

## Efeito alelopático de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis* Thunb. sobre a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Allelopathic effect of leaves and pseudofruits of *Hovenia dulcis* Thunb. on seed germination and seedling development of *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Alexandre Deschamps Schmidt,<sup>1</sup> Tânia Tarabini Castellani<sup>1,2</sup> & Michele Dechoum<sup>1,2</sup>

1) Programa de Pós-graduação em Ecologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário s/n – Córrego Grande, Florianópolis, SC 88040-900, Brazil

2) Departamento de Ecologia e Zoologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC 88040-900, Brazil

E-mail: ads.ambiental@gmail.com

Recebido em 30 de novembro de 2020 - Aceito em 14 de junho de 2021

**Resumo:** A alelopatia é um mecanismo que pode resultar em vantagem competitiva de plantas invasoras. Entretanto, estudos avaliando o efeito alelopático de espécies arbóreas invasoras sobre espécies nativas são incipientes em florestas Neotropicais. Nativa do leste asiático, *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) é invasora em florestas na América do Sul. Para avaliar experimentalmente seu potencial alelopático utilizou-se extratos aquosos preparados à base de folhas e pseudofrutos, nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%, comparados à solução controle (água destilada), sobre a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Os extratos aquosos não apresentaram efeito na germinação de sementes e na sobrevivência de plântulas. Contudo, observou-se uma redução no diâmetro do caule, menor peso seco da parte aérea, bem como redução no comprimento e peso seco das raízes das plântulas de *S. terebinthifolius*, sugerindo que a alelopatia pode representar um importante mecanismo no processo de invasão por *H. dulcis*.

**Palavras-chave:** : árvore exótica invasora, crescimento, invasão biológica, mecanismo, sobrevivência.

**Resumen:** La alelopatía es un mecanismo que resulta en una ventaja competitiva para las plantas invasoras. Por esa razón, los estudios que evalúan el efecto alelopático de especies de árboles invasoras sobre especies nativas en los bosques neotropicales son incipientes. *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) es es nativa del este asiático e invasora en bosques en Sudamérica. Para evaluar experimentalmente su potencial alelopático, se utilizaron extractos acuosos preparados a base de hojas y pseudofrutos en concentraciones de 2.5%, 5% y 10%, en comparación con la solución control (agua destilada), sobre la germinación de semillas y el desarrollo de plántulas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Los extractos acuosos no afectaron la germinación de semillas ni la sobrevivencia de las plántulas. Sin embargo, se observó una disminución en el diámetro del tallo y en el peso seco de la parte aérea, así como una disminución en la longitud y en el peso seco de las raíces de las plántulas de *S. terebinthifolius*. Esos resultados sugieren que la alelopatía puede ser un mecanismo importante en el proceso de invasión por *H. dulcis*.

**Palabras claves:** árbol exótico invasor, crecimiento, invasión biológica, mecanismo, sobrevivencia.

**Abstract:** Studies evaluating the allelopathic effect of invasive tree species on native species are scarce. The tree species *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) is native to East Asia and invasive in forest ecosystems in South America. The allelopathic potential of *Hovenia dulcis* was verified using aqueous extracts prepared from leaves and pseudofruits in concentrations of 2.5%, 5% and 10% in comparison with a control solution (distilled water) on seed germination and seedling development of the native tree *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). The results revealed that the aqueous extracts had no effect on seed germination or seedling survival. However, there was a reduction in stem diameter and dry weight of the aerial part, as well as in length and dry weight of the underground part of *S. terebinthifolius* seedlings, suggesting that allelopathy may represent an important mechanism in the process of invasion by *H. dulcis*.

**Keywords:** invasive non-native tree, growth, biological invasion, mechanism, survival.

## Introdução

A alelopatia tem sido sugerida como um importante mecanismo no processo de invasão biológica por espécies exóticas (Gentle e Duggin 1997; Dorning e Cipollini 2006; Grove et al. 2012). O termo alelopatia refere-se ao efeito negativo de uma espécie sobre a outra por meio da liberação de compostos químicos no ambiente (Chou e Muller 1972). Estes compostos (aleloquímicos) podem ser encontrados em diferentes tecidos das plantas como raízes, rizomas, caule, folhas, flores, frutos e sementes (Rice 1984). Provêm em sua maioria do metabolismo secundário e sua liberação no ambiente se dá por vias de decomposição, exsudação radicular, lixiviação e volatilização (Rizvi et al. 1992). O modo de ação direta dos aleloquímicos está relacionado a vários aspectos do desenvolvimento e metabolismo das plantas, incluindo divisão celular, absorção mineral, função estomática, balanço hídrico, respiração, fotossíntese, proteína e síntese de clorofila, além de atividades fitohormônais (Rizvi et al. 1992; Einhellig 1995). A inexistência de respostas evolutivas de tolerância das espécies residentes aos novos químicos liberados por espécies invasoras possibilita que estas dominem comunidades vegetais às quais foram introduzidas (Callaway e Aschehoug 2000; Cappuccino e Arnason 2006; Warren II et al. 2017).

