

Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro
Escola Nacional de Botânica Tropical
Programa de Pós-graduação em Botânica

Tese de Doutorado

**Potencial de Invasão das Restingas por
Casuarina equisetifolia L.: Fatores que Limitam
a Regeneração da Vegetação**

Thalita Gabriella Zimmermann

Rio de Janeiro
2016

Casuarina equisetifolia L.



Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro
Escola Nacional de Botânica Tropical
Programa de Pós-graduação em Botânica

**Potencial de Invasão das Restingas por
Casuarina equisetifolia L.: Fatores que Limitam
a Regeneração da Vegetação**

Thalita Gabriella Zimmermann

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Botânica.

Orientador: Dr. Antonio Carlos Silva de Andrade

Rio de Janeiro
2016

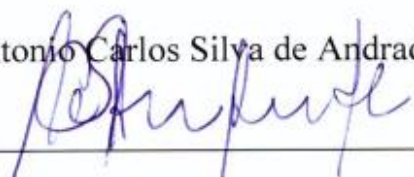
Invasão das Restingas por *Casuarina equisetifolia* L.:
Fatores que Limitam a Regeneração da Vegetação

Thalita Gabriella Zimmermann


Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Escola Nacional de Botânica Tropical, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro - JBRJ, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutora.

Aprovada por:

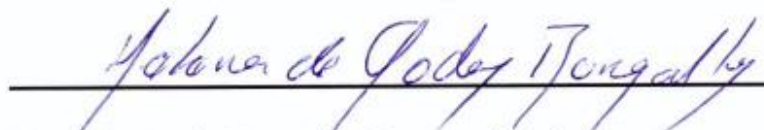
Prof. Dr. Antonio Carlos Silva de Andrade (Orientador)



Prof. Dra. Dalva Maria Silva Matos



Prof. Dra. Helena Godoy Bergallo



Prof. Dr. Luiz Fernando Duarte de Moraes



Prof. Dr. Bruno Henrique Pimentel Rosado



Em 23/02/2016

Rio de Janeiro
2016

Z76i Zimmerman, Thalita Gabriella.
Potencial de Invasão das restingas por *Casuarina equisetifolia* L.:
fatores que limitam a regeneração da vegetação / Thalita Gabriella
Zimmerman. – Rio de Janeiro, 2016.
xii, 192f. : il. ; 28 cm.

Doutorado (tese) – Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio
de Janeiro / Escola Nacional de Botânica Tropical, 2016.

Orientador: Antonio Carlos Silva de Andrade.

1. Alelopatia. 2. Restinga. 3. Invasão biológica. 4. Regeneração
natural. 5. Serapilheira. I. Título. II. Escola Nacional de Botânica
Tropical.

