécies de forma isolada (*U. decumbens* e *P. atratum*), e além disso, foram avaliados também de forma isolada, através da comparação de par a par, os efeitos da serapilheira na presença e ausência de carvão ativado, assim como o efeito do carvão ativado na presença e ausência da serapilheira.

4.4. Avaliação da velocidade de decomposição da serapilheira de *L. aurea*

Concomitantemente ao bioensaio para avaliar o potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* em casa de vegetação, foi realizado um experimento para determinar a taxa de decomposição da serapilheira do arbusto.

O material vegetal coletado em campo foi previamente seco em estufa a 60°C durante 48 horas. Em seguida foi disposto em sacos de tela de náilon de malha de 2 x 2 mm e de dimensões de 15 x 20 cm, 12 gramas por saco. Estes sacos foram organizados na superfície de bandejas plásticas perfuradas no fundo e preenchidas com 2kg de Latossolo Vermelho + areia de textura fina (mistura 4:1 solo e areia). Em metade das bandejas foi acrescentado carvão ativado (20g por L) ao substrato. O bioensaio contou, portanto, com dois tratamentos de solo (com e sem carvão ativado). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação pelo período de 90 dias, com irrigação a cada dois dias usando regadores manuais, observando sempre a manutenção de 100% da capacidade de campo do substrato.

No prazo de três meses, a cada quinze dias após o início do experimento foi retirado o material vegetal do interior de quatro sacos para a avaliação da massa seca remanescente. A secagem foi feita em estufa a 60°C por 48 horas e o material seco foi pesado em balança de precisão. As amostras do material vegetal foram pesadas antes da

montagem do experimento (T0), bem como a cada 15 dias até completar o período de três meses do início do bioensaio de decomposição (T15, T30, T45, T60, T75 e T90).

Foi calculada a taxa de decomposição usando a fórmula $k = -\ln [1 - (dPS/PSo)]$, onde dPS corresponde à perda de peso seco no período considerado e PSo ao peso seco inicial do período considerado (Olson 1963; Jacobson et al. 2011). Também foi calculado o tempo de meia vida da serapilheira (T50%) (tempo necessário para o desaparecimento de metade da serapilheira acumulada), através da equação $\ln 2 / k$, e o tempo de residência da serapilheira, dado pela fórmula $1 / k$.

Para a análise estatística foi utilizado o Programa R Core Team (2021). Foi detectada a ausência de normalidade e de homocedasticidade nos dados após realização do teste Shapiro-wilk, e como a transformação dos dados não foi possível optou-se por executar o GLM (Modelo Linear Generalizado) com distribuição quasi (não paramétrica), que foi o modelo que melhor representou os dados. A tendência dos dados foi melhor representada por um modelo exponencial, que gerou a curva com maior coeficiente de determinação (R^2) (Zar 1999).

4.5. Avaliação de características químicas do solo

As amostras de solo foram coletadas de vasos usados no bioensaio de avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* realizado em casa de vegetação, no início do experimento (T0) e após o desmonte do experimento (T1), para isso, foram selecionados cinco vasos para T0 nos tratamentos com e sem carvão ativado e cinco vasos por tratamento (sem carvão/sem serapilheira, sem carvão/com serapilheira, com carvão/sem serapilheira, com carvão/com serapilheira) para cada espécie alvo (*U. decumbens* e *P. atratum*) para T1.

As análises químicas do solo foram realizadas no Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa – MG, onde foram avaliados os valores de pH em H₂O e as concentrações disponíveis e trocáveis de P, K, Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺, H+Al, além da soma de bases (SB), saturação por bases V (%), saturação por alumínio (m), capacidade de troca de cátions (T), capacidade de troca de cátions efetiva (t), matéria orgânica (MO), P remanescente (P rem) e nitrogênio total (N-total). As análises realizadas seguiram o protocolo estabelecido por EMBRAPA (1997).

Para a análise estatística dos dados de solos foi realizada a análise intervalar (Limite inferior - Limite superior) com intervalo de confiança de 95%, quando sobrepostos não diferem, utilizando o Programa R Core Team (2021).

5. Resultados

5.1. Avaliação da fitotoxicidade das folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição em condições controladas

No bioensaio realizado em laboratório, o crescimento da planta alvo (*L. sativa*) variou no tratamento de solo incubado com lixiviados de folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição se comparado ao controle, nos diferentes tempos de incubação do solo (7, 18, 28 e 39 dias) (tab. 1).

Com relação à parte aérea da planta alvo, foi observada uma redução de 9mm no tratamento de solo incubado por 18 com lixiviados de folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição, em comparação com o controle (fig. 1).

Com relação ao comprimento do sistema radicular das plantas alvo foi observado aumento significativo no crescimento das plantas cultivadas nos solos

incubados por sete e 28 dias com lixiviados de folhas de *L.aurea*, demonstrando com isso, efeitos de estímulo (fig. 2).

Tabela 1- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta comprimento aéreo e comprimento radicular de *Lactuca sativa*, sete dias após a germinação e em solo incubado com folhas senescentes de *Lepidaploa aurea* em decomposição por 7, 18, 28 e 39 dias. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste *a posteriori* Dunnett.

Variáveis Resposta	Estatística		
Comprimento aérea (mm)	LR Chi-square	df	P
Tratamento	14.34	1	<0.0001
Tempo de incubação do solo (dias)	42.65	3	<0.0001
Tratamento*tempo incubação (dias)	38.56	6	<0.0001
Comprimento radicular (mm)	LR Chi-square	df	P
Tratamento	33.67	1	<0.0001
Tempo de incubação do solo (dias)	91.93	3	<0.0001
Tratamento*tempo de incubação (dias)	22.31	6	0.001

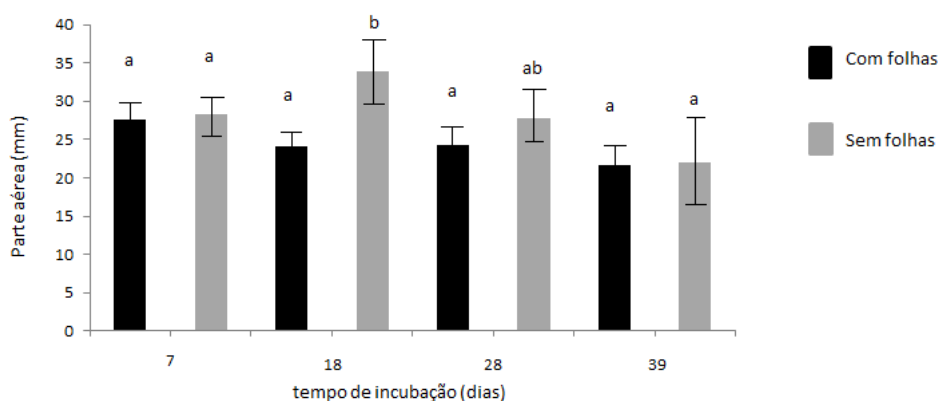


Figura 1- Comprimento (mm) da parte aérea de *Lactuca sativa* em solo incubado com folhas senescentes de *Lepidaploa aurea* em decomposição por 7, 18, 28 e 39 dias. A barra mais escura indica o tratamento de solo incubado com lixiviados de folhas de *L. aurea* e a barra na cor branca indica o controle. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre tratamentos de incubação do solo com serapilheira. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

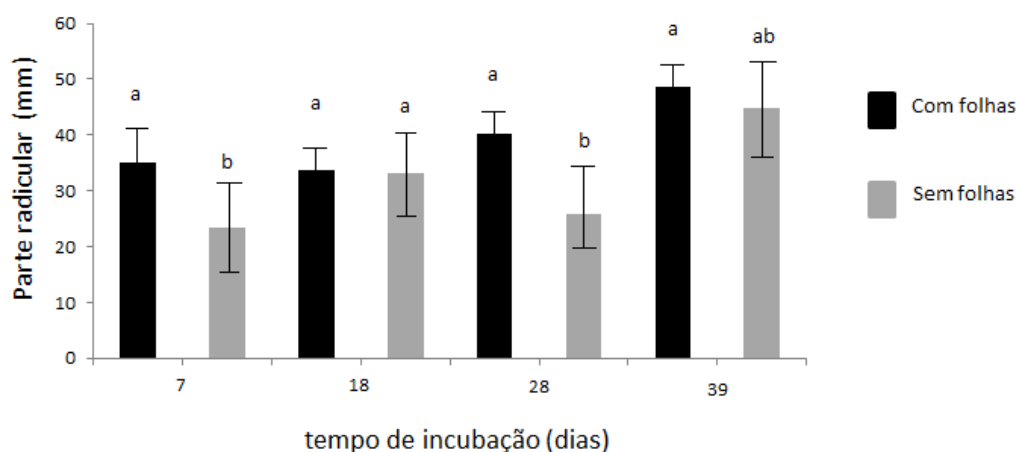


Figura 2- Comprimento (mm) da parte aérea de *Lactuca sativa* em solo incubado com folhas senescentes de *Lepidaploa aurea* em decomposição por 7, 18, 28 e 39 dias. A barra mais escura indica o tratamento de solo incubado com lixiviados de folhas de *L. aurea* e a barra na cor branca indica o controle. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre tratamentos de incubação do solo com serapilheira. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

5.2. Avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* em decomposição em casa de vegetação

Efeitos na parte aérea das plantas alvo

No bioensaio em casa de vegetação foi observado um efeito do fator espécie, da presença de serapilheira de *L. aurea* e do carvão ativado quando associado à serapilheira de *L. aurea* no comprimento aéreo das plantas alvo (tab. 2), no entanto, na comparação entre os tratamentos, que foi feito por espécie específica, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Ou seja, a serapilheira de *L. aurea* não provocou efeitos no comprimento aéreo das espécies alvo, na presença e na ausência de carvão ativado no substrato. Assim como o carvão ativado também não promoveu modificações nessa variável resposta, na ausência e na presença de serapilheira do arbusto (fig. 3a).

A biomassa aérea das plantas alvo sofreu influência do fator espécie, do carvão ativado e da serapilheira de *L. aurea* (tab. 2), todavia, as diferenças entre os tratamentos

não foram significativas para *P. atratum*. No entanto, houve diferenças significativas para a biomassa aérea *U. decumbens* no tratamento sem carvão ativado/sem serapilheira, que sofreu uma redução em comparação com o tratamento com carvão ativado/sem serapilheira (fig. 3b). Ou seja, as plantas do substrato sem adição de serapilheira tiveram os valores de biomassa aérea menores na ausência de carvão ativado.

Efeitos na parte radicular das plantas alvo

Não foram observados efeitos da espécie, do carvão ou da serapilheira de *L. aurea* sobre o comprimento radicular das espécies alvo (tab 2, fig. 4a). A biomassa radicular sofreu efeito apenas do fator espécie e não apresentou diferença entre os tratamentos de nenhuma das duas espécies alvo (tab. 2, fig. 4b).

A superfície radicular total e o comprimento radicular total sofreram efeito da espécie e do carvão ativado, mas não da serapilheira de *L. aurea* (tab. 2). Em nenhuma das duas variáveis foram observadas diferenças entre os tratamentos para *P. atratum* (fig. 5a e b). A gramínea exótica invasora, por outro lado, teve a superfície radicular total e o comprimento radicular total reduzidos no tratamento sem carvão ativado/sem serapilheira, em comparação com o tratamento com carvão ativado/sem serapilheira (fig. 5a e b), sugerindo que o carvão ativado produz efeito de estímulo na arquitetura radicular de *U. decumbens* na ausência de serapilheira de *L. aurea*.

O número de bifurcações radiculares sofreu efeito da espécie e da interação entre a espécie e a presença de carvão ativado, no entanto, não foram observadas diferenças entre os tratamentos para nenhuma das duas espécies alvo (fig 6).

Tabela 2- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta: comprimento aéreo, comprimento radicular, biomassa aérea, biomassa radicular, superfície radicular total, comprimento radicular total e número de bifurcações radiculares das espécies alvo *U. decumbens* e *P. atratum* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram carvão ativado e serrapilheira de *L. aurea* e os tratamentos: com carvão/com serrapilheira, com carvão/sem serrapilheira, sem carvão/com serrapilheira e sem carvão/sem serrapilheira. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Variáveis Resposta	Estatística		
	LR Chi-square	df	P
Comprimento aéreo			
Espécies (E)	10.53	1	0.0012
Carvão ativado (CA)	0.002	1	0.9572
Serapilheira (S)	5.10	1	0.0238
E*CA	10.89	1	0.0009
E*S	0.19	1	0.6557
CA*S	2.16	1	0.1415
E*CA*S	0.32	1	0.5686
Biomassa aérea			
Espécies (E)	109.22	1	<0.0001
Carvão ativado (CA)	4.95	1	0.0260
Serapilheira (S)	5.54	1	0.0186
E*CA	5.52	1	0.0188
E*S	0.99	1	0.3209
CA*S	3.97	1	0.0465
E*CA*S	0.23	1	0.6285
Comprimento radicular			
Espécies (E)	1.14	1	0.2846
Carvão ativado (CA)	3.39	1	0.0654
Serapilheira (S)	2.32	1	0.1274
E*CA	0.26	1	0.6074
E*S	0.52	1	0.4701
CA*S	0.14	1	0.7071
E*CA*S	0.82	1	0.3663
Biomassa radicular			
Espécies (E)	70.44	1	<0.0001
Carvão ativado (CA)	2.18	1	0.1129
Serapilheira (S)	2.57	1	0.1088

E*CA	1.33	1	0.2489
E*S	2.03	1	0.1540
CA*S	2.71	1	0.0906
E*CA*S	0.46	1	0.4954

Superfície radicular total

Espécies (E)	32.46	1	<0.0001
Carvão ativado (CA)	9.68	1	0.0019
Serapilheira (S)	2.10	1	0.1469
E*CA	4.45	1	0.0382
E*S	0.31	1	0.5752
CA*S	0.87	1	0.3502
E*CA*S	0.64	1	0.4222

Comprimento radicular total

Espécies (E)	52.26	1	<0.0001
Carvão ativado (CA)	4.73	1	0.0296
Serapilheira (S)	1.73	1	0.1885
E*CA	3.30	1	0.0693
E*S	0.65	1	0.4201
CA*S	0.96	1	0.0856
E*CA*S	0.21	1	0.6463

Número de bifurcações radiculares

Espécies (E)	74.12	1	<0.0001
Carvão ativado (CA)	1.19	1	0.2758
Serapilheira (S)	1.49	1	0.2212
E*CA	8.76	1	0.0031
E*S	0.47	1	0.4924
CA*S	2.85	1	0.0993
E*CA*S	0.13	1	0.7217

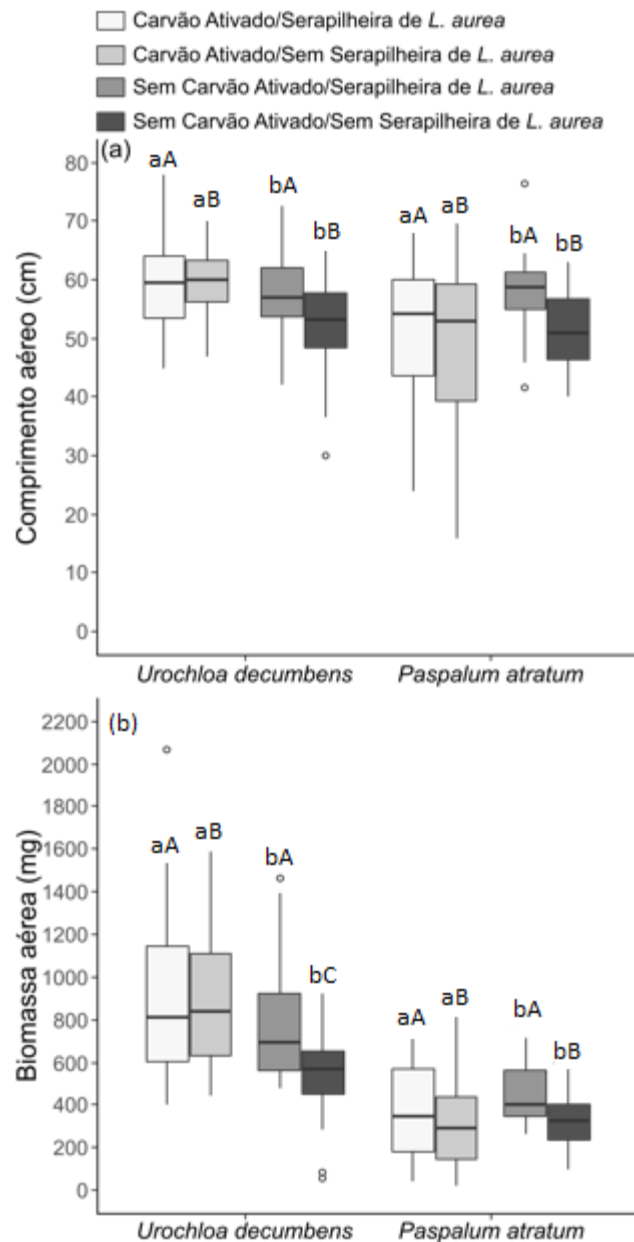


Figura 3- Comprimento e biomassa aéreas das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação, (a) Comprimento aéreo e (b) Biomassa aérea. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

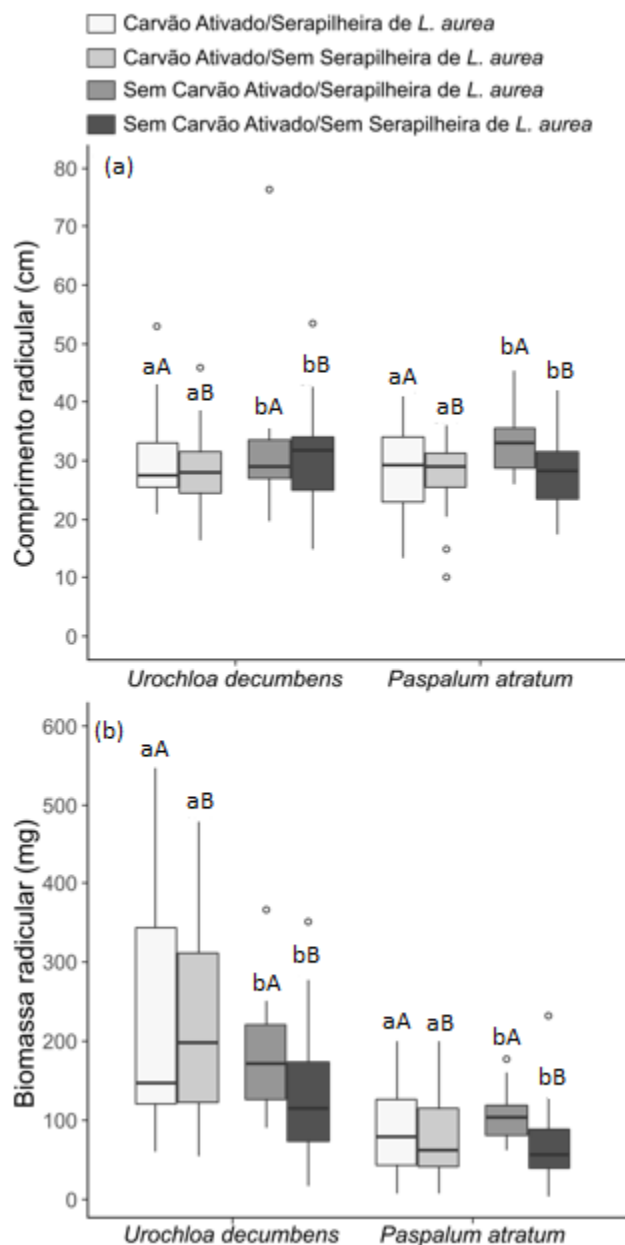


Figura 4- Comprimento e biomassa radiculares das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação, (a) Comprimento radicular e (b) Biomassa radicular. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

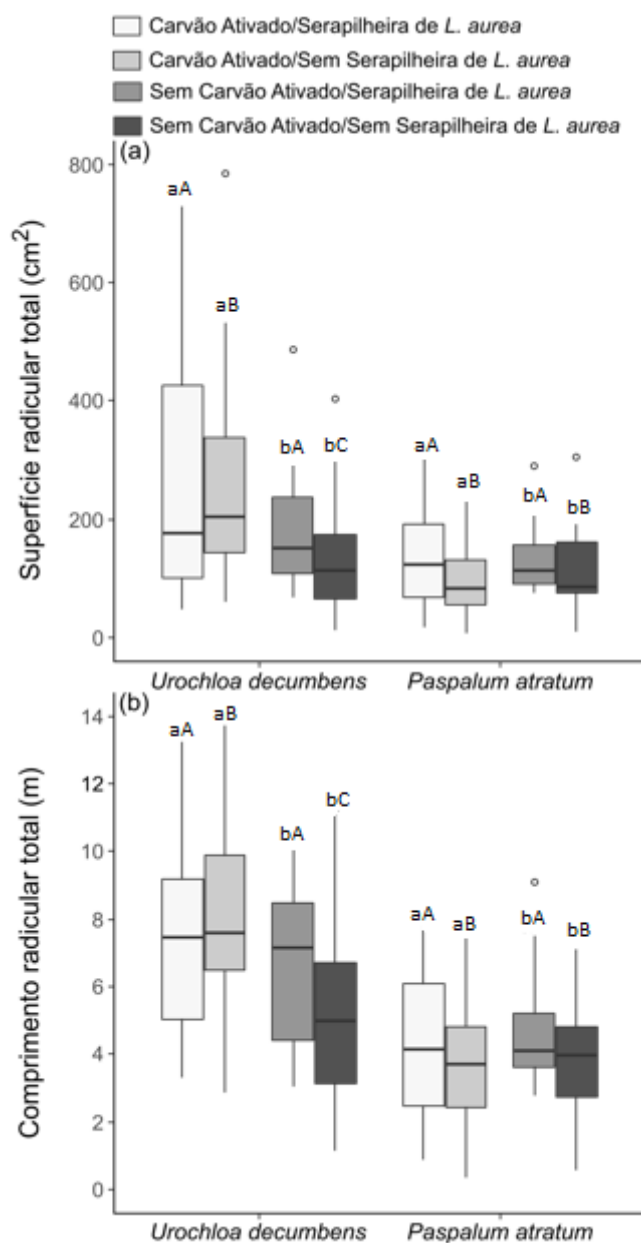


Figura 5- (a)Superfície radicular total e (b) Comprimento radicular total das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos.

