

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**

CÍNTIA SILVA BEAUVALET MOSTARDEIRO

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DAS ACÍCULAS DE *PINUS TAEDA* L. SOBRE
ESPÉCIES CAMPESTRES**

Porto Alegre

2015

CÍNTIA SILVA BEAUVALET MOSTARDEIRO

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DAS ACÍCULAS DE *PINUS TAEDA* L. SOBRE
ESPÉCIES CAMPESTRES**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Ecologia na
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Luiz Gonçalves
Soares

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Mostardeiro, Cintia Silva Beauvalet
Potencial Alelopático das acículas de Pinus taeda
sobre espécies campestres / Cintia Silva Beauvalet
Mostardeiro. -- 2015.
58 f.
Orientador: Geraldo Luiz Gonçalves Soares.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa
de Pós-Graduação em Ecologia, Porto Alegre, BR-RS,
2015.

1. Pinus taeda. 2. Fitotoxidez. 3. Potencial
alelopático. 4. Acículas. 5. Serapilheira. I. Soares,
Geraldo Luiz Gonçalves, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade.

À CAPES pela concessão da bolsa durante o curso de pós-graduação.

Ao Geraldo L. G. Soares, pela orientação, incentivo e amizade durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos componentes da banca examinadora, pela participação desta defesa e pelas sugestões e recomendações.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Química e Quimiotaxonomia, pela ajuda nos experimentos. Em especial à Eliane da Silva, pelo indispensável apoio, tanto na elaboração do Projeto, quanto no seu desenvolvimento. Obrigada pela troca de ideias, e por sempre estar disponível para me auxiliar.

À Joséli Schwambach, pelo apoio intelectual e em campo.

Aos demais professores e colegas do curso de pós-graduação do PPG Ecologia. Agradecimento especial à Camila Dias, pela amizade.

À empresa Tunas Altas Reflorestamento, por ceder a área para coleta de material.

A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado, em especial à minha família e amigos. Agradeço à minha mãe Assunção pelo apoio e dedicação e ao meu marido Yuri pela compreensão e carinho.

MUITO OBRIGADA

RESUMO

Pinus taeda é uma espécie arbórea exótica comum na região sul do Brasil. Dentre seus metabólitos secundários destacam-se os derivados fenólicos que são potenciais aleloquímicos pela sua alta solubilidade em água e capacidade de inibir o desenvolvimento de outras espécies vegetais. O sucesso desta espécie como planta invasora em formações vegetais campestres tem sido relacionado aos efeitos fitotóxicos das substâncias aleloquímicas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a fitotoxidez e assim inferir sobre o potencial alelopático de extratos aquosos de *P. taeda* sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de espécies (uma nativa e três exóticas) ocorrentes nos Campos Sulinos. Os efeitos de diferentes concentrações dos extratos aquosos de acículas (frescas ou da serrapilheira) obtidas em plantios de quatro e 33 anos de idade foram testados sobre *Paspalum notatum*, *Eragrostis plana*, *Trifolium repens* e *Lotus corniculatus*. Também foram avaliados os métodos de processamento do material vegetal para a extração com água. Os resultados mostraram que os extratos de *Pinus taeda* foram fitotóxicos sobre as quatro espécies receptoras, e as respostas variaram com o estado da acícula, modo de processamento, concentração dos extratos e idade da planta fonte das acículas. As monocotiledôneas receptoras foram mais sensíveis aos extratos aquosos de acículas verdes de plantas mais velhas, enquanto que as leguminosas receptoras foram mais sensíveis aos extratos de acículas verdes oriundas de plantas de quatro anos. De maneira geral, os extratos de acículas oriundas da serrapilheira exibiram baixa fitotoxidez, havendo pouca evidência de potencial alelopático para *Pinus taeda*, considerando essa via de liberação de aleloquímicos.

PALAVRAS-CHAVE: *Pinus taeda*, Fitotoxidez, Potencial alelopático, Acículas, Serrapilheira, Extratos aquosos.

ABSTRACT

Pinus taeda is an exotic tree very common in Southern Brazil. Among its secondary metabolites, phenolic derivatives are potentially allelochemicals due the water solubility and capacity to inhibit the development of other plant species. The success of *P. taeda* as invasive species on grasslands has been related to phytotoxic effects from its allelochemicals substances. The aim of this research was evaluate the phytotoxicity, meanwhile interfering over its allelopathic potential of aqueous extracts from *P. taeda* on germination and early growth of four species (one native and three exotics) which occurs in Campos Sulinos. During laboratory essays, aqueous extracts of needles (fresh or from litters) obtained from four and 33 years old trees has been tested on *Paspalum notatum*, *Eragrostis plana*, *Trifolium repens* and *Lotus corniculatus*. It also has been evaluated the processing methods of plant before extraction. The results showed that extracts of *Pinus taeda* were phytotoxic on the four receptor-species and the responses vary with the state of needles (green or from litter), processing mode, extracts concentration and age of the plant source of needles. The grasses were more sensitive to aqueous extracts of green needles from younger plants, while leguminous species were more sensitive to aqueous extracts of green needles derived from 33 years old plants. In general, extracts of needles from litters showed low phytotoxicity, and there is little evidence of allelopathic potential of *P. taeda*, considering this route of allelochemicals release.

KEYWORDS: *Pinus taeda*, Phytotoxicity, Allelopathic potencial, Needles, Aqueous extracts.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Plantio comercial de *P. taeda* em Caxias do Sul. A) Acículas frescas. B) Acículas da serapilheira.....26
- Figuras 2** – Acículas de *P. taeda*. A) Acículas cortadas oriundas da serapilheira. B) Acículas trituradas oriundas da serapilheira. C) Acículas frescas cortadas. D) Acículas frescas trituradas.....27
- Figuras 3** – Método de extração por maceração a quente. A) Material vegetal imerso em água a 60°C por 1 hora em placa de aquecimento. B) Solução estoque de extrato aquoso filtrada em papel filtro.....28
- Figuras 4** – Bioensaios de avaliação do efeito dos extratos sobre: A) velocidade de germinação e taxa de germinação das sementes. B) crescimento de plântulas pré-germinadas.....30
- Figura 5** - Representação dos tratamentos com quatro repetições cada.....31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Descrição dos tratamentos, idade da planta doadora, estado de material vegetal, modo de processamento e concentrações dos extratos aquosos (p/v)29
- Tabela 2** - Valores médios dos parâmetros germinação total de sementes e índice de velocidade de germinação (IVG) observados nas espécies-receptoras submetidas ao tratamento controle (água destilada). Os valores estão expressos como média±desvio padrão, n = 4..... 32
- Tabela 3** - Efeito (% em relação ao tratamento controle) na taxa de germinação de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações de extratos de acículas de *Pinus taeda*. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.33
- Tabela 4** - Efeito (% de diferença em relação ao tratamento controle) no índice de velocidade de germinação de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT),

provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.36

Tabela 5 - Valores médios dos parâmetros crescimento da parte aérea e crescimento da raiz observados nas espécies-receptoras submetidas ao tratamento controle (água destilada). Os valores estão expressos como média±desvio padrão, n = 4.....37

Tabela 6 - Efeito (% de diferença em relação ao tratamento controle) no crescimento inicial da parte aérea de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.38

Tabela 7 - Efeito (% de diferença em relação ao tratamento controle) no crescimento inicial da raiz de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.41

Tabela 8 - Variação do efeito alelopático do extrato de acículas frescas trituradas em função da idade das plantas fonte de acículas. Os valores estão expressos como média±desvio padrão, n = 4.....42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	9
1.1 Objetivo geral	15
1.2 Objetivos específicos	15
1.3 Hipóteses	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Plantas invasoras	16
2.2 Alelopatia	17
2.3 Espécie doadora (<i>Pinus taeda</i> L.)	19
2.4 Invasão Biológica nos Campos Sulinos	21
2.4.1 <i>Paspalum notatum</i> Flüge	22
2.4.2 <i>Eragrostis plana</i> Nees	23
2.4.3 <i>Trifolium repens</i> L.	24
2.4.4 <i>Lotus corniculatus</i> L.	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Coleta de acículas de <i>P. taeda</i>	26
3.2 Preparo dos extratos aquosos	27
3.3 Bioensaios	29
3.4 Análises estatísticas	31
4. RESULTADOS	32
4.1 Ensaios de Germinação	32
4.1.1 Taxa de Germinação	32
4.1.2 Velocidade de Germinação	35
4.2 Ensaio de crescimento inicial	37
4.2.1 Crescimento inicial da parte aérea	38
4.2.2 Crescimento inicial da Raiz	39
4.3 Influência da idade da planta fonte das acículas	42
5. DISCUSSÃO	43
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
7. REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO GERAL

A alelopatia pode ser um mecanismo importante para o sucesso de plantas invasoras, contribuindo com a capacidade de espécies exóticas se tornarem dominantes em comunidades invadidas (Hierro e Callaway, 2003). A invasão biológica é caracterizada pela introdução, estabelecimento e dispersão de uma espécie exótica em ecossistemas naturais ou manejados pelo homem, de forma que passa a dominar o ambiente e causar danos às espécies originais e ao próprio funcionamento do ecossistema (Parker et al., 1999; Mack et al. 2000). O processo de invasão biológica depende, de modo geral, de características ligadas ao aumento do sucesso nas fases de introdução e estabelecimento no novo ambiente e de vantagens na competição com as espécies nativas. Além da competição por luz, água e nutrientes, que contribui para a sobrevivência das espécies no ecossistema, as interações entre espécies invasoras e nativas também podem ocorrer através da alelopatia. Esse fenômeno se baseia na síntese de determinados metabólitos secundários liberados no ambiente por uma espécie vegetal e que irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta (Rice, 1984).

Estas substâncias são denominadas aleloquímicos e podem apresentar ação direta ou indireta sobre a planta alvo. Os efeitos diretos são os mais estudados, e compreendem alterações celulares e metabólicas, agindo diretamente sobre a germinação, desenvolvimento ou crescimento de plantas (Rizvi et al. 1992; Reigosa et al. 1999).

A alelopatia porém, pode ser confundida com competição. Esta também reduz ou remove do ambiente um fator de crescimento necessário a ambas as plantas (ex. luz, água, nutrientes), o que torna a diferenciação entre essas interações difícil a nível de campo, pois não há como observar se a dominância de uma espécie é devida à competição ou à alelopatia

Para que o efeito alelopático de uma planta seja comprovado, é preciso que um inibidor químico esteja sendo produzido, que ocorra numa concentração potencialmente efetiva no ambiente, e que a inibição não possa ser determinada apenas por outros fatores bióticos e abióticos (Whittaker e Freeny, 1971).

Espécies caducifólias apresentam a característica de depositar grandes quantidades de biomassa no solo, chamada serapilheira. A serapilheira é um componente importante dentro de um ecossistema florestal, pois responde pela ciclagem de nutrientes, além de diminuir a variação de fatores como umidade e temperatura do solo. Porém, esta matéria depositada no solo pode agir como fonte de liberação de produtos do metabolismo secundário da planta. Por outro lado, a serapilheira pode exercer um efeito mecânico negativo sobre as plântulas,

funcionando como uma barreira física, impossibilitando a radícula de atingir o solo ou impedindo que plântulas consigam emergir após a germinação (Chambers e Macmahon, 1994).

Pinus, gênero nativo do Hemisfério Norte, reúne as espécies mais importantes para a silvicultura nos trópicos e subtropicais (Richardson, 1998). Diversos estudos apontam que espécies de *Pinus* tem efeito alelopático, inclusive *Pinus taeda* L. (Hisashi et al., 2009; Fernandez et al., 2006; Kennedy et al., 2011), uma das mais cultivadas em plantios de florestas comerciais no estado do Rio Grande do Sul. Suas folhas apresentam formato de agulhas e por isso chamadas de acículas. São árvores perenes, e suas acículas são persistentes, permanecendo na planta durante cerca de três a quatro anos, o que acarreta o acúmulo de serapilheira com o aumento da idade da floresta. Além disso, nos plantios comerciais, há a deposição de acículas no solo devido ao manejo de corte dos galhos, associada ao grande número de indivíduos/área, resultando em grande quantidade de biomassa no solo, a qual pode agir como fonte de liberação de terpenoides e de derivados fenólicos. Os ácidos fenólicos são potenciais aleloquímicos devido a sua alta solubilidade em água e propriedades químicas (principalmente relacionadas a formação de ligações de hidrogênio e outros tipos de ligações fracas com constituintes polares) que favorecem a interferência sobre o crescimento vegetal (Inderjit, 1996).

Essa interferência alelopática desempenha importante papel na dominância, sucessão e formação de comunidades vegetais (Chou, 1999), podendo ser percebida em ecossistemas florestais de todo o mundo (Blanco, 2007), além de ser uma estratégia de colonização de muitas plantas exóticas sobre a comunidade natural (Hierro e Callaway 2003). Para alguns autores, ecossistemas de florestas de coníferas exercem forte influência alelopática. Kil e Yim (1993) relataram que substâncias tóxicas liberadas a partir de *Pinus densiflora* inibiam a germinação de sementes e o crescimento de outras espécies na floresta, resultando em sub-bosque com baixa riqueza de espécies. Nesse sentido, o efeito alelopático das acículas de *Pinus* spp. depositadas no solo pode agir como um impeditivo para a recuperação de áreas de plantios comerciais da espécie após o corte raso, uma vez que a presença de aleloquímicos no solo pode interferir na sucessão vegetal que promove a estrutura da floresta, ou ainda na produtividade agrícola (Einhellig, 1996; Chou, 1999), caso seja esse o uso posterior do solo. De alguma forma, as acículas de *Pinus* parecem exercer um efeito de inibição sobre as espécies que participam dos estágios iniciais da sucessão após uma perturbação, e este efeito dificulta o processo de restauração.

Além disso, outro fator que prejudica este processo é a regeneração do *Pinus*. Após o corte raso das florestas, a regeneração espontânea do *Pinus*, a partir da germinação de sementes

anteriormente depositadas no solo, é bastante intensa. Nos Estados Unidos, de acordo com Dougherty e Duryea (1991), a quase totalidade das florestas de *Pinus* em segunda e terceira rotação tiveram como origem a regeneração natural. O problema é que a regeneração não permanece restrita a área dos talhões, sendo que, geralmente, há regeneração também nas áreas adjacentes aos plantios, constituindo processos de invasão, muitas vezes em áreas protegidas.

Segundo Zalba et al. (2007), o gênero *Pinus* apresenta algumas das espécies com maior potencial de invasão de ambientes naturais. No hemisfério Norte há invasões de *Pinus* spp. em ambientes naturais na China, Estados Unidos, Filipinas, França, Índia, Israel e Nepal (Richardson e Higgins, 1998), porém, a contaminação biológica por espécies deste gênero ocorre principalmente no Hemisfério Sul (Rejmanek e Richardson, 1996). O primeiro registro de regeneração natural intensa de espécies do gênero *Pinus*, com possível caráter invasor, foi de *Pinus halepensis* na África do Sul, em 1855, cerca de 25 anos após sua introdução ao país (Shaughnessy, 1986). Também na África do Sul, em 1890, foi registrada a invasão de *Pinus pinaster* (Richardson e Higgins, 1998). Neste país, milhares de hectares foram dominados por invasão de espécies de *Pinus*, onde foi verificada redução de biodiversidade e ameaça de extinção de várias espécies (Richardson et. al, 1992). Na Austrália, em 1911, *Pinus pinaster* foi plantada de forma experimental visando a produção de madeira, porém os plantios não se mostraram viáveis. Como não houve remoção das plantas, a espécie se espalhou, invadindo cerca de 2300 hectares de vegetação florestal, nos quais está sendo realizado atualmente controle de invasão com queimadas periódicas (Corbett, 1991). Também na Austrália, florestas naturais de *Eucalyptus* foram invadidas por plantações de *Pinus radiata* localizadas a 1,5 km de distância (Chilvers e Burdon, 1983). Na Nova Zelândia são citadas treze espécies invasoras de *Pinus*, tendo este país o maior número de invasoras do gênero (Richardson e Higgins, 1998).