CDD 577.18

RESUMO

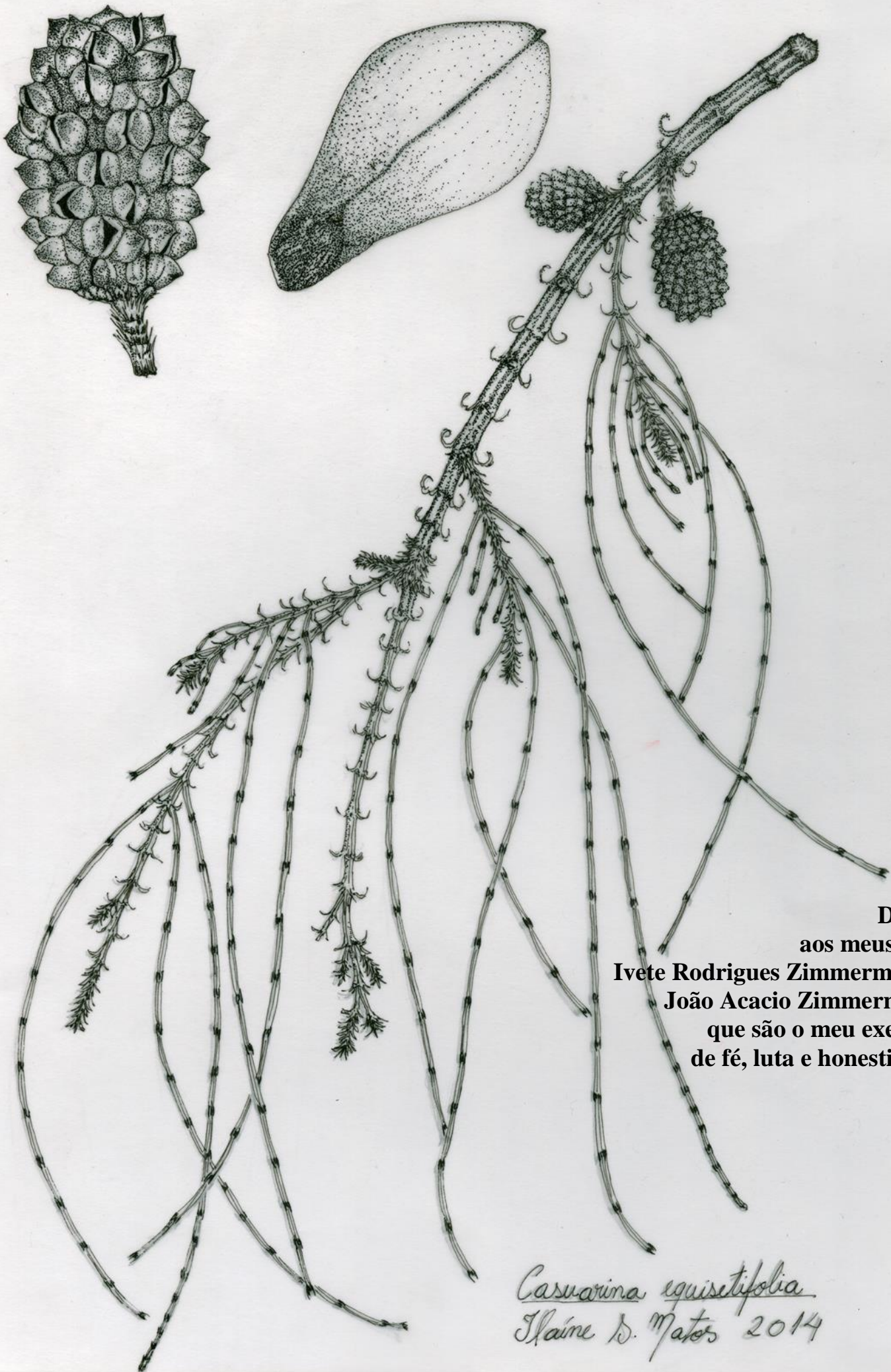
Casuarina equisetifolia L. (Casuarinaceae) é uma das espécies arbóreas com maior potencial invasor do mundo. É tolerante à salinidade, às condições áridas e à baixa fertilidade do solo. Assim, apresenta potencial de invadir áreas abertas nas dunas, substituindo a vegetação nativa e ameaçando a diversidade biológica nas regiões costeiras, como a restinga no Brasil. Os objetivos deste estudo foram avaliar: (i) as características funcionais que permitem *C. equisetifolia* ultrapassar as barreiras reprodutiva e de sobrevivência e tornar-se espécie invasora, (ii) o potencial de invasão dessa planta exótica na restinga, (iii) a capacidade de regeneração da vegetação nativa nas áreas com domínio dessa espécie, (iv) os fatores que limitam o estabelecimento das espécies nativas nos locais com invasão dessa planta exótica, (v) a semeadura e o plantio de mudas como estratégia para tentar aumentar a riqueza de espécies nas áreas com domínio de *C. equisetifolia*. As sementes dessa espécie têm uma previsão de viabilidade de 50 meses no solo e germinam em grande amplitude de temperatura e de luminosidade, mas são sensíveis ao estresse hídrico e salino. Quando aumentam as condições de disponibilidade hídrica, as sementes apresentam capacidade de germinar. As plantas jovens não toleram sombreamento e estresse hídrico. Assim, o habitat preferencial para a invasão de *C. equisetifolia* nas regiões costeiras são áreas abertas próximas a corpos d'água, onde tenham ocorrido algum tipo de distúrbio. Ocorre dispersão de sementes dessa planta exótica na restinga, contudo, não foi observado recrutamento de indivíduos no banco de sementes e no banco de plântulas no interior das moitas e na área aberta da restinga. Na área com domínio de *C. equisetifolia* ocorre a chegada de sementes das espécies nativas e existe um banco de sementes do solo, mas são poucas as espécies recrutadas no banco de plântulas. O solo na área com domínio dessa planta exótica não limita o estabelecimento das espécies, diferentemente do que ocorre com a serapilheira. O efeito físico da serapilheira é maior que o químico em relação a germinação e o crescimento das plântulas. As espécies com tamanho de semente grande ou que possuem plântulas com cotilédones de reserva apresentam maiores chances de ultrapassar a camada de serapilheira. Essa planta exótica também libera compostos aleloquímicos no ambiente, principalmente através das folhas e da serapilheira fresca, que afetam a germinação e o crescimento das plântulas nativas e da sua própria espécie (autotoxicidade). O efeito alelopático tendeu a ser mais intenso no verão em relação ao inverno. Não existiu diferença na produção de metabólitos secundários entre jovens e adultos, assim, parece não ocorrer mudanças no potencial alelopático no decorrer da invasão. A emergência de *C. equisetifolia* após a semeadura de sementes foi praticamente nula e as plântulas morreram após um mês, tanto na área com domínio dessa espécie como na restinga. A sobrevivência das suas plantas jovens que foram plantadas na restinga também foi nula, já na área com domínio dessa espécie a sua sobrevivência foi alta. A emergência de uma das duas espécies nativas foi maior na área com domínio de *C. equisetifolia* em relação ao interior das moitas, quando a semeadura de sementes ocorreu sob a serapilheira. A serapilheira também aumentou a sobrevivência das plantas jovens das duas plantas nativas na área com domínio de *C. equisetifolia*. Assim, o efeito da serapilheira, quando em baixa quantidade, pode ser de facilitação, devido a retenção de umidade. Contudo, se a semente for dispersa e ficar sobre a serapilheira, dificilmente conseguirá germinar, já que esta inibe a protrusão da radícula. Em conclusão, o potencial de invasão de *C. equisetifolia* na restinga é baixo, principalmente devido às condições ambientais, e a serapilheira é um dos principais fatores limitantes a regeneração nas áreas com domínio dessa planta exótica.