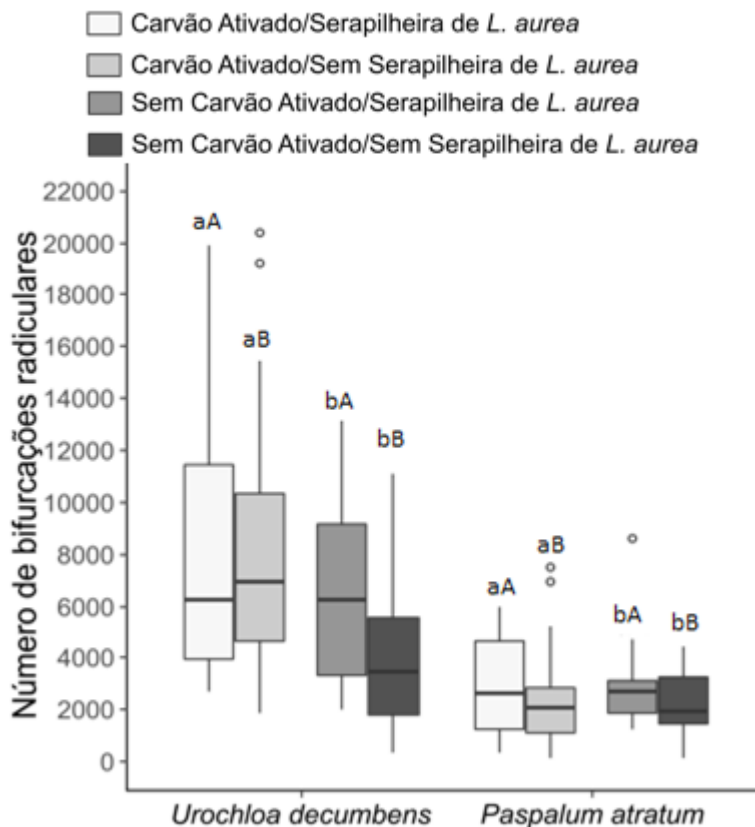


Figura 6- Número de bifurcações radiculares das espécies-alvo (*Urochloa decumbens* e *Paspalum atratum*) cultivadas por 90 dias em vasos nos tratamentos com e sem serapilheira de *Lepidaploa aurea* e com e sem uso de carvão ativado em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos abertos mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator serapilheira para cada espécie específica. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator carvão ativado para cada espécie específica. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gama e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

5.3. Avaliação da velocidade de decomposição serapilheira de *L. aurea*

A porcentagem de perda de massa da serapilheira de *L. aurea* foi semelhante entre os dois tratamentos (com e sem carvão ativado). Foi observado na última coleta realizada após 90 dias, no final do experimento, que houve perda de massa de aproximadamente 60% no tratamento com carvão ativado e de 58% no tratamento sem carvão ativado.

O coeficiente de decomposição (k) médio foi de 0,31 no tratamento sem carvão ativado e de 0,29 no tratamento com carvão ativado. A maior variação de k aconteceu no tratamento sem carvão ativado, de 0,08 a 0,78 (tab. 3). A meia vida da serapilheira ($T_{50\%}$), ou tempo médio para decomposição de 50% da serapilheira, foi estimado em 2,16 ano no tratamento sem carvão ativado e 2,06 ano no tratamento com carvão ativado. A maior variação de $T_{50\%}$ aconteceu no tratamento sem carvão ativado, de 0,94 a 3,88 ano. A média do tempo de residência ou o tempo para a renovação da serapilheira ($1/k$) foi de 6,05 anos no tratamento sem carvão ativado e de 4,56 anos no tratamento com carvão ativado. A maior variação de $1/k$ também aconteceu no tratamento sem carvão ativado, de 1,28 a 12,1 ano (tab. 3, fig 7).

Não foram constatadas diferenças significativas nos valores de k , $T_{50\%}$ e $1/k$ entre os tratamentos sem e com carvão ativado (tab. 4).

Tabela 3- Média dos valores da taxa de decomposição de serapilheira (k), meia vida de serapilheira e tempo de residência ($1/k$) da serapilheira de material vegetal proveniente de experimento realizado em casa de vegetação para determinação da velocidade de decomposição da serapilheira de *Lepidaploa aurea* em dois tratamentos: solo com carvão ativado e solo sem carvão ativado.

Tratamento	k	Ano	
		T50%	1/k
sem carvão ativado	0,31	2,16	6,05
com carvão ativado	0,29	2,06	4,56

Tabela 4- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta: Taxa de decomposição de serapilheira (k), Meia Vida de serapilheira (T50%) e Tempo de residência (1/k) da serapilheira de material vegetal proveniente de experimento realizado em casa de vegetação para determinação da velocidade de decomposição da serapilheira de *Lepidaploa aurea* em dois tratamentos: solo com carvão ativado e solo sem carvão ativado. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição quasi e teste Dunnety para a comparação das médias entre os tratamentos.

Variáveis Resposta	Estatística		
K	LR Chi-square	df	P
Tratamento (carvão)	0.12	1	0.727
Meia vida	LR Chi-square	df	P
Tratamento (carvão)	0.72	1	0.394
Tempo de residência	LR Chi-square	df	P
Tratamento (carvão)	3.50	1	0.061

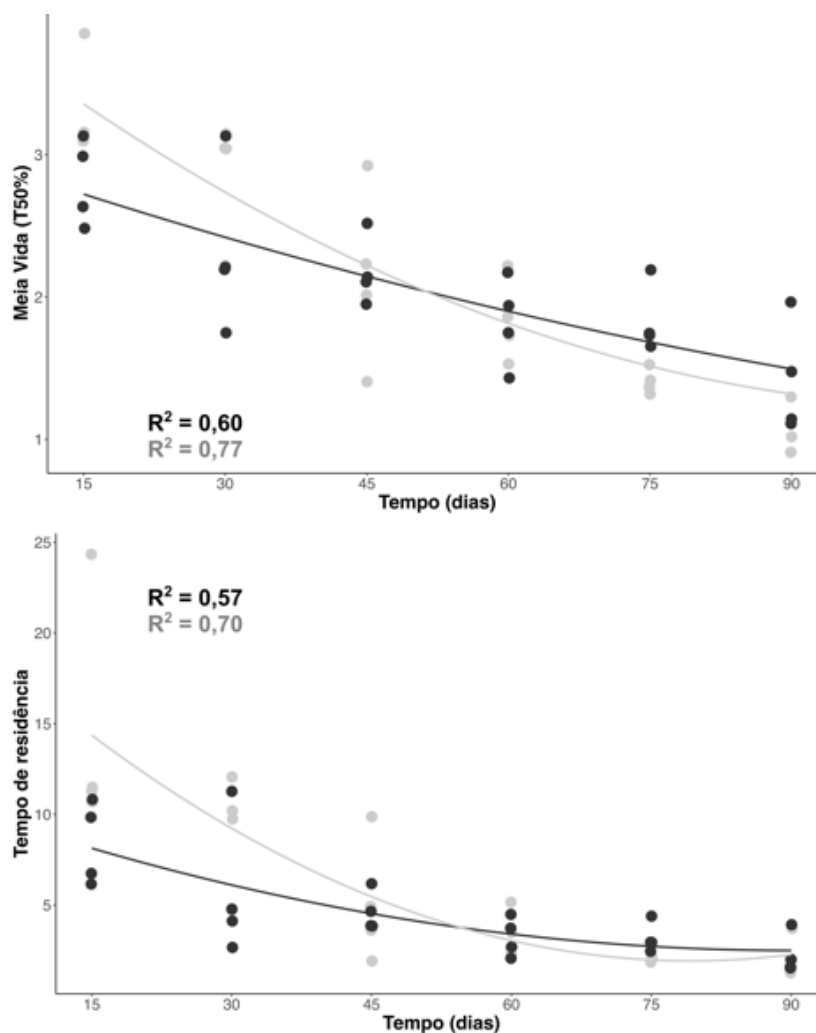


Figura 7- Valores da meia vida da serapilheira (T50%) e tempo de residência da serapilheira (1/k) de *Lepidaploa aurea* ao longo de 90 dias em solo com carvão ativado e sem carvão ativado. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta e a curva de tendência dos dados foi apresentada em modelo exponencial. Os pontos foram levemente deslocados para melhor visualização.

5.4. Avaliação das características químicas do solo

Os parâmetros químicos do solo utilizado no bioensaio em casa de vegetação foram avaliados para cada espécie alvo (*U. decumbens* e *P. atratum*) de forma isolada, não sendo feita a comparação dos parâmetros entre as espécies. Além disso, foi considerado o fator carvão ativado na presença e na ausência de serapilheira separado do fator serapilheira na presença e na ausência de carvão ativado (as comparações entre os tratamentos foram feitas de par a par). Ao se considerar somente T1, que é o tempo onde houve a presença de serapilheira de *L. aurea* em dois tratamentos, foi observado aumento no intervalo dos valores de Mg^{2+} de 0,09–0,11 $cmol_c/dm^3$ no tratamento com carvão ativado/com serapilheira em comparação com 0,07–0,08 $cmol_c/dm^3$ no tratamento com carvão ativado/sem serapilheira no solo no qual foi cultivada *U. decumbens*, ou seja, a serapilheira não teve efeito na diferença, mas o carvão ativado sim (tab. 5, fig 8).

Em T1, também foi observado que a adição de carvão ativado ao substrato isoladamente aumentou os valores da soma de bases trocáveis (Sb), da capacidade de troca de cátions relativa (t) e da capacidade de troca de cátions (T) nos vasos onde foi cultivada *U. decumbens*. Já nos vasos onde *P. atratum* foi cultivada a adição de carvão ativado ao solo aumentou os valores de Mg^{2+} e P remanescente (P rem).

As concentrações K trocável, matéria orgânica (MO) e N-total não diferiram significativamente entre os diferentes tempos e tratamentos (tab. 5, fig. 8).

Ao se comparar os dois tempos foi observado que a adição de serapilheira e de carvão ativado não modificaram os valores dos parâmetros de solo em nenhum tratamento de T1 se comparado ao tratamento sem carvão ativado em T0 (tab. 5, fig. 8).

Tabela 5 – Resultados das análises estatísticas para os dados de análises físico-químicas de solos onde foram avaliados os parâmetros pH-H₂O, P, K, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³, H+Al, SB, t, T, V, P rem, m, MO e N-total. O solo analisado é proveniente de bioensaio para avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T1 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos sem carvão/sem serapilheira (sc/ss), sem carvão/com serapilheira (sc/cs), com carvão/sem serapilheira (cc/ss) e com carvão/com serapilheira (cc/cs) do T2 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Espécie	Tempo	Tratamento	pH H ₂ O	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³	H+Al	SB	t	T	V	m	MO	P-Rem	N-total
NA	T0	cc	7,3-7,41	-0,1-2,54	0-0	1,86-1,93	0,15-0,16	0-0	0,16-0,28	2,01-2,08	2,01-2,08	2,2-2,34	88,16-92,52	0-0	0,52-1,04	8,21-9,79	0,02-0,028
		sc	7,4-7,69	1,98-6,62	0-3,28	2,37-4,07	0,02-0,14	0-0	-0,06-0,22	2,5-4,1	2,5-4,1	2,68-4,08	92,24-102,12	0-0	0,66-1,36	9,29-14,15	0,018-0,027
<i>U. decumbens</i>	T1	cc/cs	7,54-7,77	2,2-3,56	0-22,85	3,41-3,81	0,09-0,11	0-0	0-0	3,56-3,93	3,56-3,93	3,56-3,93	100-100	0-0	-15,17-36,72	12,55-15,41	0,024-0,035
		cc/ss	7,72-7,77	3,05-4,19	0-8,81	3,47-3,6	0,07-0,08	0-0	0-0	3,56-3,69	3,56-3,69	3,56-3,69	100-100	0-0	-15,85-36,63	11,87-13,49	0,022-0,032
		sc/cs	7,76-7,8	2,36-3,64	0-12,93	3,49-3,85	0,07-0,08	0-0	-0,07-0,15	3,58-3,94	3,58-3,94	3,68-3,93	96-101,88	0-0	0,65-1,02	11,95-15,65	0,02-0,035
		sc/ss	7,52-7,82	2,94-3,7	0-16,45	3,75-3,92	0,07-0,09	0-0	-0,07-0,15	3,91-4,07	3,91-4,07	3,9-4,15	96,37-101,71	0-0	0,55-1,01	12,33-15,03	0,026-0,036
		cc/cs	7,77-7,85	2,72-4,32	0-41,68	3,56-3,89	0,07-0,09	0-0	0-0	3,7-4,07	3,7-4,07	3,7-4,07	100-100	0-0	0,43-1,24	14,8-17,44	0,024-0,035
		cc/ss	7,72-7,83	2,79-3,77	0-37,26	3,3-3,53	0,07-0,09	0-0	0-0	3,42-3,71	3,42-3,71	3,42-3,71	100-100	0-0	0,5-2,11	11,54-14,78	0,023-0,028
<i>P. atratum</i>	T1	sc/cs	7,72-7,79	2,68-3,76	0-10,65	3,26-3,91	0,05-0,07	0-0	0-0	3,33-3,98	3,33-3,98	3,33-3,98	100-100	0-0	0,45-1,26	11,46-13,7	0,021-0,032
		sc/ss	7,62-7,84	3,4-3,8	0-10,04	3,53-3,83	0,06-0,07	0-0	0-0	3,62-3,92	3,62-3,92	3,62-3,92	100-100	0-0	0,61-0,79	12,95-15,89	0,023-0,03

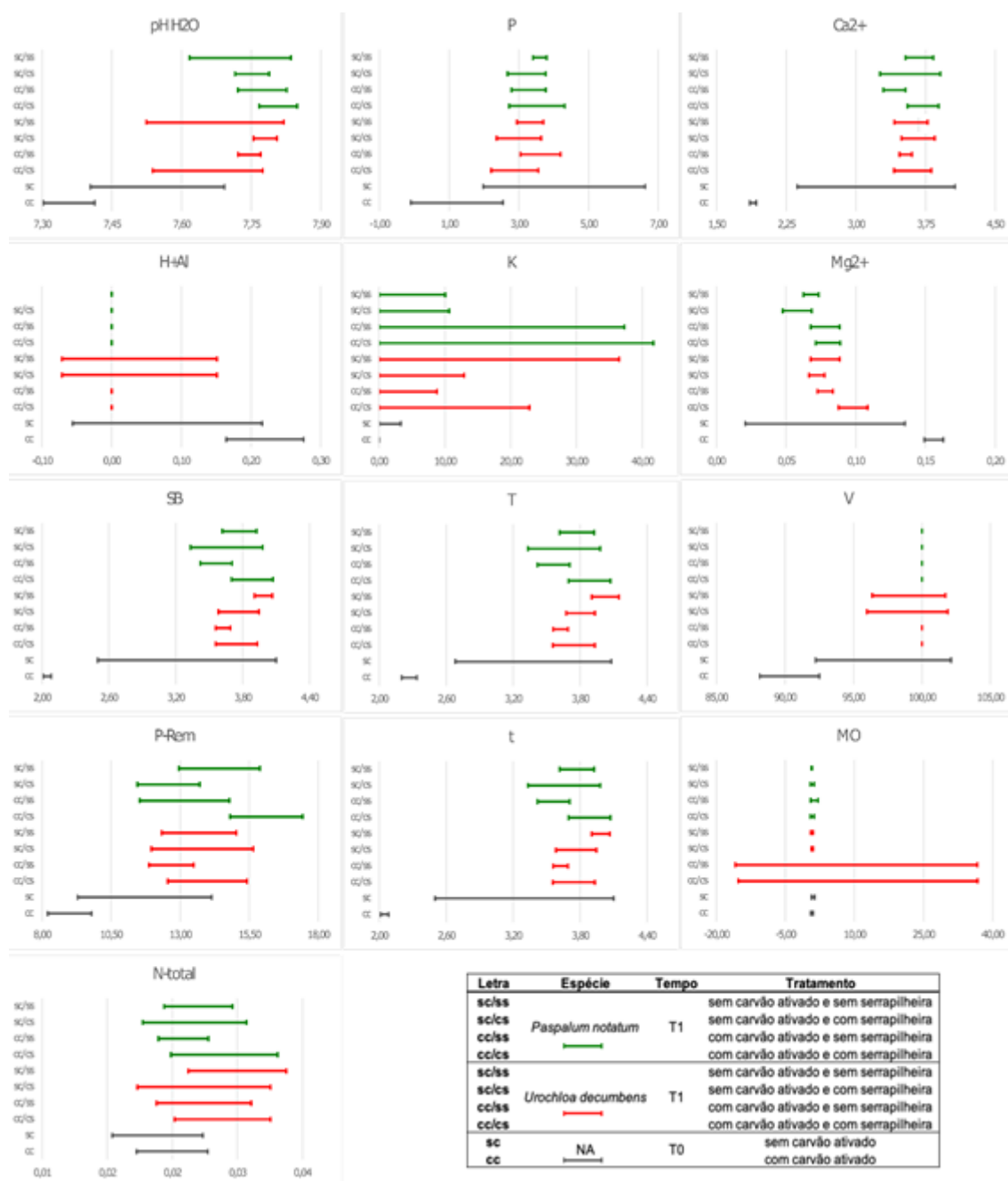


Figura 6 – Intervalo de valores dos parâmetros pH em H₂O, P, K, Ca²⁺, Mg²⁺, H+Al, SB, t, T, V, P rem, MO e N total. O solo analisado era proveniente de bioensaio para avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T1 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos sem carvão/sem serapilheira (sc/ss), sem carvão/com serapilheira (sc/cs), com carvão/sem serapilheira (cc/ss) e com carvão/com serapilheira (cc/cs) do T2 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

6. Discussão

6.1. Avaliação da fitotoxicidade das folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição em condições controladas

Foi observado no bioensaio laboratorial que a presença de folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição provocou alguns efeitos significativos no crescimento da parte aérea e da raiz da espécie alvo (*L. sativa*). Parte dos efeitos foi de estímulo do crescimento, no entanto, também foi constatado um efeito inibitório da parte aérea de *L. sativa* em solo incubado por 18 dias com lixiviados da serapilheira de *L. aurea*. A ocorrência de efeitos no crescimento das plantas alvo, na sua maioria estimulatórios, sugere uma baixa fitotoxicidade nas folhas senescentes de *L. aurea*.

Estudo anterior comprovou que extratos de folhas verdes e de raízes do arbusto provocaram efeitos fitotóxicos de inibição do crescimento da mesma espécie alvo, *L. sativa* (Lopes et al. 2017). A variação nos efeitos entre os dois estudos pode estar relacionada a uma alteração da natureza dos metabólitos após o processo de senescência das folhas do arbusto, ou mais provavelmente a diferenças na metodologia dos bioensaios. Como exemplo podemos citar o fato de que nos bioensaios laboratoriais realizados com folhas jovens e raízes de *L. aurea* foram utilizados extratos vegetais aquosos em diferentes concentrações, e neste bioensaio realizado com as folhas senescentes do arbusto, o material vegetal foi decomposto e os metabólitos lixiviados diretamente para o substrato.

Efeitos de estímulo em plantas vizinhas, apesar de não demonstrarem fitotoxicidade, podem demonstrar alelopátia se comprovados em condições naturais. A estimulação de plantas e microrganismos por compostos alelopáticos é frequentemente ignorada na literatura (Kamal 2020). O mais comum ao se estudar alelopátia de plantas

é encontrar resultados de inibição do desenvolvimento de plantas vizinhas, no entanto, esta interação também pode demonstrar um efeito estimulador (Bonanomi et al. 2021), tanto que a definição mais ampla de alelopatia inclui tanto respostas estimulatórias quanto inibitórias das plantas alvo (Gomes et al. 2017). É possível constatar exemplos de aleloquímicos que estimulam o crescimento de plantas e microorganismos, influenciam a nodulação de leguminosas e a fixação de nitrogênio, e conferem resistência a doenças de plantas (Mallik and Williams 2005). Ademais, plantas nativas que produzem efeitos de estímulo em outras espécies nativas podem ser bem aproveitadas em plantios de restauração ecológica de áreas invadidas (Cummings et al. 2012).

A baixa atividade fitotóxica da serapilheira de *L. aurea* aqui evidenciada é contrária à primeira hipótese do trabalho (As folhas senescentes de *L. aurea* em decomposição possuem atividade fitotóxica sobre o modelo *Lactuca sativa*), por esse motivo essa hipótese foi refutada.

É importante ressaltar que não é adequado aplicar os resultados de bioensaios laboratoriais diretamente a uma situação que envolva o ambiente natural, como o caso da restauração ecológica, porque na natureza existe uma grande quantidade de fatores que interferem na liberação e no modo de ação dos aleloquímicos (Inderjit and Nilsen 2003; Reigosa et al. 2013; Gomes et al. 2017), inclusive, a mesma planta pode provocar efeitos diferentes em espécies vizinhas dependendo das condições ambientais e do contexto em que interagem (Lankau 2010; Cipollini, Rigsby e Barto 2012; Li et al. 2015a; Shanon-Firestone e Firestone 2015; Vestergard, Rønn e Ekelund 2015). Se a variação mínima de condições ambientais presentes nos bioensaios laboratoriais aqui discutidos já demonstraram ter influência nos efeitos dos compostos bioativos da planta doadora sobre a planta alvo, espera-se que em condições naturais essas diferenças sejam

muito mais acentuadas, uma vez que a possibilidade de interferências no ambiente no qual as plantas irão se desenvolver tende a ser muito maior.

6.2. Avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* em decomposição em casa de vegetação

No experimento para avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* realizado com vasos em casa de vegetação, foi observado que a incorporação da serapilheira do arbusto ao substrato não provocou efeitos no desenvolvimento das gramíneas alvo testadas.

Este resultado é contrário ao observado em condições de laboratório, onde foi constatado em estudo anterior que *L. aurea* produziu efeitos inibitórios do crescimento de *U. decumbens* (Lopes et al. 2018). Sendo assim, a segunda hipótese do trabalho (A serapilheira de *L. aurea* possui potencial alelopático com efeitos mais acentuados sobre o crescimento de *U. decumbens* do que sobre o de *P. atratum*) foi refutada.

É necessário pontuar que apesar da existência de zonas de inibição de crescimento de *U. decumbens* em áreas de aglomerados populacionais de *L. aurea*, também foi observado em áreas de plantio de semeadura direta, que a gramínea invasora tende a se tornar dominante e alterar a dinâmica populacional e o desenvolvimento do arbusto ao longo do seu tempo de vida (Motta 2017), o que pode ser explicado, em parte, pela ausência de potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* sobre *U. decumbens*, ou a um possível potencial alelopático da gramínea invasora sobre o arbusto.

Foi documentado em estudo recente que a alelopatia está fortemente relacionada à dinâmica populacional das espécies em uma comunidade vegetal (Mota 2020), e além

disso, existem evidências de que *U. decumbens* tenha potencial fitotóxico sobre outras plantas (Barbosa e Pivello 2008; Kobayashi e Kato-Naguchi 2015).

A despeito destes resultados, existem fortes evidências de que *L. aurea* possui várias características úteis para o uso em projetos de restauração ecológica, como altas taxas de reprodução, crescimento e cobertura de solo (Sampaio et al. 2015, Pellizzaro et al. 2017). O fato do potencial alelopático da serapilheira do arbusto não ter sido evidenciado em condições menos distantes das naturais não muda este dado, somente demonstra que o efeito de seus aleloquímicos foliares possivelmente não é um dos mecanismos responsáveis pelo bom desempenho observado.

Estes resultados corroboram a recomendação de buscar testar a alelopatia em condições naturais ou o mais próximo possível disto (Inderjit e Callaway 2003; Allem et al. 2014), pois a extrapolação de resultados de fitotoxicidade para alelopatia, apesar de comum, precisa ser evitada (Renne et al. 2004; Reigosa et al. 2013; Gomes et al. 2017; Lopes et al. 2018).