A germinação e parâmetros relativos ao crescimento, tais como comprimento e massa da radícula e da parte aérea das plântulas, têm sido utilizados para avaliar os efeitos dos aleloquímicos sobre espécies alvo (Einhellig 1995). Estudos avaliando o efeito alelopático de espécies arbóreas invasoras sobre espécies nativas são ainda incipientes, principalmente com a utilização de espécies nativas em testes de germinação e crescimento (Reigosa et al. 2013). Orr et al. (2005) investigaram o efeito alelopático da gramínea *Lolium arundinaceum* e do arbusto *Elaeagnus umbellata*, ambas invasoras na América do Norte, sobre três espécies arbóreas nativas (*Acer saccharinum*, *Populus deltoides* e *Platanus occidentalis*) e concluíram que as invasoras apresentam potenciais efeitos alelopáticos, mas que estes dependiam do método de extração dos compostos e da espécie alvo. Também

na América do Norte, Conway et al. (2002) testaram o efeito da árvore exótica invasora *Sapium sebiferum* sobre as nativas *Salix nigra* e *Taxodium distichum* e não encontraram efeito inibitório na germinação das nativas, mas sim um efeito facilitador à própria invasora. Gentle e Duggin (1997) avaliaram o efeito alelopático da exótica invasora *Lantana camara* sobre as espécies arbóreas *Alectryon subcinereus* e *Cryptocarya rigida*, nativas da Austrália, e verificaram que a germinação de ambas sofreu aumento com a remoção da invasora. Warren II et al. (2017) concluíram que a espécie arbórea *Rhamnus cathartica* apresenta elevado potencial alelopático com impactos espécie-específicos, e sugerem que este seja um dos mecanismos preponderantes na capacidade da espécie de formar densos agrupamentos, resistir a competidores, assim como provocar alterações na composição da comunidade de plantas.

Nativa do leste asiático (Japão, Coreia e leste da China), *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) é componente ocasional do estrato intermediário de florestas decíduais de carvalho (*Quercus* spp.), em altitudes que variam de 165 a 2200 m a.n.m. (Carvalho 1994; Hyun et al. 2010). Decídua e zoocórica, *H. dulcis* é capaz de se dispersar além de suas áreas de cultivo, estabelecendo-se em bordas e clareiras de fragmentos florestais secundários, chegando a ser uma importante espécie no componente arbóreo-arbustivo (Bardall et al. 2004; Schaff et al. 2006; Boeni 2011; Vibrans et al. 2012; Lazzarin et al. 2015), podendo ocupar inclusive florestas em estágios mais avançados de regeneração (Dechoum et al. 2015; Padilha et al. 2015). Compostos alcalóides foram encontrados em suas raízes, saponinas em folhas, pseudofrutos, sementes e também raízes, bem como flavonóides nos pseudofrutos (Carvalho 1994; Hyun et al. 2010; Wandscheer et al. 2011; Park et al. 2015), e foram associados tanto à defesa contra herbivoria quanto à alelopatia (Buono et al. 2008; Araldi 2011; Boeni 2011; Wandscheer et al. 2011).

A espécie *H. dulcis* foi introduzida em propriedades rurais no oeste de Santa Catarina (Brasil) na segunda metade do século XX (Vibrans et al. 2012) para uso da madeira, sombreamento de cultivos e pastagens,

quebra-vento e produção de energia (Carvalho 1994). É uma espécie exótica invasora que pode ser encontrada inclusive em áreas naturais protegidas (Dechoum et al. 2015), como o Parque Estadual Fritz Plaumann, que abriga fragmentos da Floresta Estacional Decidual (FED) em diferentes estágios sucessionais. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) é espécie frequente na FED, principalmente nos estágios iniciais e médios de regeneração (Siminski et al. 2011). Considerada uma espécie pioneira, pode se estabelecer em solos úmidos ou secos, arenosos ou argilosos, ricos ou com baixa disponibilidade de nutrientes (Carvalho 2003; Lenzi e Orth 2004). Dada a sua ampla distribuição geográfica, somado a sua plasticidade ecológica, é uma espécie recomendada em projetos de recuperação de áreas degradadas (Carvalho 1994; Kageyama e Gandara 2000). Assim, considerando sua elevada produção e viabilidade de sementes (Medeiros e Zanon 1998), a facilidade na coleta, sua abundância na área de estudo, e importância no processo de regeneração da floresta (Kageyama e Gandara 2000), foi selecionada como espécie alvo na presente pesquisa.

Objetivando contribuir para a compreensão da alelopátia como um mecanismo do processo de invasão biológica em ecossistemas florestais, busca-se no presente trabalho testar a hipótese de que a espécie *H. dulcis* apresenta efeito alelopático sobre espécie nativa da FED. Para tanto, diferenças na germinação de sementes e no crescimento de plântulas da espécie *S. terebinthifolius* foram testados em tratamentos com diferentes concentrações da solução obtida de folhas e pseudofrutos de *H. dulcis*, e comparadas com o tratamento controle (água destilada). Os resultados, por sua vez, são de grande relevância na busca pelo entendimento dos mecanismos e interferências interespecíficas ligados às invasões biológicas.

## Material e Métodos

### Delineamento experimental

Sementes da espécie nativa *Schinus terebinthifolius*, bem como

folhas e pseudofrutos da espécie exótica invasora *Hovenia dulcis* foram coletados no Parque Estadual Fritz Plaumann (PEFP), situado em Concórdia, SC, Brasil (27°17'26.15" S; 52°6'51.90" W). Tanto os frutos de *S. terebinthifolius* quanto os pseudofrutos e folhas de *H. dulcis* foram coletados de diferentes indivíduos adultos distribuídos na área do PEPF ( $n > 10$  para cada espécie). Os frutos de *S. terebinthifolius* foram coletados entre os meses de janeiro a março de 2017. Os frutos tiveram seu pericarpo removido, sendo as sementes posteriormente lavadas em água corrente, secas à sombra por 24 horas, e acondicionadas em potes plásticos foscos em geladeira. Já as folhas e pseudofrutos de *H. dulcis* foram coletadas em abril de 2017, diretamente das copas dos indivíduos. As folhas apresentavam coloração verde-amarelada, indicando o início do período de sua queda, e os pseudofrutos estavam maduros. Após coletado, o material foi mantido em geladeira por 5 dias até a preparação da solução utilizada no experimento.