Árvores de *Pinus* spp conseguem escapar de plantios e invadir áreas naturais, especialmente formações vegetacionais abertas, como ecossistemas arbustivos ou campos (Richardson e Higgins, 1998). Na Argentina, num período de 60 anos, a população de *P. halepensis* aumentou sua área de ocupação em vinte vezes, acarretando a redução da riqueza e diversidade de plantas nativas em vegetação campestre de pampas em áreas protegidas (Zalba et. al, 2000). Nos campos do planalto do Rio Grande do Sul, onde extensas áreas de campos naturais foram transformadas em plantações de *Pinus* spp, a invasão dessas espécies tem sido observada em áreas de campo nativo vizinhas (Overbeck et al, 2007).

Por outro lado, tem sido estudado o uso de espécies florestais exóticas de rápido crescimento, como *Pinus* spp., atuando como facilitadoras em processos de regeneração natural

(Lugo, 1992; Fimbel e Fimbel, 1996; Geldenhuys, 1997; Keenan et al., 1997; Ashton et al., 1997; Oberhauser, 1997; Arévalo e Fernández-Palacios, 2005; Shibayama et al., 2006). Estas espécies desempenhariam no sistema o mesmo papel desempenhado por espécies pioneiras sob condições naturais (Silva Júnior et al., 1995), promovendo alterações ambientais positivas, como redução da luminosidade (Ashton et al. (1997), acúmulo de biomassa e ciclagem de nutrientes (Fimbel e Fimbel, 1996), favorecendo assim, o estabelecimento de espécies nativas no sub-bosque em etapas posteriores (Lugo, 1992).

Portanto, a relação entre a deposição de acículas no solo e o sucesso de *Pinus* spp. como espécie invasora não está clara. A deposição de acículas pode produzir um efeito inibitório sobre a vegetação do sub-bosque através da liberação de substâncias do metabolismo secundário, porém, pode ter um efeito negativo que não é alelopático. Quando muito espessa, a serapilheira pode atuar como barreira física ao estabelecimento inicial de determinadas espécies, conforme explicado anteriormente. Em contrapartida, estudos citados demonstram que o caráter pioneiro da espécie pode favorecer o estabelecimento de espécies nativas no sub-bosque de plantios de *Pinus*, o que pode enfraquecer a hipótese de que esta espécie cause inibição da vegetação nativa através de alelopatia.

Em estudos de atividade alelopática de metabólitos secundários, procura-se testar o efeito de uma planta doadora sobre uma planta receptora e utiliza-se como ferramenta inicial os ensaios de fitotoxidez. Nesses bioensaios, se avalia principalmente o comportamento germinativo e crescimento inicial de uma espécie vegetal sob a ação de aleloquímicos. Porém, resultados de fitotoxidez não são evidências de interferência alelopática em ambientes naturais, pois podem superestimar o potencial alelopático da espécie (Hierro e Callaway, 2003). Nesses estudos, as substâncias fitoquímicas são obtidas por meio de processos químicos e físicos que tem por objetivo maximizar a solubilidade das substâncias e extração dos tecidos da planta. Sabe-se que praticamente qualquer planta é capaz de causar efeitos tóxicos a outras espécies em concentrações elevadas de fitoquímicos (Harper, 1994), porém apenas os compostos liberados a partir da planta para o ambiente estão disponíveis para exercer um efeito alelopático sobre outro organismo. Devido a água ser o único solvente presente na natureza, a maior parte dos aleloquímicos é liberada no ambiente na forma de solutos aquosos, por isso, deve-se dar preferência à água como solvente utilizado no preparo dos extratos de material vegetal (Schmidt, 1990), visto que a extração com solventes orgânicos poderia liberar substâncias ou concentrações dessas que não ocorreriam em condições naturais (Inderjit e Dakshini, 1995).

Além disso, seus efeitos são testados em uma ou poucas espécies, geralmente espécies cultivadas que não ocorrem no mesmo ambiente que *Pinus* spp, devido à germinação rápida e homogênea e a viabilidade alta das sementes, que são características úteis para bioensaios (Reigosa et al., 2013). Uma alternativa a isso é a busca de espécies receptoras que coocorram com a espécie doadora que se suspeita possuir efeito alelopático. Desta maneira, os testes de fitotoxidez podem prever de maneira mais acurada esse fenômeno químico-ecológico. De toda forma, testes de fitotoxidez são importantes na pesquisa de produtos naturais com potencial herbicida (Macias et al., 2000).

De fato, um dos aspectos que mais exerce influência nos resultados de ensaios de fitotoxidez é a planta receptora. As espécies exóticas cultivadas, como alface e cebola, frequentemente utilizadas nos ensaios de fitotoxidez, podem ser mais sensíveis a alguns aleloquímicos (Inderjit e Nilsen 2003), além de não representarem a vegetação que ocorre junto à espécie estudada. Quando uma planta é exposta a qualquer condição de estresse, como a presença de aleloquímicos no solo, durante um longo período, isso permite a evolução de mecanismos que tornam a planta tolerante ao fator de estresse (Reigosa et al., 2002; Ridenour e Callaway, 2004). Assim, os resultados de estudos com plantas cultivadas são importantes para se entender a fitotoxidez das substâncias, mas pouco representam os fenômenos que ocorrem em ambientes naturais, e não devem ser usados para explicar padrões de dominância e de invasão de uma planta em um ecossistema.

É comum em trabalhos referentes aos efeitos fitotóxicos de *Pinus* spp o uso de métodos que superestimam as concentrações das substâncias no ambiente natural e subestimam a resistência das espécies aos aleloquímicos. Nesses estudos as substâncias são extraídas de acículas frescas, retiradas da planta, embora o efeito alelopático que possa ocorrer seja principalmente através das acículas depositadas na serapilheira, que podem ter concentrações diferentes de fitoquímicos. Sartor et al. (2009) observaram menor velocidade de germinação de *Avena strigosa* em extrato aquoso de acícula verde de *P. taeda*, e nenhum efeito quando com extrato de acícula seca (senescida ou no formato de serrapilheira).

Além disso, a fitotoxidez de uma planta pode variar de acordo com a idade da planta doadora (Inderjit e Asakawa, 2001). Fernandez et al. (2006) avaliaram os efeitos alelopáticos de extratos de raízes e de acículas de *Pinus halepensis* de três diferentes idades (± 10 , ± 30 e > 60 anos) sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e de *Linum strictum* L. O efeito inibitório dos extratos variou com a idade da planta doadora. Os menores índices de germinação foram obtidos com uso dos extratos de acículas de plantas mais jovens, e com extratos de raízes

de plantas mais velhas. Estes resultados foram atribuídos a maior concentração de compostos fenólicos presentes nas acículas de pinheiros jovens e nas raízes de pinheiros mais velhos. Para Vyvyan (2002), o potencial efeito alelopático de *P. halapensis* é expresso através de lixiviados das acículas na fase inicial após o estabelecimento da planta, enquanto, em estágios sucessionais posteriores, seria expresso principalmente através de exsudados radiculares (Fernandez et al., 2006), o que demonstra a importância de se avaliar o efeito da idade da planta na sua fitotoxidez.

No presente estudo foi testado o potencial alelopático tanto de acículas frescas, quanto de acículas da serapilheira de plantios de *P. taeda*, e a extração das substâncias foi realizada utilizando água como solvente. Como espécies-receptores optou-se por utilizar representantes de gramíneas e leguminosas herbáceas, selecionadas devido à ocorrência em áreas invadidas por *P. taeda*, facilidade na obtenção de sementes e germinação rápida e homogênea. Assim, foram selecionadas as gramíneas *Paspalum notatum* Flüge, nativa no Rio Grande do Sul e *Eragrostis plana* Nees, uma exótica, porém naturalizada nos campos sulinos (Rolim et al., 2015). As leguminosas selecionadas foram *Trifolium repens* L. e *Lotus corniculatus* L., exóticas que são sobressemeadas nos campos.

Diante do exposto sobre os possíveis efeitos da deposição de acículas de *P. taeda* no desenvolvimento da vegetação do sub-bosque de plantios, considerando que já foram relatados efeitos negativos e também positivos, e, considerando ainda a importância dos processos invasivos de *P. taeda* em ambientes naturais, principalmente campestres, e o desconhecimento da sua atividade alelopática sobre espécies ocorrentes nesses ambientes, foram levantadas as seguintes questões:

Pinus taeda interfere na germinação e crescimento inicial de espécies vegetais que ocorrem nos Campos Sulinos?

O estado de conservação das acículas (secas, oriundas da serapilheira, ou frescas) interfere na fitotoxidez de extratos aquosos de *P. taeda*?

O modo de processamento das acículas (cortadas ou trituradas) interfere na fitotoxidez de extratos aquosos de *P. taeda*?

A idade das plantas fonte das acículas interfere na fitotoxidez dos extratos aquosos?

1.1 Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial alelopático de substâncias hidrossolúveis das acículas de *P. taeda* sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas de espécies campestres ocorrentes nos Campos Sulinos.

1.2 Objetivos específicos

- Avaliar a fitotoxidez dos extratos aquosos de acículas secas, oriundas da serapilheira, e de acículas frescas de plantios de *P. taeda* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial das gramíneas *Paspalum notatum* e *Eragrostis plana*, e das leguminosas *Lotus corniculatus* e *Trifolium repens*.
- Avaliar se o método de processamento das acículas (corte ou trituração) interfere nos resultados dos ensaios de fitotoxidez.
- Testar o efeito de diferentes concentrações dos extratos (25, 50, 75 e 100%)
- Avaliar a variação dos efeitos sobre as espécies-receptoras de acordo com a idade das plantas fonte das acículas (quatro ou 33 anos).

1.3 Hipóteses

- O efeito inibitório dos extratos de acículas frescas sobre a germinação e o desenvolvimento inicial das plantas receptoras é maior do que o dos extratos de acículas secas, oriundas da serapilheira.
- Quanto mais processadas as acículas, maior o efeito fitotóxico dos extratos.
- Quanto maior a concentração dos extratos aquosos, maior o efeito fitotóxico.
- A fitotoxidez dos extratos de acículas de plantas de quatro anos é maior do que a dos extratos de acículas de plantas de 33 anos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas invasoras

De acordo com a União Internacional para Conservação da Natureza (The World Conservation Union – IUCN), a invasão biológica já é considerada a segunda principal causa da perda de biodiversidade no mundo, perdendo apenas para a destruição de ambientes naturais pela exploração humana direta, e a primeira causa mundial de extinção de biodiversidade em ilhas e áreas protegidas. A invasão biológica é caracterizada pelo estabelecimento de uma espécie animal ou vegetal exótica em ecossistemas naturais ou manejados pelo homem, que passa a se disseminar e a exercer processos de dominância sobre a biodiversidade nativa (Parker et al., 1999; Mack et al. 2000).

Em 1859, Charles Darwin já havia chamado atenção para o crescimento de espécies exóticas em ambientes naturais e sobre o problema que poderiam causar (Rejmanek, 1996). Contudo, foi em 1958 que este ramo da Ecologia se consolidou com a publicação de “A Ecologia das Invasões”, onde Charles Elton adverte para a necessidade de se conhecer melhor essas espécies e estabelecer estratégias de controle (Richardson et al., 2000). Nas últimas décadas, várias teorias tem sido propostas para explicar os processos de invasão, baseando-se em características tanto das espécies quanto dos ambientes invadidos (Vermeij, 1996; Williamson e Fitter, 1996; Mack et al., 2000; Davis e Thompson, 2000; Rejmanák e Richardson, 1996; Richardson et al., 2000; Kolar e Lodge, 2001; Sakai et al. 2001). Identificar os fatores determinantes do estabelecimento de populações de espécies introduzidas em um novo ambiente é essencial para estabelecer estratégias de manejo (Kolar e Lodge, 2001).

Geralmente, o processo de invasão é analisado por meio de duas abordagens diferentes. Uma busca compreender o que torna determinados ambientes mais vulneráveis à invasão, e a outra estuda as características biológicas e ecológicas das espécies invasoras. Alguns ambientes são aparentemente mais suscetíveis à invasão do que outros. A ocorrência de distúrbios no ambiente invadido é bastante citada como um fator facilitador de invasões biológicas (Lodge, 1993; Burke e Grime, 1996). Distúrbios liberam oportunidades de nichos e aumentam a disponibilidade de recursos, reduzindo a competição das espécies exóticas com as espécies nativas, permitindo o estabelecimento destas (Mack et al., 2000, Sakai et al., 2001). O isolamento geográfico e histórico e a baixa diversidade de espécies nativas também são características de ambientes suscetíveis à invasão. Outra teoria para o sucesso de espécies invasoras é a “hipótese da fuga dos inimigos naturais”. A teoria defende que nos ambientes

invasão das espécies exóticas estão livres de seus inimigos co-adaptados, incluindo competidores, predadores, parasitas e doenças, estando aptos a utilizar todo seu potencial competitivo (Darwin, 1859; Elton, 1958; Gillet, 1962; Williams, 1954, *apud* Hierro e Calaway, 2003). No entanto, há poucas razões para se pensar que plantas introduzidas se beneficiam da fuga dos inimigos (Maron e Vila, 2001). A falta de evidências diretas que sustentem esta hipótese (Daehler e Strong, 1997; Willis et al., 1999; Maron e Vila, 2001) indicam que outros mecanismos devem estar envolvidos no sucesso das plantas invasoras.

O processo de invasão de uma espécie num ambiente novo depende, de modo geral, de características ligadas ao aumento do sucesso nas fases de introdução e estabelecimento no novo ambiente e de vantagens na competição com as nativas. O processo de invasão começa com o transporte de indivíduos de sua região nativa para novas localidades, sendo o homem o principal agente dispersor dessas espécies (Cassey et al., 2005). O sucesso na introdução está ligado à pressão de propágulos, portanto, quanto maior o número de propágulos, maior a probabilidade da espécie se tornar invasora (Collautti et al., 2006). Plantas que se tornam invasoras geralmente apresentam características que as tornam melhores competidoras e que são apontadas como responsáveis pelo poder de invasão (Williamson e Fitter, 1996). Uma espécie invasora é, de modo geral, uma espécie generalista, com alta eficiência fotossintética e no uso de nutrientes, que produz grande quantidade de sementes, tendo o vento como principal dispersor ou apresenta reprodução assexuada bem desenvolvida, tem crescimento rápido, maturação precoce, e é bem adaptada a áreas degradadas (Rejmanák e Richardson, 1996; Williamson e Fitter, 1996).