Palavras-chave: alelopatia, áreas costeiras, invasão biológica, regeneração natural, serapilheira.

ABSTRACT

Casuarina equisetifolia L. (Casuarinaceae) is one of the most widespread invasive alien tree species in the world. The species tolerates salinity, arid conditions and low soil fertility. Thus, it has the potential to invade open areas in the dunes and replace the native vegetation, threatening the biodiversity in coastal regions, as the *restingas* in Brazil. This study sought to evaluate: (i) the sets of functional traits that enable *C. equisetifolia* to overcome the reproductive and survival barriers and to become an invasive species; (ii) its invasive potential in the restinga; (iii) the capacity for natural regeneration of the native plants under the *Casuarina* stand; (iv) the factors that limit the establishment of native species at sites with the presence of the exotic plant; (v) sowing seeds and planting young plants as a strategy to try to increase species richness in a stand of invasive *C. equisetifolia*. The expected viability of this exotic plant seeds in the soil was 50 months. The seeds can germinate in a wide range of temperatures and light, but are sensitive to water and salt stress. When water availability conditions increase, seeds have the capacity to germinate. Young plants did not tolerate water stress or deep shade. Thus, the preferred habitat for the invasion of *C. equisetifolia* are open areas, adjacent to watercourses, especially along coastlines, where disturbances have occurred. Although seed dispersal of the alien species occurred in the restinga, it was not observed the recruitment of its individuals in the seed bank and seedling bank neither inside patches nor in open areas. In relation to the capacity for natural regeneration of the native plants under the *Casuarina* stand, seeds of native species arrived and formed a soil seed bank, but had few recruited species in seedling bank. The main cause of low recruitment of the native species under the *Casuarina* stands is not the soil quality, but rather the amount of litter accumulated. The litter layer had a greater physical than chemical effect on seed germination and on seedling growth. Species with large seed size or seedlings with reserve cotyledons are more likely to overcome the litter layer. The exotic plant also releases allelochemicals in the environment, mainly through leaves and fresh litter, limiting seed germination and growth of native seedlings and their own species (autotoxicity). The allelopathic effect had a tendency to be higher in the summer than in the winter. There was no difference in the production of secondary metabolites in relation to the age (young versus adult), which shows no change in allelopathic potential during the invasion process. Seedling emergence of *C. equisetifolia* after sowing seeds was practically null and seedlings died after a month under the *Casuarina* stand and in the restinga. Young plants survival of the exotic plant that were planted inside the restinga was also null, but under the *Casuarina* stand its survival was high. Seedling emergence of one of the two native species was higher under the *Casuarina* stand than inside patches, when sowing seeds was below low litter. Under the *Casuarina* stand, seedling survival of the two native species was higher with than without litter. Thus, the effect of litter, when in low quantity, can be of facilitation due to moisture retention. However, if seeds were dispersed and stay above litter, germination can be prevented because litter can inhibit root protrusion. In conclusion, potential invasion of *C. equisetifolia* in the restinga is low, mainly due to the environmental conditions of this ecosystem, and the litter is one of the main factors limiting the natural regeneration in areas with this exotic plant invasion.

Key words: allelopathy, biological invasions, litter, natural regeneration, sandy coastal plains.



Dedico
aos meus pais,
Ivete Rodrigues Zimmermann e
João Acacio Zimmermann,
que são o meu exemplo
de fé, luta e honestidade.

Casuarina equisetifolia
Flávia D. Matos 2014

*“Entrega o teu caminho ao Senhor,
confia nele,
e o mais ele fará”*

Salmo 37:5

AGRADECIMENTOS

E nesses quatro anos de doutorado eu tenho muitoooo a agradecer...

Primeiramente agradeço a Deus, que sempre esteve ao meu lado durante a caminhada do doutorado (e que caminhada!). Ele foi a minha força, principalmente nos momentos de dificuldade. A Nossa Senhora, que sempre intercedeu por mim junto a seu filho Jesus e me cobriu com o seu manto de amor.

Agradeço aos meus pais, Ivete Rodrigues Zimmermann e João Acacio Zimmermann, pelo amor e dedicação a sua única filha, pelo incentivo em fazer o doutorado (apesar de que para isso a filha teve que ficar a quase mil quilômetros de distância) e por entenderem a minha ausência em tantos momentos importantes. Agradeço pelo apoio de toda a minha família, que sempre se preocupou comigo ("como está a Tati?"), e que rezou por mim e pelo meu sucesso.