O experimento foi realizado em casa de vegetação administrada pelo Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado em Florianópolis (SC, Brasil). Foram utilizados quatro tratamentos, havendo 10 réplicas (bandejas plásticas de 28 x 33 x 6 cm) compostas por 20 sementes por réplica, 200 sementes por tratamento, totalizando 800 sementes de *S. terebinthifolius* utilizadas no experimento. Os tratamentos testados foram soluções preparadas com pseudofrutos e folhas de *H. dulcis* em três concentrações: 2,5%, 5% e 10% MF/V [(MF) = massa fresca de folha e pseudofruto por (V) volume de água destilada], ou seja, para o preparo da solução a 10%, foram utilizadas 100 g de folhas ou pseudofrutos para cada 1000 ml de água destilada. O mesmo procedimento foi repetido para os demais tratamentos, alterando-se a quantidade de massa fresca e o volume de água destilada para se chegar à concentração desejada. Para a preparação, as folhas e pseudofrutos de *H. dulcis* foram pesados em balança analítica, triturados em um liquidificador por cerca de 30 segundos, peneirados e mantidos em congelador por 9 dias, até sua aplicação no experimento. As soluções de folhas

e pseudofrutos de *H. dulcis* foram preparadas separadamente, sendo homogeneizadas em um único recipiente, e diluídas nas diferentes concentrações no momento da aplicação.

As sementes de *S. terebinthifolius* passaram por uma prévia desinfecção, que consistiu na imersão em álcool 70% por 1 minuto seguida de lavagem com água destilada, para então serem colocadas para germinar nas bandejas preenchidas com uma mistura de vermiculita média e fina (1/1). Na primeira rega utilizou-se 100 ml de solução nas distintas concentrações (tratamentos 2,5%, 5% e 10%) e 100ml de água destilada (controle) no tratamento controle. O volume de água destilada utilizado nas regas posteriores, em todos os tratamentos, foi variável (150 – 250ml) em função das condições climáticas as quais o experimento esteve submetido. Ou seja, em dias mais quentes e secos foi necessário um maior volume de água destilada, em dias mais frios e úmidos um menor volume de água destilada, de modo a manter as bandejas sempre úmidas, porém nunca secas ou encharcadas. Para rega utilizou-se um copo graduado de forma que todas as bandejas de todos os tratamentos recebessem o mesmo volume de água destilada em cada rega, tendo cuidado para que o volume não excedesse a capacidade de absorção da vermiculita e assim não ocorresse a lixiviação da solução. Teste prévio foi feito para saber-se o volume máximo de rega possível (250ml) de modo a evitar o excesso de água nas bandejas. A posição das bandejas de diferentes tratamentos foi aleatorizada nas bancadas, objetivando minimizar diferenças em condições abióticas, tais como incidência de luz, umidade e calor, que poderiam variar uma vez que a casa de vegetação não possui sistema artificial de controle destas variáveis.

#### Coleta de dados

Entre os meses de abril a agosto de 2017, foram realizadas avaliações semanais do número de sementes germinadas e da sobrevivência de plântulas em cada bandeja de cada tratamento. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam a emergência dos cotilédones no substrato, envolvidos ou não pelo tegumento.

Esta avaliação semanal foi feita até que a curva de germinação fosse estabilizada, ou seja, quando novas sementes não tivessem germinado por um intervalo de pelo menos duas semanas. Após completadas 12 semanas da data de germinação de cada semente, a plântula correspondente foi removida para avaliação dos seguintes parâmetros: número de folhas (NF), diâmetro do caule à altura do solo (DC), comprimento da parte aérea (CA), comprimento da raiz principal (CR), peso fresco da parte aérea (PAF), peso seco da parte aérea (PAS), peso fresco da parte subterrânea (PSF), peso seco da parte subterrânea (PSS), área foliar total (AFT) e área foliar média (AFM). A parte subterrânea (raiz) foi previamente lavada antes da pesagem de modo a eliminar todo vestígio de vermiculita preso à raiz.

Para obtenção da área foliar das plântulas, as folhas foram separadas com auxílio de tesoura, digitalizadas com scanner de mesa (resolução 300 dpi), e posteriormente processados no programa Midebmp, versão 4.2. O diâmetro do caule foi medido por meio de um paquímetro digital, e o comprimento da parte aérea e da raiz principal foram aferidos com régua graduada. Os pesos frescos da parte aérea e da parte subterrânea foram obtidos imediatamente após o desplante, com auxílio de balança analítica. Para a obtenção do peso seco, as partes aérea e subterrânea foram secas em estufa a 50o C durante 24 horas, sendo posteriormente pesadas em balança analítica.

#### Análise de dados

Um modelo linear generalizado (GLM) foi utilizado para avaliar a proporção final de sementes germinadas (variável resposta) entre tratamentos (variável explanatória - efeito fixo). Foi assumida a distribuição binomial para a variável resposta e a ligação *logit* entre a variável resposta e a variável explanatória. Adicionalmente, funções de sobrevivência (*survival functions*) foram estimadas utilizando-se o método Kaplan-Meier para dados "censurados", e na sequência curvas de sobrevivência foram construídas para cada tratamento. O teste de Mantel-Haenszel foi utilizado para se verificar diferenças na sobrevivência de plântulas entre os tratamentos.

Testes de correlação de *Spearman* foram utilizados para se verificar a colinearidade entre os parâmetros medidos nas plântulas, uma vez que todas as variáveis apresentaram distribuição não normal, com exceção do diâmetro do caule à altura do solo (DC) (Teste de *Shapiro-Wilk*). Registrou-se a existência de correlação entre todos os parâmetros medidos (Tabela 1). Considerando a alta correlação ( $r > 0,8$ ;  $p < 0,05$ )

entre as variáveis peso fresco da parte aérea e peso seco da parte aérea ( $r = 0,84$ ;  $p < 0,001$ ), peso fresco da parte subterrânea e peso seco da parte subterrânea ( $r = 0,82$ ;  $p < 0,001$ ), área foliar total e área foliar média ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,001$ ) e, as respectivas redundâncias das informações existentes entre estes parâmetros, excluiu-se as variáveis relativas ao peso fresco da parte aérea (PAF) e subterrânea (PSF), bem como a área foliar média (AFM) das análises estatísticas.