2.2 Alelopatia

Diversas restrições ecológicas podem dificultar a germinação e o desenvolvimento das plântulas. Esses fatores podem ser abióticos, como temperatura, disponibilidade de água, características do solo, ou bióticos, como pisoteio, pastejo do gado, competição, herbivoria e alelopatia (Becker et al, 2006).

O primeiro registro sobre a capacidade que certas espécies vegetais possuem de interferir na fisiologia de outras plantas foi descrito por Democritus (500 a.C.) e, posteriormente por Theophrastus (300 a.C.). Ambos expuseram que plantas de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) não revigoravam o solo como outras plantas, ao contrário, o exauria e, ao mesmo tempo, destruía as plantas invasoras (Rice, 1984). No século XIX, De Candolle verificou que os

aspectos químicos e biológicos dos solos decorrente da monocultura, durante anos seguidos, era causado pelo acúmulo de algumas substâncias exsudadas pelas plantas, que passavam a afetar o próprio desenvolvimento (Rice, 1984), e então expôs a primeira teoria sobre essa interferência. A teoria dizia que raízes de plantas teriam além da função de absorção, a de excreção, e que essas excretas seriam tóxicas, afetando o próprio desenvolvimento (Rice, 1984). Essa teoria foi contestada e aos poucos foi sendo abandonada, à medida que surgiram estudos sobre plantas produzirem substâncias químicas prejudiciais às outras. Já no século XX, em 1909, Schreiner e Shorey comprovaram a existência de toxinas em solos antes cultivados e deixados em pousio (Almeida, 1990).

Em 1937, o pesquisador alemão Hans Molisch sugeriu pela primeira vez o termo alelopatia, a partir da união das palavras *allelon* e *pathos*, que significam, respectivamente, mútuo e prejuízo. Segundo Molisch, alelopatia é a capacidade de as plantas, superiores ou inferiores, produzirem substâncias químicas que liberadas no ambiente influenciam de forma favorável ou desfavorável o desenvolvimento de outras (Molisch, 1937 *apud* Rice, 1984). Rice (1984) propôs uma definição mais abrangente do termo, considerando tanto efeito direto quanto indireto, danoso ou benéfico que uma planta (ou microrganismo) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente. Para Lambers et al. (1998), alelopatia designa o efeito negativo de uma planta sobre o crescimento ou desenvolvimento de outra através da emissão de substâncias químicas no ambiente.

Estas substâncias produzidas por espécies vegetais são os aleloquímicos, distribuídos em todos os seus órgãos e liberados para o ambiente de diversas formas. Podem ser substâncias volatilizadas pela parte aérea, exsudadas pelas raízes, liberadas pela decomposição dos órgãos da planta ou por meio de chuvas, causando lixiviação desses compostos do extrato superior da planta ou da serapilheira para o solo (Rice, 1988). Os fatores ambientais podem influenciar o processo de liberação de aleloquímicos, e seus efeitos podem ser mais ou menos pronunciados e determinados pelas características de cada espécie e idade da planta (Sartor et al., 2009).

Os produtos químicos considerados como alelopáticos ultrapassam o número de 10 mil, agrupados em várias classes, de acordo com suas características. Estas substâncias dificilmente agem como fatores isolados, porém suas interações e ações sinérgicas somadas às condições ambientais propiciam a interferência alelopática (Almeida, 1988). As classes de substâncias mais comumente associadas aos efeitos alelopáticos são os ácidos fenólicos, cumarinas, terpenoides, alcaloides, glicosídeos cianogênicos, saponinas, taninos, quinonas complexas, flavonoides e o etileno (Rodrigues e Lopes, 2001; Souza e Furtado, 2002).

De acordo com o modo de ação dos aleloquímicos, pode-se dividi-los como de ação direta e indireta. Na ação direta ocorre absorção de aleloquímicos pelas células da planta receptora, havendo a interferência da fitotoxina com sistemas fisiológicos e/ou metabólicos. Na ação indireta há modificações nas propriedades do solo e nas suas condições nutricionais, e alterações de populações e/ou atividade dos microrganismos (Ferreira e Áquila, 2000). Os aleloquímicos podem interferir na germinação, dormência, biomassa e crescimento das plantas, além de afetar as estruturas citológicas e ultraestruturais; hormônios; membranas e sua permeabilidade; absorção de minerais; movimentos de estômatos; síntese de proteínas; atividade enzimática; relações hídricas e condução; material genético, induzindo alterações no DNA e RNA (Rizvi et al., 1992).

2.3 Espécie doadora (*Pinus taeda* L.)

O gênero *Pinus* pertence à família Pinaceae, ordem Coniferae, do grupo das Gymnospermae. Nativo do Hemisfério Norte, ocorre naturalmente da região polar até os trópicos, englobando os continentes da Europa, Ásia, América do Norte e Central, não ocorrendo naturalmente na América do Sul. Plantas do gênero *Pinus* caracterizam-se por serem tolerantes a temperaturas extremas e ao plantio em solos rasos e poucos produtivos, que, associadas ao rápido crescimento e fácil reprodução, o torna um dos gêneros mais importantes para a silvicultura nos trópicos e subtropicais (Richardson, 1998). Segundo Shimizu (2005), a região de ocorrência natural de *P. taeda* apresenta clima úmido, temperado-ameno, com verões quentes e longos. A precipitação média anual varia de 1.020 mm a 1.520 mm e o período livre de geadas varia de cinco meses na parte norte até dez meses na parte costeira sul. No Brasil, estas condições são encontradas em todo o planalto das regiões Sul e Sudeste que inclui as partes mais chuvosas do sul dos estados de São Paulo e Minas Gerais, e as partes serranas dos estados de Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul, incluindo os Campos de Cima da Serra.

Datam de 1906 as primeiras referências sobre a introdução de espécies de *Pinus* no Brasil (Lafgren *apud* Kronka et al., 2005), mas foi entre os anos de 1960 e 1970 que o gênero começou a ganhar destaque no Brasil devido a políticas de incentivos fiscais instituídas pelo governo federal em resposta a demanda por madeira para o setor industrial (Kronka et al., 2005). A boa adaptação às condições ambientais brasileiras, assim como seu crescimento rápido, suas dimensões homogêneas e suas diversas aplicações favoreceram o seu emprego no setor

madeireiro e nas indústrias de papel e celulose. Atualmente o Brasil apresenta grandes áreas de povoamento de *Pinus* spp, com destaque para a região sul, onde está localizada mais de 80% da área plantada com espécies do gênero no país (ABRAF, 2014). Devido a características como rápido crescimento e resistência a geadas, as duas espécies mais cultivadas do gênero no sul do país são o *Pinus taeda* e o *Pinus elliotti* (Shimizu, 2005).

Com plantas muito vantajosas em termos competitivos, o gênero *Pinus* representa algumas das espécies com o maior potencial de invasão de ambientes naturais (Zalba et al., 2008). Entre os principais aspectos que têm sido relacionados com o sucesso das invasões biológicas de *Pinus* estão a alta capacidade de produção de sementes e alta germinabilidade, pequenos intervalos de tempo entre safras de alta produtividade de sementes, períodos juvenis curtos, longo tempo de resistência das sementes nas áreas introduzidas, cultivo intensivo, além da efetiva dispersão de suas sementes (Higgins e Richardson, 1998). A fácil disseminação de suas sementes pelo vento ocorre devido ao seu tamanho diminuto e por apresentarem estruturas adaptadas, podendo se dispersar a 100 metros ou mais da planta mãe. Em um experimento realizado para avaliação de mecanismos envolvidos em dispersão de sementes anemocóricas, foi observada uma distância de dispersão para *Pinus taeda* de até 200 metros em uma área de floresta com densidade média de 311 árvores/ha (Nathan et al., 2002).

As plantas desse gênero apresentam concentrações elevadas de resinas e substâncias fenólicas, representando mecanismos de defesa vegetal contra ataque de patógenos e ferramentas empregadas no processo competitivo entre espécies (Manninem et al., 2002). Os ácidos fenólicos causam impactos nos processos de fotossíntese, síntese proteica, absorção mineral, síntese de clorofilas, e, sobretudo, alteram a permeabilidade das membranas e o balanço hídrico (Rice, 1984). Associadas a essas características, árvores de *Pinus* spp resultam na deposição de grandes quantidades de biomassa no solo, a qual pode agir como fonte de liberação das substâncias fenólicas das acículas, alterando as propriedades físicas e químicas do ambiente, o que pode interferir em outras espécies. Por outro lado, a deposição de acículas no solo pode atuar como barreira física ao estabelecimento inicial de determinadas espécies, dificultando a penetração de sementes, impossibilitando a radícula de atingir o solo ou impedindo que plântulas consigam emergir após a germinação (Chambers e Macmahon 1994), ocasionando também um efeito negativo, porém, não alelopático.

No Brasil, o *P. taeda* é conhecido popularmente como pinheiro-amarelo, pinheiro-rabo-de-raposa, pinheiro-do-banhado, pinus e pinho-amarelo (Lorenzi, et al., 2003). Segundo Marchiori (1996), as árvores alcançam 20m de altura e 100cm de D.A.P. (diâmetro a altura do

peito), com copa densa, ramos acinzentados e casca gretada. As folhas são aciculares, verde-escuras, reunidas em grupos de 3 por fascículo e medem 15 a 20 cm de comprimento. As sementes são pequenas (5mm), com asas de até 25 mm.

2.4 Invasão Biológica nos Campos Sulinos

Os Campos sulinos situam-se no bioma Pampa, onde correspondem à fisionomia vegetal característica, e no Bioma Mata Atlântica, associados às florestas de Araucária, formando extensos mosaicos de campo e floresta (Boldrini, 2009). As formações vegetais campestres são as paisagens dominantes no Rio Grande do Sul, ocupando atualmente cerca de 10,5 milhões de hectares (Overbeck et al., 2007). Esse tipo de formação se caracteriza pela presença de uma vegetação rasteira e pequenos arbustos distantes entre si. Sua diversidade vegetal é formada por cerca de 2.200 espécies campestres (Boldrini, 2009).

Frequentemente, os campos são diferenciados em campo limpo, onde prevalecem gramíneas (Poaceae) e ciperáceas, assim como muitas espécies herbáceas pertencentes a várias famílias botânicas, e campo sujo, onde além das gramíneas e herbáceas baixas ocorrem arbustos, principalmente da família Asteraceae (*Baccharis gaudichaudiana*, *B. uncinella*), e gravatás (*Eryngium spp.*; Apiaceae) (Klein 1978).

Além de seu papel importante para a pecuária, sendo principal fonte forrageira, o bioma Pampa garante serviços ambientais importantes, como a conservação de recursos hídricos e controle de erosão dos solos, disponibilidade de polinizadores, provimento de recursos genéticos, com o abrigo de alta biodiversidade, e beleza cênica com potencial turístico importante (Boldrini et al., 2010). Porém, esse tipo de formação vegetal está exposto a várias ameaças, entre elas a alteração da paisagem por meio da agricultura, pastoreio e plantio de extensas áreas de *Eucalyptus*, *Acacia* e *Pinus*.

A preservação deste ambiente tem recebido uma menor importância quando comparados com os demais biomas do país, e tem sido rotulado de bioma negligenciado (Overbeck et al., 2007) devido as ameaças e ao seu estado atual de conservação. Atualmente, a cobertura da vegetação campestre original do Rio Grande do Sul é de aproximadamente 64 mil km², isto é, 51 % da vegetação campestre original foram descaracterizadas com finalidade econômica e para urbanização (Boldrini, et al., 2010).

A expansão das plantações de árvores representa uma mudança drástica nas tendências de cultivo, na estrutura da paisagem e nos processos ecológicos, uma vez que gera uma fonte significativa de propágulos que, com frequência, resulta no estabelecimento de populações

espontâneas em remanescentes naturais (Zalba e Ziller 2008). Não são todas as espécies introduzidas que conseguem estabelecer populações auto-regenerativas e avançar sobre ambientes naturais ou semi-naturais e a maioria também não chega a causar impactos importantes, entretanto, as que têm êxito freqüentemente são responsáveis por profundas mudanças ambientais (Mooney et al. 1999). O avanço de espécies de árvores e arbustos invasores se destaca entre as principais ameaças para os ambientes de campos naturais, pois substituem rapidamente a vegetação local dos campos naturais, os quais são poucos ou nada tolerantes à sombra (Zalba e Villamil 2002, Richardson e Higgins 1998, Richardson et al. 2008),

As sementes das espécies cultivadas de *Pinus* tem alto poder de dispersão e colonização em ambientes abertos, sendo consideradas espécies invasoras agressivas sobre os campos naturais (Overbeck et al., 2007).

Esse tipo de formação se caracteriza pela presença de uma vegetação rasteira e pequenos arbustos distantes entre si. Sua diversidade vegetal é formada por cerca de 2200 espécies campestres, sendo 523 gramíneas (Poaceae) e 250 leguminosas (Fabaceae) (Boldrini, 2009). As espécies-receptoras usadas no presente estudo foram selecionadas devido à ocorrência em formações campestres invadidas por *P. taeda* no Rio Grande do Sul, além de possuírem características desejáveis em bioensaios.

2.4.1 *Paspalum notatum* Flüge

Comumente denominada grama-batatais, grama-forquilha, grama-pensacola, dentre outras denominações, *P. notatum* Flüge pertence à família Poaceae, a qual inclui 793 gêneros e cerca de 10000 espécies (Watson e Dollwitz, 1992). Burman (1985) citou para o Brasil 197 gêneros e 1368 espécies. No Rio Grande do Sul, ocorrem aproximadamente 110 gêneros e 450 espécies (Boldrini et al., 2005). Os representantes da família Poaceae ocorrem em praticamente todas as comunidades herbáceas de distintos ecossistemas, e predominam em formações campestres, sendo menos comuns no interior de formações florestais (Boldrini, 2009). O gênero *Paspalum* é um dos mais importantes dentro da família Poaceae, devido ao elevado número de espécies e a sua ampla distribuição geográfica, com centro de origem e diversificação na América do Sul.

Segundo Boldrini et al. (2005), *P. notatum* é uma das espécies herbáceas mais comuns no Rio Grande do Sul, sendo nativa, perene e, devido ao hábito rizomatoso e estolonífero, tem vantagens em relação as demais espécies, frente aos diferentes distúrbios como geada, seca e

pisoteio. Importante economicamente, a espécie caracteriza-se por formar um denso gramado, fornecendo forragem de boa qualidade. Suas sementes são comercializadas e a planta é usada para a formação de pastagens, além de gramados, conservação de taludes e controle de erosão, dispersando-se através de rizomas e sementes. A maior parte da produção desta espécie ocorre nos meses mais quentes do ano, devido às maiores temperaturas (25 a 30°C) e dias mais longos, por ser uma planta com mecanismo fotossintético do tipo C4, que requer temperaturas elevadas e altas taxas de luminosidade para o seu pleno desenvolvimento (Newman et al., 2010). Tem boa resistência à seca e tolera temperaturas baixas e solo de média fertilidade.

2.4.2 *Eragrostis plana* Nees

Eragrostis Wolf (Poaceae) é um gênero cosmopolita, com cerca de 350 espécies distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas de ambos os hemisférios (Boechat et al., 2001). O gênero apresenta dois centros de diversidade específica, a África e as Américas. No Brasil, está representado por 36 espécies nativas e 15 exóticas, e ocorre em ambientes variados como brejos, margens de cursos d'água, matas, cerrado, caatinga, locais antropizados e áreas de campo (Boechat & Longhi-Wagner 2001), incluindo os ecossistemas campestres do Rio Grande do sul, com representantes nativos e exóticos.