Foi constatado que o carvão ativado provocou efeitos no crescimento da gramínea exótica invasora em parte das variáveis resposta, o que pode indicar que algumas características do solo tenham sido modificadas pela presença do composto. Esse fato demonstra a importância do substrato nos resultados de avaliação de alelopatia de forma geral (Parepa e Bossdorf 2016).

O carvão ativado vem sendo largamente utilizado em bioensaios que têm o objetivo de evidenciar a alelopatia de plantas, por ser um adsorvente eficiente de compostos bioquímicos. O composto possui a capacidade de se ligar aos constituintes orgânicos solúveis em água (alguns dos quais são aleloquímicos), impedindo assim sua

solubilização e disponibilidade para as plantas alvo (Barney et al. 2009; Jarchow e Cook 2009; Kabouw et al. 2010; Nolan et al. 2014).

No entanto, o uso de carvão ativado em bioensaios de alelopatia deve ser tratado com cautela, pois apesar de o composto ser um adsorvente de espectro amplo, não há garantias de que ele adsorva todos os produtos químicos com atividades alelopáticas, o que pode causar interpretações errôneas dos experimentos em que não se observa efeitos alelopáticos (Kabouw et al. 2010). Adicionalmente, o carvão ativado pode mudar outras características do substrato, como pH, retenção de água e comunidade microbiana, o que pode influenciar o desenvolvimento das plantas alvo (Schertzer et al. 2009; Wurst e Van Beersum 2009; Kulmatiski 2011; Del Fabbro et al. 2014).

Mesmo com todas estas questões a serem consideradas, existem muitos exemplos de estudos em que o carvão ativado conseguiu de fato evidenciar a alelopatia, e o composto ainda pode ser considerado a melhor e mais usual alternativa para atenuar os efeitos alelopáticos em bioensaios ecológicos com plantas (Callaway e Ridenour 2004; Cipollini e MacClain 2008; Del Fabbro 2014; Ning et al. 2016).

Apesar de não ter sido evidenciado em casa de vegetação o potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, é importante que sejam realizados bioensaios para testar os efeitos alelopáticos dos lixiviados radiculares do arbusto, para se comprovar se a fitotoxicidade radicular reflete algum efeito alelopático em condições mais próximas das naturais (Capítulo 3 desta tese).

6.3. Avaliação da velocidade de decomposição da serapilheira de *L. aurea*

As taxas de decomposição (k) da serapilheira de *L. aurea* foram relativamente baixas, com a meia vida ($T_{50\%}$) entre 752 dias no tratamento com carvão ativado e 788 dias no tratamento sem carvão ativado. Outros estudos realizados no Cerrado

corroboram estes dados, com valores similares de taxa de decomposição e a meia vida da serapilheira variando entre 405 e 2.850 dias (Constantino 1988; Resende 2001). Em geral, são observadas baixas taxas de decomposição para o Cerrado, provocando possíveis acúmulos de biomassa e nutrientes na serapilheira quando não ocorrem queimadas (Resende 2001). O tempo médio para a renovação da serapilheira ($1/k$) foi maior do que o normalmente documentado na literatura para o Cerrado, que é em média 2,7 anos (Resende 2001; Parron 2004), o que confirma as observações de campo do acúmulo de serapilheira de *L. aurea* no solo em locais onde há agrupamentos de indivíduos da planta.

A terceira hipótese do trabalho (A serapilheira de *L. aurea* possui baixas taxas de decomposição apesar da irrigação em condições de casa de vegetação) foi, portanto, corroborada.

A baixa taxa de decomposição observada possivelmente contribuiu, em parte, para a ausência de potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* no bioensaio em casa de vegetação, uma vez que os metabólitos secundários do arbusto podem ter sido liberados no substrato de forma lenta.

É importante ressaltar que os resultados podem ter sofrido influência da baixa duração de tempo (90 dias) do bioensaio. Foi constatado que, em geral, estudos de decomposição da serapilheira no bioma Cerrado têm baixa duração, com poucos trabalhos apresentando tempo de análise de mais de um ano, no entanto, segundo Inkote et al. (2019) não foram documentados trabalhos com duração inferior a cinco meses de análises. Alguns fatores que afetam a degradação de materiais vegetais, tais como: umidade, temperatura, constituição da serapilheira, e atividade e diversidade biológica do solo, podem ter uma influência diferente em tempos maiores de decomposição (Souto et al. 2009; Santana et al. 2011).

Em condições naturais a taxa de decomposição do material vegetal pode variar conforme a atuação dos organismos decompositores e a qualidade do substrato (Bani et al. 2018). No entanto, o fato de não terem sido observadas diferenças nos valores da taxa de decomposição (k), da meia-vida ($T_{50\%}$) e do tempo de residência ($1/k$) da serapilheira de *L. aurea* entre os tratamentos, indica que a qualidade do substrato não foi um dos fatores que influenciou a decomposição da serapilheira, ou talvez a presença de carvão ativado não tenha modificado as características do substrato ao ponto desse fator ser considerado importante.

6.4. Avaliação de características químicas do solo

Ao se avaliar a alelopatia em bioensaios usando solo, mesmo em condições controladas, é importante se considerar as características do substrato (Parepa e Bossdorf 2016). Os efeitos entre plantas vizinhas podem variar de intensa competição em ambientes ricos em recursos naturais (Bertness e Callaway 1994; Craine 2005; Coomes et al. 2009) a facilitação em ambientes hostis (Wipf et al. 2006; Maestre et al. 2009). Sendo assim, é importante que os experimentos de avaliação de potencial alelopático de plantas também observem as modificações que os aleloquímicos das plantas doadoras provocam no solo nos diferentes tratamentos ao longo do tempo.

Estudos comprovam que alguns aleloquímicos podem, por exemplo, afetar a dinâmica do nitrogênio no solo modificando a relação entre o nitrogênio livre, a adição de matéria orgânica e a fixação de nitrogênio (Meiklejohn 1962; Rice 1984).

Com relação à análise dos parâmetros químicos do solo foi observado que a serapilheira do arbusto não influenciou as diferenças observadas nos valores de alguns parâmetros químicos avaliados nos solos nos quais foram cultivadas as duas espécies alvo em casa de vegetação.

Ao se comparar os tratamentos de T1 com o tratamento sem carvão ativado de T0 (solo original de antes do início do bioensaio), observamos que a adição da serapilheira de *L. aurea* também não modificou os intervalos de valores dos parâmetros químicos analisados, resultado que pode estar ligado, em parte, à ausência ou ao baixo potencial alelopático do arbusto. Se há um baixo potencial alelopático, possivelmente os compostos bioativos lixiviados para o substrato foram neutralizados ou suprimidos por algum mecanismo, sendo assim, também não foram suficientes para promover modificações importantes nas características do solo.

Sendo assim, a última hipótese do trabalho (A incorporação da serapilheira de *L. aurea* ao solo promove a modificação de suas características químicas) foi refutada, pois a serapilheira não provocou efeito nos parâmetros químicos avaliados no bioensaio para avaliação do potencial alelopático da serapilheira do arbusto em casa de vegetação.

As modificações nos valores dos parâmetros do solo em decorrência da adição de carvão ativado isoladamente, como por exemplo, o aumento de Mg^{2+} , da soma de bases trocáveis (Sb), da capacidade de troca de cátions relativa (t) e da capacidade de troca de cátions (T) nos vasos onde foi cultivada *U. decumbens*, provavelmente contribuíram para os efeitos que o carvão ativado produziu sobre o crescimento da gramínea exótica invasora no experimento com vasos em casa de vegetação.

7. Conclusões

Folhas e serapilheira de plantas podem liberar metabólitos secundários no solo e afetar o desenvolvimento de plantas vizinhas e da comunidade de forma geral, na maioria das vezes, através da inibição ou do estímulo de seu crescimento. O arbusto nativo do Cerrado brasileiro *L. aurea* produz grande quantidade de serapilheira durante a estação seca e é comum a ocorrência de zonas de inibição de crescimento de espécies exóticas em seu entorno (Sampaio et al. 2015; Lopes 2016).

Apesar da comprovação da fitotoxicidade de folhas jovens e raízes de *L. aurea* em laboratório (Lopes et al. 2017, 2018), neste estudo foi evidenciado uma baixa atividade fitotóxica nas folhas senescentes de *L. aurea*, com a maioria dos efeitos provocando o estímulo do crescimento da planta alvo testada, além disso, não foi possível evidenciar o potencial alelopático do arbusto sobre as gramíneas exótica invasora e nativa em condições de casa de vegetação. Este resultado demonstra a importância da comprovação da alelopatia em condições naturais ou próximas das naturais para se concluir pela existência do potencial alelopático da planta.

Neste trabalho avaliamos somente o potencial alelopático da serapilheira do arbusto, portanto, para que a conclusão da ausência ou do baixo potencial alelopático esteja de fato correta, ainda é necessário avaliar outras possíveis formas de liberação de aleloquímicos pela planta, como por exemplo, a exsudação radicular.

O fato do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* não ter sido comprovado neste estudo sugere que seus metabólitos foliares provavelmente não são responsáveis pelo bom desempenho que a planta demonstra em áreas de plantio de restauração ecológica de áreas invadidas por gramíneas exóticas.

Referências Bibliográficas

- Abhilasha D, Quintana N, Vivanco J, Joshi J (2008) Do allelopathic compounds in invasive *Solidago canadensis* s.l. restrain the native European flora? *J Ecol* 96: 993-1001
- Allem LN, Gomes ASand Borghetti F (2014) Pequi leaves incorporated into the soil reduce the initial growth of cultivated, invasive and native species. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86: 1761-1768
- Andrade ER, Oliveira SCC, Borghetti F (2013) Efeito da microbiota do solo na atividade fitotóxica de extratos foliares de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. *Iheringia Sér Bot* 68: 187-194
- Aragão FB, Queiroz VT, Ferreira A, et al.(2017) Phytotoxicity and cytotoxicity of *Lepidaploa rufogrisea* (Asteraceae) extracts in the plant model *Lactuca sativa* (Asteraceae). *Rev Biol Trop* 65(2): 1-10
- Aslam F, Khaliq A, Mattoob A, et al.(2017) Allelopathy in agro-ecosystems: a critical review of wheat allelopathy – concepts and implications. *Chemoecology* 27: 1-24
- Bani A, Pioli S, Ventura M et al. (2018) The role of microbial community in the decomposition of leaf litter and deadwood. *App soil ecol* 126: 75-84
- Barney JN, Sparks JP, Greenberg J, Whitlow TH and Guenther A (2009) Biogenic volatile organic compounds from an invasive species: impacts on plant–plant interactions. *Plant Ecol* 203:195-205
- Bertness MD and Callaway R (1994) Positive interactions in communities. *Trends Ecol Evol* 9:191-193
- Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JRU and Richardson DM (2011) A proposed unified framework for biological invasions. *Tr Ecol Evol* 26: 333-339
- Blanco JA (2007) The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. *Ecol Mod* 209 (2-4): 65-77
- Blum U (2011) Plant–Plant Allelopathic Interaction. Phase II: Field/Laboratory Experiments. In: Blum U. *Plant–Plant*
- Bonanomi G, Incerti G, Barile E, et al.(2011) Phytotoxicity, not nitrogen immobilization, explains plant litter inhibitory effects: evidence from solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *New Phytol* 191 (4): 1018-1030
- Bonanomi G, Sicurezza MG, Caporaso S, Esposito A and Mazzoleni S (2006) Phytotoxicity dynamics of decaying plant materials. *New Phytol* 169 (3): 571-578
- Bonanomi G, Zotti M, Idbella M, Mazzoleni S and Abd-ElGawad AM (2021) Microbiota modulation of allelopathy depends on litter chemistry: Mitigation or exacerbation? *Sc Total Env* 776: 145942

- Candido ACS, Schmidt V, Laura VA, Faccenda O, Hess SC, Simionatto E and Peres MTLP (2010). Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. *Acta Bot Bras* 24(1): 235-242
- Callaway RM andAschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521-523
- Callaway RM andRidenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2:436-443
- Caramaschi GMCL (2015) Crescimento inicial das gramíneas *Paspalum atratum* (Swallen) e *Urochloa brizantha* (Hochst. Ex A. Rich) Stapf. e seus efeitos na rebrota de espécies lenhosas do Cerrado. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Chaves N and Escudero C (1999) Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. In Inderjit, Dakshini KMM and Foy CL. *Principles and Practices in Plant Ecology – Allelochemical Interactions*. Boca Raton: CRC Press. p. 267-285
- Chen F, Liu K, Xie Z et al. (2018) Effects of decomposing leaf litter of *Leucaena leucocephala* on photosynthetic traits of *Cynodon dactylon* and *Medicago sativa*. *New For* 49: 667-679
- Chomel M, Guittonny-Larcheveque M, Fernandez C,et al.(2016) Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. *J Ecol* 104 (6): 1527-1541
- Chon SU, Jang HG, Kim DK,et al. (2005) Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Sc Hort* 106(3): 309- 317
- Cipollini KA and McClain GY (2008)Separating Above and Belowgroun Effect of *Alliaria petiolata* and *Lonicera maackii* on the Performance of *Impatiens capensis*. *Am Midl Nat* 160:117-128
- Coomes DA, Kunstler G, Canham CD and Wright E (2009) A greater range of shade-tolerance niches in nutrient-rich forests: an explanation for positive richness-productivity relationships? *J Ecol* 97:705-717
- Craine JM (2005) Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *J Ecol* 93:1041-1052
- Cummings JA, Parker IM and Gilbert GS (2012) Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration. *Plant Ecol* 213:1975-1989
- Damasceno G, Souza L, Pivello VR, Gorgone-Barbosa E, Giroldo PZ and Fidelis A (2018) Impact of invasive grasses on Cerrado under natural regeneration. *Biol Invasions* 20(12): 3621-3629
- da Silva VB, Almeida-Bezerra JW, de Brito ES,et al.(2021) Effect of decomposition of leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. on germination and growth of *Myracrodruon urundeuva* Allemão. *South AfJ Bot*142: 42-52

- Del Fabbro C, Gusewell S and Prati D (2014) Allelopathic effects of three plant invaders on germination of native species: a field study. *Biol Invasion* 16:1035-1042
- Dorning M and Cipollini D (2006) Leaf and root extracts of the invasive shrub, *Lonicera maakii*, inhibit seed germination. *Plant Ecol* 184: 87-296
- EMBRAPA- Centro Nacional de Pesquisa de Solos (1997) Manual de métodos de análise de solo/ Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2. ed. ver. Atual- Rio de Janeiro, 212p
- Farias R, Alves ER, Martins RC, Barboza MA, Zanenga-Godoy R, Reis JB and Rodrigues-da-Silva R (2002) Caminhando pelo cerrado: plantas herbáceo arbustivas, caracteres vegetativos e organolépticos. Brasília, EDUnB
- Fernandez C, Santonja M, Gros R, et al. (2013) Allelochemicals of *Pinus halepensis* as drivers of biodiversity in Mediterranean open mosaic habitats during the colonization stage of secondary succession. *J Chem Ecol* 39 (2) 298-311
- Ferreira AG and Áquila MEA (2000) Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Rev Bras Fis Veg* 12: 175-204
- Ferreira AG and Borghetti F (2004). Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, Brasil
- Flory SL, Clay K (2010) Non-native grass invasion suppresses forest succession. *Oecol* 164: 1029-1038
- Garcia DB, Xavier RO, Camargo PB, Vieira SA and Pivello VR (2022) Can an invasive African grass affect carbon and nitrogen stocks in open Brazilian Cerrado habitats? *Flora* 286: 151968
- Gatti AB, Takao LK, Pereira VC, Ferreira AG, Lima MIS and Gualtieri SCJ (2014) Efeito da sazonalidade na alelopatia de espécies do cerrado. *Rev Bras Biol* 74: S064-S069
- Gomes MP, Garcia QS, Barreto LC, Pimenta LPS, Matheus MT and Figueredo CC (2017) Allelopathy: An overview from micro-to macroscopic organisms, from cells to environments, and the perspectives in a climate-changing world. *Biologia* 72(2): 113-129
- Gorgone-Barbosa E, Pivello VR and Meirelles ST (2008) Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. *Braz arch biol techn* 51:625-631
- GoyaJF, Frangi JL, Pérez C and Tea FD (2008) Decomposition and nutrient release from leaf litter in *Eucalyptus grandis* plantations on three different soils in Entre Ríos, Argentina. *Rev Bosque* 29(3): 217-226
- Huang X, Chen J, Liu J, Li J, Wu M and Tong B (2019) Autotoxicity Hinders the Natural Regeneration of *Cinnamomum migao* HW Li in Southwest China. *Forests* 10: 1-17

- Huang WW, Hu HL, Hu TX, Chen H, Wang Q, Chen G and Tu LH (2015) Impact of aqueous extracts of *Cinnamomum septentrionale* leaf litter on the growth and photosynthetic characteristics of *Eucalyptus grandis* seedlings. *New For* 46:561-576
- Hussain WS (2020) Allelopathy: Allelochemicals a brief review. *Plant Arch* 20(2): 5556-5560.
- Inderjit and Callaway RM (2003) Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant Soil* 256: 1-11
- Inderjit and Dakshini KMM (1999) Bioassays for Allelopathy: Interactions of soil organic and inorganic constituents. In: Inderjit, Dakshini KMM, Foy CL ed. *Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions*. Boca Raton: CRS Press. P. 35-44
- Inderjit and Nilsen ET(2003) Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: progress and problems. *Crit Rev Pl Sci* 22 221-238
- Inkotte J, Martins RCC, Scardua FP andPereira RS (2019) Métodos de avaliação da ciclagem de nutrientes no bioma Cerrado: uma revisão sistemática. *Ciêñ Florestal* 29: 988-1003
- Jacobson TKB, da Cunha Bustamante MM and Kozovits AR (2011) Diversity of shrub tree layer, leaf litter decomposition and N release in a Brazilian Cerrado under N, P and N plus P additions. *Envir Poll* 159(10): 2236-2242
- Jarchow ME and Cook BJ (2009) Allelopathy as a mechanism for the invasion of *Typha angustifolia*. *Plant Ecol* 204:113-124
- Kabouw P, Nab M and Van Dam NM (2010) Activated carbon addition affects substrate pH and germination of six plant species. *Soil Biol Bioch* 42:1165-1167
- Kamal J (2020) Allelopathy: A brief review. *J Nov Appl Sci* 9(1): 1-12
- Karia CT and Andrade RP (2001) Cultivo do Capim Pojuca. *Recomendação Técnica Embrapa Cerrados* 50: 1-2
- Kato-Noguchi H and Kurniadie D (2021) Allelopathy of *Lantana camara* as an Invasive plant. *Plants* 10(5): 1028
- Klink CA and Joly CA (1989) Identification and Distribution of C3 and C4 grasses in open and shades habitats in São Paulo State, Brazil. *Biotropica* 21: 30-34
- Kobayashi A and Kato-Noguchi H (2015) Phytotoxic Substance with Allelopathic Activity in *Brachiaria decumbens*. *Nat ProdCommun*10 (5): 761-763
- Kolar CS and Lodge DM (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *TREE* 16: 199-205
- Kozovits AR, Bustamante MDC, Garofalo CR, Bucci S, Franco AC, Goldstein G and Meinzer FC (2007) Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a Neotropical Savanna. *Func Ecol* 21(6): 1034-1043

- Kulmatiski A (2011) Changing soils to manage plant communities: activated carbon as a restoration tool in ex-arable fields. *Rest Ecol* 19:102-110
- Lankau R (2010) Soil microbial communities alter allelopathic competition between *Alliaria petiolata* and a native species. *Biol Invasions* 12:2059-2068
- Li YQ, Li X and Hu TX (2013) Effects of *Eucalyptus grandis* leaf litter decomposition on the growth and photosynthetic characteristics of *Eremochola ophiuroides*. *Acta Prataculturae Sin* 22:169-176
- Lima-Ribeiro M and Prado E (2007) Distribuição espacial de uma população de *Vernonia aurea* Mart. ex DC. (Asteraceae) em um fragmento de cerradão no município de Paiapônia, GO, Brasil. *Biosc J* 23(3): 81-89
- Loch D (1977) *Brachiaria decumbens* (signal-grass)- A review with particular reference to australia. *Trop Grass* 11: 141-157
- Lopes PG (2016) Alelopatia em *Lepidaploa aurea* (Asteraceae) como ferramenta de restauração ecológica: potencial para o controle de gramíneas exóticas invasoras no Cerrado. Dissertation, University of Brasília, Brasília.
- Lopes PG, Salles KA, Oliveira SCC, Sampaio AB and Schmidt IB (2017) Evidence of phytotoxicity in a fast growing shrub useful for savanna restoration in Central Brazil. *Braz J Bot* 40(3):643-649
- Lopes PG, Oliveira SCC, Salles KA, Sampaio AB and Schmidt IB (2018) Allelopathy of a native shrub can help control invasive grasses at sites under ecological restoration in a Neotropical savanna. *Plant Ecol Div* 11(4):527-538
- Lorenzo P, Palomera-Perez A, Reigosa MJ and Gonzalez L (2011) Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* link on the physiological parameters of native understory species. *Plant Ecol*. 212:403-412
- Maciel JR, Oliveira RC de and Alves M (2009) *Paspalum L.* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) no estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Bot Bras* 23: 1145-1161
- Maestre FT, Callaway RM, Valladares F, Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J Ecol* 97:199-205
- Meiklejohn J (1962) Microbiology of the nitrogen cycle in some Ghana soils. *Emp J Exp Agric* 30: 115-126
- Meksawat S and Pornprom T (2010) Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on seed germination and plant growth. *Weed Biol Manag* 10:16-24
- Mallik MAB and Williams RD (2005) "Allelopathic growth stimulation of plants and microorganisms." *Allel J* 16(2): 175
- Mota HOLD (2020) Dinâmica de populações em espécies alelopáticas: um modelo híbrido de autômatos celulares. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Física, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, Brasil.