**Tabela 1:** Coeficiente de correlação de Spearman ( $r$ ) entre as variáveis número de folhas (NF), diâmetro do caule à altura do solo (DC), comprimento da parte aérea (CA), comprimento da raiz principal (CR), peso fresco da parte aérea (PAF), peso seco da parte aérea (PAS), peso fresco da parte subterrânea (PSF), peso seco da parte subterrânea (PSS), área foliar total (AFT) e área foliar média (AFM).

	NF	DC	CA	CR	PAF	PAS	PSF	PSS	AFT	AFM
NF	1	0,29*	0,36*	0,28*	0,47*	0,42*	0,44*	0,38*	0,68*	0,26*
DC		1	0,61*	0,45*	0,71*	0,83*	0,52*	0,63*	0,67*	0,71
CA			1	0,42*	0,71*	0,74*	0,52*	0,55*	0,72*	0,73*
CR				1	0,36*	0,48*	0,54*	0,65*	0,41*	0,38*
PAF					1	0,84*	0,68*	0,57*	0,85*	0,80*
PAS						1	0,63*	0,72*	0,81*	0,81*
PSF							1	0,82*	0,69*	0,63*
PSS								1	0,62*	0,60*
AFT									1	0,85*
AFM										1

\* Correlação significativa ( $p < 0,05$ ).

Análises de variância univariadas foram empregadas para se verificar diferenças nas médias das variáveis resposta selecionadas (NF, DC, CA, CR, PAS, PSS e AFT) entre os tratamentos [controle (água destilada), e 2,5%, 5% e 10% de concentração da solução]. A validação dos modelos foi feita por meio de análise gráfica de resíduos. Posteriormente, o teste de *Tukey* foi utilizado para cada variável explanatória para se verificar as diferenças entre os tratamentos. A variável número de folhas (NF) foi desconsiderada uma vez que obteve resultados estatísticos inconsistentes (avaliação de resíduos), independentemente das abordagens empregadas: ANOVA, ANOVA com transformação de  $\log_{10}(x + 1)$ , e GLM com distribuição de *Poisson* ou binomial negativa. Todas as análises foram realizadas através

do software RStudio, versão 1.0.153 (R Core Team 2017), com a utilização dos pacotes: "PerformanceAnalytics" (Peterson et al. 2014), "lme4" (Bates et al. 2017), "MASS" (Venables e Ripley 2002) e "survival" (Therneau e Grambsch 2000).

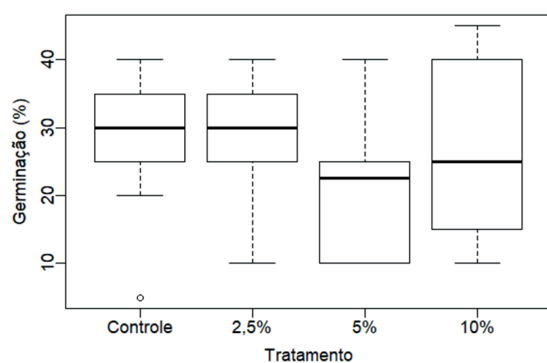
## Resultados

Do total de sementes de *Schinus terebinthifolius* semeadas, 26,4% germinaram (211 de 800). Destas, 57 germinaram no tratamento controle, 59 no tratamento com 2,5% de concentração, 42 com 5%, e 53 com 10% de concentração da solução preparada com extrato de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis*. Os percentuais médios de germinação não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2, Figura 1).

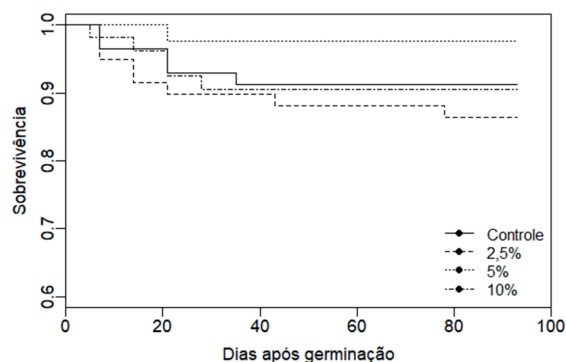


**Tabela 2:** Estatística do modelo linear generalizado (GLM) utilizado para comparar o percentual final de germinação de sementes de *Schinus terebinthifolius* submetidas a diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%.

Tratamento	Estimado	Erro padrão	Valor de t	P
Intercepto (Controle)	0,04	0,004	8,12	< 0,0001
Tratamento [2,5%]	-0,002	0,006	-0,30	0,77
Tratamento [5,0%]	0,01	0,007	1,62	0,11
Tratamento [10%]	0,002	0,006	0,32	0,75



**Figura 1:** Boxplot (mediana  $\pm$  quartis) do percentual final de germinação das sementes de *Schinus terebinthifolius* submetidas a diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%.

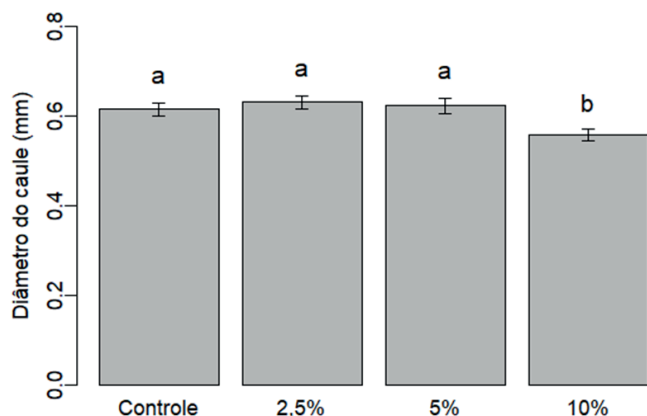


**Figura 2:** Curva de sobrevivência de plântulas de *Schinus terebinthifolius* submetidas às diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*, por um período de 12 semanas. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%.