Conhecida como capim-annoni-2, *Eragrostis plana* Nees é uma espécie perene, nativa da África do Sul. Suas características de alta prolificidade, rusticidade e adaptação a solos pobres permitiram grande multiplicação e comportamento invasivo (Boldrini et al., 2005). *E. plana* ocorre em solos secos, mas pode ser encontrada em solos mal drenados ou mesmo echarcados. É uma espécie estival, cespitosa, formando touceiras profundamente enraizadas, podendo atingir até 110 cm de altura quando florescidas. A principal forma de reprodução é sexual, mas também se reproduz vegetativamente, pela expansão lateral de suas touceiras. Sua rota fotossintética é C4. Prolifera-se em áreas que sofreram distúrbios, como campos abandonados após cultivo, locais com solos compactados, e em locais ricos em nutrientes, como os de repouso de animais ou ao redor de açudes e bebedouros, onde é alta a concentração de fezes e urina.

Os primeiros registros desta espécie no RS datam de 1950 (Reis, 1993), quando foi introduzidas acidentalmente. Devido à grande produção de folhagem, passou a ser distribuída sob forma de sementes para várias regiões do RS e outros estados (Medeiros et al., 2004). Na década de 1970 teve sua comercialização e transporte proibidos no RS, pois estudos revelaram

que se tratava de uma espécie problema. Além da baixa qualidade nutricional, é rejeitada pelos bovinos, o que permite dispersar sua população e ocupar facilmente campos e pastagens. Desde o início dos anos 1990 é considerada a invasora mais agressiva e de mais difícil controle nos campos do RS (Reis, 1993), com área invadida de aproximadamente 10% da área do bioma Pampa (Medeiros et al., 2004).

2.4.3 *Trifolium repens* L.

O gênero *Trifolium* L. pertence à família Fabaceae, e inclui cerca de 255 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo. A bacia Mediterrânea e a região Californiana do oeste dos Estados Unidos são os locais mais prováveis para o centro de origem deste gênero (Zohary e Heller, 1984). A maior diversidade de espécies americanas está na América do Norte, onde são descritas cerca de 60 espécies, enquanto 13 ocorrem na América do Sul, sendo três delas nativas do Rio Grande do Sul (Lewis et al., 2005). Espécies deste gênero constituem os trevos verdadeiros, que ocupam distintos habitats. São resistentes ao frio e toleram solos ácidos, sendo encontrados nas pastagens naturais do Rio Grande do Sul.

Muitas espécies exóticas de trevo são cultivadas como forrageiras, de alta qualidade e palatabilidade. *Trifolium repens* é provavelmente a espécie mais amplamente cultivada, com grande impacto na agricultura entre as leguminosas forrageiras (Lewis et al, 2005). Trata-se de uma planta perene, herbácea, pouco ramificada, de 20 à 30 cm de altura. Desenvolve-se bem em locais húmidos e com elevado teor de matéria orgânica, como margem de rios e locais ruderais, margem dos campos e pastagens. É razoavelmente tolerante à geada e vegeta bem à sombra. Foi introduzida no sul do Brasil para fins forrageiros, e como consequência, naturalizou-se em todo o planalto meridional.

2.4.4 *Lotus corniculatus* L.

O gênero *Lotus* L. pertence à família Fabaceae, e agrupa cerca de 150 espécies, com distribuição natural cosmopolita. A maior concentração de espécies encontra-se na região do Mediterrâneo, indicando ser este o seu centro de origem. O gênero é composto por espécies perenes e anuais, caracterizando-se por plantas de porte baixo, hábito prostrado ou ereto, muito citadas como pioneiras. Possuem boa capacidade de adaptação em solos ácidos com baixa fertilidade e sob condições de pastejo, sendo utilizadas para formação de pastagens (Seaney e Henson, 1970).

Três espécies perenes têm sido mais difundidas como forrageiras, pela sua grande representação nas regiões temperadas: *Lotus uliginosus* Schkuhr (cornichão-dos-banhados), *L. corniculatus* L. (cornichão) e *L. tenuis* Waldst & Kit. O cornichão tem sido a espécie mais estudada, sendo inclusive, a de maior importância para o Rio Grande do Sul (Caroso et al., 1982). O cornichão é originário da Europa, predominantemente da França e Itália, e a referência mais antiga de seu uso em cultivo de pastagens data de 1650, quando, desde então, o seu uso foi expandido pelo mundo (Hughes, 1981). Existem populações naturalizadas nas Américas do Sul e do Norte, destacando-se nas regiões temperadas do sul do Brasil, Uruguai, Argentina, Chile, Austrália e Nova Zelândia (Steiner, 1999). Sua introdução no Rio Grande do Sul data de 1940, e seu cultivo foi expandido a partir de 1955. É uma das leguminosas mais populares no Rio Grande do Sul devido ao seu alto valor nutritivo e fácil adaptação a diferentes tipos de solo.

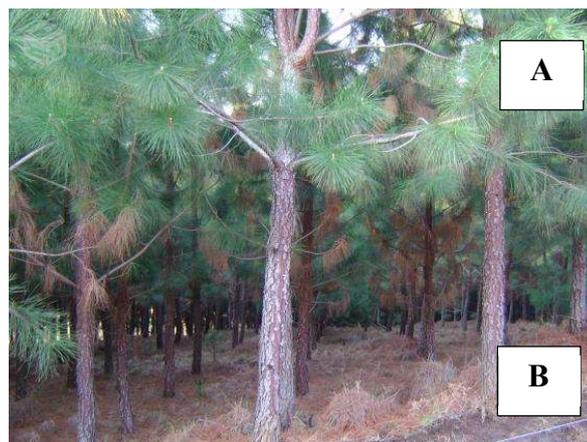
3. MATERIAL E MÉTODOS

Os efeitos fitotóxicos de diferentes concentrações de extratos aquosos de acículas frescas e acículas da serapilheira de *P. taeda*, sob duas técnicas de liberação dos compostos foram avaliados sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas de espécies campestres. Também foi avaliada a variação do efeito decorrente da idade das árvores. Como espécies-receptoras foram utilizadas as gramíneas *Paspalum notatum* e *Eragrostis plana*, e as leguminosas *Lotus corniculatus* e *Trifolium repens*.

3.1 Coleta de acículas de *P. taeda*

A coleta de acículas de *P. taeda* foi realizada em julho de 2014, em plantios comerciais com idades de quatro e 33 anos, em área pertencente à empresa Tunas Altas Reflorestamento, localizada no distrito de Vila Oliva, na cidade de Caxias do Sul (Figura 1). A propriedade possui cerca de 600 hectares aonde predomina a silvicultura. O local apresenta coordenadas 29°13' de latitude sul e 50°53' de longitude oeste. O distrito de Vila Oliva localiza-se no nordeste do Estado do Rio Grande do Sul, na região dos Campos de Cima da Serra e o clima predominante na região é o cfa, clima temperado úmido com verão quente, segundo a classificação climática de Köppen.

Figura 1 – Plantio comercial de *P. taeda* em Caxias do Sul. A) Acículas frescas. B) Acículas da serapilheira.



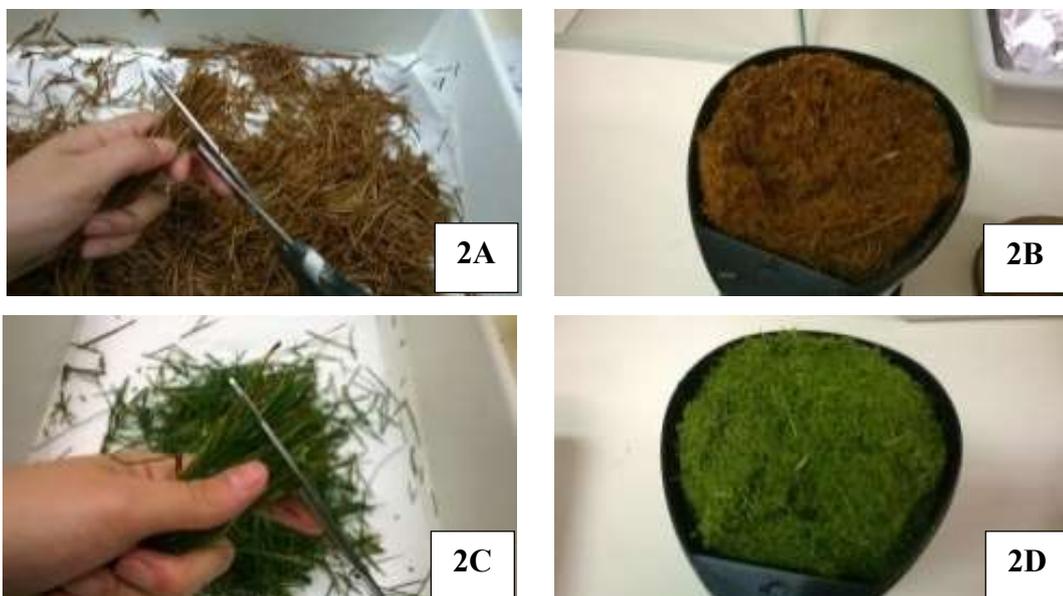
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para realização dos ensaios acículas frescas e acículas da serapilheira de cada idade de plantio foram coletadas. As acículas frescas foram coletadas de diferentes indivíduos com auxílio de podão, e as da serapilheira, em diferentes pontos dos plantios. As acículas foram levadas ao laboratório, espalhadas sobre a bancada e secas a temperatura ambiente, por 72

horas, a fim de diminuir o risco de contaminação por fungos. Em seguida, foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer, a temperatura de -18°C , para sua conservação.

3.2 Preparo dos extratos aquosos

Para cada ensaio, parte das acículas eram retiradas do freezer e lavadas com solução de água e hipoclorito de sódio, na proporção 3:1, durante cinco minutos e enxaguadas com água destilada, para evitar a contaminação por fungos. Após secas, as acículas eram cortadas com tesoura, em pedaços entre 2 e 3 cm, ou trituradas em moedor de café para liberação dos compostos (Figuras 2).

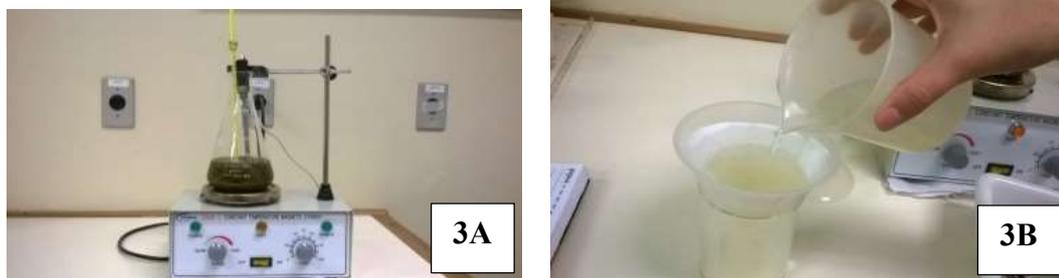


Figuras 2 – Acículas de *P. taeda*. A) Acículas cortadas oriundas da serapilheira. B) Acículas trituradas oriundas da serapilheira. C) Acículas frescas cortadas. D) Acículas frescas trituradas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para mimetizar a dissolução dos metabólitos secundários presentes em *P. taeda* da forma mais aproximada possível em relação ao que ocorre no ambiente (por lixiviação), a água é o solvente mais indicado. No entanto, extratos aquosos são um meio ideal para proliferação de microrganismos, entre eles os fungos, que também produzem metabólitos secundários em grande quantidade. No método de extração por maceração estática a frio, o material vegetal é mantido em solução por dias, acarretando na sua contaminação. Visando o aumento na efetividade do processo extrativo, optou-se pela extração por maceração a quente, diminuindo o tempo de extração, e consequentemente, o risco de contaminação.

Esta técnica consiste em aquecer a água a 60° C e imergir o material vegetal pesado, permanecendo por 60 minutos a temperatura constante (Figuras 3). Esse procedimento é realizado em placa de aquecimento. As acículas frescas e da serapilheira, cortadas ou trituradas, das duas idades de plantio foram submetidas à extração à quente para obtenção de soluções estoque de extrato aquoso na concentração 10% (10 g de material vegetal/100 mL de água destilada). As soluções resultantes foram coadas em peneira e filtradas em papel filtro para remover resíduos do material vegetal. Em seguida, foram diluídas, e assim obtidas concentrações de 25 %, 50%, 75% e 100% de cada solução inicial. Para as acículas frescas, a correção do teor de água foi feita, onde acículas frescas e secas foram pesadas e secas em estufa até estabilizarem seu peso. Então, para preparo dos extratos com acículas frescas foi utilizado 12 g de material vegetal/100 mL de água. A escolha da concentração das soluções estoque se deve ao limite de saturação da solução, obtido através de testes piloto. Os extratos aquosos das acículas de *P. taeda* mais o tratamento controle (água destilada) totalizaram 33 tratamentos, como pode ser observado na Tabela 1.



Figuras 3 – Método de extração por maceração a quente. A) Material vegetal imerso em água a 60°C por 1 hora em placa de aquecimento. B) Solução estoque de extrato aquoso filtrada em papel filtro.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos, idade da planta doadora, estado de material vegetal, modo de processamento e concentrações dos extratos aquosos (p/v).

Idade da planta doadora (<i>P. taeda</i>)	Estado da acícula	Processamento	Concentração (%)
4	Seca/Serapilheira	Cortadas	25
4	Seca/Serapilheira	Cortadas	50
4	Seca/Serapilheira	Cortadas	75
4	Seca/Serapilheira	Cortadas	100
4	Seca/Serapilheira	Trituradas	25
4	Seca/Serapilheira	Trituradas	50
4	Seca/Serapilheira	Trituradas	75
4	Seca/Serapilheira	Trituradas	100
4	Frescas	Cortadas	25
4	Frescas	Cortadas	50
4	Frescas	Cortadas	75
4	Frescas	Cortadas	100
4	Frescas	Trituradas	25
4	Frescas	Trituradas	50
4	Frescas	Trituradas	75
4	Frescas	Trituradas	100
33	Seca/Serapilheira	Cortadas	25
33	Seca/Serapilheira	Cortadas	50
33	Seca/Serapilheira	Cortadas	75
33	Seca/Serapilheira	Cortadas	100
33	Seca/Serapilheira	Trituradas	25
33	Seca/Serapilheira	Trituradas	50
33	Seca/Serapilheira	Trituradas	75
33	Seca/Serapilheira	Trituradas	100
33	Frescas	Cortadas	25
33	Frescas	Cortadas	50
33	Frescas	Cortadas	75
33	Frescas	Cortadas	100
33	Frescas	Trituradas	25
33	Frescas	Trituradas	50
33	Frescas	Trituradas	75
33	Frescas	Trituradas	100

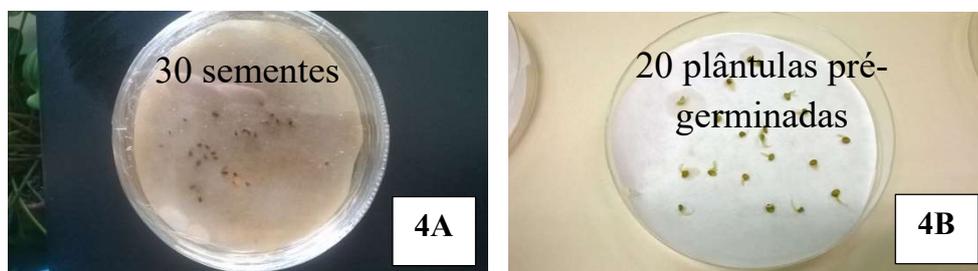
3.3 Bioensaios

Para avaliar o efeito dos extratos sobre a velocidade de germinação e taxa de germinação das sementes das espécies receptoras, 30 diásporos foram semeados em placas de Petri (90 x 15mm) contendo uma folha de papel filtro umidecida com 7 ml dos diferentes extratos e com água destilada no grupo controle, compondo quatro repetições por tratamento. As placas foram seladas com filme plástico para reter a umidade e incubadas em sala de germinação a uma

temperatura média de 21°C (exceto *P. notatum*, que requer temperatura superior para germinação e foi incubada em prateleiras fechadas que atingem 26°C), com ciclo diário de luz/escuro de 12 h/12 h. A iluminação foi fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas (20 W), com irradiação de 48 mol m²/s.

