



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIANA SILVA ROCHA

**RESPOSTAS ALELOPÁTICAS DE MUDAS DE ESPÉCIES
ARBÓREAS NATIVAS A EXSUDATOS DE RAIZ DE
Brachiaria decumbens Stapf**

JULIANA SILVA ROCHA

**RESPOSTAS ALELOPÁTICAS DE MUDAS DE ESPÉCIES
ARBÓREAS NATIVAS A EXSUDATOS DE RAIZ DE
Brachiaria decumbens Stapf**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira.

Londrina
2018

JULIANA SILVA ROCHA

**RESPOSTAS ALELOPÁTICAS DE MUDAS DE ESPÉCIES
ARBÓREAS NATIVAS A EXSUDATOS DE RAIZ DE *Brachiaria
decumbens* Stapf**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de
Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Giliardi Dalazen
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Renata Stolf Moreira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 20 de Fevereiro de 2018.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Orientador, Prof. Dr. Halley Caixeta, pela sua sabedoria, incentivo e constante orientação no decorrer desses anos.

Aos professores, Dr. José Antonio Pimenta e Dr. Artur Berbel Lirio Rondina, que compuseram a banca de qualificação, e também, aos professores Dr.^a Renata Stolf-Moreira e Dr. Giliardi Dalazen, que compõem a banca de defesa.

À todos do Laboratório de Fisiologia Vegetal, em especial aos amigos Anderson Kikuchi Calzavara, Angelica Nunes Tiepo, Mariana Fernandes Hertel e Tatiane Viegas Debiasi.

Aos meus pais Joaquim Silva Rocha Filho e Enelita Cristina Tortelli Silva Rocha, pelo apoio, e à minha irmã Giovana Silva Rocha, por estar presente em todos os momentos.

Ao meu amor, José Rodolfo Vieira, pelo companheirismo, carinho e incentivo.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e à CAPES pela concessão da bolsa.

ROCHA, Juliana Silva. **Respostas alelopáticas de mudas de espécies arbóreas nativas a exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* Stapf.** 40 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A dificuldade em recuperar áreas degradadas se deve, em parte, à grande capacidade competitiva de gramíneas invasoras instaladas nessas áreas, que além de produzirem uma maior quantidade de matéria seca, são capazes de produzir metabólitos secundários com ação alelopática. A espécie *Brachiaria decumbens* Stapf, gramínea bastante utilizada como pastagem, produz e lança aleloquímicos no ambiente, o que interfere direta e indiretamente no crescimento e metabolismo de espécies de plantas nativas e cultivadas. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito alelopático direto de exsudatos de raiz de *B. decumbens* sobre duas espécies arbóreas nativas de diferentes estágios de sucessão ecológica: *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, não-pioneira, e *Heliocarpus popayanensis* Kunth, pioneira. Foram avaliados parâmetros fisiológicos, bioquímicos e morfológicos das mudas cultivadas em areia e tratadas ou não com exsudatos de raiz da gramínea. Além disso, foram realizados ensaios de germinação, avaliando a porcentagem e a velocidade de germinação das sementes submetidas ou não ao tratamento com exsudatos de raiz de *B. decumbens*. *H. popayanensis* apresentou uma redução da taxa fotossintética e da condutância estomática quando tratadas com exsudatos de raiz de *B. decumbens*, enquanto que *C. estrellensis* apresentou redução da eficiência máxima do fotossistema II e da condutância estomática em resposta ao tratamento com exsudatos de raiz. O exsudato da gramínea também afetou negativamente a atividade da enzima nitrato redutase nas folhas das duas espécies, e o conteúdo de proteínas nas raízes de *H. popayanensis*, além de induzir o estresse oxidativo em ambas as espécies. Com relação ao crescimento das mudas, *H. popayanensis* apresentou redução do comprimento de raiz e parte aérea, e *C. estrellensis*, da área foliar e da massa seca de folhas em mudas tratadas com exsudato de raiz de *B. decumbens*. Além disso, o tratamento teve influência negativa sobre a germinação das sementes da espécie pioneira, reduzindo a porcentagem de germinação e massa seca de raízes de plântulas. Os exsudatos das raízes de *B. decumbens* apresentaram potencial alelopático direto sobre as espécies arbóreas nativas, o que pode contribuir para a dificuldade de estabelecimento destas espécies em áreas ocupadas por essa gramínea.

Palavras-chave: Alelopatia. *Urochloa*. Pioneira. Não-pioneira. Germinação de sementes. Fotossíntese.

ROCHA, Juliana Silva. **Allelopathic responses of seedlings of native tree species to root exudates of *Brachiaria decumbens* Stapf**. 40 p. Dissertation (Master's Degree in Biological Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The difficulty in recovering degraded areas occur in part, due to the great competitiveness of invading grasses, that in addition to produce a high amount of dry matter, are able to produce secondary metabolites with allelopathic action. *Brachiaria decumbens* Stapf, a grass widely used as pasture, produces and launches allelochemicals in the environment which directly and indirectly interfere with the growth and metabolism of native and cultivated plant species. The objective of this study was to evaluate the direct allelopathic effect of *B. decumbens* root exudates on two tree species of different successional stages: non-pioneer, *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, and pioneer, *Heliocarpus popayanensis* Kunth. We evaluated physiological, biochemical and morphological parameters of sand-grown seedlings treated or not with root exudates of the grass. In addition, germination assays were carried out, evaluating the percentage and germination speed of the seeds submitted or not to the treatment with root exudates of *B. decumbens*. *H. popayanensis* presented a reduction of photosynthetic rate and stomatal conductance when treated with *B. decumbens* root exudates, while *C. estrellensis* showed a reduction in the maximum efficiency of photosystem II and stomatal conductance in response to treatment with root exudates. Grass exudates also negatively affected nitrate reductase activity in the leaves of both species, and the protein content in the roots of *H. popayanensis*, besides inducing oxidative stress in both species. Regarding the growth of the seedlings, *H. popayanensis* showed reduction of root and shoot length, and *C. estrellensis* showed decrease in leaf area and leaf dry mass in seedlings treated with *B. decumbens* root exudates. In addition, the treatment had a negative influence on seed germination of the pioneer species, reducing germination percentage and dry mass of seedling roots. The exudates of *B. decumbens* roots had direct allelopathic potential on native tree species, which may contribute to the difficulty of the establishment of these species in areas occupied by this grass.

Keywords: Allelopathy. *Urochloa*. Pioneer. Non-pioneer. Seed germination. Photosynthesis.

SUMÁRIO

1.	Introdução	7
2.	Objetivo	10
3.	Hipóteses	11
4.	Material e Métodos	11
4.1.	Material vegetal.....	11
4.2.	Obtenção dos exsudatos radiciais de <i>B. decumbens</i>	12
4.3.	Experimento 1	13
4.4.	Experimento 2.....	14
4.5.	Análise estatística	18
5.	Resultados	19
5.1.	Experimento 1	19
5.2.	Experimento 2.....	19
5.2.1.	Análises fisiológicas	19
5.2.2.	Análises metabólicas	22
5.2.3.	Análises morfológicas	25
6.	Discussão.....	26
8.	Referências Bibliográficas.....	32

1. Introdução

Atualmente, cerca de 30 milhões de hectares de áreas de pastagens estão degradados, ou em processo de degradação no Brasil (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2016). Para a recuperação dessas áreas, se fazem necessárias, entre algumas medidas, o restabelecimento da flora local, objetivando o equilíbrio do sistema natural (RODRIGUES et al., 2000). O plantio de mudas nativas em processos de reflorestamento visa, entre outros, ao estabelecimento das espécies no campo, com o objetivo de restaurar a flora local e possibilitar que florestas sejam biologicamente viáveis sem necessitar de futuras intervenções humanas (BRANCALION et al., 2010).

Para fins de reflorestamento, são utilizadas mudas de diferentes estádios de sucessão. Espécies pioneiras são intolerantes à sombra e, por possuírem crescimento inicial rápido, permitem a cobertura inicial do solo e fornecimento de sombra e condições favoráveis ao desenvolvimento das não-pioneiras. Entre as não-pioneiras, estão as espécies secundárias tardias, que apresentam crescimento mais lento e são tolerantes à sombra, necessitando de sombreamento no início do crescimento (KAGEYAMA e CASTRO, 1989; FERREIRA e DIAS, 2004).

Uma das dificuldades da recuperação de ambientes degradados ocupados por gramíneas exóticas é devido ao grande potencial de competição dessas plantas. A alta competitividade se deve à maior produção de massa seca em um curto período (SANTOS et al., 2015), e aos produtos do metabolismo secundário, que podem apresentar efeitos alelopáticos (INDERJIT, 1996). Alelopatia pode ser definida como o efeito de uma planta sobre outra, ou sobre microrganismos, através de compostos químicos, chamados de aleloquímicos, lançados por elas no ambiente (RICE, 1984). Estes compostos, presentes em folhas, cascas, raízes, exsudatos das raízes, flores e frutos, alteram a densidade e o desenvolvimento das plantas no ambiente, ao interferirem, entre outros processos, na germinação e no crescimento das plantas e na nitrificação no solo (GORLA E PEREZ, 1977; WEIR et al., 2004; SOUZA et al., 2006; SUBBARAO et al., 2007).

Compostos alelopáticos podem agir sobre plantas de maneira direta ou indireta. Quando de maneira direta, há interferência no metabolismo da planta receptora, afetando de forma geral processos como fotossíntese, respiração,

balanço de água, condutância estomática, permeabilidade das membranas, divisão e desenvolvimento de células, síntese de proteínas e atividade enzimática (WEIR et al., 2004). Por exemplo, sabe-se que o exsudato da raiz de *Sorghum bicolor*, contendo Sorgoleone, inibe a atividade do fotossistema II por meio da interrupção da transferência de elétrons entre a plastoquinona A (Q_A) e a plastoquinona B (Q_B) em tilacóides de *Spinacea oleracea* (NIMBAL et al., 1996). Aleloquímicos podem interferir na germinação de sementes ao interromper a respiração, processo chave para mobilizar carboidratos necessários para o crescimento da plântula (FERREIRA e AQUILA, 2000; MARASCHIN-SILVA e AQUILA, 2006). Podem também estar associados à formação de espécies reativas de oxigênio, que resulta em danos às proteínas, despolarização da membrana celular com consequente aumento na permeabilidade das membranas, peroxidação lipídica e morte celular (ALMEIDA et al., 2008).

Já no caso da alelopatia indireta, os aleloquímicos alteram a nutrição ou a microbiota do solo, o que poderia levar, assim, a efeitos sobre as plantas (FERREIRA e AQUILA, 2000; HAIG, 2008). Faria et al. (2009) verificaram que houve um decréscimo na colonização de micorrizas em raízes de soja, milho e feijão nos solos tratados com extratos aquosos de folha de *Pinus* sp., *Pennisetum americanum* e *Stizolobium aterrimum*. Esses extratos também reduziram o número de esporos de fungos micorrízicos, o que pode resultar em menor colonização de raízes e, conseqüentemente, menor absorção de água e nutrientes do solo, reduzindo as taxas de crescimento das plantas que ocupam estes solos.