- Motta CP (2017) Dinâmica populacional de uma gramínea invasora e um arbusto nativo: implicações para a restauração ecológica no Cerrado. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Munhoz CBR and Felfili JM (2005) Fenologia do extrato herbáceo subarbuscivo de uma comunidade de campo sujo na Fazenda Água Limpa no Distrito Federal, Brasil. *Acta Bot Bras* 19:979-988
- Namkeleja HS, Tarimo MTC and Ndakidemi PA (2014) Allelopathic effects of to growth of native plant Species. *Am J Plant Sci* 5:1336-1344
- Ning L, Yu FH and van Kleunen M (2016) Allelopathy of a native grassland community as a potential mechanism of resistance against invasion by introduced plants. *Biol. Invasions* 18:3481-3493
- Nolan NE, Kulmatiski A, Beard KH, et al. (2014) Activated carbon decreases invasive plant growth by mediating plant-microbe interactions. *AOB Plants* 7: plu072
- Oliveira AMC (2005) Avaliação da qualidade higiênica de alface minimamente processada, comercializada em Fortaleza, CE. *Hig Alimentar* 19 (135): 80-85
- Olson JS (1963) Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology* 42:322-331
- Paaso U, Keski-Saari S, Keinänen M, Karvinen H, Silfver T, Rousi M and Mikola J (2017) Intrapopulation genotypic variation of foliar secondary chemistry during leaf senescence and litter decomposition in silver birch (*Betula pendula*). *Frontplant sci* 8: 1074
- Parepa M and Bossdorf O (2016) Testing for allelopathy in invasive plants: it all depends on the substrate! *Biol Invasions* 18: 2975-2982
- Parron LM (2004) Aspectos da ciclagem de nutrientes em função do gradiente topográfico, em uma Mata de Galeria no Distrito Federal, Embrapa Cerrados. Tese de Doutorado - Programa de pós-graduação em Ecologia, Universidade de Brasília – DF, Brasil
- Pellizzaro KF, Cordeiro AOO, Alves M et al. (2017) Cerrado restoration by direct seeding: field establishment and initial growth of 75 trees, shrubs and grass species. *Braz J Bot* 4:1-13
- Pereira BF, Sbrissia AF and Serrat BM (2008) Alelopatia intra-específica de extratos aquosos de folhas e raízes de alfafa na germinação e no crescimento inicial de plântulas de dois materiais de alfafa: crioulo e melhorado. *Cien rural* 38: 561-564
- Petry GL (2015) Atividade fitotóxica de extratos e exsudatos radiculares de *Guilandina bonduc* (Fabaceae). Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Brasil.
- Pires NM and Oliveira VR (2011) Alelopatia. Embrapa Hortaliças – Capítulo 5 livro técnico-científico, pp 95-124

- Ramos S, Faquin V, Rodrigues C, Silva CA and Boldrin P (2009) Phosphorus fractions and soybean yield in succession to grasses fertilized with different phosphorus sources. *Cien Agrotec* 33: 1486-1494
- R Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Reigosa M, Gomes AS, Ferreira AG and Borghetti F (2013) Allelopathic research in Brazil. *Acta Bot Bras* 27(4): 629-646
- Renne IJ, Rios BG, Fehmi JS and Tracy BF (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plants: a cause for encouragement? *Basic Appl Ecol* 5: 261-269
- Resende JCF (2001) A ciclagem de nutrientes em áreas de Cerrado e a influência de queimadas controladas. Tese de Doutorado – Programa de pós graduação em Ecologia- Universidade de Brasília, DF, Brazil
- Rice E. L. (1984). Allelopathy. Academic Press. New York. 422 p.
- Sahoo UK, Upadhyaya K and Meitei CB (2007) Allelopathic effects of *Leucaena leucocephala* and *Tectona grandis* on germination and growth of maize. *AllelJ* 20:135-144
- Sampaio AB, Vieira DLM, Cordeiro AOO, et al. (2015). Guia de restauração do cerrado, volume 1: semeadura direta. Universidade de Brasília e Rede de Sementes do Cerrado, Brasília
- Santana JAS, Vieira FA, Souto JS, et al. (2011). Decomposição da biomassa foliar de cana-de açúcar em um neossolo na região de areia - PB. *Rev Caatinga* 24 (3):28-32
- Santos AFA, Carneiro ACP, Martinez DT and Caldeira SF (2017) Capacidade de retenção hídrica do estoque de serapilheira de eucalipto. *Floresta Amb* 24: e20150303
- Scavo A, Restuccia A and Mauromicale G (2018) Allelopathy: principles and basic aspects for agroecosystem control. In *Sust agri reviews* 28: 47-101
- Schertzer JW, Boulette ML and Whiteley M (2009) More than a signal: non-signaling properties of quorum sensing molecules. *Tr Microb* 17:189-195
- SEMA – Secretaria de Estado do Meio Ambiente do Distrito Federal (2022) Mapa de cobertura vegetal e de uso do solo do Distrito Federal. Disponível em <https://www.sema.df.gov.br/mapa-da-cobertura-vegetal-e-uso-do-solo-do-distrito-federal/>, acesso em 08 de março de 2022
- Shannon-Firestone S and Firestone J (2015) Allelopathic potential of invasive species is determined by plant and soil community context. *Plant Ecol* 216(3): 491-502
- Sobral FS, Barreto MCV, da Silva AJ and dos Anjos JL (2015) Guia prático para interpretação de resultados de análises de solos. Embrapa - Documento 206, Aracajú-Sergipe

- Souto PC, Souto JS, Santos RV, et al. (2009) Características químicas da serapilheira depositada em área de caatinga. *Rev Caatinga* 22(1): 264-272
- Souza Filho APS and Alves SM (2002) Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, Brasil.
- Souza Neto MA (2016) *Ziziphus joazeiro* MARTINS Estudo fitoquímico do extrato hidroetanólico das folhas, fracionamento bioguiado anti *Candida* e avaliação do efeito protetor em modelo de doença inflamatória intestinal. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- Thomas H and Stoddart JL (1980) Leaf senescence. *Annual review of plant physiology* 31(1): 83-111
- Turk MA and Tawaha AM (2003) Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.). *Crop Protec* 22: 673-677
- Valle (2017) *Brachiaria* e/ou *Urochloa*: dando nome às plantas. Publicado em www.diadecampo.com.br. Acesso em 11 de agosto de 2020
- VieraM, Schumacher MV and Caldeira MVW (2013) Dinâmica de decomposição e nutrientes em plantio de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus globulus* no sul do Brasil. *Flor Amb* 20(3): 351-360
- Williams D and Baruch Z (2000) African Grass Invasion in the Americas: Ecosystem Consequences and the Role of Ecophysiology. *Biol Invasions* 2:123-140
- Wipf S, Rixen C and Mulder CPH (2006) Advanced snowmelt causes shift towards positive neighbour interactions in a subarctic tundra community. *Glob Change Biol* 12:1496-1506.
- Wurst S and Van Beersum S (2009) The impact of soil organism composition and activated carbon on grass-legume competition. *Plant Soil* 314:1-9
- Xavier RO, Christianini AV, Pegler G., Leite MB and Silva-Matos DM (2021) Distinctive dispersal patterns and seed banks of invasive African grasses favor their invasion of a neotropical savana. *Oecologia* 196 (1): 155-169
- Zar JH(1999) *Biostatistical analysis* 4 ed. New Jersey, Prentice-Hall, Inc. 663 p
- Zhang H, Yuan W, Dong W and Liu S (2014) Seasonal patterns of litterfall in forest ecosystem worldwide. *Ecol Compl* 20: 240-247

Capítulo 3

Competição e potencial alelopático radicular: efeitos de *Lepidaploa aurea* sobre uma gramínea exótica invasora e uma nativa do Cerrado

Resumo

A diversidade de uma comunidade vegetal pode ser afetada por interações ecológicas entre plantas. Competição por recursos e alelopatia estão entre as interações mais comuns. Invasões biológicas, muitas vezes, podem aumentar os efeitos destas interações. Normalmente a planta exótica altera a comunidade nativa através de uma melhor capacidade competitiva e da liberação de metabólitos desconhecidos e nocivos às plantas nativas. O inverso também pode acontecer, apesar de menos comum, uma vez que algumas plantas nativas podem ser boas competidoras e possuir potencial alelopático contra espécies exóticas invasoras e assim, promover de certa forma, a defesa do território. Estudos anteriores mostraram que o arbusto nativo *Lepidaploa aurea* é uma boa alternativa para uso em plantios diretos de projetos de restauração ecológica no Cerrado brasileiro. Além disso, possui fitotoxicidade comprovada em laboratório em extratos e lixiviados radiculares. Estas características serviram de base para o presente estudo, que teve como objetivo (a) avaliar a competição abaixo do solo e o potencial alelopático das raízes de *L. aurea* sobre a gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens* e a gramínea nativa do Cerrado *Paspalum notatum* crescendo em vasos em casa de vegetação e (b) avaliar as características químicas e microbiológicas do solo sob a ação da competição e do potencial alelopático de *L. aurea* sobre as gramíneas alvo. Em experimento em vasos sob condições de casa de vegetação, a competição por recursos abaixo do solo e o potencial alelopático das raízes de *L. aurea* não afetou o desenvolvimento de *U. decumbens*, no entanto, na ausência da alelopatia, a competição por recursos entre *L. aurea* e *P. notatum* afetou negativamente o crescimento aéreo e radicular da gramínea nativa. Os dois mecanismos de interferência (competição e alelopatia) modificaram alguns parâmetros químicos do solo onde *L. aurea* foi cultivada junto com *U. decumbens* ou *P. notatum*, mas não promoveram diferenças significativas na composição e riqueza da comunidade microbiana. A redução de Ca^{2+} no solo pode ter contribuído para o aumento do crescimento de *P. notatum*, já que ambos ocorreram entre os mesmos tratamentos. A ausência de efeitos sobre *U. decumbens* pode indicar que as interações abaixo do solo não contribuem para o bom desempenho do *L. aurea* em plantios de restauração ecológica no Cerrado brasileiro.

Palavras-chave: carvão ativado, exsudação radicular, microbiota, nutrientes

Abstract

The diversity of a plant community can be affected by ecological interactions between plants, among the most common are competition for resources and allelopathy. Biological invasions can often increase the effects of these interactions. Generally, the exotic plant alters the native community through a better competitive capacity and the release of unknown and harmful metabolites to native plants. The inverse can also happen, although less common, since some native plants can be good competitors and have allelopathic potential against invasive exotic species and thus promote, in a certain way, the defense of the territory. Previous studies have shown that the native shrub *Lepidaploa aurea* is a good alternative for use in no-till in ecological restoration projects in the Brazilian Cerrado, in addition, it has laboratory-proven phytotoxicity in root extracts and leachates. These characteristics served as the basis for the present study, which aimed to (a) evaluate the competition below ground and the allelopathic potential of *L. aurea* roots on the invasive exotic grass *Urochloa decumbens* and the native Cerrado grass *Paspalum notatum* in pots in a greenhouse and (b) to evaluate the chemical and microbiological characteristics of the soil under the action of competition and the allelopathic potential of *L. aurea* on target grasses. In experiment in pots under greenhouse conditions, competition for resources below ground and the allelopathic potential of *L. aurea* roots did not affect the development of *U. decumbens*, however, in the absence of allelopathy, competition for resources between *L. aurea* and *P. notatum* negatively affected aerial and root growth of native grass. The two interference mechanisms (competition and allelopathy) modified some chemical parameters of the soil where *L. aurea* was cultivated together with *U. decumbens* or *P. notatum*, but did not promote significant differences in the composition and richness of the microbial community. The reduction of Ca^{2+} in the soil may have contributed to the increase in *P. notatum* growth, since both occurred between the same treatments. The absence of effects on *U. decumbens* may indicate that below-ground interactions do not contribute to the good performance of *L. aurea* in ecological restoration plantations in the Brazilian Cerrado.

Keywords: activated charcoal, root exudation, microbiota, nutrients

1. Introdução

A competição por recursos (Pires e Oliveira 2011; Aschehoug et al. 2016) e a interferência mediada quimicamente (Reigosa et al. 2013; Ning et al. 2016; Thapa et al. 2020) estão entre os tipos mais comuns de interferência entre plantas. A alelopatia é distinta da competição por recursos, embora ambas possam produzir o mesmo resultado (Qsem et al. 2017). Na competição por recursos, uma planta ganha vantagem sobre outra ao absorver de forma mais eficiente um ou vários recursos limitados e, assim, esgotar o pool disponível (Smolla et al. 2015; Topaloglu et al. 2018). Em contraste, a alelopatia envolve a síntese ativa e/ou liberação de metabólitos secundários por uma planta que influenciam negativamente ou positivamente o crescimento de outra (Jabran 2017; Hierro e Callaway 2021).

Tradicionalmente, a concorrência por recursos tem sido tratada como um dos principais vetores associados à diversidade e à dinâmica da comunidade vegetal (Tilman 1982, Schluter 2000). No entanto, nos últimos 20 anos foi observado aumento no número de pesquisas considerando a alelopatia como um dos mecanismos que podem afetar o padrão de distribuição das comunidades de plantas (Callaway e Ridenour 2004; Fernandez et al. 2013; Gomes et al. 2017; Adomako et al. 2019, da Silva et al. 2021).

Apesar da competição por recursos e da alelopatia estarem entre os fatores que explicam a estrutura das populações vegetais em uma comunidade, os dois tipos de interferência geralmente ocorrem concomitantemente em condições naturais, o que torna muito complicada a identificação da causa de padrões específicos de distribuição de espécies, como zonas de inibição de crescimento, por exemplo (Inderjit e Nilsen 2003; Lankau 2010).

Demonstrar a importância relativa de vários mecanismos de interferência nas comunidades naturais é problemático porque é complexo separar os efeitos independentes de cada interação (Inderjit e Callaway 2003; Aschehoug et al. 2016; Fernandez et al. 2016).

O intercâmbio entre competição por recursos e alelopatia, que acontece em condições naturais, pode ter um efeito maior na inibição de crescimento de plantas, do que aqueles provocados pelas interações de forma isolada (Nilsson 1997; Qasem et al. 2017). Algumas espécies exóticas invasoras, como a herbácea *Solidago canadenses*, por exemplo, evoluíram de forma a se tornarem mais alelopáticas e competitivas na faixa introduzida (Yuan et al. 2013).

A alelopatia passou a ser sugerida como um mecanismo para o sucesso de estabelecimento de plantas invasoras, em parte, porque as espécies invasoras costumam estabelecer monoculturas onde antes existiam comunidades diversas (Callaway e Aschehoug 2000). Efeitos alelopáticos fortes de uma planta invasora contra espécies de comunidades nativas corroboram a conclusão de que as interações planta-planta podem ser também espécie-específicas, o que pode não ser o caso quando invasoras simplesmente competem por recursos com as espécies locais (Hierro e Callaway 2003).

A supressão de plantas vizinhas por ação de compostos fitoquímicos pode ser aprimorada em ambientes com baixa disponibilidade de recursos (Tang et al. 1995). A possível intensificação da alelopatia em ambientes com deficiências de recursos pode ter implicações importantes para a suscetibilidade de comunidades de plantas à invasão (Lonsdale 1999; Nickerson e Flory 2015). Se a alelopatia é um mecanismo que influencia o processo de invasão biológica e a limitação de recursos aumenta os efeitos alelopáticos, que por sua vez aumentam a invasibilidade da planta, então o potencial

invasivo de plantas deve aumentar à medida que a disponibilidade de recursos diminui (Hierro e Callaway 2003).

Apesar de menos estudado, esse padrão também pode ser observado de forma inversa, quando a planta nativa possui potencial alelopático e boa capacidade competitiva sobre espécies exóticas invasoras (Cummings et al. 2012; Christina et al. 2015).

A exsudação da raiz, que é uma das formas de liberação de metabólitos secundários no solo, pode regular a comunidade microbiana e facilitar simbioses benéficas, além disso, pode modificar as propriedades químicas e físicas do solo e inibir o crescimento de espécies de plantas concorrentes, através da alelopatia (Bais et al. 2003). Neste sentido, é possível perceber que há uma relação entre a alelopatia, a disponibilidade de recursos e a microbiota do solo (Sanon et al. 2009). Portanto, ao se avaliar a alelopatia e a competição por recursos entre plantas vizinhas, é importante considerar as modificações que ocorrem nas características químicas e microbiológicas do solo.

Os microrganismos presentes no solo desempenham um papel muito importante na mediação de interações alelopáticas entre organismos, transformando aleloquímicos em produtos químicos menos ou mais tóxicos (Lankau 2010; Achatz e Rillig 2014). A microbiota do solo também pode diminuir os efeitos alelopáticos de plantas invasoras degradando seus aleloquímicos. Por sua vez, esta ação da microbiota do solo pode se amplificar com a competição provocada pelo aumento da abundância de espécies invasoras, diminuindo gradualmente a inibição alelopática em plantas nativas co-ocorrentes (Yang et al. 2017).

De forma geral, para se compreender a relação e a influência da competição por recursos e da alelopatia no crescimento de espécies vegetais é necessária a implementação de bioensaios em que seja possível excluir os dois mecanismos de interferência, além de observá-los em conjunto (Cipollini e MacClain 2008; Murrell et al. 2011; Lorenzo et al. 2016).

Na literatura, o uso de carvão ativado nos experimentos para a exclusão da alelopatia é frequente, uma vez que ele é considerado um potente adsorvente de compostos orgânicos, sendo frequentemente usado para neutralizar aleloquímicos (Inderjit e Callaway 2003; Prati e Bossdorf 2004; Del Fabbro et al. 2014; Nolan et al. 2014; Nickerson e Flory 2015). Os estudos de alelopatia incorporam carvão ativado ao solo como tratamento no qual a atividade alelopática é atenuada, servindo, portanto, para comparações com o tratamento sem a adição do carvão ativado (Inderjit e Nilsen 2003; Nolan et al. 2014).

No caso de exclusão da competição, uma alternativa seria o plantio de espécies (alelopática e alvo) nos mesmos recipientes, com a instalação de uma barreira para separar a parte radicular das duas plantas em uma parte dos recipientes. A barreira deve ser permeável para que os aleloquímicos presentes na solução do solo tenham livre acesso às duas partes separadas do recipiente (Nilsson 1994; Qasem 2017).

Estudos para identificação de atividade alelopática relacionados a invasões biológicas e/ou restauração ecológica são poucos no Brasil, a maioria usando extratos vegetais em condições laboratoriais (Barbosa et al. 2008; Allem et al. 2014; de Jesus Jatobá et al. 2016; Lopes et al. 2017; Mignoni et al. 2018). No Cerrado ainda não foi documentado um estudo de avaliação do potencial alelopático de plantas em interação com a competição por recursos abaixo do solo.

O Cerrado brasileiro tem sofrido impactos ecológicos em decorrência da invasão por gramíneas africanas de metabolismo C4 (Barbosa et al. 2008; Damasceno et al. 2018), por meio de redução da biodiversidade local, efeitos sobre as funções ecossistêmicas, mudanças no regime do fogo e deslocamento e/ou substituição da vegetação nativa (Barbosa et al. 2008; Pivello 2011; Garcia et al. 2022).

Em experimentos de restauração ecológica de áreas invadidas por gramíneas exóticas africanas no Distrito Federal (DF) e em Goiás (GO), a espécie arbustiva *Lepidaploa aurea* (Asteracea) tem demonstrado bom desempenho em estabelecimento e cobertura do solo (Sampaio et al. 2015; Pellizzaro et al. 2017) e, em geral, é possível observar no entorno de agrupamentos da planta, a ocorrência de zonas de inibição de crescimento da gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens*. Em experimentos laboratoriais realizados com extratos vegetais e lixiviados radiculares de *L. aurea* usando as espécies modelo *Solanum lycopersicum*, *Raphanus sativus*, *Lactuca sativa* e *Sorghum bicolor* e gramíneas exóticas, entre elas *U. decumbens*, foi constatado que a planta possui fitotoxicidade radicular, produzindo efeitos inibitórios do crescimento aéreo e radicular das plantas alvo (Lopes et al. 2017, 2018). No entanto, em condições controladas foi observado que a serapilheira de *L. aurea* em decomposição possui baixa atividade fitotóxica sobre *Lactuca sativa* e baixo potencial alelopático sobre *U. decumbens* e sobre a gramínea nativa *P. atratum* (Capítulo 2, dessa tese). Adicionalmente, em experimento de campo não foi comprovado o potencial alelopático de *L. aurea*, no entanto, possivelmente o desenho experimental utilizado não foi adequado para separar os efeitos do potencial alelopático da planta de outras formas de interação como competição radicular ou dos efeitos de outras variáveis ambientais, como por exemplo, o microclima local (Lopes 2016).

Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar a competição abaixo do solo e o potencial alelopático radicular de *L. aurea* sobre duas gramíneas, uma exótica invasora (*U. decumbens*) e uma nativa (*Paspalum notatum*), usando uma metodologia para atenuação dos dois mecanismos de interferência, de forma que seus efeitos foram observados isoladamente e em interação.

2. Objetivos

- Avaliar a influência da competição por recursos, do potencial alelopático de *L. aurea*, e da interação entre os dois mecanismos de interferência no crescimento de duas gramíneas: uma exótica invasora e outra nativa do Cerrado em condições de casa de vegetação;
- Avaliar se a competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea* e *U. decumbens* ou *P. notatum*, o potencial alelopático radicular de *L. aurea* sobre as gramíneas alvo, e/ou a interação entre os dois mecanismos de interferência modificam as características químicas e microbiológicas do solo.

3. Hipóteses

- A competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea*, o potencial alelopático radicular de *L. aurea* e/ou a interação entre os dois mecanismos afetam o desenvolvimento das gramíneas alvo, com mais intensidade sobre a gramínea exótica invasora do que sobre a gramínea nativa; pois são observadas em campo zonas de inibição de crescimento de *U. decumbens* no entorno de aglomerados populacionais de *L. aurea*, que não afetam outras espécies nativas. Além disso, foi constatada a fitotoxicidade em extratos e lixiviados radiculares de *L. aurea* sobre a gramínea exótica invasora, mas não sobre as espécies nativas testadas;

- A competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea* e as espécies alvo, e o potencial alelopático das raízes de *L. aurea* modificam as características químicas e microbiológicas do solo, pois existem evidências de que os dois mecanismos de interferência estão fortemente relacionados às características do substrato no qual as plantas interagem (Parepa e Bossdorfi et al. 2016; Yang et al. 2017).

4. Material e Métodos

4.1. Espécies estudadas

A espécie doadora, *Lepidaploa aurea* Mart. ex DC. (Asteraceae) – vulgarmente conhecida como amargoso - é um arbusto nativo do Cerrado muito ramificado, de altura média de 1 metro, que possui caule com pêlos acinzentados e folhas simples, alternas, de pecíolo curto e com tricomas nas duas superfícies. É encontrada especialmente em áreas de Cerrado do Brasil central (Farias et al.2002). Possui fitotoxicidade comprovada em laboratório sobre o crescimento aéreo e radicular outras espécies de plantas, entre elas a gramínea exótica invasora *Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster (Poaceae) (Lopes et al. 2017, 2018). Os bioensaios que detectaram a fitotoxicidade foram realizados com extratos de folhas jovens e raízes do arbusto e em solo no qual *L. aurea* foi previamente cultivada por seis meses, e afetaram tanto a parte aérea quanto a parte radicular da planta alvo.

A gramínea *Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster (Poaceae) – vulgo braquiária - é uma forrageira de origem africana, perene, ereta ou decumbente, entouceirada, rizomatosa, com enraizamento nos nós inferiores em contato com o solo, denso pubescente, de coloração geral verde-escura, de 30-90 cm de altura (Loch 1977; Valle 2017). Possui características que a tornam extremamente bem-sucedida na

colonização de áreas abertas degradadas: altas taxas de crescimento, desempenho fotossintético muito eficiente, altas taxas de regeneração, uso efetivo de nutrientes e também uma grande tolerância à defoliação e à herbivoria (Kolar and Lodge 2001; Ramos et al. 2009; Blackburn et al. 2011; Motta 2017).

A gramínea *Paspalum notatum*– grama-batatais - é uma espécie polimórfica, perene e rizomatosa, encontrada em várias regiões brasileiras, sendo bem comum no Cerrado. Duas variedades da espécie são reconhecidas: var. *notatum* e var. *saurae*. O florescimento de plantas de *P. notatum* var. *notatum* (utilizada neste estudo) é induzido por dias longos, mas a resposta ao fotoperíodo varia entre cultivares. As espiguetas são plano-convexas e suas dimensões pouco variam em cada cultivar. É utilizada como pastagem tanto nativa quanto cultivada e como cobertura vegetal permanente de superfícies de solo, em especial nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (de Souza et al. 2020).