O registro do número de diásporos germinados foi realizado a cada 12 h ou 24 h, dependendo da espécie, tendo em vista as diferentes velocidades de germinação, até se observar sua estabilização. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado usando a seguinte fórmula: $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$; onde G1, G2, Gn = número de plântulas computadas na primeira, na segunda e na última contagem; e N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagens. A taxa de germinação foi determinada como a porcentagem final de germinação dos diásporos, a qual foi calculada após a estabilização da germinação.

Para o ensaio de crescimento, sementes das espécies receptoras foram germinadas sobre papel filtro em placas de Petri, contendo papel filtro umedecido com 7 ml de água destilada e incubados nas mesmas condições descritas. O tempo de germinação variou de espécie para espécie. As plântulas foram então selecionadas por uniformidade de tamanho, transferidas para placas de Petri contendo papel filtro e 7 ml dos tratamentos foram aplicados. Cada tratamento teve quatro repetições, com 20 plântulas por placa. As plântulas foram mantidas expostas aos tratamentos por 96 h. Após esse período, foram fotografadas e, posteriormente, foi medido o comprimento da parte aérea e da raiz (cm) de 15 plântulas por placa, utilizando-se o software ImageJ. Devido ao número de tratamentos, e por consequência, ao volume de placas, os ensaios foram realizados separadamente, por espécie e por tipo de ensaio, de acordo com o suporte da sala de cultivo.



Figuras 4 – Bioensaios de avaliação do efeito dos extratos sobre: A) velocidade de germinação e taxa de germinação das sementes. B) crescimento de plântulas pré-germinadas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5 - Representação dos tratamentos com quatro repetições cada.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Análises estatísticas

Os parâmetros analisados (porcentagem de germinação, IVG, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz) foram submetidos a análise de variância unifatorial, comparando todos os tratamentos por testes de aleatorização com 10.000 permutações e incluindo a comparação par a par. A análise utilizou distâncias euclidianas, e foi considerado um nível de significância de $p < 0,05$. Os testes foram realizados utilizando o software MultiV (Pilar, 2009).

4. RESULTADOS

4.1 Ensaio de Germinação

A porcentagem total de germinação e o índice de velocidade de germinação das espécies receptoras submetidas ao controle com água destilada podem ser observados na Tabela 2. A germinação de três das espécies receptoras em água destilada (controles) atingiram valores médios em torno de 70%. Destacou-se a porcentagem de germinação de *Eragostis plana*, que atingiu 96%.

Tabela 2 - Valores médios dos parâmetros taxa de germinação de sementes e índice de velocidade de germinação (IVG) observados nas espécies-receptoras submetidas ao tratamento controle (água destilada). Os valores estão expressos como média±desvio padrão, n = 4.

Espécie-receptora	Germinação (%)	IVG
<i>P. notatum</i>	77,0±11,9	7,4±2,0
<i>E. plana</i>	96,0±5,0	6,4±0,7
<i>T. repens</i>	71,0±6,8	14,7±0,9
<i>L. corniculatus</i>	71,0±6,9	6,4±0,6

4.1.1 Taxa de Germinação

Na Tabela 3 são apresentados os efeitos dos tratamentos com extratos de acículas de *Pinus taeda* sobre a taxa de germinação das espécies receptoras. A influência dos extratos é expressa em porcentagem em relação aos valores obtidos nos tratamentos controle.

Tabela 3 - Efeito (% em relação ao tratamento controle) na germinação de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações de extratos de acículas de *Pinus taeda*. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.

Idade	Extrato	Concentração (%)	Efeito na germinação (%)			
			<i>P. notatum</i>	<i>E. plana</i>	<i>T. repens</i>	<i>L. corniculatus</i>
4	ASC	25	-29	-2	-6	-18
4	ASC	50	-27	-5	14	2
4	ASC	75	-8	-3	10	-6
4	ASC	100	12	-17	21	-15
4	AST	25	8	-8	4	5
4	AST	50	-12	-3	0	-14
4	AST	75	-5	-15	13	-21
4	AST	100	3	-21*	7	-21
4	AFC	25	9	-8	17	-24*
4	AFC	50	-13	-13	13	-15
4	AFC	75	-49*	-17*	4	-47*
4	AFC	100	-74*	-41*	11	-44*
4	AFT	25	-3	-10	-3	-32*
4	AFT	50	-27	-34*	-3	-33*
4	AFT	75	-29	-91*	-6	-62*
4	AFT	100	-77*	-93*	-32	-74*
33	ASC	25	-21	3	-3	-6
33	ASC	50	-3	-3	18	-5
33	ASC	75	-9	-16	11	-44*
33	ASC	100	1	-6	4	-21
33	AST	25	14	-3	0	-18
33	AST	50	0	-3	7	-9
33	AST	75	-34	-9	-24	-19
33	AST	100	0	-23	-51*	-19
33	AFC	25	-6	-7	-15	-7
33	AFC	50	-1	-15	-10	-5
33	AFC	75	-6	-14	4	-19
33	AFC	100	-13	-25*	7	-38
33	AFT	25	-14	-24*	-4	-22*
33	AFT	50	-42*	-57*	-34	-33
33	AFT	75	-51*	-85*	-69	-66*
33	AFT	100	-68*	-92*	-76*	-92*

(*) Diferença significativa em relação ao controle (no tratamento), de acordo com PERMANOVA, com $p < 0,05$.

Observou-se-se que os extratos de acículas secas, oriundas da serapilheira, de plantas de quatro e de 33 anos não afetaram a taxa de germinação de *P. notatum*. Já os extrato de acículas frescas, independente da idade da planta fonte das acículas, inibiram o parâmetro analisado, sendo que apenas acículas trituradas de plantas de 33 anos causaram inibição. Observou-se também que a inibição foi maior com o aumento da concentração dos extratos. As concentrações de 50% e 100% dos extratos de acículas frescas cortadas (AFC), de plantas de quatro anos, inibiram a germinação de *P. notatum* em 49% e 74% em relação ao tratamento controle, respectivamente. Uma inibição de 77% na germinação foi observada no tratamento com extrato de acículas frescas trituradas (AFT), também de plantas de quatro anos, na concentração 100%. Em relação aos efeitos dos extratos de acículas de plantas de 33 anos, foi observada inibição de 42%, 51% e 68% na germinação de *P. notatum* submetido ao tratamento AFT, nas concentrações 50%, 75% e 100%.

Os extratos de acículas secas oriundas da serapilheira também não inibiram a germinação de *E. plana*, com exceção do extrato não diluído (100%) obtido de acículas secas trituradas (AST) de plantas de quatro anos, que reduziram em 21% a taxa de germinação em relação ao controle. Os extratos obtidos de acículas frescas influenciaram a germinabilidade de *E. plana*, sendo os maiores valores de inibição obtidos com os tratamentos com acículas frescas trituradas (AFT). Praticamente todos os tratamentos AFT inibiram a germinação, com o efeito mais pronunciado nas concentrações 75% e 100%, tanto dos extratos de acículas de plantas de quatro anos (91% e 93%, respectivamente), quanto de 33 anos (75% e 92%, respectivamente).

A taxa de germinação de *T. repens* pouco foi afetada pelos extratos de acículas de *P. taeda*. Apenas extratos de acículas de plantas de 33 anos inibiram o parâmetro analisado, sendo apenas os tratamentos com acículas trituradas, e nas maiores concentrações. A taxa de germinação de *T. repens* foi inibida pelo tratamento AST, não diluído (inibição de 51% em relação ao controle), e pelo tratamento AFT, também não diluído (inibição de 76% em relação ao controle).

Extratos de acículas da serapilheira pouco afetaram a germinação de *L. corniculatus*. Apenas o tratamento AST, de acículas de plantas de 33 anos, na concentração 75%, inibiu o parâmetro (inibição de 44% em relação ao controle). No entanto, a taxa germinação desta espécie foi bastante inibida pelos extratos de acículas frescas, principalmente pelos tratamentos AFT. A taxa de germinação desta espécie foi inibida por praticamente todos os extratos obtidos de acículas frescas de plantas de quatro anos, com as maiores porcentagens de inibição observadas nos tratamentos AFT, nas concentrações 75% e 100% (inibição de 62% e 74% em

relação ao controle, respectivamente). Acículas frescas de plantas de 33 anos afetaram a germinação de *L. corniculatus* apenas com os tratamentos AFT, com inibição mais pronunciada nas concentrações 75% e 100% (66% e 92%, respectivamente).

4.1.2 Velocidade de Germinação

Os efeitos dos extratos de acículas de *P. taeda* sobre o IVG das espécies receptoras podem ser observados na Tabela 4. Os extratos de acículas frescas mostraram-se mais ativos sobre o IVG de *P. notatum* quando comparados aos extratos de acículas da serapilheira, com as maiores porcentagens de inibição nos tratamentos AFT. Os valores de inibição aumentam com a concentração dos extratos. As acículas da serapilheira de plantas de quatro anos inibiram o IVG nos tratamentos ASC, na concentração 25% (inibição de 34% em relação ao controle), e AST, na concentração 50% (inibição de 29% em relação ao controle). Já em relação às acículas da serapilheira de plantas de 33 anos, só o tratamento AST, nas concentrações 75% e 100% inibiu o IVG de *P. notatum* (51% e 30% em relação ao controle, respectivamente). Houve inibição do IVG com os extratos de acículas frescas de plantas de ambas as idades, com as porcentagens de inibição maiores nos tratamentos AFT, na concentração 100%, tanto com acículas de plantas de quatro anos, quanto de 33 anos (inibição de 84% e 82%, respectivamente).

O IVG de *P. notatum* foi mais sensível aos extratos de acículas frescas quando comparados aos extratos de acículas da serapilheira, com maiores porcentagens de inibição nos tratamentos AFTO. Os valores de inibição aumentam com a concentração dos extratos. As acículas da serapilheira de plantas de quatro anos inibiram o IVG nos tratamentos ASC, na concentração 25% (inibição de 34% em relação ao controle), e AST, na concentração 50% (inibição de 29% em relação ao controle). Já em relação às acículas da serapilheira de plantas de 33 anos, só o tratamento AST, nas concentrações 75% e 100% inibiu o IVG de *P. notatum* (51% e 30% em relação ao controle, respectivamente). Houve inibição do IVG com os extratos de acículas frescas de plantas de ambas as idades, com as porcentagens de inibição maiores nos tratamentos AFT, na concentração 100%, tanto com acículas de plantas de quatro anos, quanto de 33 anos (inibição de 84% e 82%, respectivamente).

Tabela 4 - Efeito (% de diferença em relação ao tratamento controle) no índice de velocidade de germinação de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.

Idade	Extrato	Concentração (%)	Efeito no IVG (%)			
			<i>P. notatum</i>	<i>E. plana</i>	<i>T. repens</i>	<i>L. corniculatus</i>
4	ASC	25	-34*	-5	-6	-5
4	ASC	50	-44	-16*	-8	-16
4	ASC	75	-30	-15	-19	-15
4	ASC	100	-4	-36*	-2	-36
4	AST	25	4	-14	-22*	-14
4	AST	50	-29*	-7	-30*	-7
4	AST	75	-24	-27*	-29*	-27*
4	AST	100	-30	-35*	-46*	-35*
4	AFC	25	-13	-18	-9	-18*
4	AFC	50	-30	-23	-24	-23*
4	AFC	75	-63*	-38*	-43*	-38*
4	AFC	100	-80*	-59*	-52*	-59*
4	AFT	25	-28	-28*	-54*	-28*
4	AFT	50	-49*	-50*	-57*	-50*
4	AFT	75	-52*	-90*	-69*	-90*
4	AFT	100	-84*	-94*	-80*	-94*
33	ASC	25	-44	-6	-30*	-6
33	ASC	50	-25	-15	-27*	-15
33	ASC	75	-36	-25	-35*	-25*
33	ASC	100	-24	-19	-52*	-19*
33	AST	25	-4	-17	-48*	-17
33	AST	50	-20	-15	-56*	-15*
33	AST	75	-51*	-22*	26*	-22*
33	AST	100	-30*	-41*	-89*	-41*
33	AFC	25	-29*	-18	-74*	-18*
33	AFC	50	-33*	-29*	-62*	-29
33	AFC	75	-27	-32*	-47*	-32*
33	AFC	100	-42*	-46*	-32*	-46*
33	AFT	25	-44*	-43*	-66*	-43*
33	AFT	50	-68*	-71*	-84*	-71*
33	AFT	75	-74*	-89*	-92*	-89*
33	AFT	100	-82*	-93*	-96*	-93*

(*) Diferença significativa em relação ao controle (no tratamento), de acordo com PERMANOVA, com $p < 0,05$.

O IVG de *E. plana* foi inibido mais vezes por extratos de acículas frescas do que por extratos de acículas da serapilheira. Os tratamentos ASC e AST de plantas de quatro anos afetam o parâmetro analisado, com as maiores porcentagens de inibição obtidos com extratos

não diluídos (100%) (36% e 35% em relação ao controle, respectivamente). Já em relação às acículas da serapilheira de plantas de 33 anos, somente o tratamento AST afetou o IVG, com inibição de 21% e 41% nas concentrações 75% e 100%. Acículas frescas afetaram o IVG de *E. plana*, independente da idade da planta doadora, sendo as porcentagens de inibição mais elevadas nos tratamentos AFT, em suas maiores concentrações (75% e 100%), com valores entre 89% e 94% de inibição em relação ao controle.

Praticamente todos os extratos de acículas de *P. taeda* afetaram o IVG de *T. repens*. Apenas o tratamento ASC de acículas de plantas de quatro anos não afetou o parâmetro analisado em nenhuma das concentrações do extrato. O tratamento AFC, de acículas de plantas de quatro anos só não inibiu o IVG nas concentrações 25% e 50%. Todos os demais extratos afetaram o IVG de *T. repens* em todas as concentrações, com inibição entre 22% e 96% em relação ao controle, com as maiores porcentagens de inibição nas concentrações 75% e 100% dos tratamentos AFT.