Muitos estudos têm mostrado que espécies de braquiária apresentam efeito alelopático sobre diversas espécies vegetais. O gênero *Brachiaria* tem origem tropical e subtropical africana. A espécie *Brachiaria decumbens* Stapf (sinonímia *Urochloa decumbens* (Stapf) R. D. Webster) foi introduzida no Brasil em 1952. Entre os anos de 1968 e 1972, iniciou-se um intenso monocultivo dessa espécie nos cerrados brasileiros através de incentivos do governo, com grande importação de sementes produzidas na Austrália. A forrageira é utilizada em larga escala na produção animal, sendo a mais utilizada para este fim no Brasil (VALLE et al., 2011). Rodrigues et al. (2012) verificaram efeito alelopático de extratos foliares de gramíneas do gênero *Brachiaria* sobre a germinação de 3 espécies de estilósantes, *Stylosanthes guianensis*, *S. capitata* e *S. macrocephala*. Os resultados indicaram

que houve efeito alelopático positivo ou negativo sobre a germinação; porém, este efeito variou com a espécie estudada e com as concentrações dos extratos foliares.

Kobayashi e Kato-Noguchi (2015) verificaram o efeito de extratos da parte aérea de *B. brizantha* sobre o crescimento de raízes e coleótilos de *Phleum pratense* e *Lolium multiflorum*, em diferentes estações do ano. Foi observado que a atividade inibitória varia com estágio de crescimento da braquiária e que os efeitos de inibição foram mais acentuados no verão, em comparação ao inverno. Kato-Noguchi et al. (2014) identificaram três compostos alelopáticos de extratos foliares de *B. brizantha*: (6R,9R)-3-oxo- α -ionol, (6R,9S)-3-oxo- α -ionol e 4-ketopinoresinol. Tais compostos foram responsáveis por inibir o crescimento de raízes e parte aérea de plântulas de *Lactuca sativa*, *P. pratense* e *L. multiflorum*, o que poderia favorecer a invasão de diversos habitats pela gramínea. A toxicidade de (6R,9R)-3-oxo- α -ionol e (6R,9S)-3-oxo- α -ionol aumentou com aumento na concentração do composto, enquanto que a inibição do crescimento de raízes e parte aérea com o tratamento com 4-ketopinoresinol foi maior em concentrações acima de 30 μ M.

Efeito alelopático negativo sobre a germinação de *Phalaris canariensis*, *L. sativa* e *Melinis minutiflora* também foi constatado por Barbosa et al. (2008) ao estudar o potencial de invasão de *B. decumbens* no Cerrado brasileiro, atribuindo aos aleloquímicos lançados por ela no ambiente o sucesso competitivo da gramínea. Oliveira et al. (2016) observaram efeitos alelopáticos de extratos de parte aérea de *B. brizantha* e *B. decumbens* sobre a germinação de *Guazuma ulmifolia* (espécie arbórea pioneira). Ambas as gramíneas apresentaram efeitos inibitórios sobre a porcentagem de germinação e também sobre o tempo médio de germinação, sendo que o aumento na concentração do extrato resultou em menor porcentagem de germinação. O tratamento com *B. brizantha* e *B. decumbens* resultou em redução do crescimento de raiz e parte aérea das plântulas de *G. ulmifolia*, e no aumento da atividade das enzimas antioxidantes catalase e peroxidase.

Além do efeito alelopático direto, resultados obtidos por Souza et al. (2006) mostraram que *B. decumbens* reduziu os níveis de nitrato (NO_3^-) do solo, e aumentou os níveis de amônio (NH_4^+). Fernandes et al. (2011), ao estudarem a alteração da nitrificação do solo por espécies de braquiária, verificaram que houve uma maior quantidade de nitrato no solo sem braquiária, em comparação com o solo de vasos contendo a gramínea, atribuindo a esse resultado a inibição da nitrificação pela braquiária (FERNANDES et al., 2011). Inibição da nitrificação também foi

constatada por Subbarao et al. (2009), em que exsudatos de raiz de *B. humidicola* inibiram a nitrificação. Os autores identificaram esse composto como a braquialactona, a qual age impedindo a atividade das enzimas amônia monoxigenase e hidroxilamino oxidoreductase em *Nitrosomonas* spp. (SUBBARAO et al., 2009).

Pereira et al. (2009) observou que a presença de braquiária afeta o crescimento de mudas de espécies arbóreas nativas em campo, sendo necessário o manejo da gramínea para o sucesso em projetos de reflorestamento. Zangaro et al. (2016) observaram que a germinação e o crescimento de mudas de espécies arbóreas nativas na presença de *B. brizantha* são afetados pela competição direta das raízes na camada superficial do solo. Essa competição afeta em maior grau as espécies pioneiras quando comparado com espécies não-pioneiras, possivelmente pelo fato de as primeiras apresentarem um menor diâmetro das raízes, o que resulta em menor captação por recursos do solo ocupado pela rede de raízes da gramínea. Por outro lado, espécies não-pioneiras apresentam maior diâmetro das raízes, com alta densidade de tecidos e baixo comprimento radicial específico, sendo, portanto, menos sensíveis à competição com *B. brizantha* (ZANGARO et al., 2016).

Pesquisas prévias do nosso laboratório foram realizadas cultivando-se mudas de espécies arbóreas nativas, pioneiras e não-pioneiras, em solo tratado com exsudato da raiz de *B. decumbens* (SILVA et al., 2017). Mudas de espécies pioneiras tiveram seu crescimento mais prejudicado em relação às não-pioneiras pelo tratamento com exsudatos de raízes de *B. decumbens*. Observou-se que houve alterações no metabolismo do nitrogênio das mudas tratadas com exsudatos de raiz de *B. decumbens*, como redução dos níveis de nitrato e aminoácidos nas plantas. Todavia, não está claro se esses efeitos estão associados a um efeito indireto na nitrificação do solo ou a uma inibição direta do metabolismo das mudas. Devido a isso, se faz necessário realizar mais estudos, a fim de analisar apenas os efeitos alelopáticos diretos de *B. decumbens* sobre as espécies arbóreas nativas.

2. Objetivo

Verificar o efeito alelopático direto de exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* sobre a germinação, crescimento, metabolismo e fisiologia de mudas de

Cariniana estrellensis (Raddi) Kuntze (não-pioneira) e *Heliocarpus popayanensis* Kunth (pioneira).

3. Hipóteses

Exsudatos de raiz de *B. decumbens* apresentam efeitos alelopáticos diretos, interferindo negativamente na germinação, no crescimento, no metabolismo e na fisiologia de espécies arbóreas nativas.

A espécie pioneira é mais afetada negativamente pelos exsudatos de raiz de *B. decumbens* do que a não-pioneira.

4. Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos em paralelo: um para verificar o efeito alelopático de exsudatos de raiz de *B. decumbens* sobre a germinação de sementes de *C. estrellensis* e *H. popayanensis* (Experimento 1), e outro para verificar o efeito sobre o crescimento, metabolismo e fisiologia das mudas dessas mesmas espécies (Experimento 2). Ambos os experimentos foram desenvolvidos na casa de vegetação do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

4.1. Material vegetal

Foram utilizadas as espécies arbóreas *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze e *Heliocarpus popayanensis* Kunth. Ambas as espécies ocorrem naturalmente na Floresta Estacional Semidecidual, e foram selecionadas para a realização do experimento por serem espécies muito utilizadas em reflorestamentos.

Cariniana estrellensis pertence à família Lecythidaceae. Conhecida como jequitibá-branco ou estopeira, é uma árvore de grande porte, podendo atingir de 35 a 45 m de altura. Planta semidecídua no inverno, e característica da floresta clímax, sendo classificada como secundária tardia e, portanto, tolerante à sombra. O florescimento se dá entre os meses de outubro e dezembro e simultaneamente há o surgimento de novas folhas. Durante os meses de julho e setembro ocorre o amadurecimento dos frutos, enquanto a planta já está totalmente sem folhas (LORENZI, 2000). Esta espécie está incluída na lista de espécies em extinção, e os

exemplares são tidos como patrimônio histórico (GATTI, 2002; Portaria n. 443 Ministério do Meio Ambiente, 2014).

Heliocarpus popayanensis pertence à família Malvaceae. É conhecida popularmente por algodoeiro, jangada-brava ou jangadeiro. Planta dióica, de porte médio, que pode atingir de 6 a 12 m de altura. É classificada como pioneira, sendo assim intolerante à sombra. Floresce entre junho e julho e a maturação dos frutos ocorre entre setembro e outubro (LORENZI, 2002). É comumente recomendada para reflorestamento devido à sua rusticidade e crescimento acelerado (BRANCALION et al., 2008).

A espécie *Brachiaria decumbens* Stapf (sinonímia *Urochloa decumbens* (Stapf) R. D. Webster) pertence à família Poaceae e é popularmente conhecida como capim-braquiarião e braquiária. No presente estudo, foi utilizado o gênero *Brachiaria* pelo fato de o gênero *Urochloa* não ser amplamente aceito (The Plant List, 2012). A espécie ocorre em regiões tropicais e subtropicais, e é uma planta semiereta, de 0,3 a 1 m de altura. Sua lâmina foliar possui 10 a 25 cm de comprimento, e é lanceolada, com base arredondada e ponta acuminada. Possui inflorescência em panícula racemosa, e rizomas pequenos e duros (VALLE et al., 2011). De origem africana, foi introduzida no Brasil em 1952, e entre 1960 e 1970, foi largamente utilizada no cerrado e em outras regiões do Brasil. Atualmente, é a forrageira mais utilizada na formação de pastagens no Brasil (COSTA et al., 2008; VALLE et al., 2011).

4.2. Obtenção dos exsudatos radiciais de *B. decumbens*

As sementes de *B. decumbens* foram semeadas em bandejas contendo areia esterilizada, recebendo, semanalmente, solução nutritiva completa (Tabela 1). Elas foram irrigadas com água sempre que necessário. Após um mês, foram transferidas 20 mudas para o cultivo em hidroponia, em bandejas de 11 L, contendo 8 L de solução nutritiva completa diluída oito vezes, com 1 mL de Fe-EDTA 100 mM (Tabela 1) para cada litro da solução diluída. Essa solução foi submetida à aeração constante, sendo trocada semanalmente. Todo o cultivo se deu em casa de vegetação com sombrite que bloqueia 50% da luminosidade e sem controle de temperatura, nos meses de outubro de 2016 a fevereiro de 2017. Neste período a temperatura média em Londrina-PR foi de 22°C ± 0,25 e a umidade relativa de 65% ± 1,4 (Instituto Agrônômico do Paraná, 2018).