4.2. Avaliação do potencial alelopático radicular de *L. aurea*, da competição por recursos abaixo do solo e da interação entre os dois mecanismos, em casa de vegetação

O experimento de avaliação da competição e do potencial alelopático de *L. aurea* foi realizado em casa de vegetação do Laboratório de Caracterização de Impactos Ambientais (LCIA) do curso de graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Tocantins-UFT, TO.

Para o preparo do substrato foi usada uma mistura de Latossolo Vermelho + areia de textura fina (4:1 solo e areia), ambos adquiridos no comércio local. Em metade do substrato foi incorporado carvão ativado, numa proporção de 20mL de carvão por L de solo (Del Fabbro et al. 2014), visando a atenuação dos efeitos da alelopatia.

Um total de 160 vasos plásticos de 5L foram preenchidos com esse substrato, sendo metade com carvão ativado, e a outra metade sem carvão ativado. Para facilitar a drenagem, os vasos tinham os fundos perfurados, onde foi depositada, previamente, argila expandida. Em metade dos vasos com carvão ativado e em metade dos vasos sem carvão ativado, foi colada, antecipadamente, uma malha filtro de poliéster com abertura de 50µm para dividir o vaso em duas partes iguais, impedindo que as raízes tivessem contato direto, mas que os compostos alelopáticos tivessem passagem livre entre as duas partes (Qasem et al. 2017). A presença da malha filtro nos vasos teve, portanto, a função de atenuar a competição por recursos abaixo do solo, impedindo potencialmente, que as raízes das duas espécies se tocassem e com isso, evitando parte dos mecanismos de reconhecimento dos competidores interespecíficos, como por exemplo, o reconhecimento táctil. Os vasos foram organizados em bancadas de 1m de largura por 8m de comprimento.

Inicialmente 100 sementes de *L. aurea* foram plantadas em cada vaso e depois de estabelecidas foi feito o desbaste dos vasos para a manutenção de apenas 4 indivíduos em cada recipiente, os quais cresceram pelo período de 9 meses. Após esse período, sementes das espécies alvo (*U. decumbens* e *P. notatum*) adquiridas no comércio local, foram plantadas nos vasos onde estava sendo cultivada *L. aurea*, uma espécie alvo por vaso (10 sementes de cada). Quinze dias após a germinação das sementes, foram retirados nove indivíduos e apenas um indivíduo foi mantido. Ou seja, cada vaso tinha de um lado quatro indivíduos da planta doadora (*L. aurea*), e do outro lado um indivíduo das plantas alvo (*U. decumbens* ou *P. notatum*).

O experimento consistiu em um fatorial completo de dois fatores com dois níveis cada: (i) vaso dividido e não dividido pela malha sintética; (ii) vaso com e sem adição de carvão ativado. A combinação entre os dois níveis dos dois fatores entre si

correspondeu a: (i) vasos sem malha + sem carvão: competição entre as raízes e alelopatia presentes; (ii) vasos sem malha + com carvão: competição entre as raízes presente e alelopatia ausente; (iii) vasos com malha + sem carvão: competição entre as raízes ausente e alelopatia presente; e (iv) vasos com malha + com carvão: competição entre as raízes e alelopatia ausentes.

Cada tratamento/condição teve uma repetição de 20 vasos por planta alvo, perfazendo um total de 80 vasos/planta alvo (160 vasos no total).

Após o plantio das espécies-alvo nos vasos, as plantas permaneceram em casa de vegetação pelo período de mais três meses, no qual foi realizado o rodízio quinzenal dos vasos para reduzir os efeitos da luminosidade sobre o crescimento das plantas. A irrigação dos vasos foi feita de forma contínua, a cada dois dias, com o uso de regadores manuais e observando sempre a manutenção de 100% capacidade de campo dos vasos.

Depois de 90 dias, o experimento foi desmontado e foi medido o comprimento das partes aéreas e radiculares das plantas com uma régua, em seguida as raízes das plantas alvo foram fotografadas para posterior análise da arquitetura das raízes, por meio da avaliação da superfície radicular total, comprimento radicular total e número de bifurcações radiculares, utilizando o software ImageJ[®]. As plantas foram secas em estufa a 60°C por 48 horas e foi medida a biomassa aérea e radicular com o uso de uma balança de precisão.

Para a análise estatística foi utilizado o Programa R Core Team (2021). Foi detectada a ausência de normalidade e de homocedasticidade nos dados após realização do teste Shapiro-wilk, e como a transformação dos dados não foi possível optou-se por executar o GLM (Modelo Linear Generalizado) com distribuição gamma (não paramétrica), que foi o modelo que melhor representou os dados. As médias dos

tratamentos foram comparadas com o teste *a posteriori* Dunnett, com nível de significância de 0,05. A comparação entre os tratamentos foi feita de par a par, considerando a competição na ausência e na presença da alelopatia separada da alelopatia na ausência e na presença da competição.

4.3. Análises das características químicas do solo

As amostras de solo foram coletadas de vasos usados no bioensaio de avaliação da competição por recursos e do potencial alelopático de *L. aurea* realizado em casa de vegetação, no início do experimento (T0) e após o desmonte do experimento (T1), para isso, foram selecionados cinco vasos para T0 nos tratamentos com e sem carvão ativado e cinco vasos por tratamento de T1 para cada espécie alvo (*U. decumbens* e *P. atratum*). Os tratamentos de T1 são: sem carvão ativado/sem malha filtro (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado /com malha filtro (com alelopatia/sem competição), com carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição), com carvão ativado/com malha filtro (sem alelopatia/sem competição).

As análises químicas do solo foram realizadas no Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa – MG, onde foram avaliados os valores de pH em H₂O e as concentrações disponíveis e trocáveis de P, K, Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺, S, B, Cu, Mn, Fe e Zn, além acidez potencial (H+Al), da soma de bases (SB), saturação por bases V (%), saturação por alumínio (m), capacidade de troca de cátions (T), capacidade de troca de cátions efetiva (t), matéria orgânica (MO), P remanescente (P rem). As análises realizadas seguiram o protocolo estabelecido por EMBRAPA (1997).

Para a análise estatística dos dados de solos foi realizada a análise intervalar (Limite inferior - Limite superior) com intervalo de confiança de 95%, quando sobrepostos não diferem, utilizando o Programa R Core Team (2021).

4.4. Análise da comunidade microbiana do solo

A coleta das amostras de solo para análises da comunidade bacteriana foi feita da mesma maneira que para as análises químicas, com a única diferença no número de amostras por tratamento, que neste caso foram quatro. Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas refrigeradas em caixa térmica até a chegada ao laboratório, onde foram peneiradas através de malha de 2 mm, fracionadas em pequenas quantidades e mantidas em freezer.

As amostras foram enviadas para extração de DNA total e análises de pirosequenciamento no laboratório da empresa Biotecnologia Pesquisa e Inovação (<https://bpibiotecnologia.com.br/>). A extração de DNA total das amostras de solo foi feita utilizando o kit FastDNA SPIN para extração de DNA de microrganismos em amostra de solo, marca MP Bio, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante, com uso do equipamento Fast Prep® 24 (MP Bio, USA). O produto da extração foi avaliado por eletroforese em gel de agarose 0,8 % contendo brometo de etídeo (2µg/ml) e o seu tamanho estimado por comparação com o marcador 1kb plus ladder (USB-EUA).

Para as análises de pirosequenciamento, os fragmentos de 16S rDNA das amostras de solo de cada tratamento para cada espécie alvo foram amplificados utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores que flanqueiam as regiões hipervariáveis V5 a V9 do 16S rDNA.

A amplificação por PCR das sequências de 16S rDNA com 20 µl de volume total de reação foi realizada através do protocolo: tampão de Taq polimerase 1X (Invitrogen); 3,0 mM de MgCl₂; 10 pmol de cada oligonucleotídeo iniciador, 0,25 mM de dNTPs; 1,5U de Taq DNA polimerase (Invitrogen), 1 µl de DNA. A amplificação foi

realizada utilizando desnaturação inicial de 3 min a 95°C, seguido por 25 ciclos com desnaturação por 30 segundos a 95°C, anelamento por 30 segundos a 58°C e extensão por 1,4 minutos a 72 °C, seguido por uma extensão final de 7 minutos a 72°C e resfriamento a 10°C. Os amplicons foram sequenciados por meio do sequenciador de nova geração GS FLX Titanium (454 Sequencing Center, Brandford, USA).

As análises de diversidade microbiana e estatísticas foram processadas no Programa R Core Team (2021). Para descrever e pontuar as variações na abundância relativa dos grupos bacterianos com frequência maior que 1% (em nível de família, considerando a partir da distribuição de classe) associados aos três filos dominantes na área, foi construído um gráfico para a comparação do percentual médio relativo de cada táxon por tratamento para cada espécie alvo. As métricas de α e β diversidade da comunidade microbiana nos solos foram computadas usando os pacotes microbiomeSeq (Ssekagiri et al. 2017) e phyloseq após a normalização dos dados pela mediana da profundidade do sequenciamento. O cálculo das métricas de α -diversidade foi realizado usando o índice de diversidade Shannon e a riqueza observada. O pacote phyloseq (McMurdie and Holmes, 2013) foi usado para gerar os gráficos de rarefação para os diferentes tratamentos das duas espécies alvo em T1 (da riqueza observada e do Índice de Shannon). Para avaliar a distribuição da comunidade microbiana entre as amostras dos diferentes tratamentos, foi empregada a análise de componentes principais (PCA). Em seguida, uma PERMANOVA (*permutation analysis of variance*) foi usada para identificar as diferenças na diversidade da comunidade microbiana entre os tratamentos de cada espécie alvo específica. Para a comparação entre os tratamentos de cada espécie alvo foram considerados os valores de *q value* $< 0,005$, pois quando um grande número de testes é realizado, relatar *p value* individuais pode ser enganoso. O *q value* é um análogo do *p value*, mas incorpora correção de teste múltiplo e é definido como a taxa

mínima de falsa descoberta na qual uma pontuação observada é considerada significativa. Assim, o *q value* tenta controlar a porcentagem de falsos positivos entre uma coleção de pontuações (Storey 2003).

5. Resultados

5.1. Avaliação do potencial alelopático radicular de *L. aurea*, da competição por recursos abaixo do solo e da interação entre os dois mecanismos, em casa de vegetação

Efeitos sobre a parte aérea das plantas alvo

No bioensaio de avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático radicular de *L. aurea* em casa de vegetação, foi observado que o comprimento aéreo das gramíneas alvo foi afetado pelo fator espécie e pela interação entre os fatores espécie e ausência de alelopatia (tab. 1), a gramínea exótica invasora teve o comprimento aéreo significativamente maior do que o da gramínea nativa em todos os tratamentos. No entanto, ao se comparar os tratamentos para cada gramínea isoladamente foi constatado que não houve diferença na altura ou no comprimento aéreo (fig. 1). Já a biomassa aérea das plantas alvo sofreu efeito da espécie, da ausência da competição e da interação entre espécie, ausência de competição e ausência de alelopatia (tab. 1). Esses efeitos não afetaram *U. decumbens*, mas provocaram o aumento da biomassa aérea de *P. notatum* no tratamento com carvão ativado (sem alelopatia)/com malha filtro (sem competição) em comparação com o tratamento com carvão ativado (sem alelopatia) /sem malha filtro (com competição) (fig. 1).

Efeitos sobre o sistema radicular das plantas alvo

O comprimento radicular (fig. 2), a superfície radicular total e o comprimento radicular total (fig. 3) sofreram efeitos da espécie, da ausência da competição e das interações entre esses fatores (tab. 1), e demonstraram o mesmo padrão de respostas sobre as espécies alvo observado na variável biomassa aérea. Os efeitos não afetaram *U. decumbens*, mas provocaram o aumento das variáveis resposta de *P. notatum* no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com o tratamento sem alelopatia/com competição. Ou seja, a biomassa aérea, o comprimento radicular, a superfície radicular total e o comprimento radicular total da gramínea nativa aumentaram na ausência da competição por recursos abaixo do solo, mas não sofreram efeito da alelopatia.

A biomassa radicular foi afetada pelo fator espécie e pela interação entre espécie e ausência de competição (tab. 1), no entanto, não foram observadas diferenças nos valores desta variável resposta entre os tratamentos de cada espécie específica (fig. 2).

O número de bifurcações radiculares sofreu efeito do fator espécie, da ausência de alelopatia e da interação entre os dois fatores (tab. 1), mas nenhuma das duas gramíneas alvo teve esta variável resposta afetada pela presença de *L. aurea* no mesmo vaso (fig. 4).

Tabela 1- Resultados das análises estatísticas para as variáveis resposta: comprimento aéreo, comprimento radicular, biomassa aérea, biomassa radicular, superfície radicular total, comprimento radicular total e número de bifurcações radiculares das espécies alvo *U. decumbens* e *P. notatum* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram ausência de alelopatia e ausência de competição, e os tratamentos: sem alelopatia/sem competição, sem alelopatia/com competição, com alelopatia/sem competição e com alelopatia/com competição. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

Variáveis Resposta	Estatística		
Comprimento aéreo	LR Chi-square	df	P
Espécie	273.56	1	<0.001
Ausência de alelopatia	1.40	1	0.237
Ausência de competição	0.97	1	0.325
Espécie*Ausência de alelopatia	10.33	1	0.001
Espécie*Ausência de competição	0.42	1	0.514
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.09	1	0.755
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	2.27	1	0.132
Biomassa aérea	LR Chi-square	df	P
Espécie	131.68	1	<0.001
Ausência de alelopatia	0.14	1	0.705
Ausência de competição	6.63	1	0.010
Espécie*Ausência de alelopatia	0.49	1	0.481
Espécie*Ausência de competição	7.53	1	0.006
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.083	1	0.773
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	5.734	1	0.016
Comprimento radicular	LR Chi-square	df	P
Espécie	37.08	1	<0.001
Ausência de alelopatia	2.12	1	0.145
Ausência de competição	10.29	1	0.001
Espécie*Ausência de alelopatia	1.13	1	0.134
Espécie*Ausência de competição	0.96	1	0.325
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	7.07	1	0.007
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	2.89	1	0.088
Biomassa radicular	LR Chi-square	df	P
Espécie	8.48	1	0.003
Ausência de alelopatia	0.36	1	0.547
Ausência de competição	1.59	1	0.206
Espécie*Ausência de alelopatia	0.09	1	0.751
Espécie*Ausência de competição	4.57	1	0.032
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.43	1	0.509
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.80	1	0.371
Superfície radicular total	LR Chi-square	df	P
Espécie	49.98	1	<0.001
Ausência de alelopatia	0.36	1	0.547
Ausência de competição	7.43	1	0.006
Espécie*Ausência de alelopatia	7.47	1	0.006
Espécie*Ausência de competição	6.73	1	0.009
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	6.38	1	0.011
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	16.50	1	<0.001
Comprimento radicular total	LR Chi-square	df	P

Espécie	105.76	1	<0.001
Ausência de alelopatia	2.02	1	0.154
Ausência de competição	5.43	1	0.019
Espécie*Ausência de alelopatia	0.32	1	0.568
Espécie*Ausência de competição	2.72	1	0.053
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.08	1	0.775
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	7.41	1	0.006
Número de bifurcações radiculares	LR Chi-square	df	P
Espécie	146.67	1	<0.001
Ausência de alelopatia	8.80	1	0.003
Ausência de competição	3.47	1	0.062
Espécie*Ausência de alelopatia	4.01	1	0.045
Espécie*Ausência de competição	2.51	1	0.113
Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.09	1	0.760
Espécie*Ausência de alelopatia*Ausência de competição	0.36	1	0.548

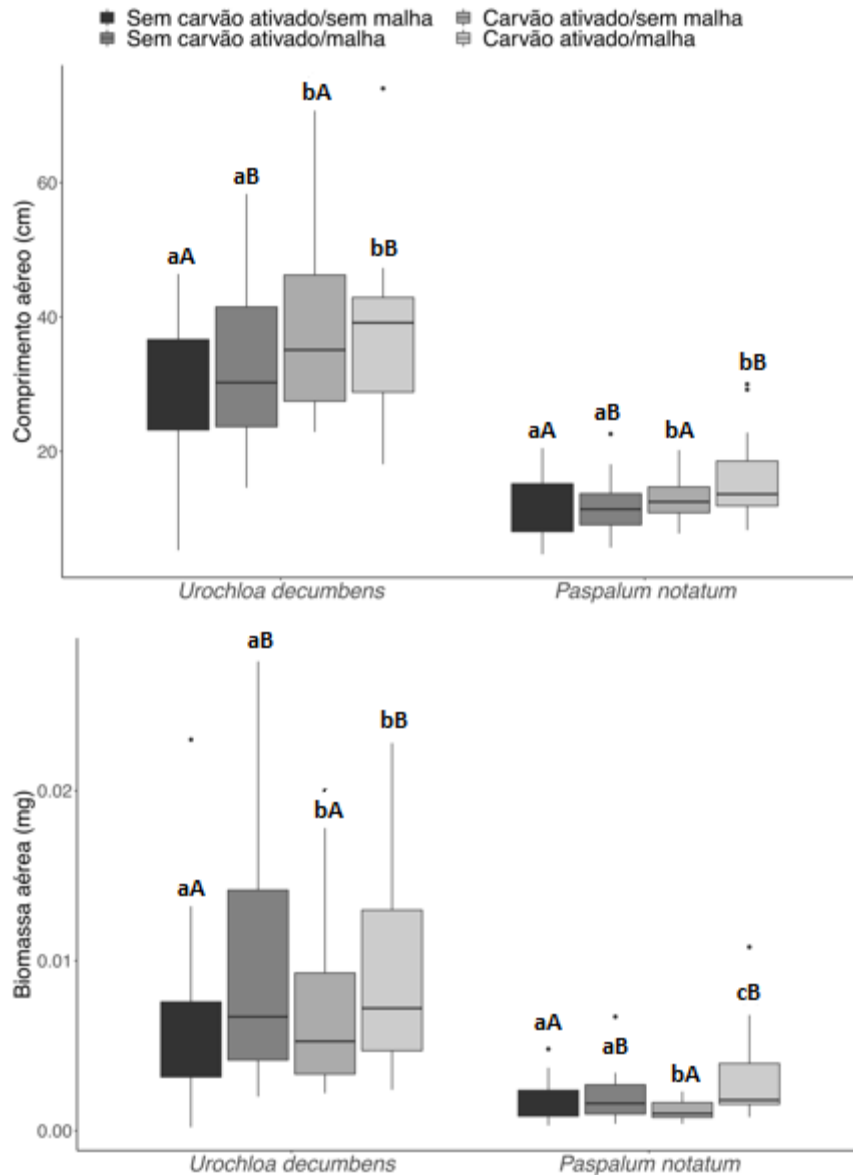


Figura 1- Comprimento e biomassa aéreos de *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator competição e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator alelopatia para cada espécie isoladamente. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnetty para a comparação das medianas entre os tratamentos, que foi executado par a par.

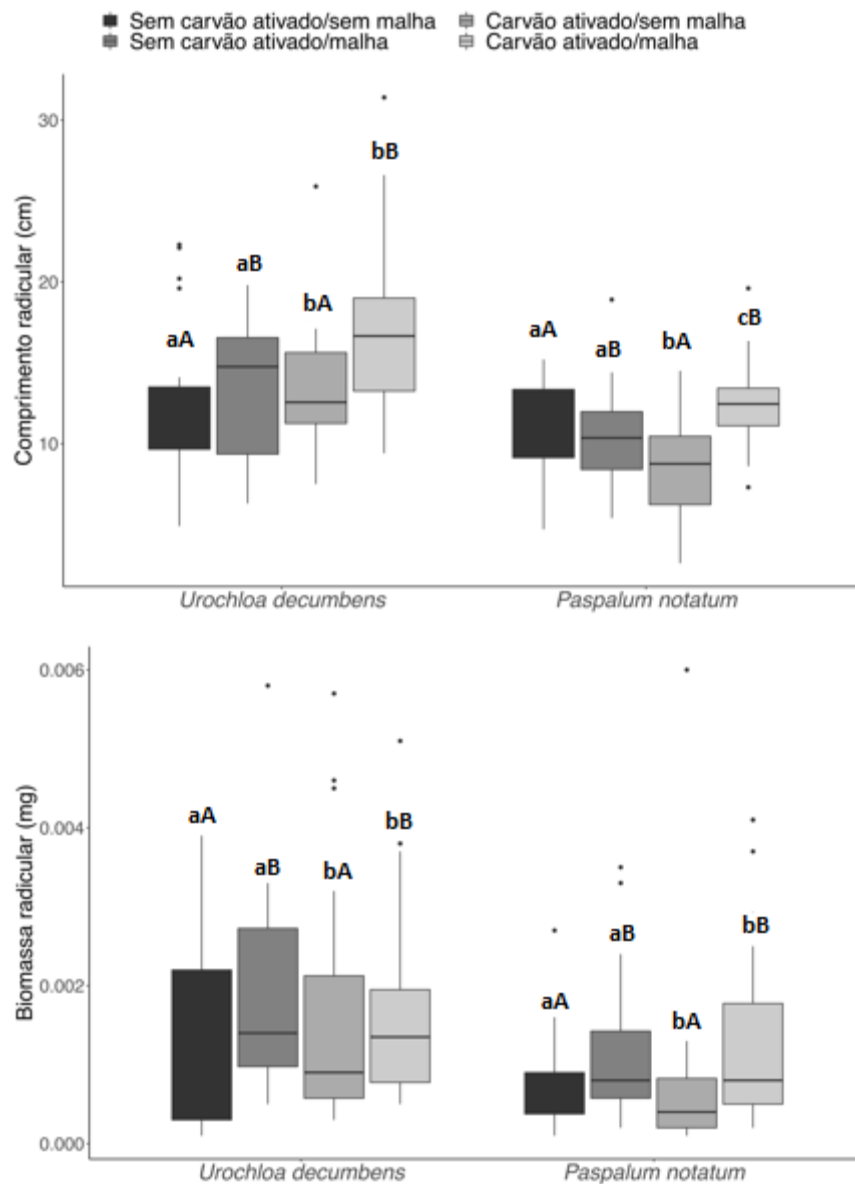


Figura 2- Comprimento e biomassa radiculares de *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator competição e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator alelopatia para cada espécie isoladamente. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnet para a comparação das medianas entre os tratamentos, que foi executado par a par.