As curvas de sobrevivência das plântulas de *S. terebinthifolius* não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ( $\chi^2 = 3,7$ ; g.l. = 3;  $p = 0,29$ ; Figura 2). Dentre as plântulas que morreram ao longo do experimento, a idade média de morte foi de 85,9 dias (DP = 21,4) no controle; 83,3 dias (DP = 25,3) no tratamento com 2,5%; 90,7 dias (DP = 11) no tratamento 5%; e 85,1 dias (DP = 22,1) no tratamento 10% de concentração da solução. O número de plântulas sobreviventes ao final das 12 semanas do experimento foi de 52 (91,2%)

no controle; 51 (86,4%) no tratamento 2,5%; 41 (97,6%) no tratamento 5%; e 48 (90,6%) no tratamento 10% de concentração da solução.

No que diz respeito aos parâmetros relacionados ao crescimento das plântulas, o diâmetro médio do caule das plântulas de *S. terebinthifolius* apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ( $F(3, 188) = 0,05$ ;  $p = 0,002$ ). O tratamento com 10% de concentração da solução reduziu significativamente o diâmetro médio do caule das plântulas comparado a todos os outros tratamentos (Figura 3).

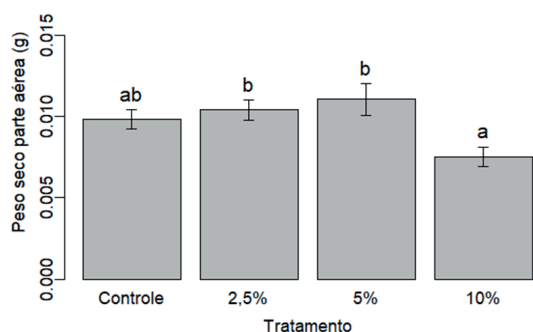


**Figura 3:** Diâmetro médio do caule (mm) das plântulas de *Schinus terebinthifolius* submetidas às diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*, por um período de 12 semanas. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%. As barras nas colunas representam o erro padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

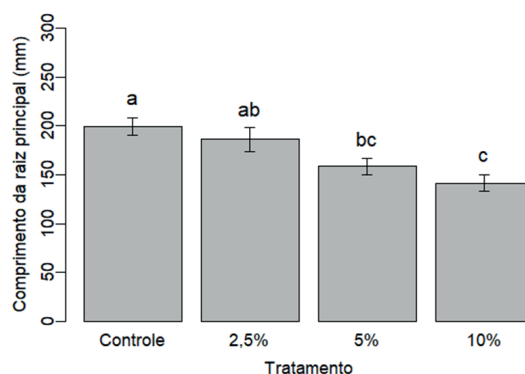
A área foliar total média não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ( $F(3, 188) = 0,318$ ;  $p = 0,81$ ), apresentando valores de 0,009 mm<sup>2</sup> (DP = 0,004) no tratamento controle, 0,010 mm<sup>2</sup> (DP = 0,004) no tratamento com 2,5% de concentração, 0,011 mm<sup>2</sup> (DP = 0,006) no tratamento com 5% de concentração, e 0,007 mm<sup>2</sup> (DP = 0,003) no tratamento com 10% de concentração. O comprimento médio da parte aérea também não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ( $F(3, 188) = 0,299$ ;  $p = 0,83$ ), com valores de 35,0 mm (DP = 6,9) no tratamento controle, 35,6 mm (DP = 7,5) no tratamento com 2,5% de concentração, 34,1 mm (DP = 9,0) no tratamento com 5% de concentração,

e 35,3 mm<sup>2</sup> (DP = 8,6) no tratamento com 10% de concentração. Por outro lado, o peso seco médio da parte aérea ( $F(3, 188) = 4,96$ ;  $p = 0,002$ ; Figura 4), o comprimento da raiz principal ( $F(3, 188) = 7,39$ ;  $p < 0,001$ ; Figura 5) e o peso seco da parte subterrânea ( $F(3, 188) = 16,94$ ;  $p < 0,001$ ; Figura 6) diferiram entre os tratamentos.

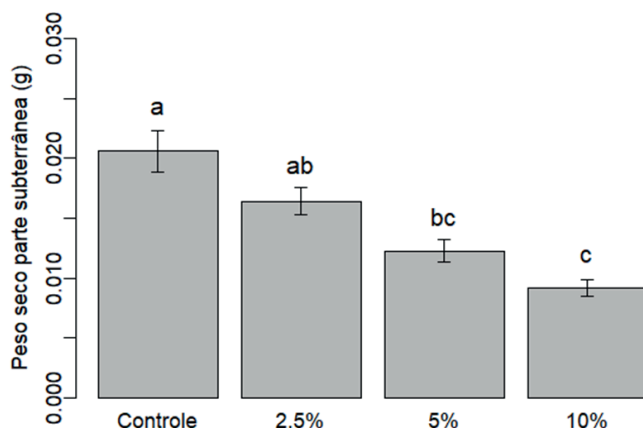
O peso seco médio da parte aérea obtido no tratamento controle (água destilada) não apresentou diferença entre os tratamentos com 2,5%, 5% ou 10% de concentração da solução. Contudo, o valor obtido nos tratamentos intermediários (2,5% e 5% de concentração) foi significativamente superior ao obtido no tratamento com 10% de concentração da solução (Figura 4).



**Figura 4:** Peso seco médio da parte aérea (g) das plântulas de *Schinus terebinthifolius* submetidas às diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*, por um período de 12 semanas. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%. As barras nas colunas representam o erro padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



**Figura 5:** Comprimento médio da raiz principal (mm) das plântulas de *Schinus terebinthifolius* submetidas às diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*, por um período de 12 semanas. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%. As barras nas colunas representam o erro padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



**Figura 6:** Peso seco médio da parte subterrânea (g) das plântulas de *Schinus terebinthifolius* submetidas às diferentes concentrações de solução preparada com extrato das folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis*, por um período de 12 semanas. Tratamentos: Controle (água destilada); e soluções com concentração de 2,5%, 5% e 10%. As barras nas colunas representam o erro padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

## Discussão

Os resultados obtidos corroboram a hipótese levantada de que o extrato aquoso preparado à base de folhas e pseudofrutos da espécie *Hovenia dulcis* apresenta efeito alelopático sobre a espécie nativa *Schinus terebinthifolius*. Este efeito, contudo, foi observado apenas na fase de crescimento das plântulas, não tendo sido evidente na germinação das sementes ou mesmo na sobrevivência de plântulas.