Para a coleta dos exsudatos de raiz de *B. decumbens*, as mesmas plantas com 90 dias foram transferidas por 24 h para bandejas contendo 8 L de água destilada sob aeração, um dia antes do tratamento das mudas de espécies nativas. Os exsudatos foram obtidos semanalmente.

Tabela 1: Composição da solução nutritiva completa.

Sal	Concentração
(NH ₄) ₂ SO ₄	8 mM
KNO ₃	16 mM
KH ₂ PO ₄	4 mM
K ₂ SO ₄	8 mM
MgSO ₄ .7H ₂ O	8 mM
CaCl ₂ .2H ₂ O	8 mM
H ₃ BO ₃	368 µM
MnCl ₂ .4H ₂ O	72 µM
ZnCl ₂	6 µM
Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	1,6 µM
CuCl ₂ .2H ₂ O	2,4 µM
Solução Fe-EDTA (1000x)	Concentração
Na ₂ EDTA	89 mM
NaOH	90 mM
FeSO ₄ .7H ₂ O	100 mM

4.3. Experimento 1

Para avaliar a interferência de exsudatos de *B. decumbens* sobre a germinação, as sementes de *C. estrellensis* e *H. popayanensis* foram semeadas em vasos de 5 L contendo areia esterilizada e duas vezes por semana foram irrigadas com 200 mL da solução de exsudato de raiz. O controle foi realizado com água destilada. Ao todo foram, cultivados 8 vasos por espécie de planta, quatro para cada tratamento, contendo 50 sementes em cada vaso.

Após a semeadura, foi realizada, diariamente, a contagem das sementes germinadas, até o ponto em que não fosse observado aumento no número de

plântulas, e como critério foi utilizado a observação do aparecimento do hipocótilo. Foram determinados a taxa de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). A taxa de germinação foi feita a partir da porcentagem (%) do total de sementes germinadas, ao final do experimento. IVG foi calculado segundo Edmond e Drapala (1958): $IVG = (N1 \times G1) + (N2 \times G2) + (Nn \times Gn) / G1 + G2 + Gn$, onde G é o número de plântulas na primeira, na segunda e na enésima contagem, e N é o número de dias a partir da semeadura da primeira, segunda e enésima contagem.

Após 23 dias de contagem para *H. popayanensis* e 40 dias de contagem para *C. estrellensis*, as plântulas receberam solução nutritiva, semanalmente, sendo o nitrogênio fornecido apenas na forma NO_3^- (Tabela 1). Ao final de um mês do tratamento com solução nutritiva, foram determinados parâmetros morfológicos das plântulas, como o comprimento da radícula e da parte aérea, e massa seca de raízes, caules e folhas. Para a obtenção da massa seca, as plântulas foram mantidas em estufa a 60°C por sete dias.

4.4. Experimento 2

Primeiramente, as sementes de *C. estrellensis* e *H. popayanensis* foram germinadas em bandejas contendo areia esterilizada. Após dois meses, foram transferidas duas plântulas para vasos de 1 L cada, contendo areia esterilizada. As plântulas receberam semanalmente 90 mL de solução nutritiva diluída quatro vezes, com 1 mL de Fe-EDTA para cada litro de solução, sendo o nitrogênio fornecido na forma de NO_3^- (Tabela 1). Para as espécies arbóreas nativas, foi fornecido nitrogênio na forma de NO_3^- para excluir qualquer possibilidade de efeito alelopático indireto da braquiária sobre a nitrificação (SUBBARAO et al., 2009). Essas mudas permaneceram por 20 dias até iniciar o tratamento, para se aclimatarem às condições de cultivo. Foram feitos dois tratamentos por espécie (com e sem exsudato de raiz) com 15 vasos em cada tratamento. Para os tratamentos com alelopáticos, a solução nutritiva foi preparada com exsudatos da raiz de *B. decumbens*, enquanto que no controle ela foi diluída apenas em água destilada. Essas mudas foram submetidas ao tratamento por 50 dias, entre os meses de janeiro e fevereiro de 2017, sendo a temperatura média e a umidade relativa para Londrina de $25^\circ C \pm 0,23$ e $78\% \pm 1,89$, respectivamente, para este período (Instituto Agronômico do Paraná).

4.4.1. Análises Fisiológicas

Foram determinadas as taxas de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i) e eficiência instantânea de carboxilação (k), que foi calculada por meio da razão A/C_i . As análises de trocas gasosas foram realizadas entre 8 e 10 h, utilizando-se um analisador portátil de gás infravermelho (Irga) modelo LICOR 6400 XT (LI-COR Biosciences, Estados Unidos), sob densidade de fluxo de fótons saturante de $1900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e fluxo de 400 mL min^{-1} .

Também foi determinada a eficiência do fotossistema II utilizando-se um fluorômetro OS1p (Opti Sciences, Estados Unidos), que permite avaliar se houve danos ao fotossistema II, resultando em fotoinibição. As folhas foram mantidas no escuro por 20 minutos com cliques específicos e a fluorescência inicial (F_0) foi medida na face adaxial da folha. Em seguida, a fluorescência máxima (F_m) foi analisada após pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (F_v) foi calculada como $F_v = F_m - F_0$. As análises foram realizadas entre as 7 e 8 h. A eficiência quântica máxima do fotossistema II foi calculada através da razão F_v/F_m (BAKER, 2008).

Com o auxílio do fluorômetro, também foram desenvolvidas curvas rápidas de luz, a fim de se determinar a produtividade quântica aparente do transporte de elétrons (α), a taxa máxima de transporte de elétrons (ETR_{max}) e o ponto de saturação luminoso (PSL). Para essas análises, as plantas foram mantidas no escuro por 30 min e então foi montada uma curva através do fornecimento de intensidades luminosas crescentes de 0 a $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Com os dados obtidos foram realizados os cálculos para α , ETR_{max} e PSL no programa SigmaPlot 10.0 (San Rafael, Estados Unidos). O α é dado pela parte linear da curva, em que a taxa de transporte de elétrons é diretamente proporcional à PAR (TAIZ e ZEIGER, 2013). A ETR é calculada segundo a fórmula: $\text{ETR} = Y_{II} \times \text{PAR} \times 0,5 \times 0,84$, onde Y_{II} é a produtividade quântica efetiva do fotossistema II, 0,5 é o fator de transformação que sugere excitação uniforme dos fotossistemas I e II, e 0,84 é o fator de correção que se assume por apenas uma parte da luz incidente ser absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes (RASCHER et al., 2000). ETR_{max} e PSL são obtidos por meio do gráfico plotado usando uma função exponencial simples, o que resulta na seguinte fórmula: $f(x) = a(1 - e^{-bx})$, e se obtêm por meio desta $\text{ETR}_{\text{max}} = a$, e $\text{PSL} = -\ln(0,1)/b$ (RASCHER et al., 2000)

No início da manhã, foi determinado o potencial de água das plantas utilizando-se uma câmara de pressão do tipo Schölander modelo 3115 (Soil Moisture Equipment Corp, Estados Unidos). As plantas submetidas à análise foram cortadas acima da base do caule, e então colocadas na câmara onde foi aplicada uma pressão até que se observasse a exsudação da seiva do xilema no local do corte (SCHOLANDER et al., 1965).

4.4.2. Análises metabólicas

4.4.2.1. Análise de estresse oxidativo

O estresse oxidativo das plantas foi avaliado através da análise de peroxidação lipídica, segundo o método de Camejo et al. (1998), que dosa substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Na extração, foram pesados 0,1 g de raiz ou folha e macerados com metanol + ácido tricloroacético (TCA) 0,2%, e em seguida o extrato foi centrifugado por 5 min a 12000 rpm (4°C). Em uma microplaca preta, foram adicionadas as alíquotas das amostras, o tampão fosfato salino (pH 7,4), TCA 50% e hidroxitoluenobutilado (BHT). Adicionou-se ao fim o ácido tiobarbitúrico (TBA 1,3%) e colocou-se a placa em estufa a 60°C por uma hora para então realizar a leitura da fluorescência, com comprimentos de excitação e de emissão 515 nm e 553 nm, respectivamente, no espectrofluorímetro de placas VICTOR (PERKIN ELMER, Estados Unidos).

4.4.2.2. Análise da enzima Nitrato Redutase

A atividade da enzima nitrato redutase nas folhas e raízes foi analisada segundo método *in vivo* proposto por Stewart et al. (1986). Foram colocados 0,15 g de tecido dentro de uma seringa e com o auxílio do êmbolo foram puxados 5 mL de um tampão de reação (pH 7,5), preparado com fosfato de potássio 0,05 M, nitrato de potássio 0,05 M e propanol 1%. A saída da seringa foi fechada, e o êmbolo, puxado a fim de se criar vácuo, para que o tampão de reação penetrasse nos tecidos. Após incubar por 40 minutos no escuro, o meio de reação foi utilizado para a dosagem de nitrito utilizando o reagente de Griess.

4.4.2.3. Análise de Metabólitos Nitrogenados

Os metabólitos foram extraídos segundo o método de MCW descrito por

Oliveira e Sodek (2013), que consistiu de três etapas. No primeiro dia, 0,2 g de raízes ou folhas foram macerados em nitrogênio líquido. Após adição de 2 mL de MCW (álcool metílico + clorofórmio + água destilada, 12:5:3, v:v:v), as amostras foram agitadas no vórtex e armazenadas em geladeira. Após 24 horas, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 4000 rpm separando-se sobrenadante e precipitado.

Para a análise de proteínas, foi utilizado o precipitado, que foi lavado em água destilada e deixado em solução com NaOH 0,1 M por 24 h. As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado para a dosagem de proteínas. A absorbância das amostras foi lida a 595 nm, em uma microplaca contendo reagente de Bradford e alíquotas das amostras, no leitor de microplacas Spectra Max PLUS (Molecular Devices, Estados unidos) (BRADFORD, 1976).

Para a análise de aminoácidos totais, nitrato e amônio, foi utilizado o sobrenadante da extração MCW. Depois de transferido para tubos falcon, foram adicionados, para cada 1 mL de sobrenadante, 250 µL clorofórmio e 375 µL água destilada. Os tubos foram agitados e, após 24 horas em temperatura ambiente, foi coletada a fase aquosa superior em tubos eppendorf. Essas amostras foram deixadas em banho-maria a 37°C por 24 horas. O volume das amostras foi medido e elas foram armazenadas a -20°C para a posterior análise.