O tratamento ASC de acículas de plantas de quatro anos também não afetou o IVG de *L. corniculatus*, assim como as concentrações 25% e 50% dos extratos AST, de acículas de plantas de quatro anos, e ASC, de acículas de plantas de 33 anos. Todos os demais extratos inibiram o IVG de *L. corniculatus*, com inibição pronunciada nas concentrações 75% e 100% dos tratamentos AFT, independente da idade da planta fonte das acículas, com inibição entre 90% e 94% em relação ao controle.

4.2 Ensaio de crescimento inicial

Na Tabela 5 é possível observar os valores médios do comprimento da parte aérea e da raiz das plântulas de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* crescidas em água destiladas (controles).

Tabela 5 - Valores médios dos parâmetros crescimento da parte aérea e crescimento da raiz observados nas espécies-receptoras submetidas ao tratamento controle (água destilada). Os valores estão expressos como média±desvio padrão, n = 4.

Espécie-receptora	Comprimento da parte aérea (cm)	Comprimento da raiz (cm)
<i>P. notatum</i>	1,9±0,2	2,0±0,4
<i>E. plana</i>	1,1±0,1	1,2±0,1
<i>T. repens</i>	0,6±0,1	2,2±0,3
<i>L. corniculatus</i>	0,6±0,1	1,3±0,1

4.2.1 Crescimento inicial da parte aérea

Na Tabela 6 se observa os efeitos dos extratos de acículas de *P. taeda* no comprimento da parte aérea das espécie-receptoras. A influência dos extratos é expressa em porcentagem em relação aos valores obtidos nos tratamentos controle.

Tabela 6 - Efeito (% de diferença em relação ao tratamento controle) no crescimento inicial da parte aérea de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.

Idade	Extrato	Concentração (%)	Crescimento da parte aérea (%)			
			<i>P. notatum</i>	<i>E. plana</i>	<i>T. repens</i>	<i>L. corniculatus</i>
4	ASC	25	0	-11*	-3	26*
4	ASC	50	13	1	9	25
4	ASC	75	2	-8	9	38*
4	ASC	100	24*	-5	4	24*
4	AST	25	20*	-6	-3	23
4	AST	50	6	-8	-1	19
4	AST	75	17	-4	-4	18
4	AST	100	11	-16*	10	21
4	AFC	25	10	-3	-3	34*
4	AFC	50	11	-13*	3	50*
4	AFC	75	3	-8	-6	38*
4	AFC	100	11	-6	-2	56*
4	AFT	25	9	-15*	-8	45
4	AFT	50	13	-12*	-21	33*
4	AFT	75	2	-9	-26*	6
4	AFT	100	9	-16	-30*	-54*
33	ASC	25	0	7	5	19
33	ASC	50	41*	13	-9	22
33	ASC	75	21	0	2	10
33	ASC	100	9	1	-14	5*
33	AST	25	16	8	-6	-18
33	AST	50	-19	0	9	-4
33	AST	75	-17	-3	10	6
33	AST	100	-26	-4	0	20
33	AFC	25	2	5	1	29
33	AFC	50	-1	19	-9	15
33	AFC	75	-22*	15	-8	27
33	AFC	100	-16	7	-9	22
33	AFT	25	-12	2	-8	40
33	AFT	50	-16	-6	6	31
33	AFT	75	-25*	-9	-8	25
33	AFT	100	-33*	-5	2	8

(*) Diferença significativa em relação ao controle (no tratamento), de acordo com PERMANOVA, com $p < 0,05$.

O crescimento da parte aérea de *P. notatum* foi afetado por poucos dos extratos de acículas de *P. taeda*. Enquanto os extratos de acículas de plantas de quatro anos estimularam o crescimento da parte aérea, três dos quatro extratos de acículas de plantas de 33 anos que afetaram o parâmetro inibiram o crescimento. O estímulo foi ocasionado pelos tratamentos ASC, com extrato não diluído (estímulo de 24% em relação ao controle), e AST, na concentração 25% (estímulo de 20% em relação ao controle) de acículas de plantas de quatro anos, e pelo tratamento ASC, na concentração 50% (estímulo de 41% em relação ao controle) de acículas de plantas de 33 anos. Os tratamentos de acículas de 33 anos que inibiram o crescimento aéreo foram AFC, na concentração 75% (inibição de 22% em relação ao controle) e AFT, nas concentrações 75% e 100% (inibição de 25% e 33%, respectivamente).

Apenas extratos de acículas de plantas de quatro anos afetaram o comprimento da parte aérea de *E. plana*, com valores baixos de inibição em relação ao controle. Houve inibição deste parâmetro no tratamento ASC, na concentração 25% (11% de inibição), AST, na concentração 100% (16% de inibição), AFC, na concentração 50% (inibição de 13%) e AFT, nas concentrações 25% e 50% (15% e 12%, respectivamente). O único extrato de acículas de *P. taeda* que afetou o comprimento da parte aérea de plântulas de *T. repens* foi AFT de acículas de plantas de quatro anos, nas concentrações 75% e 100%. Estes extratos inibiram o parâmetro em 26% e 30% em relação ao controle, respectivamente.

A maioria dos extratos de acículas de *P. taeda* que afetaram o comprimento da parte aérea de *L. corniculatus* foram os obtidos de acículas de plantas de quatro anos. À exceção do tratamento AFT não diluído, os demais tratamentos de acículas de plantas de quatro anos estimularam o crescimento da parte aérea de *L. corniculatus*. Apenas o tratamento ASC, de acículas de plantas de 33 anos, na concentração 100% afetou o parâmetro, com um estímulo de 5% em relação ao controle.

4.2.2 Crescimento inicial da Raiz

Os efeitos dos extratos sobre o crescimento da raiz das plantas receptoras podem ser observados na Tabela 7. A influência dos extratos é expressa em porcentagem em relação aos valores obtidos nos tratamentos controle.

As acículas da serapilheira de *P. taeda* não afetaram o crescimento da raiz de *P. notatum*, exceto o tratamento ASC, de acículas de plantas de 33 anos, na concentração 25%, que estimulou o parâmetro em 50% em relação ao controle. As menores concentrações (25%) dos

tratamento AFC, de acículas de plantas de quatro anos, e ASC, de acículas de plantas de 33 anos, estimularam o crescimento da raiz de *P. notatum*. Os demais tratamentos que afetaram o parâmetro ocasionaram uma inibição, com valores entre 32% e 54% de inibição em relação ao controle.

Apenas dois tratamentos com extrato de acículas da serapilheira afetaram o crescimento da raiz de *E. plana*, o tratamento AST, de acículas de plantas de quatro anos, com o extrato não diluído (42% de inibição em relação ao controle), e AST, de acículas de plantas de 33 anos (16% de inibição em relação ao controle), na concentração 75%. Apenas a concentração de 25% do tratamento AFC de acículas de plantas de quatro anos não afetou o crescimento da raiz de *E. plana*. Os demais tratamentos com acículas frescas de plantas de quatro anos causaram inibição, com valores entre 32% e 58% em relação ao controle. O tratamento AFC, de acículas de plantas de 33 anos, somente causou efeito na concentração 75% (inibição de 33% em relação ao controle). Todas as concentrações do tratamento AFT, de acículas de plantas de 33 anos, causaram inibição do parâmetro, com valores entre 39% e 69% em relação ao controle.

Apenas os extratos de acículas de plantas de quatro anos afetaram o crescimento da raiz de *T. repens*. O tratamento com acículas da serapilheira que afetou o parâmetro analisado estimulou o crescimento de raiz. As concentrações 75% e 100% do tratamento AST estimularam em 42% e 41% em relação ao controle, respectivamente. As concentrações 75% e 100% do tratamento AFC inibiram em 31% e 27% o crescimento, respectivamente, enquanto todas as concentrações do tratamento AFT causaram inibição entre 43% e 69% em relação ao controle.

A maioria dos extratos de acículas de plantas de quatro anos afetou o crescimento de raiz de *L. corniculatus*. O tratamento ASC, de acículas de plantas de quatro anos, nas concentrações 25%, 50% e 75%, estimularam este parâmetro em 55%, 63% e 38% em relação ao controle, respectivamente. As concentrações 25% e 50% do tratamento AST, de acículas de plantas de quatro anos, também causaram estímulo (28% e 24% em relação ao controle, respectivamente), assim como as concentração de 50% e 100% do tratamento AFC, de acículas de plantas de quatro anos (23% e 18% de estímulo em relação ao controle, respectivamente). Já as concentrações do tratamento AFT de acículas de plantas de quatro anos, inibiram o crescimento de raiz de *L. corniculatus*, com inibição pronunciada nas concentrações 75% e 100% (78% e 84% de inibição em relação ao controle, respectivamente). Quanto às acículas de plantas de 33 anos, apenas um tratamento causou efeito no crescimento da raiz de *L.*

corniculatus. As concentrações 50%, 75% e 100% do tratamento AFT inibiram em 6%, 14% e 59% em relação ao controle, respectivamente.

Tabela 7 - Efeito (% de diferença em relação ao tratamento controle) no crescimento inicial da raiz de *P. notatum*, *E. plana*, *T. repens* e *L. corniculatus* expostas a diferentes concentrações. Acículas cortadas oriundas da serapilheira (ASC), acículas trituradas oriundas da serapilheira (AST), acículas frescas cortadas (AFC), e acículas frescas trituradas (AFT), provenientes de plantas de quatro e de 33 anos. Valores negativos indicam efeito inibitório e valores positivos efeito estimulatório.

Idade	Tipo de acícula	Concentração (%)	Crescimento da raiz (%)			
			<i>P. notatum</i>	<i>E. plana</i>	<i>T. repens</i>	<i>L. corniculatus</i>
4	ASC	25	4	-13	-6	55*
4	ASC	50	17	33	7	63*
4	ASC	75	0	1	16	38*
4	ASC	100	-12	-1	14	19
4	AST	25	7	-4	-3	28*
4	AST	50	2	17	23	24*
4	AST	75	-29	13	42*	-9
4	AST	100	-34	-42*	41*	-14
4	AFC	25	40*	15	-4	-13
4	AFC	50	3	-32*	-20	23*
4	AFC	75	-13	-46*	-31*	9
4	AFC	100	-54*	-46*	-27*	18*
4	AFT	25	-28	-38*	-43*	-40*
4	AFT	50	-38*	-54*	-68*	-48*
4	AFT	75	-31	-58*	-68*	-78*
4	AFT	100	-32	-57*	-69*	-84*
33	ASC	25	50*	-19	-22	43
33	ASC	50	26	-12	1	49
33	ASC	75	26	-4	-9	45
33	ASC	100	20	-22	11	67
33	AST	25	17	13	-12	45
33	AST	50	-15	2	1	56
33	AST	75	-15	-16*	4	78
33	AST	100	-27	-52	-15	95
33	AFC	25	7	-18	5	20
33	AFC	50	0	-16	-1	27
33	AFC	75	-32*	-33*	18	23
33	AFC	100	-37*	-48	-15	42
33	AFT	25	-15	-39*	-3	26
33	AFT	50	-47*	-69*	-36	6*
33	AFT	75	-48*	-65*	-65	-14*
33	AFT	100	-50*	-69*	-56	-59*

(*) Diferença significativa em relação ao controle (no tratamento), de acordo com PERMANOVA, com $p < 0,05$.

4.3 Influência da idade da planta fonte das acículas.

Os extratos brutos de acículas frescas trituradas devem apresentar maior concentração de fitoquímicos devido ao estágio das acículas e ao tipo de processamento, que facilita a liberação dessas substâncias para o extrato. Por isso, o tratamento AFT foi usado para testar a variação dos efeitos fitotóxicos em função da idade da planta fonte das acículas (Tabela 8).

A taxa de germinação e o IVG de *P. notatum* foram afetados pelo extrato, independente da idade da planta doadora, mas *P. notatum* teve o comprimento da parte aérea e da raiz inibidos pelos extratos de acículas de plantas de 33 anos. O comprimento da parte aérea e da raiz de *E. plana* não foi afetado por nenhum extrato, já o comprimento da raiz foi mais afetado por extratos de acículas e 33 anos. A taxa de germinação de *T. repens* e *L. corniculatus* foi inibida pelos extratos, independente da idade da planta doadora, mas o IVG foi mais inibido por extratos de acículas de plantas de quatro anos. O comprimento da parte aérea dessas espécies só foi afetado por extratos de acículas de quatro anos, que também causou maior inibição no comprimento da raiz.

Tabela 8 - Variação do efeito alelopático do extrato de acículas frescas trituradas em função da idade das plantas fonte de acículas. Os valores estão expressos como média±desvio padrão, n = 4.

Parâmetros	Idade das plantas doadoras	Espécies-receptoras			
		<i>P. notatum</i>	<i>E.plana</i>	<i>T. repens</i>	<i>L. corniculatus</i>
Germinação (%)	4	18±9,5*a	7±3,9*a	48±6,6a	18±6,9*a
	33	25±8,9*a	8±3,2*a	17±21,2*a	6±4,2*a
IVG	4	1,2±1,2*a	0,4±0,2*a	2,3±0,5*a	2,8±0,9*a
	33	1,3±0,3*a	0,5±0,3*a	0,7±0,8*b	0,7±0,3*b
Comprimento da parte aérea (cm)	4	2,1±0,1 ^a	1,01±0,3a	0,45±0,0*a	0,23±0,1*a
	33	1,3±0,2*b	0,97±0,1a	0,53±0,1b	0,65±0,0b
Comprimento da raiz (cm)	4	1,33±0,3 ^a	1,36±0,3*a	0,72±0,2*a	0,22±0,0*a
	33	0,98±0,1*b	0,42±0,1*b	0,93±0,2b	0,51±0,2*b

(*) Diferença significativa em relação ao controle. Valores acompanhados de letras iguais não diferem entre si (na espécie e no parâmetro), de acordo com PERMANOVA, com $p < 0,05$.

5. DISCUSSÃO

As espécies-receptoras apresentaram elevados valores de taxa de germinação quando germinadas em água destilada. Esse resultado favorece o uso dessas espécies em ensaios de fitotoxidez, uma vez que a alta germinabilidade é uma das características desejáveis para espécies receptoras. As espécies frequentemente utilizadas em ensaios de fitotoxidez são espécies cultivadas e sensíveis a ação de aleloquímicos (Inderjit e Nilsen, 2003), o que pode superestimar o efeito fitotóxico da espécie doadora. A vantagem adicional das espécies receptoras usadas é a sua coocorrência com a planta doadora. Isso favorece as discussões sobre o seu potencial alelopático.

Os extratos de *Pinus taeda* foram fitotóxicos sobre as quatro espécies receptoras, mas seus efeitos foram distintos em relação aos parâmetros analisados. As respostas aos extratos variaram com o tipo de acícula (frecas ou da serapilheira), modo de processamento (cortada ou triturada), assim como com as concentrações dos extratos. A idade das plantas fonte das acículas também influenciou os efeitos dos extratos.