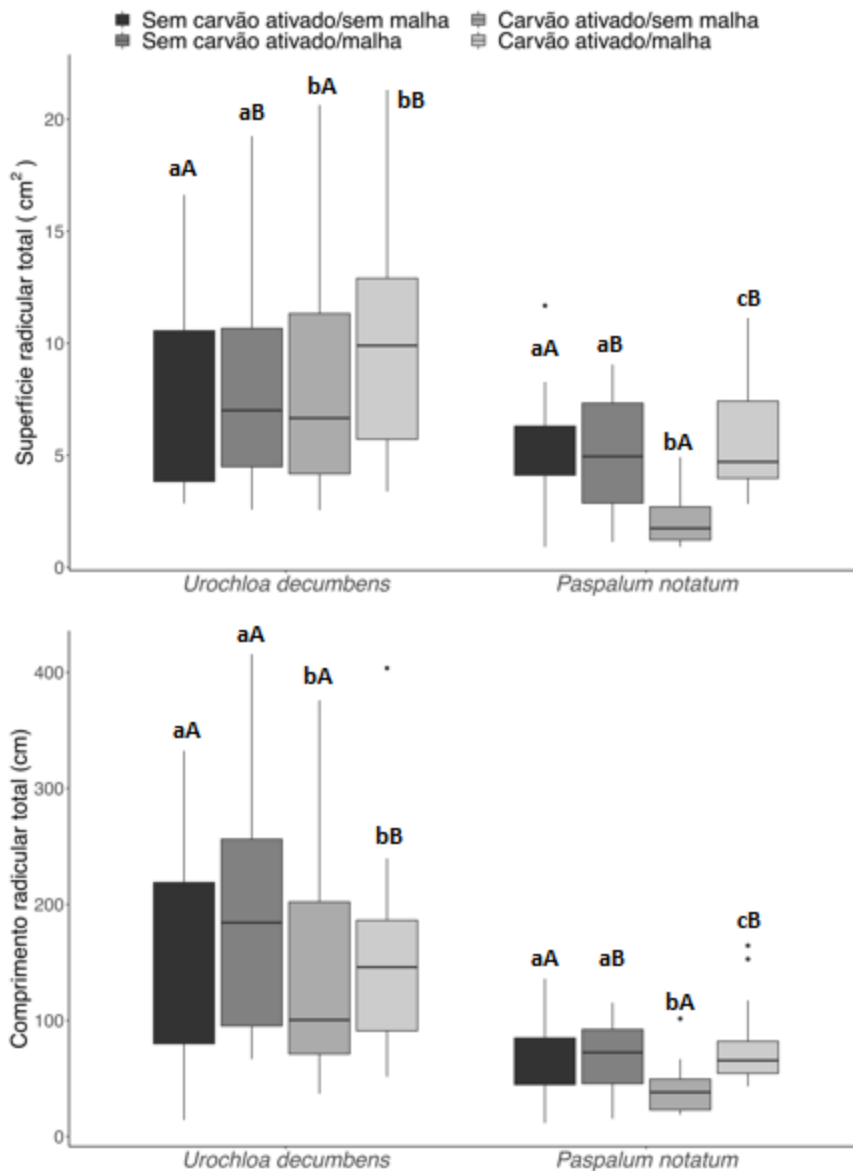


Figura 3- Superfície radicular total e Comprimento radicular totalde *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator competição e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os valores do fator alelopatia para cada espécie isoladamente. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnety para a comparação das medianas entre os tratamentos, que foi executado par a par.

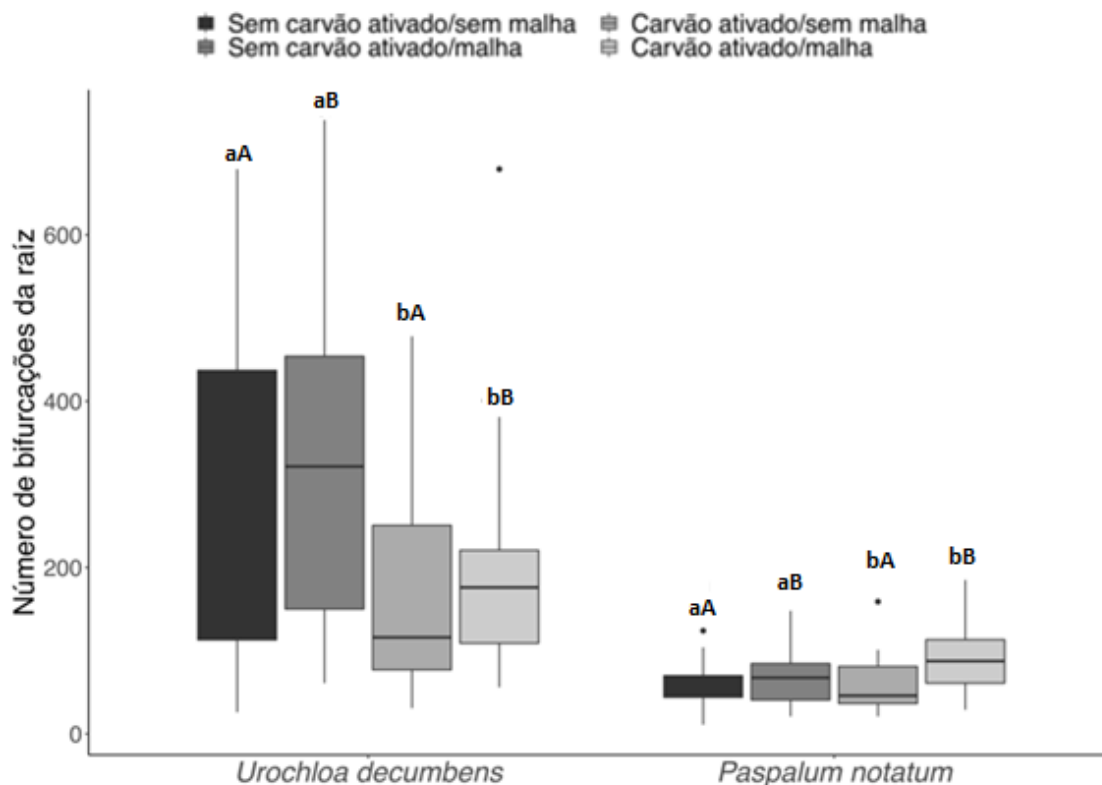


Figura 4- Número de bifurcações radiculares de *Urochloa decumbens* e *Paspalum notatum* cultivadas por 90 dias junto com *L. aurea* nos mesmos vasos, nos tratamentos sem carvão ativado/sem malha (com alelopatia/com competição), sem carvão ativado/malha filtro (com alelopatia/sem competição), carvão ativado/sem malha filtro (sem alelopatia/com competição) e carvão ativado/malha filtro (sem alelopatia/sem competição) em casa de vegetação. A linha preta mostra a mediana, a caixa abrange o quartil superior e inferior, as barras indicam os decis superior e inferior e os círculos fechados mostram os outliers. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os valores dentro de cada tratamento. Executamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para cada variável resposta, com distribuição gamma e teste Dunnett para a comparação das medianas entre os tratamentos.

5.2. Análises das características químicas do solo

Os parâmetros químicos do solo dos vasos usados no bioensaio de avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea* em casa de vegetação foram avaliados para cada espécie alvo separadamente, não sendo comparados os parâmetros entre as espécies. Além disso, as comparações entre os tratamentos foram feitas par a par, considerando a competição na ausência e na presença da alelopatia de forma separada da alelopatia na ausência e na presença da competição.

Ao se comparar os tratamentos das duas espécies alvo em T1 com o tratamento sem carvão ativado em T0, não foram constatadas diferenças nos valores de P, Mg^{2+} , B,

Mn, Fe, Zn, matéria orgânica (MO) e da soma de bases trocáveis (Sb). Por outro lado, os valores de pH em H₂O em T0 sem carvão ativado foram menores, apresentando uma mudança de intervalo de valores de 5,18 a 5,45 em T0 sem carvão ativado para 6,58 a 6,76 no tratamento com sem alelopatia/sem competição no solo onde foi cultivada *U. decumbens* em T1. Já o Al³⁺ obteve valores maiores em T0 sem carvão ativado do que em todos os tratamentos em T1 para as duas gramíneas alvo, apresentando uma mudança de valores de 0,97 a 0,11cmol_c /dm³ em T0, para 0,4 a 1,04cmol_c /dm³ também no tratamento sem alelopatia/sem competição de *U. decumbens* em T1 (tab. 2, 3).

Na comparação dos valores dos parâmetros químicos em T0 sem carvão ativado e os tratamentos de *U. decumbens* em T1, foi observado que os valores de Ca²⁺, da soma de bases trocáveis (Sb) e da capacidade de troca de cátions relativa (t) foram maiores, e os da porcentagem de saturação por bases (V) foram menores em comparação com os tratamentos sem alelopatia/sem competição, sem alelopatia/com competição e com alelopatia/sem competição. A capacidade de troca de cátions (T) foi menor do que no tratamento com alelopatia/sem competição, e os valores de P remanescente (P rem) foram menores em comparação com todos os tratamentos (tab. 2,3).

Com relação à comparação dos valores dos parâmetros químicos em T0 sem carvão ativado e os tratamentos de *P. notatum* em T1, observamos que os valores da porcentagem de saturação por bases (V) e P remanescente (P rem) foram menores do que os valores obtidos nos tratamentos sem alelopatia/sem competição, sem alelopatia/com competição e com alelopatia/com competição (tab. 3). Os valores da soma de bases trocáveis (Sb) e da capacidade de troca de cátions relativa (t) foram maiores do que nos tratamentos sem alelopatia/sem competição e sem alelopatia/com

competição (tab. 2). Os valores de K disponível foram maiores em comparação com o tratamento sem alelopatia/com competição (tab. 2). Os valores da capacidade de troca de cátions (T) foram menores do que no tratamento com alelopatia/com competição (tab. 2); e os valores de Cu disponível foram maiores em comparação com os tratamentos sem alelopatia/com competição e com alelopatia/com competição (tab. 3).

Em T1, nos vasos onde foi cultivada *U. decumbens*, houve uma redução dos valores de Ca^{2+} no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com os tratamentos sem alelopatia/com competição e com alelopatia/sem competição (tab. 2). Foi observado um aumento nos valores da capacidade de troca de cátions relativa (t) no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com o tratamento com alelopatia/sem competição (tab. 2). Os valores de Mn disponível foram maiores no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com o tratamento com alelopatia/sem competição (tab. 3).

Em T1, nos vasos onde foi cultivada *P. notatum*, houve uma redução dos valores de Ca^{2+} no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com os tratamentos sem alelopatia/com competição e com alelopatia/sem competição (tab. 2). Os valores de pH em H_2O e Mg^{2+} foram menores no tratamento com alelopatia/com competição em comparação com o tratamento sem alelopatia/com competição (tab. 2). Foi observado um aumento nos valores da capacidade de troca de cátions relativa (t) no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com o tratamento com alelopatia/sem competição (tab. 2). Os valores de B disponível foram maiores no tratamento sem alelopatia/com competição em comparação com o tratamento com alelopatia/com competição e P remanescente (P rem) apresentou valores menores no tratamento com alelopatia/sem competição em comparação com com alelopatia/com competição (tab. 3).

Tabela 2 – Resultados das análises estatísticas para os dados de análises físico-químicas de solos onde foram avaliados os parâmetros pH-H₂O, P, K, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H+Al, SB, t e T. O solo analisado é proveniente de bioensaio para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T0 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos com alelopatia/com competição (sc/sm), com alelopatia/sem competição (sc/cm), sem alelopatia/com competição (cc/sm) e sem alelopatia/ com competição (cc/cm) do T1 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Espécie	Tempo	Tratamento	pH H2O	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	t	T
NA	T0	cc	4,55-4,77	-1,04-4,72	11,52-16,48	0,42-0,63	0,21-0,3	1,53-1,75	0-0	0,66-0,97	0,66-0,97	2,34-2,57
		sc	5,18-5,45	0,52-1,12	6-6	0,47-0,55	0,23-0,24	0,97-1,11	0-0	0,73-0,81	0,73-0,81	1,71-1,91
<i>U. decumbens</i>	T1	cc/cm	6,45-6,76	0,2-0,56	9,03-16,57	0,95-1,06	0,29-0,32	0,4-1,04	0-0	1,28-1,42	1,28-1,42	1,73-2,41
		cc/sm	6,04-6,36	0,11-0,57	8,82-18,38	0,71-0,94	0,27-0,31	0,81-1,27	0-0	1,03-1,28	1,03-1,28	2,04-2,35
		sc/cm	6,09-6,57	0,02-0,22	0,71-14,49	0,78-0,86	0,26-0,29	0,86-1,18	0-0	1,04-1,19	1,04-1,19	2,02-2,25
		sc/sm	5,89-6,35	0,18-0,46	3,23-18,37	0,63-0,82	0,24-0,28	0,92-1,48	0-0	0,9-1,28	0,9-1,12	2,04-2,38
<i>P. notatum</i>	T1	cc/cm	6,58-6,76	0,38-1,02	15,97-21,63	0,98-1,12	0,29-0,34	0,73-0,95	0-0	1,33-1,5	1,33-1,5	2,11-2,4
		cc/sm	6,4-6,66	0,58-0,98	27,48-43,72	0,82-0,96	0,27-0,32	0,85-1,07	0-0	1,19-1,37	1,19-1,37	2,13-2,35
		sc/cm	5,88-6,7	0,58-0,78	2,24-20,96	0,57-1,03	0,24-0,33	0,82-1,46	0-0	0,82-1,41	0,82-1,41	1,99-2,51
		sc/sm	5,94-6,23	0,09-0,23	3,76-38,64	0,59-0,79	0,24-0,26	0,95-1,25	0-0	0,84-1,33	0,84-1,15	2,01-2,18

Tabela 3 – Resultados das análises estatísticas para os dados de análises físico-químicas de solos onde foram avaliados os parâmetros V, m, MO, P rem, S, B, Cu, Mn, Fe e Zn. O solo analisado é proveniente de bioensaio para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea*, nos tratamentos com carvão (cc) e sem carvão (sc) do T0 (tempo inicial, antes da montagem do bioensaio) e nos tratamentos com alelopatia/com competição (sc/sm), com alelopatia/sem competição (sc/cm), sem alelopatia/com competição (cc/sm) e sem alelopatia/ com competição (cc/cm) do T1 (tempo final, após a finalização do bioensaio). Foram realizadas análises estatísticas intervalares (limite inferior – limite superior) com intervalo de confiança de 95%, com diferenças significativas nos valores quando sobrepostos não diferem.

Espécie	Tempo	Tratamento	V	m	MO	P-Rem	S	B	Cu	Mn	Fe	Zn
NA	T0	cc	27,88-38,32	0-0	0,26-0,92	10,59-11,33	-0,68-32,64	0,03-0,15	0,15-0,2	0,6-3,64	12,66-19,34	0,66-1,02
		sc	41,27-43,69	0-0	0,33-0,63	13,14-15,62	27,1-35,94	0,02-0,14	0,15-0,22	1,22-1,5	16,74-23,66	0,48-0,64
<i>U. decumbens</i>	T1	cc/cm	54,76-77,44	0-0	0,9-1,52	14,44-15,2	4,46-25,54	0,06-0,11	0,13-0,19	1,52-1,72	16,06-19,7	0,64-0,87
		cc/sm	45,25-60,43	0-0	0,54-1,23	11,78-15,5	-1,37-13,41	0,05-0,15	0,14-0,18	1,25-1,67	15,64-23,32	-0,16-2,43
		sc/cm	46,72-57,92	0-0	0,51-0,79	12,32-14,6	-1,85-32,09	0,04-0,12	0,11-0,15	0,78-1,02	15,65-23,19	0,59-0,73
		sc/sm	38,12-53,8	0-0	0,3-0,77	12,82-16,02	2,78-32,46	0,07-0,14	0,14-0,21	0,8-1,56	16,52-30,56	0,53-0,83
<i>P. notatum</i>	T1	cc/cm	59,71-65,93	0-0	0,67-1,43	12,22-15,74	10,7-25,34	0,09-0,17	0,1-0,17	1,57-2,03	16,03-20,85	0,7-0,96
		cc/sm	53,09-61,27	0-0	0,56-0,84	13,11-16,57	5,31-30,85	0,14-0,2	0,04-0,1	1,05-1,67	15,73-20,11	0,66-0,95
		sc/cm	36,55-62,29	0-0	0,44-1,12	11,3-13,74	0,49-32,55	0,06-0,19	0,04-0,15	0,76-1,68	13,8-24,68	0,57-0,83
		sc/sm	40,62-54,3	0-0	0,33-0,63	14,29-16,79	21,21-34,11	0,1-0,12	0,06-0,11	0,82-1,02	14,71-18,49	0,6-0,71

5.3. Avaliação da comunidade microbiana do solo

A partir da amplificação por PCR das sequências de 16S rDNA avaliamos o perfil da comunidade bacteriana dos solos dos vasos onde foi plantado o arbusto nativo *L. aurea* em associação com duas gramíneas alvo (*U. decumbens* ou *P. notatum*) em quatro tratamentos com adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição) nos vasos para cada espécie alvo em casa de vegetação.

As curvas de rarefação indicaram que a profundidade de sequenciamento foi suficiente para estimar a riqueza e diversidade bacteriana, de modo que o aumento da amostragem não aumentou significativamente as distribuições de abundâncias encontradas.

A riqueza da comunidade bacteriana apresentou valores bem semelhantes nos quatro tratamentos das duas espécies alvo, especialmente quando baseada no Índice de Shannon (fig. 5, 6).

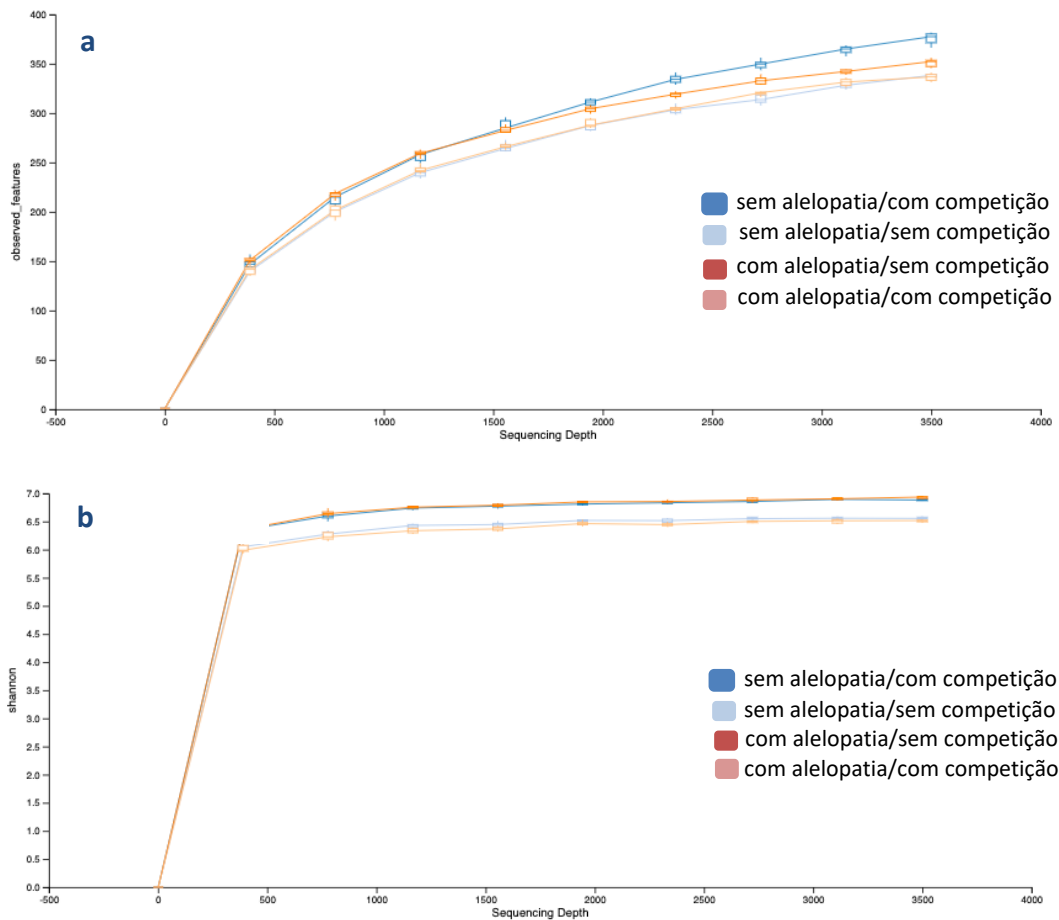


Figura 5 - Curvas de rarefação da comunidade bacteriana obtida por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA de amostras de solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação a gramínea exótica invasora *U. decumbens* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopátia) e inserção de malha filtro (ausência de competição): sem alelopátia/com competição, sem alelopátia/sem competição, com alelopátia/sem competição, com alelopátia/com competição. O gráfico (a) indica a diversidade microbiana baseada na riqueza observada e o gráfico (b) indica a diversidade microbiana baseada no índice de Shannon.

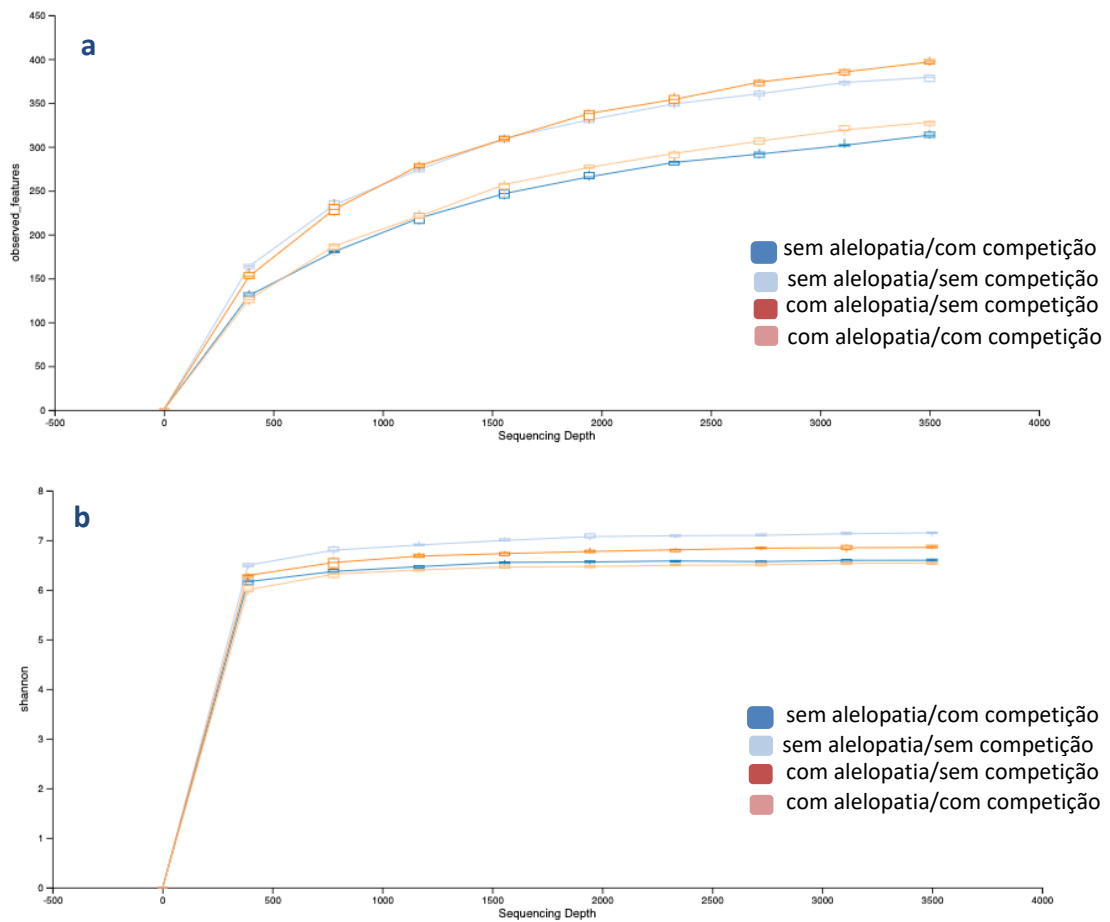


Figura 6 - Curvas de rarefação da comunidade bacteriana obtida por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA de amostras de solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação a gramínea nativa *P. notatum* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição): sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição, com alelopatia/com competição. O gráfico (a) indica a diversidade microbiana baseada na riqueza observada e o gráfico (b) indica a diversidade microbiana baseada no índice de Shannon.