A reação para a análise de aminoácidos totais foi realizada em tubos de ensaio com tampão citrato 0,2 M (pH 5), ninhidrina 5% e KCN 10 mM. Os tubos foram agitados e levados para banho Maria a 100°C por 20 min. Após resfriados, foi adicionado etanol 60%, e a absorbância das amostras foi lida em 570 nm (YEMM e COCKING, 1955). Já o conteúdo de nitrato foi determinado após a sua redução com VCl_3 e posterior dosagem de nitrito usando o reagente de Griess (MIRANDA et al., 2001). Para a determinação de amônio, as amostras foram submetidas à reação com 250 µL de Reagente 1 (fenol 1% e nitroprussiato de sódio 0,2 mM) e 250 µL de Reagente 2 (NaOH 125 mM, Na_2HPO_4 150 mM e NaClO 0,12%) em banho-maria a 37°C por 35 min e a absorbância a 625 nm foi determinada (MCCULLOUGH, 1967).

4.4.2.4. Análise de Clorofilas e Carotenóides

Para a análise dos pigmentos, foram coletados 0,1 g de tecidos foliares que, após macerados em nitrogênio líquido, foram homogeneizados em solução de

acetona 80% em tampão de fosfato de sódio 2,5 mM (pH 7,8). A suspensão foi transferida para um tubo falcon e homogeneizada em vortex. Depois de centrifugadas por 10 minutos a 4000 rpm, foram coletados os sobrenadantes e suas absorvâncias em 663,2 nm, 646,8 nm e 470 nm foram medidas no espectrofotômetro Genesys 10S UV-Vis (Thermo Scientific, Estados Unidos). Determinou-se a quantidade de clorofila *a* (C_a), clorofila *b* (C_b) e carotenóides totais (C_{x+c}) da seguinte forma: $C_a = (12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8})$; $C_b = (21,5 \times A_{646,8} - 5,1 \times A_{663,2})$; $C_{x+c} = (1000 \times A_{470} - 1,82 \times C_a - 85,02 \times C_b)/198$. Sendo $A_{663,2}$ a absorvância a 663,2 nm, $A_{646,8}$ a absorvância a 646,8 nm e A_{470} a absorvância a 470 nm (WELLBURN, 1994).

4.4.3. Análises morfológicas

Ao final do experimento, foram coletados os seguintes dados morfológicos das mudas: diâmetro da base do caule utilizando um paquímetro digital; comprimento da raiz principal e da parte aérea com auxílio de uma régua milimetrada; área foliar com um integrador de área foliar portátil modelo LI-3000CAP; e massa seca de raízes, caules e folhas. A massa seca foi determinada após a secagem das plantas em estufa a 60°C por 7 dias.

4.5. Análise estatística

Foi realizado um delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram utilizadas 12 repetições por tratamento para análises morfológicas, 9 para as análises de trocas gasosas, 4 para a análise de potencial de água e 6 para as demais análises fisiológicas, e 5 para as análises bioquímicas. Para os ensaios de germinação, cada vaso foi considerado uma repetição, obtendo-se assim quatro réplicas. Foi testada a distribuição normal dos dados, de acordo com o teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade de variâncias, de acordo com o Teste F. Os dados foram submetidos ao teste *t* de Student ao nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$) com o programa Statistica. A comparação se deu entre as plantas tratadas com exsudato de raiz e as plantas tratadas com água destilada dentro de cada espécie.

5. Resultados

5.1. Experimento 1

Os exsudatos de raiz de *B. decumbens* levaram a uma redução apenas da taxa de germinação e da massa seca de raízes de *H. popayanensis* (18,4% e 23,9% em relação ao tratamento sem exsudato de raiz, respectivamente). Já para a espécie *C. estrellensis*, os exsudatos de raiz não afetaram nenhum dos parâmetros avaliados de germinação de sementes e morfologia de plântulas (Tabela 2).

Tabela 2: Germinação e atributos das plântulas oriundas de sementes de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis* tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER) ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=4). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

	<i>H. popayanensis</i> -ER	<i>H. popayanensis</i> +ER	<i>C. estrellensis</i> -ER	<i>C. estrellensis</i> +ER
Taxa de germinação (%)	68,00 \pm 3,83	55,50 \pm 2,22 *	65,00 \pm 1,00	67,00 \pm 1,91
IVG	364,40 \pm 25,53	291,65 \pm 18,31	288 \pm 8,13	335,49 \pm 20,90
Comprimento da raiz principal (cm)	14,90 \pm 0,30	14,27 \pm 0,13	13,55 \pm 0,23	13,80 \pm 0,25
Comprimento da parte aérea (cm)	4,33 \pm 0,10	4,20 \pm 0,19	5,65 \pm 0,09	5,67 \pm 0,10
Massa seca da raiz (mg)	14,17 \pm 0,37	10,79 \pm 0,49 *	37,92 \pm 1,81	43,89 \pm 2,05
Massa seca do caule (mg)	7,46 \pm 0,54	6,26 \pm 0,33	26,09 \pm 0,99	25,81 \pm 0,89
Massa seca das folhas (mg)	25,58 \pm 2,06	21,19 \pm 1,30	56,54 \pm 2,42	57,33 \pm 2,46

5.2. Experimento 2

5.2.1. Análises fisiológicas

Plantas de *H. popayanensis* controle apresentaram aumento de 31% na taxa de fotossíntese líquida em comparação às mudas que receberam o tratamento com exsudato de raiz (Figura 1a). Já para *C. estrellensis*, não houve redução na taxa

fotossintética quando tratadas com aleloquímicos de *B. decumbens* (Figura 1a). Para as duas espécies, a condutância estomática foi menor nas mudas tratadas com exsudatos de raiz, em comparação com as mudas que receberam apenas água destilada, caindo de 0,13 para 0,09 mol m⁻² s⁻¹ em *H. popayanensis*, e de 0,06 para 0,04 mol m⁻² s⁻¹ em *C. estrellensis* (Figura 1b). A concentração intercelular de CO₂ não diferiu entre os tratamentos (Figura 1c). A eficiência instantânea de carboxilação foi 32% maior nas plantas de *H. popayanensis* que receberam apenas água destilada em comparação com aquelas tratadas com exsudatos de raiz de *B. decumbens*, enquanto que para a espécie não-pioneira não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 1d).

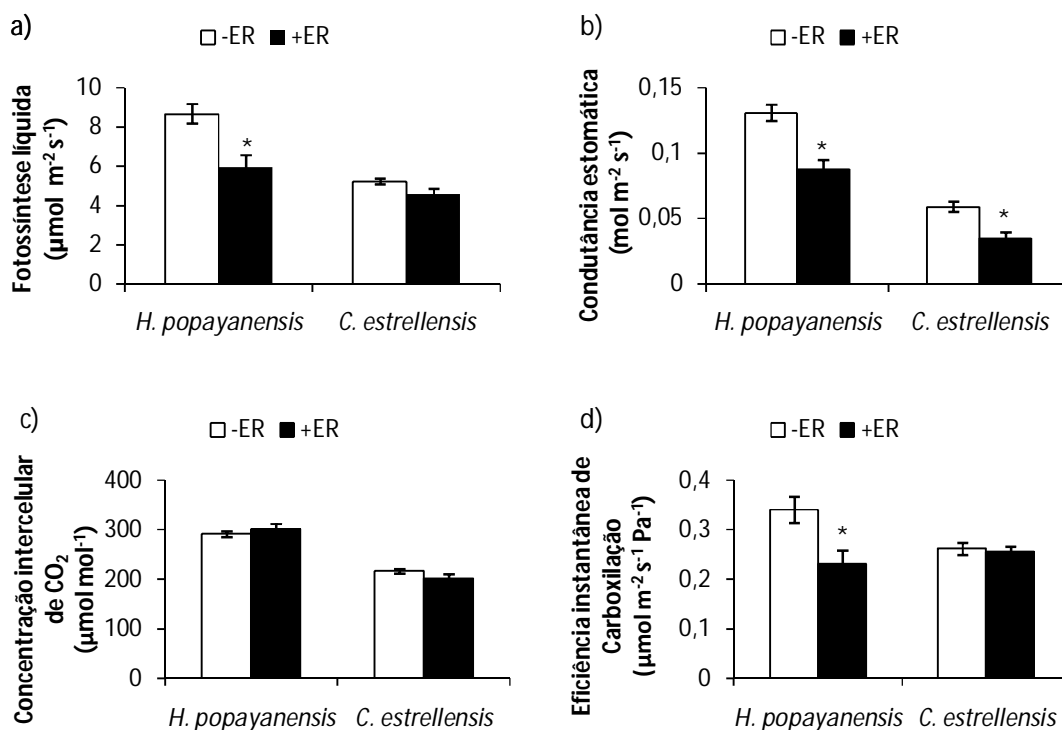


Figura 1: Fotossíntese líquida (a), condutância estomática (b), concentração intercelular de CO₂ (c) e eficiência instantânea de carboxilação (d) das folhas de mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis* tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER), ou água destilada (-ER). Os valores representam médias ± EP (n=9). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student (P < 0,05).

Indivíduos de *H. popayanensis*, quando submetidos ao tratamento com exsudato de raiz, não apresentaram diferença significativa em comparação às mudas que não receberam o tratamento com relação aos parâmetros F_v/F_m , α , ETR_{max} e PSL (Tabela 3). Já com a espécie *C. estrellensis*, pode-se observar redução de F_v/F_m de 0,70 para 0,64, da ETR_{max} de 66 para 46 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e do PSL de 443,76 para 325,18 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ das mudas tratadas com exsudados de raiz de *B. decumbens* em comparação com as mudas tratadas apenas com água destilada (Tabela 3).

Tabela 3: Eficiência máxima do fotossistema II (F_v/F_m), produtividade quântica aparente do transporte de elétrons (α), taxa máxima de transporte de elétrons pelo fotossistema II (ETR_{max}) e ponto de saturação luminoso (PSL) de mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis* tratadas com exsudados de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER) ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=6). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

	<i>H. popayanensis</i> -ER	<i>H. popayanensis</i> +ER	<i>C. estrellensis</i> -ER	<i>C. estrellensis</i> +ER
F_v/F_m	0,69 \pm 0,008	0,65 \pm 0,014	0,70 \pm 0,009	0,64 \pm 0,011*
α	0,19 \pm 0,002	0,18 \pm 0,004	0,24 \pm 0,007	0,21 \pm 0,009
ETR_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	59,63 \pm 3,01	62,97 \pm 9,84	66,00 \pm 2,65	46,00 \pm 3,51*
PSL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	488,77 \pm 26,6	545,84 \pm 96,33	443,76 \pm 24,19	325,18 \pm 23,71

A análise do potencial de água não apresentou diferença significativa em nenhum dos tratamentos para ambas as espécies (Figura 2).