Os efeitos alelopáticos observados no crescimento (comprimento e peso seco) das raízes das plântulas de *S. terebinthifolius* corroboram os resultados dos trabalhos de Araldi (2011), Boeni (2011) e Wandscheer (2011). Balke (1985) e Einhellig (1995) apontam que compostos flavonoides e fenólicos são capazes de alterar estruturas e funções da membrana das raízes. Como consequências, a captação de nutrientes, a condutividade de água ou mesmo a morfologia das raízes podem ser prejudicadas, comprometendo o crescimento e reprodução dos indivíduos influenciados pelos aleloquímicos (Rice 1984; Balke 1985; Rizvi et al. 1992; Einhellig 1995). Estes resultados, assim como de outros autores, evidenciam que a alelopátia pode atuar de diferentes formas. Conway et al. (2002), por exemplo, observaram que a espécie *Sapium sebiferum*, amplamente disseminada na região costeira da América do Norte, não apresentou efeito alelopático sobre *Salix nigra* e *Taxodium distichum*, mas sim efeito facilitador à própria espécie. Orr et al. (2005) ponderam que o efeito

alelopático pode variar tanto em função da origem dos compostos aleloquímicos, como da espécie examinada. Ainda, Jacobi e Ferreira (1991) constataram que o efeito alelopático de extratos aquosos de folhas de *Mimosa bimucronata* depende da espécie alvo, assim como da época do ano na qual as folhas foram coletadas.

No que tange à parte aérea das plântulas de *S. terebinthifolius*, nota-se que apenas o diâmetro do caule foi influenciado pelo extrato de folhas e pseudofrutos de *H. dulcis*, na solução com 10% de concentração. Como consequência, o transporte de água e de carbono pode ser restringido, limitando o desenvolvimento da planta (Rice 1984; Balke 1985; Rizvi et al. 1992; Einhellig 1995). O comprimento aéreo das plântulas não foi afetado pela presença dos aleloquímicos, resultado também observado por Boeni (2011), Araldi (2011) e Wandscheer (2011).

Outros autores obtiveram resultados opostos relacionados à germinação de espécies submetidas a extratos preparados com diferentes partes de *H. dulcis*. Boeni (2011) avaliou o efeito alelopático de extratos de folhas de *H. dulcis* sobre a espécie *Casearia sylvestris*, nativa na Floresta Estacional Decidual – FED, e observou uma redução no percentual de germinação em todas as concentrações testadas (2,5%, 5% e 10%). Araldi (2011) obteve resultados similares para a espécie *Parapiptadenia rigida*, também nativa na FED, utilizando extrato de folhas verdes e adultas de *H. dulcis*. Os extratos preparados a base de pseudofrutos, por outro lado, não apresentaram efeitos alelopáticos na



germinação (Araldi 2011). Wandscheer (2011) utilizou folhas secas e pseudofrutos de *H. dulcis* para preparação dos extratos aquosos, e verificou uma redução na porcentagem de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*) nas concentrações de 2 e 4%. Nota-se, contudo, que os referidos autores testaram a germinação em placas de Petri, o que pode superestimar o efeito alelopático dos compostos (Stowe 1979; Keeley 1988; Hierro e Callaway 2003), além de utilizarem soluções à base de folhas e pseudofrutos separadamente. Na presente pesquisa utilizou-se substrato inerte para germinação das sementes, assim como extratos com folhas e pseudofrutos preparados em uma solução única, em diferentes concentrações.

O percentual médio de germinação das sementes de *S. terebinthifolius* foi baixo em todos os tratamentos, inclusive no tratamento controle. Fatores relacionados ao transporte das sementes, ou mesmo ao seu armazenamento, no que tange à temperatura e umidade da geladeira utilizada, podem ter contribuído para uma redução de sua viabilidade germinativa. Conforme apontam Medeiros e Zanon (1998), a forma de armazenamento das sementes é determinante para sua conservação e viabilidade, sendo especialmente influenciada pela sua umidade inicial. Os autores obtiveram uma taxa de viabilidade de 82% na germinação inicial das sementes de *S. terebinthifolius* armazenadas em câmara fria ( $4 \pm 1^\circ \text{C}$  e  $84 \pm 2\%$  UR) e embaladas em saco plástico (umidade inicial das sementes de 12,6%), por um período de 6 meses.

Callaway e Ridenour (2004) sugerem que o efeito alelopático em determinada área invadida pode ocasionar uma subsequente maior produção de aleloquímicos, e consequentemente ampliar a habilidade competitiva de algumas espécies exóticas invasoras. Em última instância, mecanismos alelopáticos atuantes na interação entre espécies podem condicionar a estruturação de determinada comunidade e, principalmente, cumprir um papel importante no sucesso do processo de invasão (Callaway e Aschehoug 2000). Em plantios mistos de *Juglans nigra* e *Alnus glutinosa* realizados na América do Norte, Rietveld et al. (1983) observaram que após oito anos todas as plantas da segunda

espécie morreram, atribuindo como causa da morte a ação de aleloquímicos produzidos pela primeira que se acumulavam na serapilheira, associado a solos úmidos capazes de magnificar a toxicidade dos compostos. Componentes físicos, químicos e biológicos presente no solo podem, portanto, influenciar a disponibilidade, a concentração, a persistência e o destino dos compostos alelopáticos na rizosfera, tornando-os mais ou menos tóxicos (Chou e Muller 1972; Einhellig 1995; Grove et al. 2012; Parepa e Bossdorf 2016).