Considerando o número de extratos que interferiram com os parâmetros analisados em cada espécie-receptora, o IVG foi o parâmetro mais afetado, seguido do crescimento da raiz, taxa de germinação e, por último, o crescimento da parte aérea. Em relação à germinação, a velocidade da germinação tende a ser mais diagnóstica para a fitotoxidez que a taxa de germinação, que apresenta apenas dois estados e sofre grande influência do vigor da semente (Ferreira e Áquila, 2000). Em relação ao crescimento inicial, em geral, o sistema radicular das plantas é mais sensível à ação de aleloquímicos, pois as raízes estão em contato mais direto e prolongado com os constituintes do extrato, ao contrário da parte aérea da planta (Chung et al., 2001). Isso pode explicar porque o crescimento da parte aérea foi menos afetado que o da raiz.

Os extratos de acículas da serapilheira e de acículas frescas também apresentaram efeitos distintos. Foi encontrada pouca evidência de potencial alelopático de acículas oriundas da serapilheira de *P. taeda* sobre as espécies campestres usadas nos ensaios de fitotoxidez. As acículas da serapilheira de *P. taeda*, independente da idade do plantio, pouco afetaram os parâmetros analisados. Quanto a porcentagem de germinação e o IVG, poucos extratos inibiram estes parâmetros, e a inibição foi observada em tratamentos com extrato não diluído (100%). Souto et al. (1994) observaram que o crescimento e desenvolvimento de *Lactuca sativa* foram inibidos por extratos aquosos de acículas secas de *P. taeda* nos primeiros estágios de

decomposição, mas não foi observada inibição por parte dos extratos obtidos de acículas após seis meses de decomposição. A porcentagem de germinação de *Avena strigosa* também foi pouco afetada por extratos de acículas decompostas (Sartor et al, 2009). Embora o presente estudo não tenha avaliado o estágio de decomposição das acículas, estes resultados são similares, pois a acícula comumente se desprende da árvore já em estágio avançado de senescência. Ou seja, acículas depositadas na serapilheira possivelmente apresentam teor de metabólitos menor que as acículas frescas.

O efeito reduzido dos extratos de acículas da serapilheira pode ainda ser explicado pela degradação dos aleloquímicos por microrganismos que pode reduzir a fitotoxidez de alguns metabólitos secundários (Reigosa, 1999). Dependendo das propriedades do solo, o fenômeno de adsorção pelas argilas, por exemplo, pode exercer papel importante na redução do potencial alelopático da serapilheira ao sequestrar os possíveis aleloquímicos (Inderjit e Dakshini, 1999).

De fato, as coníferas produzem grande quantidade de monoterpenos e substâncias fenólicas (Phillips e Croteau, 1999; Wilt et al., 1993), ambos com atividade fitotóxica sobre outras espécies vegetais, e que sofrem decomposição química. Um estudo químico que avaliou a decomposição de acículas de *Pinus sylvestris* L demonstrou que a concentração inicial de monoterpenos e de total de fenólicos era menor em acículas da serapilheira do que em acículas frescas (Kainulainem e Hoopainem, 2002).

É digno de nota que muitos dos tratamentos com extratos de acículas oriundas da serapilheira frequentemente estimularam o crescimento inicial da parte aérea e da raiz das espécies receptoras (houve estímulo de até 45% no crescimento da parte aérea e de 63% no crescimento da raiz de *P. notatum* e *L. corniculatus* em relação ao controle, respectivamente). Dependendo da espécie, pode-se observar substâncias fitoquímicas estimulando o crescimento de plantas em pequenas concentrações, e inibindo em altas concentrações (Rice, 1984), como, por exemplo, o estudo realizado por Ghayal et al. (2007) com extratos de folhas de *Cassia uniflora* L. que estimularam a germinação e o crescimento inicial de sementes de *Brassica juncea* e *Raphanus sativus* nas concentrações de 2,5% e 5% e inibiram quando nas concentrações de 15% e 20%. A baixa concentração de aleloquímicos nos extratos de acículas da serapilheira pode explicar o estímulo observado nas plantas expostas a esses tratamentos.

Houve também estímulo do desenvolvimento de plantas receptoras nos tratamentos com extratos de acículas de plantas de quatro anos. Mesmo extratos de acículas frescas de plantas de quatro anos estimularam o crescimento da parte aérea e da raiz de *L. corniculatus*, e da raiz de *P. notatum*. Análises químicas demonstraram que substâncias alelopáticas variam

quantitativamente e qualitativamente em plantas de *Pinus halepensis* de idades diferentes (Fernandez et al, 2006). Soma-se a isso a possibilidade de alguns aleloquímicos apresentarem atividade estimulante sobre a germinação e sobre o crescimento (Rice, 1984). Assim, é possível que indivíduos de *Pinus taeda* com quatro anos de idade apresentem baixas concentrações de aleloquímicos que neste caso manifestariam efeito estimulador do crescimento (como o observado por Ghayal et al. 2007 em *C. uniflora*). Ou ainda podemos supor que essas plantas possam produzir algum metabólito estimulante, explicando os efeitos positivos sobre o crescimento inicial das espécies receptoras (*P. notatum* e *L.corniculatus*).

Todos os parâmetros foram afetados negativamente pelas acículas frescas de *P.taeda*, e a inibição foi mais acentuada quando as espécies foram expostas aos extratos de acículas trituradas. Na taxa de germinação e no IVG, inibições acima de 80% em relação ao controle só foram observadas em extratos de acículas frescas trituradas a partir da concentração 75%. O mesmo foi observado nos parâmetros comprimento da parte aérea e da raiz, com inibições acima de 65% em relação ao controle, o que revela uma tendência de relação dose-dependente. Esse comportamento também foi observado por Sartor et al. (2009), quando a espécie *Avena strigosa* foi exposta a extratos aquosos de acículas frescas de *P. taeda* e sofreram maior inibição da germinação e crescimento com o aumento da concentração dos extratos. Extratos aquosos de acículas frescas de *P. halepensis* também inibiram a germinação e crescimento de *Linum strictum*, e o efeito foi maior com o aumento da concentração do extrato (Fernandez, et al., 2006). Nesse mesmo estudo análises químicas confirmaram a presença de numerosas substâncias fenólicas no extrato, tais como ácido para-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido protocatecuico, ácido gálico e ácido p-cumárico. Essas substâncias são conhecidas por serem aleloquímicas, e podem também estar envolvidas nos efeitos fitotóxicos observados nos extratos aquosos de *P. taeda*.

Assim como uma maior concentração de aleloquímicos é encontrada nas acículas frescas e, por isso, se observa maior efeito de seus extratos em relação aos de acículas da serapilheira, os extratos obtidos de acículas trituradas também devem conter maiores concentrações dessas substâncias do que os de acículas cortadas. A trituração das acículas facilita a liberação dos aleloquímicos, o que explica o efeito drástico de inibição desses tratamentos (inibição acima de 90% na germinação e IVG, em relação ao controle). O tratamento de acículas trituradas de *Araucaria angustifolia* demonstraram uma drástica influência na germinação de sementes de *Lactuca sativa*, comparado ao tratamento com acículas intactas (Braine, 2011), o que corrobora com os resultados desse estudo.

Embora as acículas frescas tenham sido mais fitotóxicas, o único mecanismo de liberação dos seus aleloquímicos *in situ* é por meio de lixiviação pela chuva, já que as substâncias fenólicas são solúveis em água (Weidenhamer et al., 1993), o que não deve gerar uma concentração significativa de aleloquímicos no solo. Assim, mesmo as acículas frescas tendo atividade fitotóxica, o potencial alelopático de *P. taeda* é baixo, pois as acículas da serapilheira, que poderiam liberar os fenólicos no solo de forma efetiva, devido a proximidade, não possuem concentrações suficientes dessas substâncias. No entanto, uma fonte possível de efeito alelopático pode ser outro grupo de substâncias, os terpenos, que são hidrocarbonetos com baixa solubilidade em água, portanto, menos expressivos em extratos aquosos. Sua liberação na serapilheira ocorre por volatilização e degradação microbiológica (Dyk et al, 1998). Segundo Kainulainen e Hoopainem (2002), os monoterpenos tem uma decomposição química mais lenta que os ácidos fenólicos, podendo ficar disponíveis na serapilheira por mais tempo. Há também a possibilidade dos aleloquímicos serem liberados nos exsudados das raízes. Estudos demonstraram atividade fitotóxica de extratos de raiz de *P. halapensis* sobre diversas espécies vegetais (Fernandez et al., 2006; Maestre et al. (2003).

Foi observada uma variação do efeito fitotóxico de acículas frescas de *P. taeda* em função da idade da planta fonte das acículas, porém, essa variação dependeu da espécie-receptora. As monocotiledoneas *Paspalum notatum* e *E. plana* demonstram serem mais sensíveis aos extrato de acículas de plantas de 33 anos. O crescimento da parte aérea e da raiz de *P. notatum* teve maior inibição com o extrato de acículas de plantas de 33 anos e o mesmo foi observado para a raiz de *E. plana*. As dicotiledoneas *T. repens* e *L. corniculatus* foram mais sensíveis ao extrato de acículas de plantas de quatro anos, pois foi o único a inibir o crescimento da parte área das espécies, e ainda causou maior inibição do crescimento da raiz. O resultado obtido no presente estudo contrasta com o observado por Fernandez et al. (2006) ao testar os efeitos dos extratos de acículas de *Pinus halopensis*, oriundas de plantas de idades diferentes, sobre duas espécies de dicotiledôneas cultivadas: *Linum strictum* e *Lactuca sativa*. *Linum strictum* foi mais sensível ao extrato de acículas de plantas jovens de *P. halopensis*, com inibição do crescimento da parte aérea e da raiz. *Lactuca sativa* não teve a germinação afetada pelo extratos de acículas, e o crescimento inicial da parte aérea foi pouco inibido. O crescimento da raiz de *L. sativa* foi estimulado pelos extratos, e o estímulo aumentou com a idade da planta doadora. Além dos fatores intrínsecos da espécie doadora (natureza dos aleloquímicos hidrossolúveis de *P. halopensis*) e do tipo de extração, as espécies receptoras escolhidas podem ter uma grande influência nos resultados obtidos.

É possível que espécies receptoras nativas ou naturalizadas, como é o caso do presente estudo, favoreçam a detecção de sensibilidade aos aleloquímicos. Espécies cultivadas selecionadas para alta performance na germinação talvez possuam maior resistência aos aleloquímicos de espécies potencialmente alelopáticas. Outro aspecto importante a ser observado é o uso de espécies de grupos taxonômicos que representem a flora que coocorre com a espécie potencialmente alelopática.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos aquosos de acículas de *Pinus taeda* apresentaram fitotoxidez sobre as quatro espécies vegetais ocorrentes nos Campos Sulinos. Extratos de acículas frescas afetaram mais a germinação e o crescimento das espécies receptoras em relação aos extratos de acículas da serapilheira. O modo de processamento das acículas para obtenção dos extratos aquosos também influenciou os resultados. Quando ativos, os extratos demonstraram atividade dependente da dose.

O efeito dos extratos aquosos de acículas *Pinus taeda* variou com a idade das plantas doadoras, porém as plantas receptoras se comportaram de maneiras distintas. As gramíneas, *Paspalum notatum* e *Eragrostis plana* foram mais sensíveis aos extratos de acículas de plantas doadoras mais velhas (33 anos). As leguminosas *Trifolium repens* e *Lotus corniculatus* foram mais sensíveis aos extratos de acículas de plantas doadoras jovens (quatro anos).

Os resultados do presente estudo sugerem a presença e variação da fitotoxidez de *Pinus taeda* de acordo com a idade das plantas doadoras, assim como com o tipo de planta receptora. Com relação ao seu potencial alelopático, os resultados obtidos são inconclusivos. Se há efeito alelopático dessa espécie, a via de liberação dos aleloquímicos provavelmente não envolve a lixiviação de metabólitos presentes nas acículas acumuladas serapilheira.

7. REFERÊNCIAS

- BECKER, C.G., SALOMÃO, A.T., SILVEIRA, C.L., KERSCH, M.F. & ECHEVERRY, S.F.S. 2006. Composição vegetal e o acúmulo de serapilheira em um fragmento de Cerrado. In: Santos, F.A.M., Martins, F.R. & Tamashiro, J.Y. (orgs.). Relatórios da disciplina NE211- PPGEcologia, IB, UNICAMP Pag. 60-76.
- BOECHAT, S.C., LONGHI-WAGNER, H.M. Padrões de distribuição geográfica dos táxons brasileiros de *Eragrostis* (Poaceae, Chloridoideae). *Revista Brasileira de Botânica*, 23: 177-194, 2000.
- BOLDRINI, I.I. A flora dos campos do Rio Grande do Sul. In Pillar VD, Müller SC, Castilhos ZMS & Jacques AVA (eds). *Campos Sulinos: Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2009.p. 63-77.
- BRAINE, J. W. Germinação de sementes de alface na presença de acículas de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Estud. Biol.*, v. 32-33, n. 76-81, p. 67-72, 2010.
- BURKE, J. W., GRIME, J. P. An experimental study of plant community invasibility. *Ecology* 77, 776–790, 1996.
- CALLAWAY, R. M., W. M. RIDENOUR. Novel weapons: a biochemically based hypothesis for invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2: 436–433, 2004.
- CAROSO, G. F.; PAIM, N. R.; MARKUS, R. Avaliação de clones de *Lotus uliginosus* Schkuhr. em blocos de policruzamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 17: 617-622, 1982.
- CASSEY P, BLACKBURN TM, DUNCAN RP, CHOWN SL. Concerning invasive species: reply to Brown and Sax. *Austral Ecology* 30:475–480, 2005.
- CHAMBERS, C.C., MACMAHON, J.A. A day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25: 263-292, november, 1994.
- CHON, S. U. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Scientia Horticulture*, 106: 309-317. 2005.
- CHOU, C. H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 18.: 609-630, 1999.

- CHUNG, I.M., AHN, J.K., YUN, S.J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crusgall*) or rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. *Crop Protection*. 20: 921-928, 2001.
- COLAUTTI, R.I.; GRIGOROVICH, I.A.; MACISAAC, H.J. Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biological Invasions* 8: 1023-1037, 2006.
- DAEHLER, C.C. E STRONG, D.R. Reduced herbivore resistance in introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) after a century of herbivore-free growth. *Oecologia*, 110, 99-108, 1997.
- FERNANDEZ, C., LELONG, B., VILA, B., MEVY, J.P., ROBLES, C., GREEF, D.D., BOUSQUET-MELOU, A. Potencial allelopathic effect of *Pinus halepensis* in the secondary succession: an experimental approach. *Chemoecology*, 16: 97-105, June, 2006.
- FERNÁNDEZ, C; B LLELONG; B VILA; JP MEVY; C ROBLES; ET AL. Potential allelopathic effect of *Pinus halepensis* in the secondary succession, an experimental approach. *Chemoecology* 16:97-105, 2006
- FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 12: 175-204, 2000.
- FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. Germinação do básico ao aplicado. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 323p
- FUERST, E.P.; PUTNAM, A.R. Separating the competitive and allelopathic components of interference: theoretical principles. *Journal Chemical Ecology*, 9: 937-944, August, 1983.
- GHAYAL, N. A.; DHUMAL, K. N.; DESHPANDE, N. R. Phytotoxic effects of *Cassia uniflora* leaf leachates on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus*) and mustard (*Brassica juncea*). *Allelopathy Journal*, v. 19, p. 361-372, 2007.
- HARPER, J.L. *Population Biology of Plants*. Ed. London, Academic Press, 1977. 892.
- HIERRO, J.L.; CALLAWAY, R.M. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil*, 256: 29-39, September, 2003.
- HIRASHI, K.N., YOSHIKO, F., HIDEYUKI, S. An allelopathic substance in red pine needles (*Pinus densiflora*). *Journal of Plant Physiology*, 166: 442-446, March, 2009.