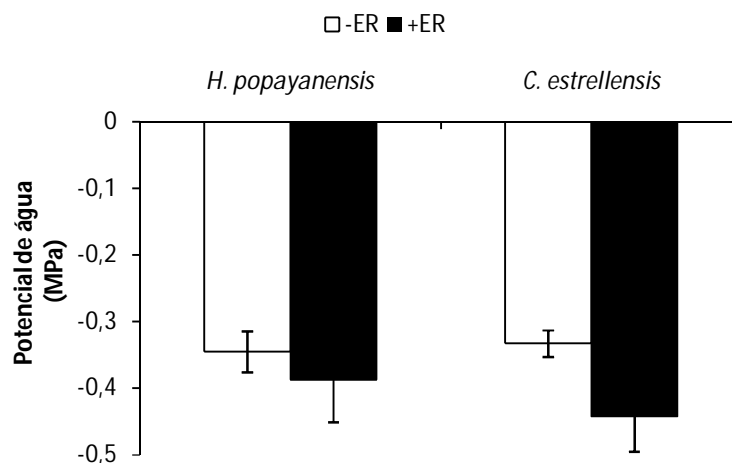


Figura 2: Potencial de água de mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis* tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER), ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=4). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

5.2.2. Análises metabólicas

Os níveis de peroxidação lipídica em raízes de *H. popayanensis* não foram detectáveis pelo método utilizado (Figura 3a). Para *C. estrellensis*, as raízes de plantas tratadas com exsudatos apresentaram maior peroxidação lipídica (8,83 nmol MDA g^{-1}) em comparação com as plantas tratadas apenas com água destilada (4,74 nmol MDA g^{-1}). Já nas folhas, *C. estrellensis* não apresentou diferença entre os tratamentos, enquanto que *H. popayanensis* apresentou maiores níveis de peroxidação lipídica nas plantas submetidas ao tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens* (Figura 3b).

Com relação à atividade da enzima nitrato redutase, pode-se observar que a maior atividade se dá nas folhas em comparação com as raízes, nas plantas das duas espécies estudadas. Nas raízes, somente *H. popayanensis* apresentou diferença significativa, sendo que as mudas tratadas com exsudatos de raiz apresentaram maior atividade NR que o controle (Figura 4a). Já nas folhas, a atividade da NR foi maior nas plantas que receberam apenas água destilada quando comparados com as plantas tratadas com exsudato de raiz, em ambas as espécies (Figura 4b).

O conteúdo de NO_3^- em raízes e folhas de ambas as espécies não diferiu entre os tratamentos (Figuras 5a e 5b). O mesmo ocorreu nas raízes, com relação

ao conteúdo de NH_4^+ (Figura 5c). Em *H. popayanensis*, o conteúdo de NH_4^+ nas folhas foi 44% maior nas plantas tratadas com exsudato de raiz de *B. decumbens* em comparação com as plantas tratadas somente com água destilada, o que não se deu com a espécie *C. estrellensis*. Raízes de plantas *H. popayanensis* tratadas com exsudato de raiz apresentaram diminuição da quantidade de proteínas ($4,06 \text{ mg g}^{-1}$) em comparação com as plantas que não receberam o tratamento ($2,78 \text{ mg g}^{-1}$), sendo que nas raízes de *C. estrellensis* não houve diferença significativa (Figura 6a). Nas folhas, o conteúdo de proteína não diferiu entre os tratamentos, em nenhuma das espécies (Figura 6b). Os teores de aminoácidos totais em folhas e raízes de ambas as espécies não foram afetados pelo tratamento com exsudatos de raiz de *B. decumbens* (Figuras 6c e 6d).

O conteúdo de clorofilas e carotenóides em folhas de *H. popayanensis* e *C. estrellensis* não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (resultados não mostrados).

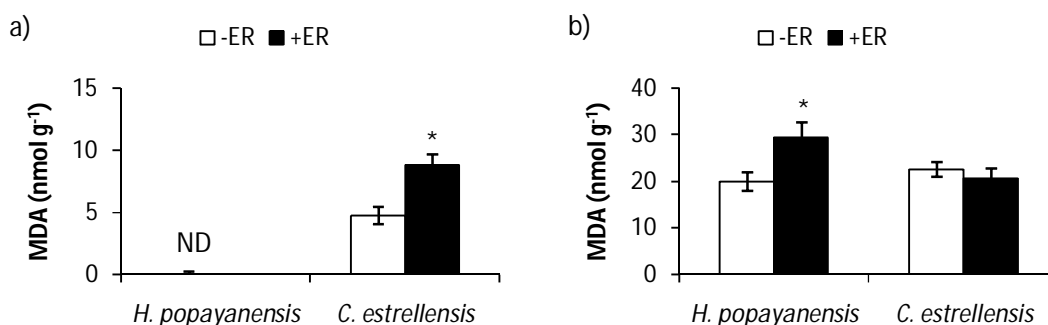


Figura 3: Peroxidação lipídica (MDA - malondialdeído) de raiz (a) e de folha (b), das mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis*, tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER), ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=5). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

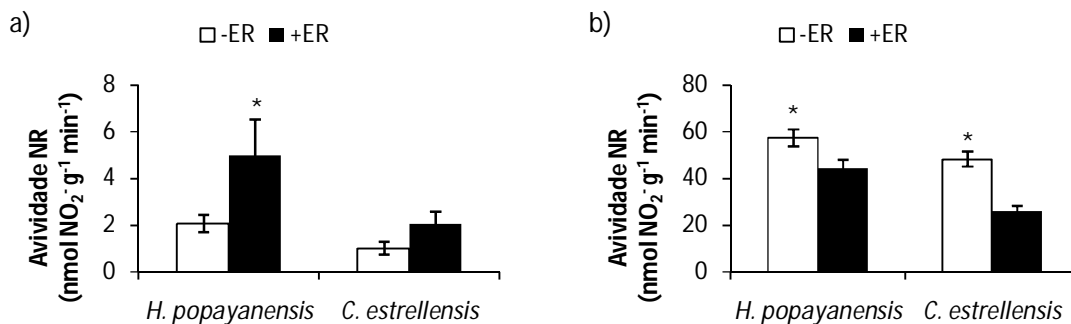


Figura 4: Atividade da enzima nitrato redutase (NR) de raiz (a) e de folha (b), das mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis*, tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER), ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=5). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

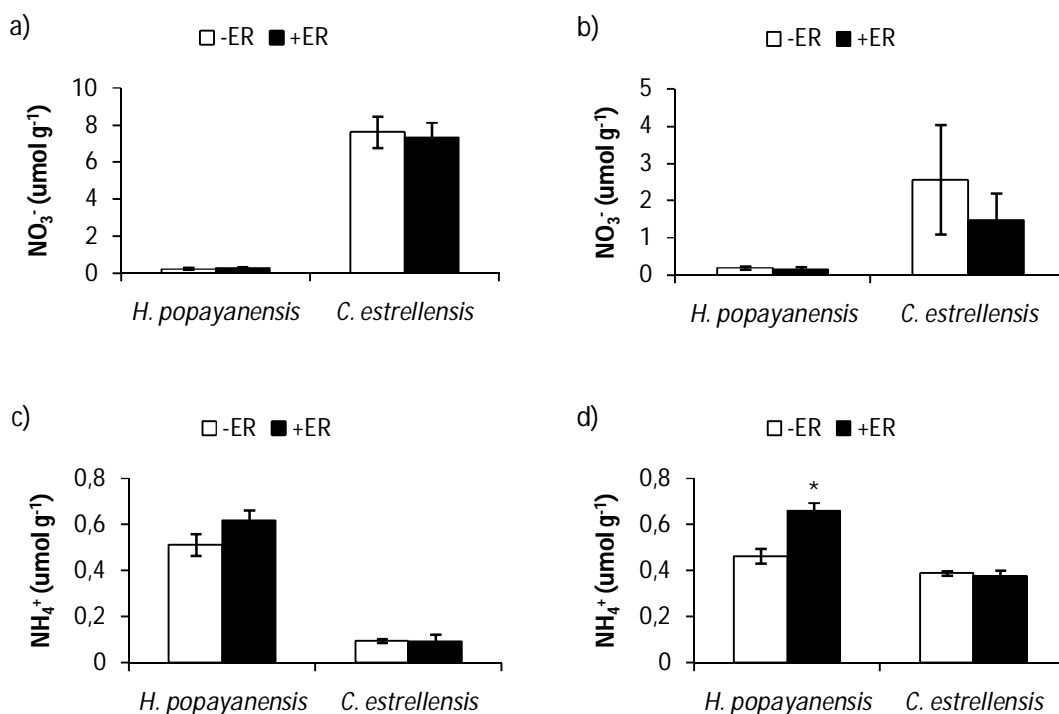


Figura 5: Conteúdo de nitrato (NO₃⁻) e amônio (NH₄⁺) em raiz (a, c) e folha (b, d) das mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis*, tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER), ou água destilada (-ER). Os

valores representam médias \pm EP (n=5). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

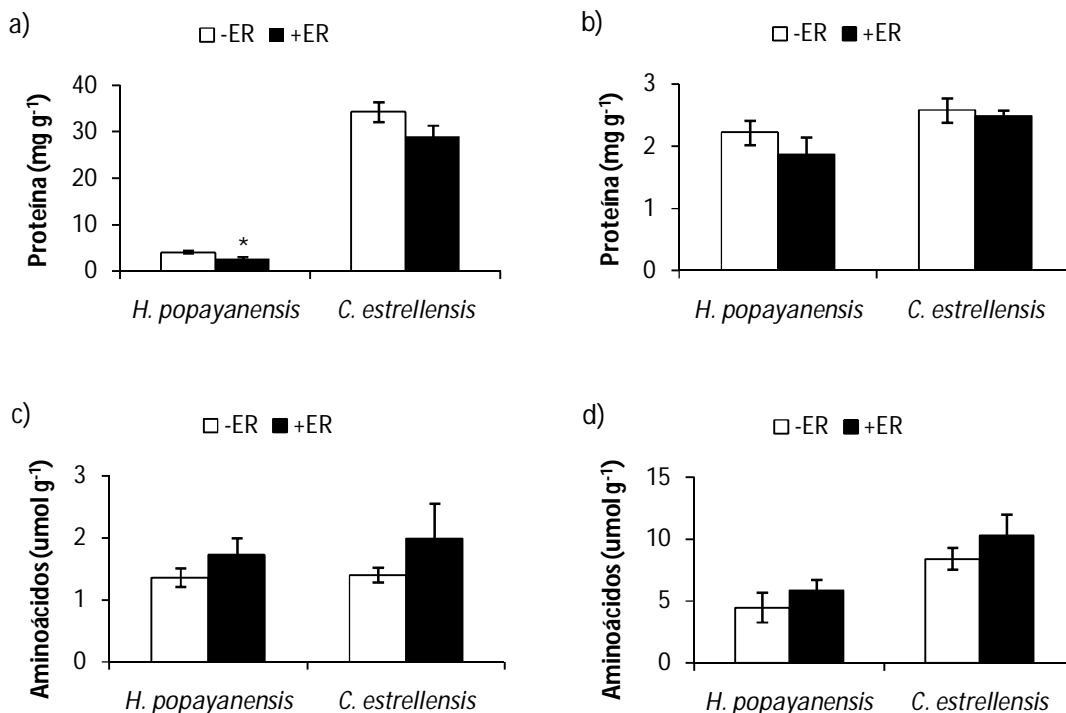


Figura 6: Conteúdo de proteína e aminoácidos em raiz (a, c) e folha (b, d) das mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis*, tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER), ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=5). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

5.2.3. Análises morfológicas

O tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens* afetou negativamente os comprimentos da raiz e da parte aérea de *H. popayanensis* (Tabela 4). Por outro lado, diâmetro da base do caule, área foliar e massa seca de raiz, caule e folhas não diferiram entre os tratamentos na espécie pioneira. Já para *C. estrellensis* as reduções das plantas tratadas com exsudatos foram sobre o diâmetro do colo, área foliar e massa seca de folhas (Tabela 4). No entanto, o comprimento da raiz e da parte aérea e a massa seca de raiz e caule não apresentaram diferença.