Ao meu orientador Antonio Carlos Silva de Andrade, que apesar de ter quebrado o meu coração várias vezes por querer cortar resultados da tese, agradeço por todas as nossas conversas, pela sua paciência, pela ajuda no campo e por se preocupar em tornar os seus alunos bons profissionais.

Ao pessoal que faz ou fez parte do laboratório de sementes: ao Fabiano, que foi o meu braço direito no campo e sempre esteve disposto a ajudar; a minha querida estagiária Luísa ("a minha desorientada"), o que seria de mim sem a ajuda dela no laboratório e na casa de vegetação!; a Paula, não só pela ajuda no laboratório, mas também pela sua atenção e pelos seus conselhos; a Amanda, por toda a ajuda na identificação das plântulas e das sementes, pelas nossas conversas e pelos seus conselhos; a Ana Beatriz, pela ajuda no campo e no laboratório, pela parceria e pelas discussões sobre alelopatia; ao Luís Felipe, pela ajuda no campo e por alegrar os meus dias no lab, apesar de muitas vezes ter me tirado do sério (rsrsrs); a Letícia, pela ajuda na identificação das sementes e por sempre cuidar do lab; ao vascaíno Ricardo, pela ajuda no campo e com o beneficiamento das sementes; as "pibics seniores", Rachel e Patricia, pela ajuda em semear as sementes e fechar com plástico filme as placas de Petri nas segundas-feiras; ao Bruno Damaceno, pela ajuda no campo e na casa de vegetação; a Marina, pela ajuda no laboratório; e ao Charles, pela ajuda no beneficiamento de sementes.

Ao pessoal do *Center for Biological Invasions*, na África do Sul, foi ótima a experiência em participar de um grupo de invasão biológica durante seis meses. Ao David Richardson, que foi o meu supervisor no doutorado sanduíche, agradeço pela sua atenção, pelas sugestões nos artigos e por ter me introduzido a pesquisadores de várias partes do mundo. Agradeço as alunas de pós doutorado Jen, Heidi e Ana Novoa pela ajuda nas análises estatísticas e na discussão dos artigos. Também agradeço a Ony, a doutoranda em modelagem

em invasões biológicas de Madagascar, que sentava ao meu lado no office e me socorria no R. As brasileiras que eu conheci na África do Sul, a mineira Natalia e a pernambucana Cris, agradeço pela companhia nas aventuras nesse país. A Cris, que além de estar no último ano de doutorado, fez também um estudo de ecologia na restinga, agradeço por todas as nossas discussões ecológicas e estatísticas, em especial os benditos modelos do GLMM. Aos meus amigos na África do Sul, em especial aos sul-africanos Ashley e Tummy, a alemã Julia, a australiana Lizz, o espanhol Francisco e as meninas que moraram comigo, a filandesa Sini e a alemã Katharina, pelos passeios em Stellenbosch e em Cape Town.

Ao Bruno Rosado, Dalva Matos, Helena Bergallo e Luiz Fernando de Moraes por terem aceitado o convite de participar da banca de doutorado, e Dorothy Araújo e Michelle Sampaio por serem membros suplentes.

A Michelle Sampaio e ao André Zaú pela oportunidade em realizar o estágio de docência. Foi ótimo participar e ministrar as aulas (Sistemática Botânica) e orientar os alunos no projeto (Ecologia Básica).

Agradeço ao Leandro Freitas e a Helena Bergallo por serem os avaliadores do meu exame de qualificação. Também agradeço ao Leandro por todos os conselhos em Seminários I, com certeza essa disciplina foi extremamente importante para o meu projeto de doutorado.

Ao Jerônimo Boelsums por ser avaliador da tese em seminários II e ao Bruno Rosado pelas sugestões em seminários II e por ser o avaliado na pré-banca. A Luciane e a equipe do GAE da UNIRIO pela ajuda nas análises estatísticas.

A diretora da ENBT, Neusa Tamaio, por ser sempre solícita com as questões dos alunos e do alojamento. Ao pessoal da ENBT, Alice, Dalila e Davi. A secretária da pós-graduação Hevelise, pela ajuda burocrática. Ao ex-coordenador, Anibal Alves, e a atual coordenadora, Claudia Barros, e vice-coordenadora, Karen De Toni, pela atenção.

Ao pessoal da manutenção do Jardim Botânico, em especial ao Marcos, Sillas, Major e Luis, pela ajuda na manutenção da casa 6.

Aos motoristas do Jardim Botânico, principalmente ao Daniel, por ter ajudado na coleta do solo e dos coletores de sementes. Ao Wlamir e ao Abreu, pela paciência em me esperar sair do campo.

Aos pesquisadores do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, em especial a Rafaela Forzza, por ter aberto as portas do Jardim Botânico para mim; ao Cyl Farney, pela sua paciência na identificação das plântulas; a Viviane Krueel, pela identificação de várias espécies, e a fofa da Dona Elsie que pacientemente tentou identificar as sementes ("isso aqui é o cão chupando manga, minha filha"). Agradeço também aos pesquisadores: Ângela Vaz, Debora Medeiros, Dorothy Araújo, Marcus Nadruz, Marli Pires,

Massimo Bovini, Paulo José Fernandez, Roberto Esteves, Rafael Trevisan, Ronaldo Marquete, Tania Sampaio e Zé Fernando.