De modo geral, os resultados dos agrupamentos apontaram a ausência de arqueias e a ocorrência exclusiva de bactérias nos vasos das duas gramíneas alvo. A comunidade bacteriana foi inicialmente agrupada por similaridade, e foram observados três filos predominantes nos solos de *U. decumbens* e *P. notatum*: Proteobacteria, Acidobacteriota e Dependientiae. No solo onde foi cultivada *U. decumbens* as maiores médias das frequências relativas de bactérias entre os tratamentos foram: 45% de Proteobacteria e 27% de Acidobacteriota no tratamento sem alelopatia/sem competição, e 17% de Dependientiae no tratamento com alelopatia/sem competição (fig. 7). No solo onde foi cultivada *P. notatum* as maiores médias das frequências relativas de filos bacterianos entre os tratamentos foram: 42% de Proteobactéria no tratamento sem alelopatia/com competição, 24% de Acidobacteriota no tratamento com sem alelopatia/sem competição e 10% de Dependientiae nos tratamentos sem alelopatia/sem competição e sem alelopatia/com competição (fig. 7). Portanto, foi possível observar que as proporções dos filos de bactérias predominantes são semelhantes nos solos onde foram cultivadas as duas espécies alvo.

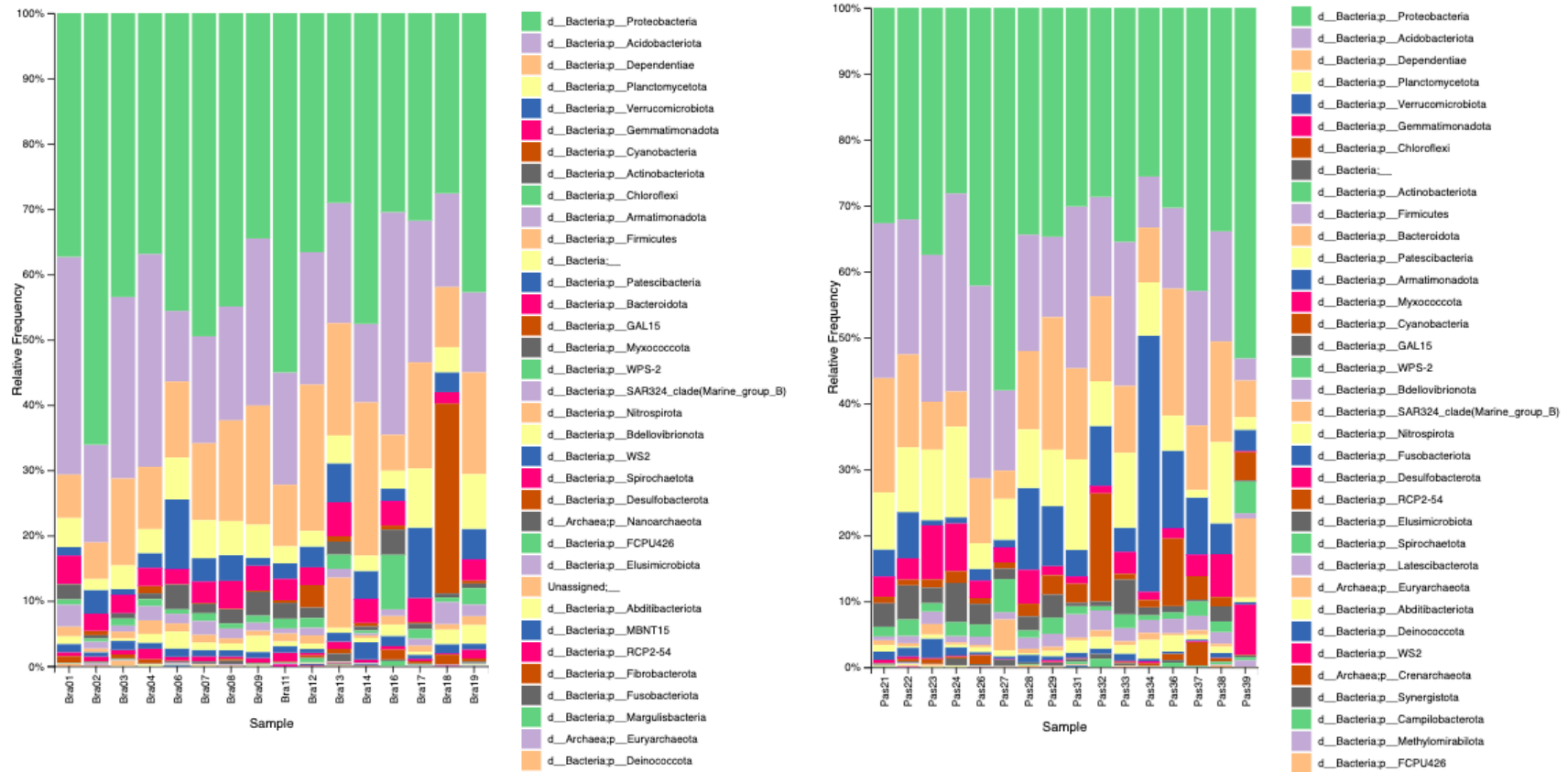


Figura 7- Frequência relativa dos filos representativos da comunidade bacteriana (abundantes e raros) do solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* ou com a gramínea nativa *P. notatumem* casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição). Os tratamentos de *U. decumbens* são: sem alelopatia/sem competição (amostras de Bra01 a Pas04), sem alelopatia/com competição (amostras de Pas06 a Pas09), com alelopatia/sem competição (amostras de Pas11 a Pas14) e com alelopatia/com competição (amostras de Pas16 a Pas19). Os tratamentos de *P. notatumem* são: sem alelopatia/sem competição (amostras de Pas21 a Pas24), sem alelopatia/com competição (amostras de Pas26 a Pas29), com alelopatia/sem competição (amostras de Pas31 a Pas34) e com alelopatia/com competição (amostras de Pas36 a Pas39).

A composição da comunidade bacteriana associada ao solo não diferiu entre os tratamentos para cada espécie alvo (tab. 4, 5). Dois clusters distintos foram observados a partir do gráfico PCA para as suas espécies alvo, um para os dois tratamentos de T0 (com e sem carvão ativado) e outro para os quatro tratamentos de T1 para *U. decumbens* (fig. 8) e para *P. notatum* (fig. 9). A posição dos plots demonstra que os tratamentos dos diferentes tempos formaram grupos isolados.

Tabela 4- Resultados das análises estatísticas da diversidade da comunidade microbiana em solo no qual foi plantado o arbusto nativo *L. aurea* em associação com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram carvão ativado (ausência de alelopatia) e malha filtro (ausência de competição). Executamos PERMANOVA para os dados de diversidade baseados na riqueza observada e no Índice de Shannon, considerando o q $value < 0.005$ de significância. O teste comparou os fatores do Grupo 1: carvão ativado (ausência de alelopatia), malha filtro (ausência de competição) e a interação entre os dois fatores; e os fatores resultantes no Grupo 2: com carvão ativado (ausência de alelopatia) /com malha filtro (ausência de competição), sem carvão ativado (presença de alelopatia)/com malha filtro (ausência de competição) e sem carvão (presença de alelopatia/sem malha filtro (presença de competição)).

		N. amostras	Permutações	Pseudo-F	q-value		
Grupo 1	Grupo 2						
		Carvão	Cc/cm	8	999	1.34	0.0965
			Sc/cm	8	999	1.28	0.0967
	Sc/sm	8	999	1.09	0.2120		
Carva*malha	Sc/cm	8	999	1.68	0.1922		
	Sc/sm	8	999	1.18	0.1245		
Malha	Sc/sm	8	999	1.08	0.1444		

Tabela 5- Resultados das análises estatísticas da diversidade da comunidade microbiana em solo no qual foi plantado o arbusto nativo *L. aurea* em associação com a gramínea nativa *P. notatum* cultivadas em experimento fatorial completo em casa de vegetação, no qual os fatores eram carvão ativado (ausência de alelopatia) e malha filtro (ausência de competição). Executamos PERMANOVA para os dados de diversidade baseados na riqueza observada e no Índice de Shannon, considerando o $q\ value < 0.005$ de significância. O teste comparou os fatores do Grupo 1: carvão ativado (ausência de alelopatia), malha filtro (ausência de competição) e a interação entre os dois fatores; e os fatores resultantes no Grupo 2: com carvão ativado (ausência de alelopatia) /com malha filtro (ausência de competição), sem carvão ativado (presença de alelopatia)/com malha filtro (ausência de competição) e sem carvão (presença de alelopatia)/sem malha filtro (presença de competição).

		N. amostras	Permutações	Pseudo-F	q-value		
Grupo 1	Grupo 2						
		Carvão	Cc/cm	8	999	1.37	0.0965
			Sc/cm	8	999	1.20	0.1200
	Sc/sm	8	999	0.97	0.5260		
Carva*malha	Sc/cm	8	999	1.30	0.0700		
	Sc/sm	8	999	1.64	0.0700		
Malha	Sc/sm	8	999	1.25	0.0700		

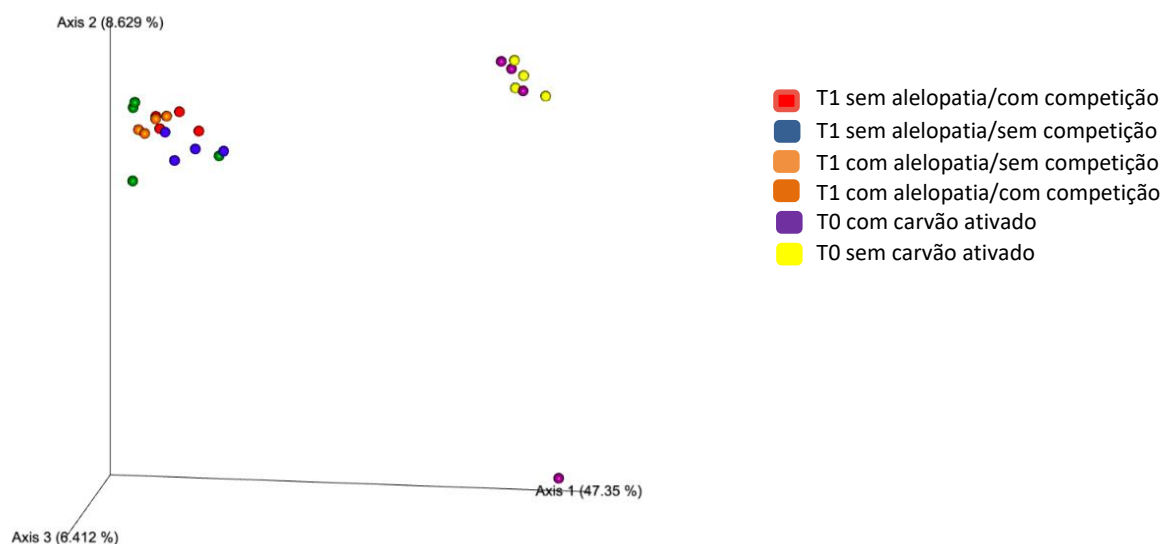


Figura 8 - Análise de componentes principais (PCA) - dados relativos- das comunidades bacterianas associadas ao solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* junto com a gramínea exótica invasora *U. decumbens* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em dois diferentes tratamentos de adição de carvão ativado em T0 (antes do plantio das espécies): com carvão ativado e sem carvão ativado; e em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição) no tempo T1 (após o desmonte do bioensaio): sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição e com alelopatia/com competição.

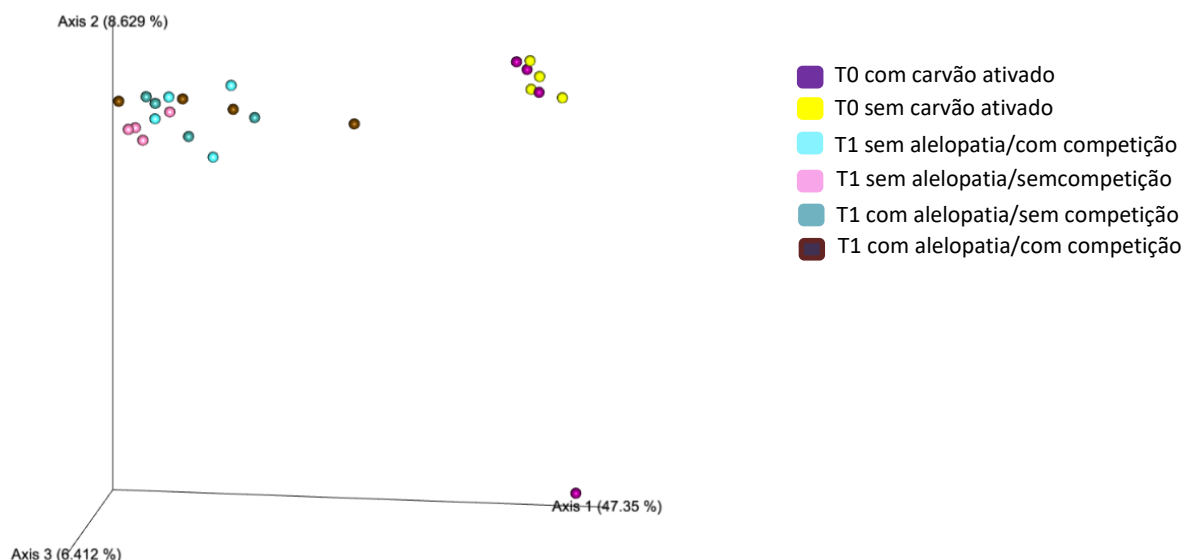


Figura 9 - Análise de componentes principais (PCA) - dados relativos das comunidades bacterianas associadas ao solo onde foi feito plantio do arbusto nativo *L. aurea* em associação a gramínea nativa *P. notatum* em casa de vegetação para avaliação da competição abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea*. As amostras do solo foram provenientes de vasos em dois diferentes tratamentos de adição de carvão ativado em T0 (antes do plantio das espécies): com carvão ativado e sem carvão ativado; e em quatro diferentes tratamentos de adição de carvão ativado (ausência de alelopatia) e inserção de malha filtro (ausência de competição) no tempo T1 (após o desmonte do bioensaio): sem alelopatia/com competição, sem alelopatia/sem competição, com alelopatia/sem competição e com alelopatia/com competição.

6. Discussão

A competição por recursos e a alelopatia podem atuar de forma isolada ou em interação, algumas vezes uma só provoca efeitos na planta vizinha se estiver na presença da outra (Yuan et al. 2013), ou os efeitos são neutralizados se estiverem atuando em conjunto (Fernandez et al. 2016).

No experimento de avaliação da competição por recursos e do potencial alelopático radicular de *L. aurea* sobre *U. decumbens* e *P. notatum* em casa de vegetação, foi observado que a gramínea exótica invasora não foi afetada pela presença de *L. aurea* em nenhuma das variáveis resposta avaliadas. Portanto, não foi evidenciado potencial alelopático radicular de *L. aurea* sobre *U. decumbens*. Além disso, a competição por recursos abaixo de solo entre o arbusto e a gramínea exótica invasora

também não provocou modificações no desenvolvimento de *U. decumbens* em condições de casa de vegetação.

A gramínea nativa apresentou quatro das sete variáveis de desenvolvimento afetadas pela presença de *L. aurea* no mesmo vaso. A parte aérea e a parte radicular de *P. notatum* sofreram o mesmo efeito, aumento do crescimento no tratamento com competição atenuada (com malha filtro) e ausência de alelopatia (com carvão ativado) em comparação com o tratamento com competição livre (sem malha filtro) e sem alelopatia (com carvão ativado). Portanto, *L. aurea* não possui potencial alelopático contra a gramínea nativa, mas nos solos onde a alelopatia do arbusto foi atenuada com a adição de carvão ativado, a ausência de competição entre *L. aurea* e *P. notatum* aparentemente intensificou o desenvolvimento da gramínea nativa.

Portanto a primeira hipótese do trabalho (A competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea*, o potencial alelopático radicular de *L. aurea* e/ou a interação entre os dois mecanismos afetam o desenvolvimento das gramíneas alvo, com mais intensidade sobre o crescimento da gramínea exótica invasora do que sobre o da gramínea nativa) foi corroborada em parte, já que foram constatados efeitos competitivos de *L. aurea* sobre o desenvolvimento da gramínea nativa, mas não sobre a gramínea exótica invasora.

A serapilheira de *L. aurea* tem baixa fitotoxicidade em condições laboratoriais e baixo potencial alelopático em condições de casa de vegetação, sugerindo que a ação dos aleloquímicos foliares do arbusto provavelmente não contribui para o bom desempenho de *L. aurea* em plantios de restauração ecológica no Cerrado (Cap. 2, presente tese). Adicionalmente, apesar de ter sido comprovado em estudos anteriores que extratos vegetais e lixiviados de raízes de *L. aurea* são fitotóxicos contra *U. decumbens* em condições controladas (Lopes et al. 2018), não foi evidenciado que as

interações abaixo do solo (competição+alelopatia) entre o arbusto nativo e a gramínea exótica invasora tenham algum efeito sobre o desenvolvimento de *U. decumbens*, sendo assim, podemos inferir que o comportamento de *L. aurea* como uma boa espécie para uso em restauração ecológica em áreas invadidas pela gramínea africana *U. decumbens* provavelmente não é influenciada pelo seu potencial alelopático e nem pela competição por recursos abaixo do solo.

É importante considerar que apesar de *L. aurea* não ter afetado o desenvolvimento de *U. decumbens* em casa de vegetação, o arbusto aparentemente é um bom competidor contra a gramínea nativa *P. notatum*, que foi selecionada como espécie alvo por apresentar comportamento e características semelhantes aos de algumas espécies de gramíneas exóticas invasoras, como é o caso de *U. decumbens*, já que ambas são gramíneas forrageiras de metabolismo C4. Nesse sentido, seria interessante expandir as investigações de potenciais efeitos que *L. aurea* tenha sobre outras espécies de gramíneas invasoras comuns em áreas naturais do Cerrado brasileiro.

Em bioensaios de avaliação do potencial alelopático de plantas é esperado que os compostos bioativos da planta doadora modifiquem algumas características químicas do solo. A dinâmica de nutrientes no solo pode ser afetada pela presença de alguns aleloquímicos provenientes da exsudação radicular de plantas, por exemplo (Rice 1984, Bais et al. 2003). Adicionalmente, é evidente a relação entre competição abaixo do solo e a disponibilidade de nutrientes, pois a ocorrência da interação competitiva está ligada diretamente a mudanças nas características químicas do solo onde as plantas interagem (Tilman e Wedin 1991; Lekberg et al. 2018).

O solo que foi usado para o plantio de *L. aurea* junto com as gramíneas alvo (*U. decumbens* e *P. notatum*) no bioensaio de avaliação da competição abaixo do solo e do

potencial alelopático radicular do arbusto em casa de vegetação, sofreu modificações em parte dos parâmetros químicos avaliados.

O solo no qual foi cultivada *U. decumbens* apresentou a redução de Ca^{2+} e o aumento da capacidade de troca catiônica (t), da saturação por bases (V) e de Mn no tratamento sem alelopatia/sem competição em comparação com os tratamentos com alelopatia/sem e com competição. Já o Mg^{2+} apresentou aumento no tratamento com alelopatia/com competição. No entanto, como a gramínea exótica invasora não teve seu desenvolvimento afetado pela alelopatia ou pela competição com *L. aurea* em casa de vegetação, é evidente que as modificações nestes parâmetros químicos tiveram pouca relevância para os resultados do bioensaio.

No solo onde foi cultivada a gramínea nativa o tratamento que mais apresentou alterações nos valores dos parâmetros químicos foi sem alelopatia/sem competição, onde foi observada a redução de Ca^{2+} , e o aumento da capacidade de troca catiônica (t), da saturação por bases (V) e de Mn. Os parâmetros pH em H_2O e Mg^{2+} , por outro lado, apresentaram aumento no tratamento com alelopatia/com competição.

De forma geral, foi possível observar que os efeitos nas modificações dos intervalos de valores dos parâmetros químicos dos solos foram provocados pela ação da competição por recursos e da alelopatia, isoladamente e em interação.

É importante citar que o carvão ativado usado nos vasos deste bioensaio pode ter tido efeitos maiores nas modificações dos parâmetros químicos de solo do que seria provocado pela simples atenuação da alelopatia, pois em bioensaio em casa de vegetação para avaliação do potencial alelopático da serapilheira do *L. aurea* em decomposição foi observado que o composto adsorvente alterou as características químicas do solo de forma isolada, sem interação com a serapilheira do arbusto, o que

por sua vez, pode ter influenciado os efeitos observados no desenvolvimento da gramínea exótica invasora naquele bioensaio (Cap. 2, presente tese).

Há evidência de que a competição entre plantas nativas e exóticas invasoras modifiquem as características do solo onde interagem. Aumentos nas concentrações de nutrientes em solos de áreas dominadas por plantas invasoras em interação com plantas nativas foram mais comuns em solos com baixas concentrações iniciais destes elementos, enquanto decréscimos na disponibilidade de nutrientes foram observados em condições opostas (Dassonville et al. 2008).

Foi observada a redução nos valores de Ca^{2+} nos vasos sem alelopatia/sem competição em comparação com os vasos sem alelopatia/com competição, mesmos tratamentos nos quais foi observado o aumento da biomassa aérea, do comprimento radicular, da superfície radicular total e do comprimento radicular total de *P. notatum* em casa de vegetação. Portanto, o déficit de Ca^{2+} não foi influenciado pelo potencial alelopático de *L. aurea* ou pela adição de carvão ativado ao substrato, mas sim pela ausência da competição, o que pode ter contribuído para o aumento do crescimento da gramínea alvo.

Assim como as características químicas, a microbiota do solo pode ser alterada com a ocorrência da competição por recursos abaixo do solo e da alelopatia proveniente de exsudação radicular (Andrade et al. 2013; Hagan et al. 2013). Alguns aleloquímicos têm propriedades microbicidas, o que sugere que eles podem impedir a formação e eficácia de simbioses e associações importantes, como as que envolvem bactérias fixadoras de nitrogênio simbióticas e fungos micorrízicos (Wardle et al. 1998; Barto et al. 2010).

Existem evidências de que alguns metabólitos secretados pelas raízes de plantas fornecem nutrientes aos microrganismos, que formam uma estreita associação com as

plantas nos tecidos do sistema radicular, nas superfícies das raízes e no solo circundante (Boronin 1998; Polyak e Sukharevich 2019).