A utilização de espécie nativa no experimento fornece uma base ao entendimento dos efeitos alelopáticos sobre as comunidades locais, visto que grande parte dos experimentos utiliza espécies cultivadas como o alface nos testes de germinação e/ou crescimento, espécies estas mais sensíveis que, apesar de apresentarem resultados relevantes em termos fisiológicos, fornecem poucas evidências do efeito dos aleloquímicos em termos ecológicos (Rice 1984; Rizvi et al. 1992; Ferreira e Aquila 2000; Reigosa et al. 2013). Assim, estudos complementares avaliando o efeito alelopático da espécie *H. dulcis* devem ser encorajados, objetivando verificar, por exemplo, a disponibilidade, concentração e o comportamento dos aleloquímicos em condições naturais, assim como seu efeito comparativo entre comunidades vegetais de ocorrência natural e comunidades onde a espécie é invasora, contribuindo na compreensão da alelopatia como um fator determinante, ou não, no sucesso da invasão da espécie na FED (Callaway e Aschehoug 2000; Inderjit e Callaway 2003; Callaway e Ridenour 2004; Cappuccino e Arnason 2006).

O padrão espacial de distribuição da espécie *H. dulcis*, capaz de formar populações densas e dominantes (Wandscheer et al. 2011) e ocupar a FED em diferentes estágios de regeneração, inclusive mais avançados (Dechoum et al. 2015), somado aos efeitos alelopáticos desta sobre as espécies nativas *S. terebinthifolius* (este trabalho), *P. rigida* e *C. sylvestris* (Araldi 2011; Boeni 2011), fornecem fortes evidências de que a alelopatia seja um mecanismo atuante na interação da espécie com a comunidade local, favorecendo o processo

de invasão (Callaway e Aschehoug 2000; Cappuccino e Arnason 2006; Warren II et al. 2017). Por sua vez, o efeito alelopático de *H. dulcis* sobre uma espécie também pioneira, sugere conseqüentes implicações no processo de regeneração da FED. Por exemplo, nas áreas em estágio inicial *H. dulcis* pode inibir o estabelecimento de espécies pioneiras, alterando a trajetória e a estruturação da comunidade de plantas (Schmidt et al. 2020). Ainda, as clareiras estocásticas abertas nas áreas sob a influência de agrupamentos de *H. dulcis* poderão também apresentar um processo de regeneração distinto, afetando o estabelecimento de espécies pioneiras e conseqüentemente favorecendo o agravamento do processo de invasão. Sendo assim, conclui-se que a alelopatia pode representar um importante mecanismo no processo de invasão por *H. dulcis* em florestas Neotropicais.

## Acknowledgements

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado, à Tractebel Energia pelo financiamento do projeto, ao IMA pela autorização para realização da pesquisa, à ECOPEF pelo apoio logístico e operacional, e ao Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental pelo apoio institucional fundamental à realização do trabalho.

## References

Araldi, D. B. (2011). Interferência alelopática de extratos de *Hovenia dulcis* Thunb. na germinação e crescimento inicial de plântulas de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

Balke, N. B. (1985). Effects of Allelochemicals on mineral uptake and associated physiological processes. In A. C. Thompson (Ed.). *The Chemistry of Allelopathy* (pp. 161-178). Washington: American Chemical Society.

Bardall, M. L., Roderjan, C. V., Galvão, F., & Curcio, G. R. (2004). Caracterização florística e fitossociológica de um trecho sazonalmente inundável de floresta aluvial, em Araucária, PR. *Ciência Florestal*, 14, 2, 37-50.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67, 1, 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.

Boeni, B. O. (2011). Riqueza, estrutura e composição de espécies em floresta secundária invadida por *Hovenia dulcis* Thunb., caracterização do seu nicho de regeneração e efeitos alelopáticos. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo.

Buono, R. A., Oliveira, A. B., & Paiva, E. A. S. (2008). Anatomy, Ultrastructure and Chemical Composition of Food Bodies of *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae). *Annals of Botany*, 101, 1341-1348.

Callaway, R. M., & Aschehoug, E. T. (2000). Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science*, 290, 521-523.

Callaway, R. M., & Ridenour, W. M. (2004). Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Biological Sciences Faculty Publications*, Paper 223.

Cappuccino, N., & Arnason, J. T. (2006). Novel chemistry of invasive exotic plants. *Biology letters*, 2, 189-193.

Carvalho, P. E. R. (1994). Ecologia, silvicultura e usos da uva-do-japão (*Hovenia dulcis* Thunberg). Colombo: Circular Técnica EMBRAPA Florestas, 23.

Carvalho, P. E. R. (2003). Espécies arbóreas brasileiras. (1st. ed.). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.

Chou, C. H., & Muller, C. H. (1972). Allelopathic Mechanisms of *Arctostaphylos glandulosa* var. *zacaensis*. *The American Midland Naturalist*, 88, 2, 324-347.

Conway, W. C., Smith, L. M., & Bergan, J. F. (2002). Potential allelopathic interference by the exotic Chinese Tallow Tree (*Sapium sebiferum*). *The American Midland Naturalist*, 148, 1, 43-53.

Dechoum, M. S., Zenni, R. D., Castellani, T. T., Zalba, S. M., & Rejmánek, M. (2015). Invasions across secondary forest successional stages: effects of local plant community, soil, litter, and herbivory on *Hovenia dulcis* seed germination and seedling establishment. *Plant Ecology*, 216, 823-833.

Dorning, M., Cipollini, D. (2006). Leaf and root extracts of the invasive shrub, *Lonicera maackii*, inhibit seed germination of three herbs with no autotoxic effects. *Plant Ecology*, 184, 287-296.