Aos meus amigos botânicos: Michel, pela ajuda na última coleta do solo e por dizer "não foi tão ruim, eu pensei que ia ser pior"; ao Marco Pellegrini, pela ajuda na identificação e nas dicas de identificação de várias plântulas, ao Diego, pela identificação das cactáceas e por me manter sempre atualizada das notícias do jardim na janela do meu quarto; a Beth e a Cilene, pela identificação das leguminosas, a Ravena, pela identificação das Poaceae; ao Bernard, pela identificação das Solanaceae; a Juliana, pela identificação das Rubiaceae, ao Marcus Fellipe, pela identificação da Cecropia.

Aos amigos que eu fiz no Rio de Janeiro: ao Thiago, pela acolhida durante um ano no seu ap na zona sul e por todas as nossas conversas; a Carol Pitta, a Márcia, a Jú e a Fran por todos os nossos eventos. Ao grupo de jovens Jerusalém, na Tijuca, pelas reuniões revigorantes nas quartas-feiras do meu primeiro ano de doutorado. As meninas da casa 6 e aos meninos do anexo, pela nossa convivência, confraternização e pela horta. Por fim, tenho que fazer um agradecimento em especial a três amigas que Deus colocou no meu caminho no Rio: Silvana, essa paraense que eu morei durante um ano, e que no começo não gostava muito de mim, porque eu falava o tempo todo "nega". Com o tempo fomos nos conhecendo melhor, e nos tornamos grandes amigas. Obrigada por tantas vezes ter escutado as minhas angústias e por todos os seus conselhos. Iláine, essa sergipana pequena e quietinha, mas que aos poucos foi se revelando uma grande amiga e se tornou a minha fiel escudeira do doutorado. É até difícil falar de uma pessoa que é um geniozinho, e ao mesmo tempo é humilde e sempre disposta a ajudar as pessoas. Agradeço pela ajuda no campo, na casa de vegetação, na troca de idéias, no desenho da casuarina, na leitura dos textos, nas sugestões nos artigos, na companhia dos eventos e das viagens. Vivian, essa menina que veio de Campo Grande ("Cuiabá de Baixo") fazer doutorado na cidade maravilhosa. Nas suas idas e vindas ao Rio fomos nos tornando grandes amigas, até irmos morar juntas na casa 6 e nos tornar praticamente irmãs! Nega, obrigada por dividir as alegrias e agústias, tanto do doutorado como da vida, por ser minha confidente, pelos conselhos, pelos passeios, por dividir os planos futuros e pelas suas gororobas.

Por fim, agradeço a DIPEq pela estrutura para realizar parte da pesquisa, ao JBRJ pelo transporte e a CAPES pela bolsa de doutorado nos dois primeiros anos e pela bolsa sanduíche, e a FAPERJ pela bolsa nos dois últimos anos.

A menina de Santa Catarina que chegou ao Rio a quatro anos atrás só tem que agradecer as experiências e o crescimento, tanto profissional como pessoal, proporcionado por esse doutorado!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
Justificativa	19
OBJETIVO GERAL.....	21
Objetivos Específicos	21
HIPÓTESES	22
ARTICLE 1: Factors mediating naturalization of an invasive tree on sandy coastal plains: An experimental assessment.....	23
ARTIGO 2: Invasividade, invasibilidade e o papel da regeneração natural em áreas costeiras com invasão de espécie exótica arbórea	30
ARTIGO 3: Emergência e crescimento de plântulas de espécies lenhosas da restinga sob condições experimentais de invasão de planta exótica arbórea: efeitos do solo e da serapilheira.....	105
ARTIGO 4: O efeito alelopático de espécie exótica arbórea limita o estabelecimento de espécies nativas e da sua própria espécie em áreas costeiras?	131
ARTICLE 5: Seed dispersal and regeneration of invasive alien and native woody species in invaded and uninvaded areas on sandy coastal plains	152
CONSIDERAÇÕES FINAIS	189

INTRODUÇÃO GERAL

Plantas exóticas (i.e. não-nativas) são aquelas cuja presença em um determinado local é devida à introdução intencional ou acidental, como resultado de uma atividade humana. As plantas exóticas que mantêm uma população viável sem a intervenção do homem são classificadas como naturalizadas. Quando estas produzem prole reprodutiva em grande número e a distâncias consideráveis do local da introdução (distância maior que 100 metros em um período menor que 50 anos para plantas com propagação por sementes e distância superior a 6 metros em três anos para plantas com propagação vegetativa) podem ser denominadas de espécies invasoras (Richardson *et al.* 2000b). De forma geral, são reconhecidos seis estágios no processo de invasão biológica: (i) seleção das espécies e genótipos; (ii) transporte; (iii) introdução; (iv) estabelecimento (reprodução) = naturalização; (v) dispersão (invasão *sensu stricto*) e (vi) impacto ambiental e econômico (Rejmánek 2011).