Tabela 4: Atributos morfológicos de mudas de *Heliocarpus popayanensis* e *Cariniana estrellensis*, tratadas com exsudatos de raiz de *Brachiaria decumbens* (+ER) ou água destilada (-ER). Os valores representam médias \pm EP (n=12). * indica diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com teste *t* de Student ($P < 0,05$).

	<i>H. popayanensis</i> -ER	<i>H. popayanensis</i> +ER	<i>C. estrellensis</i> -ER	<i>C. estrellensis</i> +ER
Comprimento da raiz principal (cm)	9,79 \pm 0,39	7,63 \pm 0,28 *	12,69 \pm 0,78	11,68 \pm 0,78
Comprimento da parte aérea (cm)	7,98 \pm 0,16	6,01 \pm 0,23 *	7,71 \pm 0,15	7,68 \pm 0,19
Diâmetro do colo (mm)	1,98 \pm 0,06	2,02 \pm 0,05	2,35 \pm 0,03	2,12 \pm 0,06 *
Área foliar (cm ²)	28,37 \pm 1,74	27,05 \pm 1,87	58,26 \pm 2,66	38,65 \pm 2,61 *
Massa seca da raiz (mg)	41,25 \pm 2,49	34,50 \pm 2,35	121,83 \pm 11,73	117,17 \pm 5,71
Massa seca do caule (mg)	36,42 \pm 2,88	31,58 \pm 2,27	81,08 \pm 2,90	78,17 \pm 2,76
Massa seca das folhas (mg)	93,83 \pm 7,84	96,08 \pm 5,78	201,33 \pm 8,59	118,25 \pm 6,39 *

6. Discussão

Os resultados obtidos foram importantes na verificação das hipóteses propostas. Entre elas está que os exsudatos de raiz de *B. decumbens* apresentariam efeitos diretos sobre a germinação de sementes, e de fato, *H. popayanensis* apresentou redução das taxas de germinação, assim como, na massa seca de raízes quando exposta a esse tratamento. Tais efeitos poderiam resultar em um menor estabelecimento de plântulas de espécies nativas em campos ocupados por gramíneas, devido não só à menor porcentagem de germinação, mas também ao menor acúmulo de massa seca nas raízes das plântulas. De fato, o crescimento e estabelecimento das pioneiras em solos tratados com exsudato de raiz de braquiária é mais prejudicado em comparação com as não-pioneiras (SILVA et al., 2017). A maior sensibilidade de espécies pioneiras também se deve ao menor diâmetro das

raízes finas, que são mais prejudicadas em relação às espécies não-pioneiras na competição com gramíneas por recursos do solo (ZANGARO et al., 2016).

Martins et al. (2006) observaram redução no IVG, assim como aumento na porcentagem de sementes mortas de *Panicum maximum* tratadas com solução de solo onde anteriormente foi cultivada *B. brizantha*. Senarathne et al. (2010) verificaram em seu trabalho que *B. brizantha* e *B. milliformis* possuem efeitos alelopáticos negativos sobre a germinação de *Raphanus sativus*, *Capsicum annum*, *Lycopersicon esculentum*, *Crotalaria junica* e *Chromoleana odorata*, através do tratamento das sementes com exsudatos de raiz, extrato de raízes frescas e secas, e de solo contaminado com o cultivo da espécie. Em todos os tratamentos, a taxa de germinação foi menor, em comparação com o controle. *B. brizantha* e *B. decumbens* apresentaram efeitos inibitórios sobre a germinação de *G. ulmifolia*, por meio do tratamento das sementes com o extrato de tecido fresco. A porcentagem de germinação foi menor com aumento da concentração do extrato, o que não ocorreu com o IVG, que mesmo não havendo diferença com as concentrações do extrato, foi menor em comparação com o controle. Extratos de *B. brizantha* e *B. decumbens* também foram responsáveis por reduzir o comprimento da radícula e do hipocótilo das plântulas de *G. ulmifolia* (OLIVEIRA et al., 2016).

Compostos alelopáticos podem interferir na produção e no equilíbrio de hormônios como etileno e ácido abscísico, como resposta ao estresse, e, assim, interferem na germinação e dormência das sementes. Sementes tratadas com aleloquímicos apresentam maior produção de espécies reativas de oxigênio e de ácido abscísico, o que induz o bloqueio da atividade metabólica e a dormência das sementes, enquanto que sementes tratadas somente com água apresentam aumento na produção de etileno que resulta na germinação e no crescimento das plântulas (BOGATEK e GNIAZDOWSKA, 2007). A taxa de germinação pode ser também afetada por compostos alelopáticos que agem sobre a permeabilidade de membranas, transcrição, tradução de genes e respiração (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Em *C. estrellensis*, o tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens* não resultou em efeitos negativos sobre a germinação, o que ajuda a confirmar a segunda hipótese do presente estudo, de que espécies pioneiras são mais afetadas negativamente por compostos químicos lançados pelas raízes de *B. decumbens* do

que as não-pioneiras. Coerente com esse resultado, ao avaliar a possibilidade da recuperação de áreas degradadas com semeadura a lanço de espécies arbóreas, Araki (2005) observou que a germinação de espécies pioneiras foi afetada, principalmente, pela competição com *B. decumbens*, o que não ocorreu com espécies não-pioneiras.

Foi observada redução da fotossíntese líquida nas mudas de *H. popayanensis* tratadas com exsudato de raiz, no entanto, em *C. estrellensis* não houve diferença entre os tratamentos. Para as duas espécies, o tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens* resultou em diminuição da condutância estomática, sem, no entanto, reduzir a concentração intercelular de CO₂. Essa queda na condutância estomática para as duas espécies pode estar relacionada com o potencial de água que não apresentou diferença entre os tratamentos, sendo o fechamento estomático necessário para a manutenção do turgor celular. Além disso, a queda na condutância estomática em *C. estrellensis* não resulta em queda na fotossíntese líquida, o que pode estar relacionado a uma maior eficiência no uso da água dessa espécie. A eficiência instantânea de carboxilação foi menor nas plantas de *H. popayanensis* submetidas ao tratamento com exsudato de raiz. No entanto, análises da eficiência máxima do fotossistema II mostraram que não houve diferença entre plantas de *H. popayanensis* tratadas com exsudato de raiz e as plantas controle, podendo, dessa forma, inferir que a redução das taxas fotossintéticas para essa espécie não foi devido a danos causados ao fotossistema II, ou então à menor concentração de CO₂ nas células do mesofilo, mas a uma menor eficiência na fixação de carbono.

Diversos trabalhos relatam que compostos alelopáticos podem alterar e até inibir a atividade de algumas enzimas como fosforilases e ATPases (JOHN e SARADA, 2012). Outros autores reportam que menores taxas fotossintéticas são em consequência do menor acúmulo de pigmentos fotossintetizantes (YANG et al., 2002), porém, não se observou redução de clorofilas e/ou carotenóides com o tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens* para este trabalho. Portanto, a redução da fotossíntese líquida pode ser devido à inibição de enzimas importantes na assimilação de carbono. Menor taxa fotossintética foi relacionada, por Junaedi et al. (2007), com a menor expressão do gene da enzima ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), que catalisa a fixação de CO₂ ou O₂, na molécula de ribulose 1,5- bisfosfato, em plantas de arroz crescidas na presença de

Echinochloa crus-galli. Nesse sentido, a redução na fotossíntese líquida, pode resultar em aumento do estresse oxidativo, como observado com o aumento da peroxidação lipídica em folhas de *H. popayanensis*. No entanto, além da inibição da expressão do gene, a Rubisco pode estar desviando a catálise para a fotorrespiração, resultando em menor fixação de CO₂ como foi observado nas folhas de *H. popayanensis* tratadas com exsudado de raiz de *B. decumbens*. Além disso, durante o processo de fotorrespiração são produzidas quantidades significantes de NH₄⁺ através da conversão de duas glicinas a serina (YAMAYA e MATSUMOTO, 1984; HUSTED et al., 2002). Interessantemente, observou-se um acúmulo de NH₄⁺ em folhas de *H. popayanensis* tratadas com o exsudato.

Em *C. estrellensis*, o exsudato de raiz, além da redução na condutância estomática, provocou redução na eficiência máxima do fotossistema II, na taxa máxima de transporte de elétrons e no ponto de saturação luminoso, sem, no entanto, afetar a fotossíntese líquida. Tais parâmetros não interferiram nas taxas fotossintéticas provavelmente por serem medidas em níveis de luz saturante, ou seja, a fotossíntese máxima. Redução de F_v/F_m está relacionada a algum tipo de estresse causado na planta, associado a danos ao fotossistema II e estresse oxidativo (REIGOSA et al., 2001; BOUCHAGIER et al., 2008). Bouchagier et al. (2008) verificaram redução de F_v/F_m de *Gossypium hirsutum* causados pela presença de fragmentos de rizoma de *Cynodon dactylon* no solo, assim como aumento da resistência estomática. Extratos foliares de *Caryocar brasiliense* resultaram em redução de F_v/F_m e da taxa de transporte de elétrons em *Bidens pilosa* e *Zea mays*, o que pode ter induzido estresse oxidativo, observado pela produção de MDA nas folhas (OLIVA, 2006). De fato, mudas de *C. estrellensis* tratadas com exsudato de raiz exibiram maior estresse oxidativo, evidenciado pela maior peroxidação lipídica nas raízes.