- HUGHES, H. D. Cuernecillo. In: HUGHES, H. D.; HEATH, M.; METCALFE, D. S. Forages: la ciencia de la agricultura basada en 110 la producción de pastos. México: Compañía Editora Continental, 1981, p.215-232.
- INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. Bioassays for allelopathy: interactions of soil organic and inorganic constituents. In INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) Principles and practices in plant ecology. Boca Raton, CRC Press, 1999. p.35-44.
- INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M. On laboratory bioassays in allelopathy. The Botanical Review, 61: 28-44, january-march, 1995.
- INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. The Botanical Review 62: 186-202, 1996.
- INDERJIT; NILSEN, E.T. Bioassays and Field Studies for Allelopathy in Terrestrial Plants: Progress and Problems. Critical Reviews in Plant Sciences, 22: 221-238, june, 2003.
- Käinulainen, P., Holopainen, J.K. Concentrations of secondary compounds in Scot pine needles at different stages of decomposition. Soil Biology & Biochemistry 34: 37-42, 2002.
- KENNEDY, J.E. DAVÉ, P.C., HARBIN, J.N., SETZER, W.N. Allelopathic potential of *Sassafras albidum* and *Pinus taeda* essential oils. Allelopathy Journal, 27, 111- 122, 2011.
- KOLAR, C.S., LODGE, D.M. 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. Trends Ecol. Evol. 16: 199-204, 2001.
- KRONKA, F.J.N.; NALON, M.A.; MATSUKUMA, C.K.; KANASHIRO, M.M.; YWANE, M.S.S.; PAVÃO, M.; DURIGAN, G.; LIMA, L.M.P.R.; GUILLAUMON, J.R.; BAITELLO, J.B.; BORGIO, S.C.; MANETTI, L.A.; BARRADAS, A.M.F.; FUKUDA, J.C.; SHIDA, C.N.; MONTEIRO, C.H.B.; PONTINHA, A.A.S.; ANDRADE, G.G.; BARBOSA, O.; SOARES, A.P. Inventário florestal da vegetação natural do estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente; Instituto Florestal; Imprensa Oficial, 2005. 200p.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S.; PONS, T.L. Plant physiological ecology. New York: Springer-Verlag, 1998. 540p.
- Lewis, G.P.; Schrire, B.D.; Mackinder, B.A., LOCK, J.M. Legumes of the World. Kew, Royal Botanic Gardens, 2005.

- LODGE, D.M. Biological Invasions: Lessons for Ecology. *Trends Ecol. Evol.* 8: 133-137, 1993.
- LORENZI, H.; SOUZA, M. H., TORRES, M.A.; BACHER, L. B. Árvores exóticas no Brail. Madeireiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2003, 339p.
- MACIAS, F.; GALINDO, J.C.; MOLINILLO, J.M.; CASTELLANO, D. Dehydrozalanin C: A potent plant growth regulator with potential use as a natural herbicide template. *Phytochemistry*, 54: 65-171, may, 2000.
- MACK, R. N.; CHAIN, S.; LONSDALE, W. M.; EVANS, H.; CLOUT, M.; BAZZAR, F. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Application*, 10:689-710, june, 2000.
- MANNINEM, A.M., TARHANEM, S., VOURINEM, M., KAINULAINEN, P. Comparing the variation of needle and wood terpenoids in Scots pine provenances. *Journal of Chemical Ecology*: 28: 211–227, 2002.
- MARON, J. L., VILÀ, M, When do herbivores affect plant invasion? Evidence from the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95, 361–373, 2001.
- MEDEIROS, R. B.; PILLAR, V. P.; REIS, J. C. L. Expansão de *Eragrostis plana* Nees. (Capim-Annoni-2) no Rio Grande do Sul e indicativos de controle. In: REUNIÓN DEL GRUPO TÉCNICO REGIONAL DEL CONO SUR EM MEJORAMIENTO Y UTILIZACIÓN DE LOS RECURSOS FORRAGEROS DEL ÁREA TROPICAL Y SUBTROPICAL – GRUPO CAMPOS, 20., 2004, Salto. Anais. Salto: Regional Norte de la Universidad de la República del Uruguay, 2004. p.211-212.
- NATHAN, R., KATUL, G.G., HORN, H.S., THOMAS, S.M., OREN, R., AVISSAR, R., PACALA, S.W., LEVIN, S. Mechanisms of longdistance dispersal of seeds by wind. *Nature* 418: 409–413, 2002.
- OVERBECK, G.E.; MULLER, S.C.; FIDELIS, A.; PFADENHAUER, J.; PILLAR, V.D.; BLANCO, C.C.; BOLDRINI, I.I.; BOTH, R.; FORNECK, E.D. Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, v: 101-116, 2007.
- PARKER, I. M.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, W. M.; GOODELL, K.; WONHAM, M.; KAREIVA, P. M.; WILLIAMSON, M. H.; HOLLE, B. V.; MOYLE, P. B.; BYERS, J.

- E.; GOLDWASSER, L. Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions*, 1: 3-19, march, 1999.
- Pillar, V. D. MULTIV software para análise multivariada, testes de aleatorização e autoreamostragem “bootstrap”, ver.2.65b. – Depto de Ecologia, UFRGS, Porto Alegre, 2009.
- REIGOSA, M.; GOMES, A. S., FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. *Acta Botânica Brasílica*, 27: 629-646, october –december, 2013.
- REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A., GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Science* 18: 577-608, 1999.
- REIGOSA, MJ. PEDROL, N. SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. GONZÁLIEZ, L. Stress and allelopathy. In Reigosa, M. Pedrol, N. (eds.), *Allelopathy from molecules to ecosystems*. USA. Science Publishers, 2002, 231-256.
- REIS, J. C. L. Capim Annoni-2: Origem, Morfologia, Características, Disseminação. In: REUNIAO REGIONAL DE AVALIAÇÃO DE PESQUISA COM ANNONI- Bagé: EMBRAPA - CPPSUL, 1993. p. 5-23. EMBRAPA-CPPSUL. Documento, 7.
- REJAMANEK, M., RICHARDSON, D.M. What attributes make some plant species more invasive. *Ecology*, 77: 1655-1661, 1996.
- RICE, E.L. *Allelopathy*. 2ed. New York, Academic Press, 1984. 422.
- RICHARDSON, D. M. Forestry trees as invasive aliens. *Conservation Biology*, 12: 18-26, 1998.
- RICHARDSON, D. M., HIGGENS, S. I. Pines as invaders in the southern hemisphere. Pp. In: Richardson, D. M. (ed) *Ecology and Biogeography of Pinus*. Cambridge University Press, Cambridge (in press), 450–473, 1998.
- RICHARDSON, D.M., PYSIK, P., REJMANÁK, M., BARBOUR, M.G., PANETTA, F.D., WEST, C.J. Naturalization, and invasions of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Conservation* 6: 93-107, 2000.
- RIZVI, S.J.H.; HAQUE, H.; SINGH, V.K., RIZVI, V. A discipline called allelopathy. Pp. 1-10, 1992. In: S.J.H. Rizvi & V. Rizvi (eds.). *Allelopathy: basic and applied aspects*. London, Chapman & Hall.

- Rodrigues, F.C.M. e Lopes, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. Floresta e Ambiente, 8: 130-136, 2001.
- SAKAI, A K, ALLENDORF F W, HOLT J S, LODGE D M, MOLOFSKY J, WITH K A, BAUGHMAN S, CABIN R J, COHEN J E, ELLSTRAND N C, MCCAULEY D E, O'NEIL P, PARKER I M, THOMPSON J N AND WELLER S G. The population biology of invasive species. Annu. Rev. Ecol. Syst. 32, 305–332, 2001.
- SARTOR LR; CHINI PFAN; MARTIN TN; MARCHESE JA; SOARES AB. Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. Ciência Rural 39: 1653- 1659, 2009.
- SEANEY, R.R.; HENSON, P.R. Birdsfoot trefoil. Advances in Agronomy, 22: 119-157, 1970.
- STEINER, J. J. Birdsfoot Trefoil: origins and germoplasm diversity. In: BEUSELINCK, P. R. Trefoil: the science and technology of Lotus. 28 ed. Madison: ASA, 1999. p.62-81.
- WATSON, L. e DALLWITS, M.F. The grass genera of the world. Cambridge University Press, Cambridge. 1992, 1081p.
- WEIDENHAMER, J. D. et al. Just how insoluble are monoterpenes? J. Chem. Ecol., 19: 1799-1807, 1993.
- WHITTAKER, R.W.; FEENY, P.P. Allelochemicals: chemical interactions between species. Science, 171: 757-770, february, 1971.
- WILLIAMSON, M.H., FITTER A. The varying success of invaders. Ecology 77: 1661-1666, 1996.
- WILLIS, A.J., THOMAS, M.B. E LAWTON, I.H. Is the increased vigour of invasive weeds explained by a trade-off between growth and herbivore resistance. Oecologia, 120: 632-640, 1999.
- ZALBA, S.; ZILLER, S. R. Manejo adaptativo de espécies exóticas invasoras: colocando a teoria em prática. Natureza & Conservação, 5: 16 – 22, 2007.
- ZOHARY, M., HELLER, D. The Genus *Trifolium* L. Jerusalém: The Israel Academy of Science and Humanities, 1984. 606p.
- Schmidt, S.K. Ecological implications of the destruction of juglone (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone) by soil bacteria. J. Chem. Ecol. 1990, 16, 3547-3549

- ASHTON, P. M. S. et al. Restoration of a Sri Lankan rain forest: using Caribbean pine *Pinus caribaea* as a nurse for establishing late-successional tree species. *Journal of Applied Ecology*, Oxford, v. 34, p. 915-925, 1997.
- SILVA JÚNIOR, M. C.; SCARANO, F. R.; CARDEL, F. S. Regeneration of an Atlantic Forest in the understory of an *Eucalyptus grandis* stand in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, Cambridge, v. 11, p. 148-152, 1995.
- Blanco, J. A. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. 2007. *Ecological Modelling* 209(2-4): 65-77.
- EINHELLIG, F. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal*, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.
- CHOU, C.H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 18, n. 5, p. 609-636, 1999.
- RICHARDSON, D. M. & COWLING, R. M. 1992. Why is mountain fynbos invulnerable and which species invade? In: VAN WILGEN, B. W., RICHARDSON, D. M., KRUGER, F. J. & VAN HENSBERGEN, H. J. (eds.), *Fire in South African mountain fynbos*. Springer-Verlag. Berlin, pp. 161-181.
- CORBETT, D. P. 1991. Control of cluster pine on French Island, Victoria. *Plant Protection Quarterly* 6 (3). Austrália, p. 128.
- CHILVERS, G. A. & BURDON, J. J. Further studies on a native Australian eucalypt forest invaded by exotic pines. *Oecologia*. Springer-Verlag. Berlin, pp. 239-245.
- MINKO, G. & AEBERLI, B. C. 1986. Spread of radiata pine into indigenous vegetation in North-eastern Victoria. *Forestry Technical Papers* 30. State Forests and Lands Service. Australia, pp. 17-25
- ZALBA, S. M., BARRIONUEVO, L. & CUEVAS, Y. 2000. Pines invasion and control in an argentinian grassland nature reserve. *Third International Weed Science Congress*. Foz do Iguaçu.
- DOUGHERTY, P.M.; DURYEYEA M.L. Regeneration: an overview of past trends and basic steps needed to ensure future success. In: DURYEYEA M.L.; DOUGHERTY, P.M. *Forest regeneration manual*. Dordrecht: Kluwer, 1991. cap. 1, p. 1-7

- SHAUGHNESSY, G. A. A case study of some woody plant introductions to the Cape Town area. In: MACDONALD, I. A. W., KRUGER, F. J. & FERRARA, A. A., The ecology and management of biological invasions in southern Africa. Oxford University Press. Cape Town, pp. 37-43.
- CHILVERS, G. A. & BURDON, J. J. Further studies on a native Australian eucalypt forest invaded by exotic pines. *Oecologia*. Springer-Verlag. Berlin, pp. 239-245
- LUGO, A.E. Comparison of tropical tree plantations with secondary forests of similar age. *Ecological Monographs*, Ithaca, v.62, n.1, p.1-41, 1992.
- FIMBEL, R.A.; FIMBEL, C.C. The role of exotic conifer plantations in rehabilitating degraded tropical forest lands: a case study from Kibale National Park in Uganda. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v.81, p.215-226, 1996.
- GELDENHUYS, C.J. Native forest regeneration in pine and eucalypt plantations in Northern Province, South Africa. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v.99, p.101-115, 1997.
- KEENAN, R.; LAMB, D.; WOLDRING, O.; IRVINE, T.; JENSEN, R. Restoration of plant biodiversity beneath tropical tree plantations in Northern Australia. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v.99, p.117-131, 1997.
- OBERHAUSER, U. Secondary forest regeneration beneath pine (*Pinus kesiya*) plantations in the northern Thai highlands: a chronosequence study. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v. 99, p. 171-183, 1997.
- ARÉVALO, J. R.; FENÁNDEZ-PALACIOS, J. M. Gradient analysis of exotic *Pinus radiata* plantations and potential restoration of natural vegetation in Tenerife, Canary Islands (Spain). *Acta Oecologica*, Paris, v. 27, p. 1-8, 2005.
- SHIBAYAMA, T. et al. Effects of fire on the recruitment of rain forest vegetation beneath *Pinus caribaea* plantations, Sri Lanka. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v. 226, p. 357-363, 2006.
- Inderjit, Asakawa C (2001) Nature of interference potential of hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) to radish (*Raphanus sativus* L.): does allelopathy play any role? *Crop Protection* 20: 261–26.
- Rosângela Gonçalves Rolim, Pedro Maria Abreu de Ferreira, Angelo Alberto Schneider, Gerhard Ernst Overbeck. (2015) How much do we know about distribution and ecology of naturalized and

invasive alien plant species? A case study from subtropical southern Brazil. *Biological Invasions* 17, 1497-1518. Online publication date: 1-May-2015.

Inderjit, Asakawa C (2001) Nature of interference potential of hairyvetch (*Vicia villosa* Roth) to radish (*Raphanus sativus* L.): does allelopathy play any role? *Crop Protection* 20: 261–265.

MARCHIORI, J. N. C. *Dendrologia das gimnospermas*. Santa Maria: Ed. UFSM, 1996.

Mooney H.A. & Hofgaard A. 1999. Biological invasions and global change. In: Sandlund O.T., Schei P.T. & Viken A. (Eds.). *Invasive Species and Biodiversity Management*. Kluwer, Dordrecht, pp. 139-148.

Zalba S.M. & Villamil C.B. 2002. Woody plant invasion in relictual grasslands. *Biological Invasions* 4: 55-72.

Richardson D.M. & Higgins S.L. 1998. Pines as invaders in the southern hemisphere. In: *Ecology and Biogeography of Pinus* (ed. Richardson DM). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 450-473.

Richardson D.M., van Wilgen B.W. & Nuñez M.A. 2008. Alien conifer invasions in South America: short fuse burning? *Biological Invasions* 10: 573-577.