De acordo com Rejmánek (2011), cinco atributos biológicos são responsáveis, em diferentes níveis, pelas invasões biológicas: (i) homeostase do *fitness*¹ da população (manutenção do equilíbrio do *fitness* da população ao longo de um gradiente ambiental), (ii) fecundidade e sobrevivência da população, (iii) tempo mínimo de geração, (iv) taxa de expansão da população e (v) competitividade dos organismos e modificação do meio-ambiente para a sua sustentabilidade. A importância relativa de cada um desses atributos vai variar dependendo da quantidade de recursos disponíveis, do nível de degradação e da heterogeneidade espacial do ambiente (Rejmánek 2011). Além da competição, outras interações bióticas também determinam o sucesso da introdução de uma planta exótica no novo ecossistema, como as relações de mutualismo, herbivoria e predação (Richardson *et al.* 2000a; Levine *et al.* 2004; Mitchell *et al.* 2006). Apesar da resistência biótica regular a abundância das espécies invasoras, existe pouca evidência que a interação entre as espécies possa impedir a invasão das plantas exóticas. Assim, sugere-se que fatores abióticos, tais como baixa disponibilidade hídrica, altas temperaturas ou salinidade, tenham um papel mais importante que as interações bióticas em regular o processo de invasão nas comunidades (Levine *et al.* 2004).

Vários estudos mostram o efeito negativo das plantas invasoras na diversidade das comunidades vegetais (Gordon 1998; Gould & Gorchov 2000; Deslow *et al.* 2006; Hejda *et al.* 2009). Entre as plantas invasoras que causam grandes mudanças na estrutura da

¹ *fitness*: grau de aptidão de um indivíduo, que envolve parâmetros como a diversidade genética, crescimento, reprodução e sobrevivência (Rejmánek 2011).

vegetação estão aquelas capazes de formar populações com cobertura maior do que as plantas nativas dominantes (Hedja *et al.* 2009). Estas espécies tem a capacidade de utilizar os recursos de forma rápida e os reduzem a níveis menores que os toleráveis pelas nativas (Rejmánek 2011). Wells *et al.* (1986, *apud* Richardson *et al.* 2000b) propuseram o termo *transformer species* para o grupo de plantas invasoras que causam alterações nas características, condições, forma ou natureza dos ecossistemas em grandes áreas. Estas correspondem a cerca de 10% das espécies invasoras, e tem causado grandes perdas de biodiversidade. Por isso, elas demandam uma maior alocação de recursos para o controle e erradicação (Richardson *et al.* 2000b). Contudo, caso uma espécie invasora torne-se firmemente estabelecida em um ambiente, seu controle pode ser difícil e sua erradicação praticamente impossível (Pimentel *et al.* 2000). Desse modo, compreender os fatores que regulam o processo de invasão e tentar entender porque alguns táxons apresentam maior potencial de invasão que outros tem se tornado um dos principais objetivos das pesquisas em ecologia (Parker *et al.* 1999; Richardson *et al.* 2000b; Shea & Chesson 2002; Bulleri *et al.* 2008).

Apesar das espécies exóticas poderem causar perda na diversidade biológica quando se tornam invasoras, em alguns casos elas podem fornecer benefícios para a conservação dos ecossistemas (Schlaepfer *et al.* 2011). Vários estudos mostraram que interações de facilitação entre espécies invasoras e nativas ocorrem em diferentes tipos de habitats, podem ter efeito cascata ao longo da cadeia trófica, reestruturar comunidades e proporcionar mudanças evolutivas. As espécies invasoras podem apresentar relações de facilitação com as nativas através do fornecimento de recursos limitantes, do aumento da complexidade do habitat, da substituição funcional de uma espécie nativa, do auxílio na polinização e da diminuição da competição e da predação (Rodriguez 2006). Assim, a retirada de uma espécie exótica pode causar mais prejuízos do que benefícios para a comunidade (Bergstrom *et al.* 2009). Desse modo, antes que se inicie um programa de erradicação, é necessário que os órgãos ambientais avaliem se a espécie exótica está produzindo benefícios ou prejudicando a biodiversidade, a saúde humana, os serviços ecológicos e a economia. É necessário que os conservacionistas foquem mais nas funções que a espécie desempenha no ecossistema do que na sua origem (Davis *et al.* 2011).

Elton (1958, *apud* Levine & D'Antonio 1999) escreveu a primeira teoria sobre invasão biológica, que prediz que comunidades com maior número de espécies nativas devem ser mais resistentes a invasão a novas espécies. Assim, áreas com alta riqueza de nativas devem conter menor número de exóticas. Contudo, a maioria dos estudos tem

documentado relações negativas entre a riqueza de nativas e exóticas apenas em pequenas escalas (áreas com 10 m² ou menores). Já em grandes escalas (áreas com 1 km² ou maiores) ocorreria um padrão oposto, em que áreas com maior riqueza de nativas também suportariam mais espécies exóticas (Lonsdale 1999; Levine 2000; Fridley *et al.* 2004; Herben *et al.* 2004; Davies *et al.* 2005; Fridley *et al.* 2007; Belote *et al.* 2008). Conforme Davies *et al.* (2005), em larga escala haveria maior heterogeneidade espacial, o que poderia sustentar maior número de espécies nativas e exóticas, levando a uma correlação positiva entre a diversidade de nativas e exóticas. Assim, diferente do que proposto por Elton (1958, *apud* Levine & D'Antonio 1999), Tilman (2004) relata que regiões com maior diversidade apresentam maior suscetibilidade a invasão porque a sua grande heterogeneidade seria menos explorada. Assim, os mesmos processos que permitem maior diversidade também possibilitam maiores taxas de invasão (Tilman 2004).