Ambas as espécies apresentaram estresse oxidativo em resposta ao tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens*: *H. popayanensis* com maior produção de MDA nas folhas, e *C. estrellensis* com maior produção de MDA nas raízes. O estresse oxidativo é uma consequência de elevados níveis de espécies reativas de oxigênio, que interferem em processos metabólicos essenciais e resultam em prejuízos para a planta (FAROOQ et al., 2013). Extratos foliares de *Ricinus communis* e *Lantana camara* aplicados sobre *Z. mays* resultaram em aumento na peroxidação lipídica acompanhada de redução no crescimento das

raízes (NAZ e BANO, 2014). SUCUR et al. (2013) também observaram aumento na peroxidação lipídica de *Glycine max* após 72 horas da aplicação do extrato foliar de *Thymus serpyllum*. Alguns compostos químicos que agem como alelopáticos podem interferir na permeabilidade das membranas biológicas, induzindo seu rompimento e causando a morte celular (SUCUR et al., 2013).

O exsudato de raiz de *B. decumbens* interferiu na atividade da enzima nitrato redutase: nas folhas, a atividade foi reduzida nas duas espécies, nas plantas que receberam o tratamento. Nas raízes de *H. popayanensis*, o tratamento com exsudato foi responsável por aumentar a atividade da enzima. No entanto, em comparação com a atividade da NR na folha, a atividade na raiz é muito baixa, de forma que o aumento observado dificilmente impactaria no metabolismo do N da planta. Nie et al. (2005) observaram que extratos de raiz, caule e folha de *Wedelia trilobata* inibiram a atividade da enzima nitrato redutase em *Oryza sativa*, o que indica menor eficiência no uso do nitrogênio nessas plantas. Inibição da atividade NR também foi observada por Singh e Sunaina (2014) em mudas de *L. esculentum* tratadas com compostos produzidos por folhas e frutos de *Momordica charantia*.

Mesmo com a inibição da NR, a quantidade de NO_3^- nas raízes e nas folhas de *H. popayanensis* e *C. estrellensis* não foi afetada pelo tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens*. Portanto, o decréscimo da atividade da NR não deve estar relacionado com uma deficiência de NO_3^- , que é um importante regulador de genes da NR (VIDAL et al., 2010). A diminuição da atividade da NR nas folhas das mudas de *H. popayanensis* tratadas pode ser devido à redução da fotossíntese líquida nas mudas nativas, o que reduz a disponibilidade de energia e poder redutor advindos da fotossíntese (SINGH e SUNAINA, 2014). SINGH e SUNAINA (2014) também sugerem que a diminuição da atividade da NR pode ser devido a inibição da enzima por aleloquímicos.

As raízes de *H. popayanensis* que receberam o tratamento com exsudato, apresentaram menor quantidade de proteínas em comparação com o controle. No entanto, em raiz de *C. estrellensis* e nas folhas de *H. popayanensis* e de *C. estrellensis*, o tratamento não resultou em diferença. Da mesma forma que em *C. estrellensis*, Jerônimo et al. (2005) não observaram diferenças na síntese de proteína em raízes e parte aérea de *Sesamum indicum* tratadas com extrato foliar de *Solanum lycocarpum*. Em um experimento que testou diversas concentrações de compostos químicos lançados pelas folhas de *Eucalyptus globulus*, os autores

observaram redução no conteúdo de proteínas de raiz e parte aérea de *Eleusine coracana*. Conforme o aumento na concentração do extrato, a redução dos teores de proteínas foi mais acentuada (PADHY et al., 2000). Redução no conteúdo de proteína também foi observado por Abu-Romman et al. (2010) em *Triticum durum* quando tratada com extrato foliar de *Euphorbia hierosolymitana*. Os compostos alelopáticos presentes no extrato foliar de *E. hierosolymitana* podem ter afetado tanto a síntese como a degradação protéica (ABU-ROMMAN et al., 2010). A degradação de proteínas normalmente é acompanhada pelo aumento nos níveis de aminoácidos livres (ARAGÃO et al., 2003; BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007). Porém, no presente estudo, os teores de aminoácidos não mudaram com o tratamento, indicando, dessa forma, uma menor síntese de proteínas. A redução do conteúdo de proteínas em raízes de *H. popayanensis* pode estar relacionada à dependência que espécies pioneiras têm de assimilar NO_3^- nas folhas, além da elevada demanda por nitrogênio para suprir suas altas taxas de crescimento, assim como, da menor atividade da NR na raiz (OLIVEIRA et al., 2017).

De acordo com os resultados morfológicos, o tratamento com exsudato de raiz de *B. decumbens* resultou em redução no comprimento de raiz e parte aérea de *H. popayanensis*, e redução no diâmetro da base do colo, na área foliar e na massa seca de folhas de *C. estrellensis*. Nepomuceno et al. (2017) testaram extratos de parte aérea de *B. ruziziensis*, o que resultou em redução do comprimento da raiz e da parte aérea de *G. max*. Os autores identificaram o composto presente no extrato com características alelopáticas mais evidentes, como saponinas esteroidais.

Compostos alelopáticos são responsáveis por aumentar a atividade oxidante, levando a alterações na permeabilidade de membranas e na biossíntese de lignina, o que interfere no crescimento das raízes (OLIVEIRA et al., 2016). Souza et al. (2003) ao testar o efeito alelopático de diversas espécies invasoras observou que *B. decumbens* tem alto potencial sobre o crescimento de *E. grandis*, tendo reduzido o teor de clorofila, a área foliar e a massa seca de raiz, caule e folhas. A redução da área foliar, principal sítio do metabolismo fotossintético, pode ter efeitos sobre a acumulação de matéria seca total da planta, visto que reduzindo a área foliar, conseqüentemente, reduzem-se as taxas fotossintéticas da planta como um todo (SOUZA et al., 2003).

Os resultados obtidos nos permitem afirmar que os exsudatos de raiz de *B. decumbens* têm potencial alelopático. Nesse sentido, fazem-se necessários estudos

para identificar quais compostos estão causando esses efeitos. Kato-Noguchi et al. (2014) identificaram três compostos com propriedades alelopáticas de parte aérea de *B. brizantha*: (6R,9R)-3-oxo- α -ionol, (6R9S)-3-oxo- α -ionol e 4-Ketopinoresinol. A concentração desses compostos em *B. brizantha* foi maior em períodos mais quentes do ano, sendo que nesses períodos a gramínea apresentou maior atividade alelopática (KOBAYASHI e KATO-NOGUCHI, 2015). Subbarao et al. (2009) identificaram a braquialactona de exsudatos de raiz de *B. humidicola* como potente inibidor da nitrificação. Nepomuceno et al. (2017) identificaram uma saponina esteroidal de extratos da parte aérea de *U. ruziziensis* como sendo responsável pela redução do crescimento de *G. max*. No entanto, nenhum trabalho isolou compostos com efeito alelopático direto em exsudatos de raiz de *Brachiaria*.

7. Conclusão

Tanto a espécie pioneira como a não-pioneira foram afetadas negativamente pelo tratamento com exsudatos de raiz de *B. decumbens*. O tratamento afetou a germinação de *H. popayanensis*, o que não ocorreu com *C. estrellensis*, sendo que nesse quesito a espécie pioneira foi mais sensível a exsudatos de raiz de *B. decumbens*. O efeito alelopático direto foi verificado através da interferência dos exsudatos das raízes sobre a germinação, crescimento, fisiologia e metabolismo das espécies arbóreas nativas, podendo interferir no desenvolvimento das mudas em campo, independente do grupo sucessional, o que dificultaria o reflorestamento e a regeneração natural de áreas degradadas.

8. Referências Bibliográficas

ABU-ROMMAN, S.; SHATNAWI, M. SHIBLI, R. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 7, n. 3, p. 298-302, 2010.

ALMEIDA, G. D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Mendellin, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.

ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F.; ALVES, E. CATANEO, A. C.; CAVARIANI, C. NAKAGAWA, J. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes

armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 43-48, 2003.

ARAKI, D. F. **Avaliação da semeadura a lanço de espécies florestais nativas para recuperação de áreas degradadas**. 2005. 172 folhas. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2005.

BAKER, B. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Boca Raton, v. 59, p. 89-113, 2008.

BARBOSA, E. G.; PIVELLO, V. R.; MEIRELLES, S. T. Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian Cerrados. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 825-831, jul-ago, 2008.

BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. Biossíntese e degradação de lipídios, carboidratos e proteínas em oleaginosas. **Embrapa Algodão-Documentos**, 2007.

BOGATEK, R.; GNIAZDOWSKA, A. ROS and phytohormons in plant-plant allelopathic interaction. **Plant Signaling & Behavior**, v. 2, n. 4, p. 317-318, 2007.

BOUCHAGIER, P.; EFTHIMIADOU, A.; KATSILEROS, A.; BILALIS, D.; EFTHIMIADIS, P. Adverse effect of bermudagrass on physiological and growth components of cotton. **Journal of Agronomy**, v. 7, n.1, p. 49-55, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANCALION, P. H. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; RODRIGUES, R. R.; CHAMMA, H. M. C. P. Efeito da luz e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Heliocarpus popayanensis* L. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 32, n. 2, p. 225-232, 2008.

BRANCALION, P. H. S.; RODRIGUES, R. R.; GANDOLFI, S.; KAGEYAMA, P. Y.; NAVE, A. G.; GANDARA, F. B.; BARBOSA, L. M.; TABARELLI, M. Instrumentos legais podem contribuir para a restauração de florestas tropicais biodiversas. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 34, p. 455-470, 2010.

- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria n. 443, de 17 de dezembro de 2014.
- CAMEJO, G., WALLIN, B., ENOJÄRVI, M. Analyses of oxidation and antioxidants using microtiter plates. In: AMSTRONG, D, editor. **Free Radical and antioxidants protocols**. New Jersey: Humana Press; p.377–387, 1998.
- COSTA, C.; MEIRELLES, P. R. L.; SILVA, J. J.; FACTORI, M. A. Evolução das pastagens cultivadas e do efeito bovino no Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 1, p. 8-17, 2008.
- EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. **Proceedings of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, n. 71, p. 428-434, 1958.
- FARIA, T. M.; GOMES JÚNIOR, F. G.; SÁ, M. E.; CASSIOLATO, A. M. R. Efeitos alelopáticos de extratos vegetais na germinação, colonização micorrízica e crescimento inicial de milho, soja e feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1625-1633, 2009.
- FAROOQ, M.; BAJWA, A. A.; CHEEMA, S. A.; CHEEMA, Z. A. Application of allelopathic in crop production. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 15, n. 6, p. 1367-1378, 2013.
- FERNANDES, A. M.; ANDRADE, G. J. M.; SOUZA, E. F. C.; ROSOLEM, C. A. Brachiaria species affecting soil nitrification. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1699-1707, 2011.
- FERREIRA, A.G.; AQÜILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, D. A. C.; DIAS, H. C. T. Situação atual da mata ciliar do ribeirão são Bartolomeu em Viçosa, MG. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 4, p. 617-623, 2004.
- GATTI, K. C. **Propagação vegetativa de pau mulato (*Calycophyllum spruceanum* (Benth) K. Schum.), jequitibá (*Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze) e teca (*Tectona grandis* Linn. f.) por miniestaquia**. 2002. 83 folhas. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

GORLA, C. M.; PEREZ, S. C. J. G. A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 261-266, 1977.