Einhellig, F. A. (1995). Allelopathy: Current Status and Future Goals. In Inderjit, K. M. M. Dakshini & F. A. Einhellig (Eds.), *Allelopathy: Organisms, Processes and Applications* (pp. 1-24). Washington:

- American Chemical Society. 181, 153-165.
- Ferreira, A. G., & Aquila, M. E. A. (2000). Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 12, 175-204.
- Gentle, C.B. & Duggin, J. A. (1997). Allelopathy as a competitive strategy in persistent thickets of *Lantana camara* L. in three Australian forest communities. *Plant Ecology*, 132, 85-95.
- Grove, S., Haubensak, K. A., & Parker, I. M. (2012). Direct and indirect effects of allelopathy in the soil legacy of an exotic plant invasion. *Plant Ecology*, 213, 1869-1882.
- Hierro, J. L., & Callaway, R. M. (2003). Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil*, 256, 29-39.
- Hyun, T. K., Eom, S. H., Yu, C. Y., & Roitsch, T. (2010). *Hovenia dulcis* - an Asian traditional herb. *Planta Med*, 76, 943-949.
- Inderjit, & Callaway, R. M. (2003). Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant and Soil*, 256, 1-11.
- Jacobi, U.S., & Ferreira, A.G. (1991). Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. sobre espécies cultivadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26, 7, 935-943.
- Kageyama, P., & Gandara, F.B. (2000). Recuperação de áreas ciliares. In R. R. Rodrigues, & H. F. Leitão Filho (Eds). *Matas Ciliares: conservação e recuperação* (pp. 249-269). São Paulo: Edusp/Fapesp.
- Keeley, J. E. (1988). Allelopathy. *Ecology*, 69, 1, 292-293.
- Lazzarin, L. C., Silva, A. C., Higuchi, P., Souza, K., Perin, J. E., & Cruz, A. P. (2015). Invasão biológica por *Hovenia dulcis* Thunb. em fragmentos florestais na região do Alto Uruguai, Brasil. *Revista Árvore*, 39, 6, 1007-1017.
- Lenzi, M., & Orth, A. I. (2004). Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anarcadiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Biotemas*, 17, 2, 67-89.
- Medeiros, A. C. S., & Zanon, A. (1998). Conservação de sementes de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* RADDI). Colombo: Boletim de Pesquisa Florestal, 36, 11-20.
- Orr, S. O., Rudgers, J. A. & Clay, K. (2005). Invasive plants can inhibit native tree seedlings: testing potential allelopathic mechanisms. *Plant Ecology*, 181, 153-165.
- Padilha, D. L., Loregian, A. C., Budke, J. C. (2015). Forest fragmentation does not matter to invasions by *Hovenia dulcis*. *Biodiversity and Conservation*, 24, 9, 2293-2304.
- Parepa, M., & Bossdorf, O. (2016). Testing for allelopathy in invasive plants: it all depends on the substrate! *Biological Invasions*, 18, 10, 2975-2982.
- Park, J. S., Kim, I. S., Rehman, S. U., Na, C. S., & Yoo, H. H. (2015). HPLC Determination of Bioactive Flavonoids in *Hovenia dulcis* Fruit Extracts. *Journal of chromatographic science*, 54, 2, 130-135.
- Peterson, B. G. & Carl, P. (2014). PerformanceAnalytics: Econometric tools for performance and risk analysis. R package version 1.4.3541. <https://CRAN.R-project.org/package=PerformanceAnalytics>
- Reigosa, M., Gomes, A. S., Ferreira, A. G., & Borghetti, F. (2013). Allelopathic research in Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 27, 4, 629-646.
- Rice, E. L. (1984). Allelopathy. (2nd ed.). New York: Academic Press.
- Rietveld, W. J., Schlesinger, R. C., & Kessler, K. (1983). Allelopathic effects of Black Walnut on European Black Alder coplanted as a nurse species. *Journal of Chemical Ecology*, 9, 8, 1119-1133.
- Rizvi, S. J. H., Haque, H., Singh, V. K. & Rizvi, V. (1992). A discipline called allelopathy. In S. J. H. Rizvi & V. Rizvi (Eds.), *Allelopathy: basic and applied aspects* (pp. 1-10.). London: Chapman & Hall.
- Schaff, L. B., Filho, A. F., Galvão, F., Sanquetta, C. R., & Longhi, S. J. (2006). Modificações florístico-estruturais de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista Montana no período de 1979 e 2000. *Ciência Florestal*, 16, 3, 271-291.
- Schmidt, A. D.; Castellani, T. T.; Dechoum, M. S. (2020). Biotic and abiotic changes in subtropical seasonal deciduous forest associated with invasion by *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae). *Biological Invasions*, 22, 293-306.
- Siminski, A., Fantini, A. C., Guries, R. P., Ruschel, A. R., & Reis, M. S. (2011). Secondary Forest Succession in the Mata Atlantica, Brazil: Floristic and Phytosociological Trends. *ISRN Ecology*, Article ID 759893, 19 pages.
- Stowe, L. G. (1979). Allelopathy and its Influence on the Distribution of Plants in an Illinois Old-Field. *Journal of Ecology*, 67, 3, 1065-1085.

- Therneau, T. M., & Grambsch, P. M. (2000). Modeling Survival Data: Extending the Cox Model. New York: Springer. ISBN 0-387-98784-3.
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). Modern Applied Statistics with S (Fourth Edition). New York: Springer. ISBN 0-387-95457-0.
- Vibrans, A. C., Sevegnani, L., Gasper, A. L., & Lingner, D. V. (2012). Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina - Floresta Estacional Decidual. Vol 2. Blumenau: Edifurb, 336p.
- Wandscheer, A. C. D., Borella, J., Bonatti, L. C., & Pastorini, L. H. (2011). Atividade alelopática de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). Acta Botanica Brasilica, 25, 1, 25-30.
- Warren II, R. J., Labatore, A., Candeias, M. (2017). Allelopathic invasive tree (*Rhamnus cathartica*) alters native plant communities. Plant Ecology, 218, 10, 1233-1241.