Outras teorias foram elaboradas para tentar entender os mecanismos que são responsáveis pelas invasões biológicas, e a maioria delas estão baseadas nas diferenças entre as espécies invasoras e nativas em relação ao nicho (Levine 2000; Stachowicz & Tilman 2005), ao *fitness* (Callaway & Aschehoug 2000; Keane & Crawley 2002) ou ambos (Davis *et al.* 2000; Shea & Chesson 2002; MacDougall & Turkington 2005). De acordo com MacDougall *et al.* (2009), existem geralmente três resultados possíveis para a invasão em relação as combinações das diferenças entre *fitness* e nicho: (i) quando o *fitness* das espécies nativas é maior que das invasoras e a sobreposição de nicho é grande, as nativas vão excluir o potencial invasor; (ii) quando não existe diferença no *fitness* ou a sobreposição de nicho é pequena, o invasor e a nativa podem coexistir; (iii) quando o *fitness* do invasor é maior que o da nativa e a sobreposição de nicho é grande, o invasor pode excluir a nativa. Assim, somente se a espécie invasora apresentar um *fitness* superior à nativa, ela poderá se tornar uma espécie dominante na comunidade (MacDougall *et al.* 2009). Já Davis *et al.* (2000) sugerem que a colonização de espécies exóticas é favorecida nos períodos em que ocorre um aumento no suprimento de recursos ou diminuição da absorção pelas espécies residentes, o que geralmente ocorre após um distúrbio na comunidade. Assim, mudanças antrópicas na paisagem podem criar novas oportunidades de nicho para o estabelecimento de uma espécie invasora (Shea & Chesson 2002).

As espécies nativas podem não estar adaptadas às alterações ambientais causadas pelo homem, diminuindo sua capacidade em absorver os recursos disponíveis de forma homogênea no tempo e espaço. Algumas plantas invasoras, como as que apresentam capacidade de colonizar áreas degradadas no seu habitat natural, podem ter maior

capacidade adaptativa aos ambientes que sofreram algum tipo de distúrbio antrópico em relação as nativas, o que auxilia no sucesso da invasão (Shea & Chesson 2002). Em ambientes degradados, o potencial de invasão de uma espécie aumenta quando estas apresentam sementes pequenas, fase juvenil curta e pequenos intervalos entre grandes frutificações, o que resultará em um crescimento rápido da população (Rejmánek 1996; Rejmánek & Richardson 1996; Rejmánek 2011).

Nas regiões costeiras, a dinâmica do sistema envolve a formação e fixação de dunas, o que abre constantemente novos espaços à colonização por espécies de outras comunidades (Castillo & Moreno-Casasola 1996). Nessas áreas, a invasão por espécies de plantas exóticas pode ocorrer através da imigração de indivíduos dispersados pelo mar, vento, animais ou intervenção humana (Lubke 2004). Neste último caso, pode-se citar a introdução de espécies exóticas para fins ornamentais e contenção de sedimentos, como foi o caso de *Casuarina equisetifolia* L. (Casuarinaceae) (Morton 1980; Elfers 1988; Wheeler *et al.* 2011).

Casuarina equisetifolia é uma espécie arbórea nativa da costa leste da Austrália e sudeste da Ásia (Parrotta 1993). É a espécie que foi mais amplamente plantada e a mais invasiva do gênero (Potgieter *et al.* 2014). Foi plantada em várias regiões costeiras do mundo, principalmente para estabilizar dunas e como barreira contra o vento (Parrotta 1993; Lubke 2004; Wheeler *et al.* 2011). Como é uma espécie tolerante à salinidade, às condições áridas e à baixa fertilidade do solo (Morton 1980), apresenta capacidade de invadir áreas abertas nas dunas, substituindo a vegetação nativa e ameaçando a diversidade biológica nas regiões costeiras (Wheeler *et al.* 2011). Assim, *C. equisetifolia* tornou-se uma das espécies arbóreas com maior potencial invasor do mundo (Richardson & Rejmánek 2011), sendo uma planta naturalizada em no mínimo 32 países e invasora nas Américas, Ásia, Sul da África e em várias ilhas oceânicas (Rejmánek & Richardson 2013; Potgieter *et al.* 2014).