HAIG, T. Allelochemicals in Plants. ZENG, R. S.; MALLIK, A. U.; LUO, S. M. **Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry**. Springer, 2008.

HUSTED, S.; MATTSSON, M.; MÖLLERS, C.; WALLBRAUN, M.; SCHJOERRING, J. K. Photorespiratory NH_4^+ production in leaves of wild-type and Glutamine Synthetase 2 Antisense oilseed rape. **Plant Physiology**, v. 130, p. 989-998, 2002.

INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. **Botanical Review**, v. 62, n. 2, abr-jun, 1996.

Instituto Agrônômico do Paraná. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1828>> Acesso em 2018.

JERÔNIMO, C. A.; BORGHETTI, F.; SÁ, C. M. Allelopathic effect of *Solanum lycocarpum* leaf extract on protein synthesis in sesame seedlings. **4th congrss on Allelopathy**, 2005.

JOHN, J.; SARADA, S. Role of phenolics allelopathic interactions. **Allelopathic Journal**, v. 29, n. 2, p. 215-130, 2012.

JUNAEDI, A.; JUNG, W.; CHUNG, I.; KIM, K. Differentially expressed genes of potentially allelopathic rice in response against barnyardgrass. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 231-236, 2007.

KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, C. F. A. Sucessão secundária, estrutura genética e plantações de espécies arbóreas nativas. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, n. 41, p. 83-93, jan 1989.

KATO-NOGUCHI, H.; KOBAYASHI, A.; OHNO, O.; KIMURA, F.; FUJII, Y.; SUENAGA, K. Phytotoxic substances with allelopathic activity may be central to the strong invasive potencial of *Brachiaria brizantha*. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, p. 525-530, 2014.

KOBAYASHI, A.; KATO-NOGUCHI, H. The seasonal variations of allelopathic activity and allelopathic substances in *Brachiaria brizantha*. **Botanical Studies**, v. 56, n. 25, 2015.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQÜILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 61-69, 2006.

MARTINS, D.; MARTINS, C. C.; COSTA, N. V. Potencial alelopático de soluções de solo cultivado com *Brachiaria brizantha*: Efeitos sobre a germinação de gramíneas forrageiras e plantas daninhas de pastagens. **Planta daninha**, v. 24, n. 1, p. 61-70, 2006.

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, v. 17, p. 297-304, 1967.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/recuperacao-areas-degradadas>>. Acesso em 2016.

MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. **Nitric Oxide**, v. 5, p. 62-71, 2001.

NAZ, R.; BANO, A. Effects of allelochemical extracts from medicinal plants on physiological and biochemical mechanisms of maize (*Zea mays* L.) seedlings. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, v. 5, n. 2, p. 31-39, 2014.

NEPOMUCENO, M.; CHINCHILLA, N.; VARELA, R. M.; MOLINILO, J. M. G.; LACRET, R.; ALVES, P. L. C. A.; MACIAS, F. A. Chemical evidence for the effect of

Urochloa ruziziensis on glyphosate-resistant soybeans. **Pest Management Science**, v. 73, p. 2071-2078, 2017.

NIE, C.; LUO, S.; ZENG, R.; MO, M.; LI, H.; LIN, C. Allelopathic potential of *Wedelia trilobata* L.: effects on germination, growth and physiological parameters of rice. **4th World Congress on Allelopathy**, 2005.

NIMBAL, C. I.; YERKES, C. N.; WESTON, L. A.; WELLER, S. C. Herbicidal activity and site of action of the natural product sorgoleone. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 54, p. 73-83, 1996.

OLIVA, K. M. F. **Atividade alelopática de extratos de *Caryocar brasiliense* Camb. sobre a germinação, crescimento e aspectos bioquímicos e fisiológicos em *Bidens pilosa*, *Glycine Max* e *Zea mays***. 2006. 82 folhas. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.

OLIVEIRA, A. P. P.; PEREIRA, S. R.; CÂNDIDO, A. C. S.; LAURA, V. A.; PERES, M. T. L. P. Can allelopathic grasses limit seed germination and seedling growth of Mutambo? A test with two species of *Brachiaria* grasses. **Planta Daninha**, v. 34, n. 4, p. 639-648, 2016.

OLIVEIRA, H. C.; SILVA, L. M. I.; FREITAS, L. D.; DEBIASI, T. V.; MARCHIORI, N. M.; AIDAR, M. P. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; STOLF-MOREIRA, R. Nitrogen use strategies of seedlings from neotropical tree species of distinct successional groups. **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 114, p. 119-127, 2017.

OLIVEIRA, H. C.; SODEK, L. Effect of oxygen deficiency on nitrogen assimilation and amino acid metabolism by soybean root segments. **Amino Acids**, v. 44, p. 743-755, 2013.

PADHY, B.; PATNAIK, P. K.; TRIPATHY, K. Allelopathic potential of Eucalyptus leaf litter leachates on germination and seedlings growth of finger millet. **Allelopathic Journal**, v. 7, n. 1, p. 69-78, 2000.

PEREIRA, S. R.; SOUZA, A. L. T.; LAURA, V. A.; PIRES, A. C. V.; CHIAD, M. P. Estabelecimento de espécies arbóreas de Cerrados em função do manejo de *Brachiaria* sp. **Embrapa Gado de Corte - Comunicado Técnico**, 2009.

RASCHER, U.; LIEBIG, M.; LÜTTGE, U. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. **Plant, Cell and Environment**, n. 23, p. 1397-1405, 2000.

REIGOSA, M. J.; GONZALEZ, L.; SANCHES-MOREIRA, A.; DURAN, B.; PUIME, D.; FERNANDEZ, D. A.; BOLANO, J. C. Comparison of physiological effects of allelochemicals and commercial herbicides. **Allelopathic Journal**, v. 8, n. 2, p. 211-220, 2001.

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2 edição, New York, Academic Press, 1984.

RODRIGUES, A. P. D. C.; LAURA, V. A.; PEREIRA, S. R.; DEISS, C. Alelopatia de duas espécies de braquiária em sementes de três espécies de estilosantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.10, p.1758-1763, out, 2012.

RODRIGUES, W. N.; MARTINS, L. D.; PEREIRA, D. P.; TOMAZ, M. A. Recuperação de áreas degradadas. MARTINS, L. D.; HANNAS, T. R.; VENTURA, R. C. M. O.; ALVIM-HANNAS, A. K. F.; MENDONCA, J. A.; FUCIO, L. H.; LONGO, L. B. F.; LAMAS, L. P. A.; SILVA, L. B.; FURTADO, L. B.; COSTA, M. O.; SILVA, R. C. S. **Atualidades em desenvolvimento sustentável**. Editora FACIG, 2012.

SANTOS, M. V.; FERREIRA, E. A.; FONSECA, D. M.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, L. D. T.; SILVA, D. V. Levantamento fitossociológico e produção de forragem em pasto de capim-gordura. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 62, n. 6, p. 561-567, 2015.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.

SENARATHNE, S. H. S.; DISSANAYAKA, D. N. M.; VIDHANA ARACHCHI, L. P. Allelopathic potential of *Brachiaria brizantha* and *B. milliformis* on seed germination of selected bioassay species. **Pakistan Journal of Weed Science Research**, v. 16, n. 2, p. 207-216, 2010.

SILVA, L. M. I.; SILVA, M. J.; ROCHA, J. S.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; STOLF-MOREIRA, R. OLIVEIRA, H. C. Potencial allelopathic effect of *Brachiaria decumbens* root exsudates on neotropical tree seedlings. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, 2017.

SINGH, N. B.; SUNAINA. Allelopathic stress produced by bitter gourd (*Momordica charantia* L.). **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 10, n. 2, 2014.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MAIOMONI-RODELLA, R. C. S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Braquiária decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 343-354, 2003.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MARTINS, D.; ROSOLEM, C. A. Efeito alelopático de Capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 24, n. 4, p. 657-668, 2006.

STEWART, G. R.; POPP, M.; HOLZAPFEL, I.; STEWART, J. J.; DICKIE-ESKEW, A. Localization of nitrate reduction in ferns and its relationship to environment and physiological characteristics. **New Phytologist**, v. 104, p. 373-384, 1986.

SUBBARAO, G. V.; NAKAHARA, K.; HURTADO, M. P.; ONO, H.; MORETA, D. E.; SALCEDO, A. F.; YOSHIHASHI, A. T.; ISHIKAWA, T.; ISHITANI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, M.; RONDON, M.; RAO, I. M.; LASCANO, C. E.; BERRY, W. L.; ITO, O. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria pastures*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 41, p. 17302-17307, 2009.

SUBBARAO, G. V.; WANG, H. Y.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; BERRY, W. L. NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. **Plant Soil**, v. 290, p. 245-257, 2007.

SUCUR, J.; POPOVIC, M.; PRVULOVIC, D.; MALENCIC, D.; KIPROVSKI, B. Oxidative stress in soybean seedlings treated with *Thymus serpyllum* aqueous extract. **Biologica Nissana**, v. 4, n. 1-2, p. 71-74, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª edição, Porto Alegre, Artmed, 2013.

THE PLANT LIST. 2012. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=brachiaria+decumbens>>. Acesso em 2018.

VALLE, C. B.; MACEDO, M. C. M.; EUCLIDES, V. P. B.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. Gênero *Brachiaria*. FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. **Plantas Forrageiras**. Editora UFV, 2011.

VIDAL, E. A.; ARAUS, V.; LU, C.; GERAINT, P.; GREEN, P. J.; CORUZZI, G. M.; GUTIÉRREZ, R. A. Nitrate-responsive miR393/AFB3 regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 9, p. 4477-4482, 2010.

WEIR, T. L.; PARK, S. W.; VIVANCO, J. M.; Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 472-479, 2004.

WELLBURN, A. R. The Spectral Determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **Journal Plant Physiology**, v. 144, p. 307-313, mar, 1994.

YAMAYA, T.; MATSUMOTO, H. Influence of NH_4^+ on the oxygen uptake of mitochondria isolated from corn and pea shoots. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 31, n. 4, p. 513-520, 1984.

YANG, C.; LEE, C.; CHOU, C. Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings: I. Inhibition of supply-orientation. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 43, p. 299-304, 2002.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

ZANGARO, W.; LESCANO, L. E. A. M.; MATSUURA, E. M.; RONDINA, A. B. L.; NOGUEIRA, M. A. Differences between root traits of early- and late-successional trees influence below-ground competition and seedling establishment. **Journal of Tropical Ecology**, v. 32, p. 300-313, 2016.