Adicionalmente a disponibilidade de recursos no solo também interfere na composição da comunidade microbiana. Além de espécies de plantas competirem entre si por nutrientes, elas também podem competir com a microbiota do solo por nitrogênio, por exemplo (Kaye e Hart 1997). Por sua vez, os microrganismos do solo podem aumentar a aptidão média das plantas sob competição interespecífica e seca e moldar a resposta de genótipos de plantas individuais à seca (Fitzpatrick et al. 2018).

Apesar das evidências acerca do papel da microbiota do solo nas interações entre plantas, a competição abaixo do solo entre *L. aurea* e as gramíneas alvo, e a atividade alelopática radicular de *L. aurea* sobre *U. decumbens* em casa de vegetação não modificaram a composição da comunidade bacteriana do solo quando considerados níveis taxonômicos mais elevados, tendo em vista que não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para cada espécie alvo específica.

Portanto, ao contrário do observado nas características químicas do solo, os efeitos no desenvolvimento da gramínea nativa, provocados pela competição por recursos, provavelmente não foram influenciados pela comunidade bacteriana. Sendo assim, a segunda hipótese do estudo (A competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea* e as espécies alvo, e o potencial alelopático das raízes de *L. aurea* modificam as características químicas e microbiológicas do solo) foi corroborada em parte.

Os filos bacterianos mais abundantes nos solos onde foram cultivadas as gramíneas alvo foram Proteobacteria, Acidobacteriota e Dependientiae. Tem sido documentado a maior abundância dos filos Proteobacteria e Acidobacteriota em solos de áreas naturais do Cerrado brasileiro (Quirino et al. 2009; Sousa 2020; Camargo et al. 2021), no entanto, a abundância do filo Dependientiae não é comum nestes mesmos

ambientes. Como o solo usado no bioensaio não foi coletado em uma área natural, mas sim adquirido no comércio local, ou talvez o fato do cultivo das plantas doadora e alvos ter sido executado pelo período de 12 meses em vasos, possivelmente tenha propiciado a maior abundância desse filo específico.

7. Conclusão

Neste estudo foi constatado que a competição por recursos abaixo do solo entre *L. aurea* e *U. decumbens* e o potencial alelopático proveniente de exsudação radicular de *L. aurea* não tiveram efeito sobre o desenvolvimento da gramínea exótica invasora. Por outro lado, na ausência da competição entre *L. aurea* e *P. notatum*, a gramínea nativa teve seu crescimento aéreo e radicular aumentado, quando a alelopatia estava atenuada.

Este resultado corrobora a recomendação de se considerar a competição por recursos em experimentos que têm o objetivo de evidenciar o potencial alelopático de plantas, uma vez que em condições naturais as duas interações atuam em conjunto, e os efeitos provenientes dos dois mecanismos podem ser confundidos.

A ausência de efeitos de *L. aurea* sobre *U. decumbens* em casa de vegetação sugerem que a competição abaixo do solo e a alelopatia radicular podem não ser os responsáveis pelo bom desempenho do arbusto em projetos de restauração ecológica e a ocorrência de zonas de inibição de crescimento da gramínea exótica invasora no entorno de aglomerados populacionais do arbusto. No entanto, recomenda-se que experimentos em condições naturais sejam realizados para que se tenha mais segurança a respeito dos resultados encontrados.

Referências Bibliográficas

- Adomako MO, Ning L, Tang M, et al. (2019) Diversity and density-mediated allelopathic effects of resident plant communities on invasion by an exotic plant. *Plant Soil* 440: 581-592
- Achatz M and Rillig MC (2014) Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae enhance transport of the allelochemical juglone in the field. *Soil Biol Bioch* 78: 76-82
- Allem LN, Gomes AS and Borghetti F (2014) Pequi leaves incorporated into the soil reduce the initial growth of cultivated, invasive and native species. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86: 1761-1768
- Andrade ER, Oliveira SCC e Borghetti F (2013) Efeito da microbiota do solo na atividade fitotóxica de extratos foliares de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.)Coville. *Iheringia, Série Botânica* 68(2): 187-194
- Aschehoug ET, Brooker R, Atwater DZ, et al. (2016) The mechanisms and consequences of interspecific competition among plants. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 47: 263-281
- Bais HO, Vepachedu R, Gilroy S, et al. (2003) Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions. *Science* 301:1377-1380
- Barbosa EG, Pivello VR and Meirelles ST (2008) Allelopathic Evidence in *Brachiaria decumbens* and its Potential to Invade the Brazilian Cerrado. *Braz arch biol technol* 51(4): 825-831
- Barto K, Friese C and Cipollini D (2010) Arbuscular mycorrhizal fungi protect a native plant from allelopathic effects of an invader. *J Chem Ecol* 36: 351-360
- Boronin AM (1998) Rhizosphere bacteria of genus *Pseudomonas* enhancing growth and development of the plants, *Sorosovskii Obraz Zh* 10: 25-31
- Bell DT and Koeppel DE (1972) Noncompetitive effects of giant foxtail on the growth of corn. *Agron J* 64: 321-325
- Callaway RM and Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521-523
- Callaway RM and Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2:436-443
- Camargo AP, de Souza RSC, José J et al. (2021) Plant-associated microbiomes promote nutrient turnover in impoverished substrates of a biodiversity hotspot. *BioRxiv* doi:<https://doi.org/10.1101/2021.07.30.454538>
- Cipollini KA and McClain GY (2008) Separating Above- and Belowground Effect of *Alliaria petiolata* and *Lonicera maackii* on the Performance of *Impatiens capensis*. *Am Midl Nat* 160:117-128

- Christina M, Rouified S, Vallier F, Meiffren G, Bellvert F and Piola F (2015). Allelopathic effect of a native species on a major plant invader in Europe. *Sci Nat* 102(3): 1-8
- Cummings JA, Parker IM and Gilbert GS (2012) Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration, *Plant Ecol* 213:1975-1989
- Damasceno G, Souza L, Pivello VR, Gorgone-Barbosa E, Giroldo PZ and Fidelis A (2018) Impact of invasive grasses on Cerrado under natural regeneration. *Biol Invasions* 20(12): 3621-3629
- da Silva ER, Overbeck GE and Soares GLG (2017) Something old, something new in allelopathy review: what grassland ecosystems tell us. *Chemoecology* 2: 217-231
- Dassonville N, Vanderhoeven S, Vanparys V, et al. (2008) Impacts of alien invasive plants on soil nutrients are correlated with initial site conditions in NW Europe. *Oecologia* 157:131- 40
- De Jesus Jatoba L, Varela RM, Molinillo JMG, Din ZU, Gualtieri SCJ, Rodrigues-Filho E and Macías FA (2016) Allelopathy of bracken fern (*Pteridium arachnoideum*): New evidence from green fronds, litter, and soil. *PLoS ONE* 11: 1-16
- Del Fabbro C, Gusewell S and Prati D (2014) Allelopathic effects of three plant invaders on germination of native species: a field study. *Biol Invasion* 16:1035-1042
- de Souza FHD, Cavallari M e Gusmao M (2020) Produção comercial de sementes de *Paspalum notatum* var. *notatum*. Embrapa Pecuária Sudeste-Documents (INFOTECA-E)
- Fernandez C, Monnier Y, Santonja M, et al. (2016) The impact of competition and allelopathy on the trade-off between plant defense and growth in two contrasting tree species. *Front plant sci* 7: 594
- Fernandez C, Santonja M, Gros R, Monnier Y, Chomel M, Baldy V, et al. (2013) Allelochemicals of *Pinus halepensis* as drivers of biodiversity in Mediterranean open mosaic habitats during the colonization stage of secondary succession. *J Chem Ecol* 39: 298-311
- Fitzpatrick CR, Mustafa Z and Viliunas J (2019) Soil microbes alter plant fitness under competition and drought. *J Evol Biol* 32 (5): 438-450
- Gomes MP, Garcia QS and Barreto LC (2017) Allelopathy: An overview from micro- to macroscopic organisms, from cells to environments, and the perspectives in a climate-changing world. *Biologia (Section Botany)* 72(2): 113-129
- Hagan DL, Jose S and Lin C (2013) Allelopathic Exudates of Cogongrass (*Imperata cylindrica*): Implications for the Performance of Native Pine Savanna Plant Species in the South eastern US. *J Chem Ecol* 39: 312-322
- Hierro JL and Callaway RM(2003) Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant Soil* 256:29–39
- Hierro JL and Callaway RM (2021) The ecological importance of allelopathy. *Annual Rev Ecol Evol Syst* 52: 25-45

- Inderjit and Callaway RM (2003) Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant Soil* 256: 1–11
- Inderjit and Nilsson ET (2003) Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: progress and problems. *Crit Rev Pl Sci* 22:221-238
- Inderjit, Wardle DA, Karban R and Callaway RM (2011) The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends Ecol. Evol* 26: 655-662
- Jabran, K (2017) Allelopathy: introduction and concepts. In *Manipulation of allelopathic crops for weed control* (pp. 1-12) Springer, Cham
- Kaye JP and Hart SC (1997) Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Tr Ecol Evol* 12(4): 139-143
- Lankau R (2010) Soil microbial communities alter allelopathic competition between *Alliaria petiolata* and a native species. *Biol Invasions* 12:2059-2068
- Lekberg Y, Bever JD, Bunn RA, Callaway RM, Hart MM, Kivlin SN, et al. (2018) Relative importance of plant-soil competition and feedback, their synergy, context dependence and implications for coexistence. *Ecol Lett* 21 (8): 1268-1281
- Lonsdale WM (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80:1522–1536
- Lopes PG (2016) Alelopatia em *Lepidaploa aurea* (Asteraceae) como ferramenta de restauração ecológica: potencial para o controle de gramíneas exóticas invasoras no Cerrado. Dissertation, University of Brasília, Brasília
- Lopes PG, Oliveira SCC, Salles KA et al. (2018) Allelopathy of a native shrub can help control invasive grasses at sites under ecological restoration in a Neotropical savanna. *Plant Ecol Div* 11(4):527-538
- Lopes PG, Salles KA, Oliveira SCC, Sampaio AB and Schmidt IB (2017) Evidence of phytotoxicity in a fast growing shrub useful for savanna restoration in Central Brazil. *Braz J Bot* 40 (3): 643-649
- Lorenzo P, Rodríguez J, González L and Rodríguez-Echeverría S (2017) Changes in microhabitat, but not allelopathy, affect plant establishment after *Acacia dealbata* invasion. *J Plant Ecol* 10 (4): 610-617
- Lovett JV and Jokinen K (1984) A modified staircase apparatus for studies of allelopathy and other phytotoxic effects (*Agropyron repens*). *J Agri Sci in Finland* 56: 1-7
- Lyytinen A and Lindström L (2019) Responses of a native plant species from invaded and uninvaded areas to allelopathic effects of an invader. *Ecol Evol* 9 (10): 6116-6123
- Mignoni DSB, Simões K and Braga MR (2018) Potential allelopathic effects of the tropical legume *Sesbania virgata* on the alien *Leucaena leucocephala* related to seed carbohydrate metabolism. *Biol Invasions* 20: 165-180

- Motta CP (2017) Dinâmica populacional de uma gramínea invasora e um arbusto nativo: implicações para a restauração ecológica no Cerrado. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Murrell C, Gerber E, Krebs C et al. (2011) Invasive knotweed affects native plants through allelopathy. *Am J Bot* 98:38-43
- Nickerson K and Flory SL (2015) Competitive and allelopathic effects of the invasive shrub *Schinus terebinthifolius* (Brazilian peppertree). *Biol Invasions* 17: 555-564
- Nilsson MC (1994) Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. *Oecologia* 98:1-7
- Ning L, Yu FH and Van Kleunen M (2016) Allelopathy of a native grassland community as a potential mechanism of resistance against invasion by introduced plants. *Biol Invasions* 18:3481-3493
- Nolan NE, Kulmatiski A, Beard KH, et al. (2014) Activated carbon decreases invasive plant growth by mediating plant-microbe interactions. *AOB Plants* 7
- Novoplansky A (2009) Picking battles wisely: plant behaviour under competition. *Plant Cell Environ* 32: 726-741
- Pellizzaro KF, Cordeiro AOO, Alves M, et al. (2017) Cerrado restoration by direct seeding: field establishment and initial growth of 75 trees, shrubs and grass species. *Braz J Bot* 4:1-13
- Pierik R, Mommer L, Voesenek LA (2013) Molecular mechanisms of plant competition: neighbour detection and response strategies. *Funct Ecol* 27: 841-853
- Pires NM e Oliveira VR (2011) Alelopatia. Embrapa Hortaliças – Capítulo 5 livro técnico-científico, pp 95-124
- Pivello VR(2011) Invasões Biológicas no Cerrado Brasileiro: Efeitos da Introdução de Espécies Exóticas sobre a Biodiversidade. ECOLOGIA. INFO 33. Disponível em: <http://www.ecologia.info/cerrado.htm>. Acesso em 23 de dezembro de 2021
- Prati D and Bossdorf O (2004) Allelopathic inhibition of germination by *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). *Am J Bot* 91: 285–288
- Polyak YM and Sukcharevich VI (2019) Allelopathic interactions between plants and microorganisms in soil ecosystems. *Biol Bull Rev* 9 (6): 562-574
- Qasem JR (2017) A new technology separating allelopathy from competition in pot experiments. *Int J Agric Sc Food Technol* 3: 19-25
- Qin F, Liu S and Yu S (2018) Effects of allelopathy and competition for water and nutrients on survival and growth of tree species in *Eucalyptus urophylla* plantations. *For EcolManag* 424: 387-395
- Quirino BF, Pappas GJ, Tagliaferro AC, et al. (2009) Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with soil of the savanna-like Cerrado vegetation. *Microb Res* 164(1): 59-70

- R Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org>
- Reigosa M, Gomes AS, Ferreira AG and Borghetti F (2013) Allelopathic research in Brazil. *Acta Bot Bras* 27:629-646
- Renne IJ, Rios BG, Fehmi JS and Tracy BF (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plants: a cause for encouragement? *Basic Appl. Ecol.* 5: 261-269
- Sanon A, Andrianjaka ZN, Prin Y, Bally R, Thioulouse J, Comte G and Duponnois R (2009) Rhizosphere microbiota interferes with plant-plant interactions. *Plant Soil* 321(1): 259-278
- Sampaio AB, Vieira DLM, Cordeiro AOO, et al. (2015) Guia de restauração do cerrado, volume 1: semeadura direta. Universidade de Brasília e Rede de Sementes do Cerrado, Brasília
- Schluter D (2000) Ecological character displacement in adaptive radiation. *Am. Nat.* 156: 4-16
- Smolla M, Gilman R, Galla T and Shultz S (2015) Competition for resources can explain patterns of social and individual learning in nature. *Proc Royal Society B: Biol Sci* 282(1815): 20151405
- Sousa RS (2020) Respostas da comunidade microbiana do solo em área de Cerrado sentido restrito a diferentes tratamentos de adição de nutrientes. Dissertation, University of Brasília, Brasília
- Storey JD (2003) The false positive discovery rate: a Bayesian interpretation and the q-value. *Ann Statistics* 31 (6): 2013-2035
- Tang CS, Cai WF, Kohl K and Nishimoto RK (1995) Plant stress and allelopathy. In *Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications*. Eds. Inderjit, KMM Dakshini and FA Einhellig. pp.142–157. American Chemical Society, Washington
- Thapa LB, Kaewchumnong K, Sinkkonen A, et al. (2020) Airborne and belowground phytotoxicity of invasive *Ageratina adenophora* on native species in Nepal. *Plant Ecol* 221: 883-892
- Tilman D (1982) *Resource Competition and Community Structure*. Princeton, NJ: Princeton University Press
- Tilman D and Wedin D (1991) Dynamics of nitrogen competition between successional grasses. *Ecology* 72: 1038–1049
- Topaloglu O, McDonald RE and Hunt SD (2018) The theoretical foundations of nonprofit competition: A resource-advantage theory approach. *J. Nonprofit & Pub Sector* 30(3): 229-250
- Wardle DA, Nilsson M, Gallet C and Zackrisson O (1998) An ecosystem-level perspective of allelopathy. *Biol Rev Camb Philos Soc* 73:305-319

- Weigelt A and Jolliffe P (2003) Indices of plant competition. *J Ecol* 91:707-720
- Weston LA and Mathesius U (2013) Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *J Chem Ecol* 39: 283-297
- Wu AP, Yu H, Gao SQ, et al. (2009) Differential belowground allelopathic effects of leaf and root of *Mikania micrantha*. *Trees* 23(1): 11-17
- Yamawo A (2015) Relatedness of neighboring plants alters the expression of indirect defense traits in a extrafloral nectary-bearing plant. *Evol Biol* 42: 12-19
- Yuan Y, Wang B, Zhang S, et al.(2013) Enhanced allelopathy and competitive ability of the invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range. *J Plant Ecol* 6 (3): 253-263

Conclusão Geral

Embora o potencial alelopático de plantas nativas seja um mecanismo útil na defesa do território contra invasões biológicas, poucos trabalhos que avaliam essa interação entre plantas no contexto da restauração ecológica foram desenvolvidos (Popovici et al. 2011; Cummings et al. 2012; Chistina et al. 2015). Na revisão sistemática apresentada no capítulo 1 desta tese, em que avaliamos o estudo da alelopatia relacionada aos temas de invasões biológicas e restauração ecológica, encontramos uma diferença considerável no número de estudos por região, com a maioria deles desenvolvidos nos Estados Unidos da América, enquanto regiões nos trópicos, ricas em biodiversidade, são pouco estudadas. Houve também uma maior porcentagem de estudos com espécies exóticas invasoras do que nativas, bem como estudos focados em invasões biológicas ao invés de restauração ecológica. Quanto aos métodos, houve maior quantidade de estudos desenvolvidos em condições controladas do que em condições naturais, e a maioria dos estudos considerou a alelopatia isoladamente, não abordando a competição por recursos como possível mecanismo que contribui para o sucesso das invasões biológicas.

Até onde sabemos este é o primeiro estudo de avaliação do potencial alelopático da serapilheira em decomposição de uma planta nativa sobre uma planta exótica invasora em condições mais próximas das naturais no Cerrado brasileiro. Além disso, também inova ao avaliar o potencial alelopático radicular em interação com a competição por recursos abaixo do solo entre uma planta nativa do Cerrado e uma gramínea africana exótica e outra gramínea nativa em condições de casa de vegetação.

Apesar da comprovação anterior da fitotoxicidade de extratos de folhas jovens e extratos e lixiviados de raízes (Lopes et al. 2017, 2018), no bioensaio de avaliação do

potencial alelopático da serapilheira do arbusto nativo do Cerrado *L. aurea* em decomposição (Cap. 1, presente tese), foi demonstrada uma baixa fitotoxicidade sobre o alvo modelo *Lactuca sativa* em condições laboratoriais, onde a maior parte dos efeitos sobre a planta foi de estímulo do seu crescimento. Adicionalmente, também foi observado que a serapilheira de *L. aurea* em decomposição apresenta baixo potencial alelopático sobre a gramínea exótica invasora *U. decumbens* e sobre a gramínea nativa *P. atratum* em casa de vegetação.

O solo usado no bioensaio de avaliação do potencial alelopático da serapilheira de *L. aurea* em decomposição em casa de vegetação não sofreu modificações nas características químicas em decorrência da decomposição do material vegetal depositado sobre os vasos, o que pode ter sido influenciado pela baixa taxa de decomposição (k) e pelo elevado tempo de residência ($1/k$) da serapilheira do arbusto, que pode ter propiciado a liberação dos compostos bioativos da planta no solo de forma lenta.

No bioensaio de avaliação da competição por recursos abaixo do solo e do potencial alelopático de *L. aurea* em casa de vegetação (Cap. 3, presente tese), foi constatado que a competição e a alelopatia não tiveram efeito sobre o desenvolvimento da gramínea exótica invasora. No entanto, na ausência da alelopatia, a competição por recursos entre *L. aurea* e *P. notatum* afetou negativamente o crescimento aéreo e radicular da gramínea nativa.

Apesar da competição por recursos com *L. aurea* ter afetado a gramínea nativa, o fato da gramínea exótica não ter sofrido efeitos negativos em seu desenvolvimento sob efeito da competição e do potencial alelopático do arbusto, indica que o comportamento de bom desempenho de *L. aurea* em plantios de restauração ecológica em áreas invadidas por *U. decumbens* pode não ser influenciado por essas interações.

No entanto, é provável que outros mecanismos ecológicos estejam atuando sobre *L. aurea* nas áreas de plantio de restauração e favorecendo a performance do arbusto.

Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo de campo na Espanha, que testou o efeito da árvore invasora australiana *Acacia dealbata* no estabelecimento de espécies nativas e invasoras coocorrentes para avaliar os efeitos da competição direta, da liberação de compostos alelopáticos da espécie invasora e de mudanças no microhabitat e nas propriedades do solo (Lorenzo et al. 2016). Os resultados demonstraram que o principal fator que afetou o estabelecimento das plântulas foram as mudanças no microhabitat e não a competição por recursos ou alelopatia.

A competição por recursos e o potencial alelopático de *L. aurea*, de forma isolada e em interação, modificaram as características químicas do solo onde foram cultivadas as plantas doadora e alvos, mas não afetaram a composição e a riqueza da comunidade bacteriana. No entanto, como não foram observadas diferenças no desenvolvimento de *U. decumbens* em casa de vegetação, possivelmente as alterações nas características químicas do solo onde foi cultivada a gramínea exótica não foram importantes. Por outro lado, a redução de Ca^{2+} pode ter relação com o aumento do crescimento aéreo e radicular de *P. notatum*, considerando ambas as modificações ocorreram entre os mesmos tratamentos.

Os resultados corroboram a recomendação de considerar a competição por recursos em experimentos que têm o objetivo de evidenciar a alelopatia em plantas, uma vez que os efeitos dos dois mecanismos de interferência estão fortemente relacionados em condições naturais.

Apesar de não ter produzido efeitos no desenvolvimento de *U. decumbens* em casa de vegetação, *L. aurea* aparentemente é um bom competidor contra *P. notatum*,

gramínea nativa de comportamento forrageiro com características morfo-fisiológicas e funcionais semelhantes às de grande parte das gramíneas africanas de metabolismo C4, sendo assim, seria interessante investigar os efeitos que o arbusto pode produzir em outras gramíneas exóticas invasoras que ocorrem no Cerrado brasileiro.

Referências bibliográficas

- Christina M, Rouifed S, Vallier F, Meiffren G, Bellvert F and Piola F (2015) Allelopathic effect of a native species on a major plant invader in Europe. *Sci Nat* 102(3): 1-8
- Cummings JA, Parker IM and Gilbert GS (2012) Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration, *Plant Ecol* 213:1975-1989
- Lopes PG, Oliveira SCC, Salles KA, et al. (2018) Allelopathy of a native shrub can help control invasive grasses at sites under ecological restoration in a Neotropical savanna. *Plant Ecol Div* 11(4):527-538
- Lopes PG, Salles KA, Oliveira SCC, Sampaio AB and Schmidt IB (2017) Evidence of phytotoxicity in a fast growing shrub useful for savanna restoration in Central Brazil. *Braz J Bot* 40 (3): 643-649
- Popovici J, Bertrand C, Jaquemoud D, Bellvert F, Fernandez MP, et al. (2011) An allelochemical from *Myrica gale* with strong phytotoxic activity against highly invasive *Fallopia x bohemica*taxa. *Molecules MDPI* 16: 2323-2333