O potencial de invasão das plantas está relacionado às características biológicas e ecológicas da espécie (Rejmánek 1996; Rejmánek & Richardson 1996). Entre as características que aumentam a habilidade de *C. equisetifolia* de invadir novas áreas estão: (i) reprodução através de sementes de pequeno tamanho, produzidas em grande quantidade (Apfelbaum 1983) e dispersas principalmente pelo vento (Morton 1980), (ii) capacidade de rápida rebrota (Morton 1980), (iii) longos períodos de floração e frutificação (Whistler & Elevitch 2006), (iv) crescimento rápido e maturação precoce (Parrotta 1993), (v) produção de compostos alelopáticos que inibem o crescimento de outras espécies vegetais (Batish *et*

al. 2001; Nakahira & Ohira 2005; John *et al.* 2007), e (vi) associações simbióticas com actinomicetos (*Frankia* sp.) do solo, que permitem essa espécie crescer em locais com baixa concentração de nitrogênio (Zhong *et al.* 1995; Diagne *et al.* 2013).

Nos habitats que apresentam condições nutricionais escassas, como as regiões costeiras (Reinert *et al.* 1997), algumas plantas invasoras apresentam associações mutualísticas que as permitem sobreviver em solos pobres, como adaptações da raiz para aquisição de nutrientes e o mutualismo com micorrizas (Richardson *et al.* 2000a). A simbiose com actinomicetos auxilia *C. equisetifolia* a colonizar ambientes com baixa concentração de nitrogênio, como áreas degradadas e dunas (Ng 1987; Wilson 1997). Além disso, essa espécie apresenta um sistema radicular denso e fibroso, que se espalha pelo solo (Lubke 2004) e acaba interferindo no comportamento da fauna, como na construção dos ninhos pelas tartarugas (Elfers 1988; Rentéria 2007).

Vários estudos mostraram uma correlação negativa da quantidade de serapilheira das espécies exóticas e a diversidade de plantas nativas (Parrota 1999; Nilsson *et al.* 2008; Hata *et al.* 2009). O efeito da serapilheira nas sementes e plântulas pode ser físico, químico e/ou biológico, e é mediado por mudanças no potencial hídrico, na temperatura e na luminosidade do solo (Facelli & Pickett 1991a). O acúmulo de serapilheira pode atuar como uma barreira mecânica (efeito físico), afetando negativamente a germinação de sementes e o crescimento das plântulas (Facelli & Pickett 1991a; Xiong & Nilsson 1999; Rotundo & Aguiar 2005; Hovstad & Ohlson 2008; Navarro-Cano 2008; Hata *et al.* 2009; 2010a). Também pode modificar a quantidade e a qualidade de luz recebida por uma semente no solo, inibindo o processo de germinação (Facelli & Pickett 1991b; Eckstein & Donath 2005). Além disso, a serapilheira pode produzir compostos alelopáticos (efeito químico) (Gentle & Duggin 1997; Batish *et al.* 2001; Hiero & Callaway 2003), que podem reduzir a densidade de outras plantas, aumentando a disponibilidade de recursos disponíveis para o invasor (Callaway & Aschehout 2000).

A densidade e riqueza de espécies nos locais com invasão de *C. equisetifolia* é menor quando comparada as áreas com vegetação nativa (Parrota 1999; Batish *et al.* 2001; Hata *et al.* 2009). A baixa regeneração natural nos locais com domínio dessa árvore pode ser devido a falta de dispersão de sementes (Hata *et al.* 2009) e/ou inibição da germinação e do estabelecimento das plântulas em decorrência da densa camada de serapilheira que é acumulada sob os indivíduos de *C. equisetifolia* (Parrota 1995; 1999; Hata *et al.* 2009; 2010a; 2010b). A serapilheira dessa espécie apresenta decomposição lenta e alta concentração de selênio e sais (Parrota 1993), o que pode dificultar ou impedir a

colonização de outras plantas (Elfers 1988; Rentéria 2007). Além disso, altera a luminosidade, temperatura e a composição química do solo nos ambientes costeiros, dificultando ou impedindo a colonização de outras plantas (Elfers 1988; Rentéria 2007).

Outros estudos sugeriram que compostos alelopáticos dos extratos das folhas (Batish *et al.* 2001; John *et al.* 2007), da casca do caule e dos tecidos da raiz (Nakahira & Ohira 2005) de *C. equisetifolia* seriam os responsáveis pela baixa germinação sob o dossel dessa árvore em ambientes costeiros. Substâncias alelopáticas apresentam maior potencial em solos com baixo teor de matéria orgânica e em habitats com baixa precipitação (Rejmánek 2011), como é o caso das regiões costeiras (Reinert *et al.* 1997). Contudo, Hata *et al.* (2010a) acreditam que a redução da germinação e do estabelecimento das espécies nativas seja provocada, na região do Oceano Pacífico, pelo grande acúmulo de serapilheira nas áreas com domínio de *C. equisetifolia*, pois não encontraram evidência de efeito alelopático sob condições experimentais. Isso indica que o efeito físico da serapilheira pode predominar em relação ao químico (Xiong & Nilsson 1999; Rotundo & Aguiar 2005; Hovstad & Ohlson 2008). Como algumas espécies nativas conseguem colonizar os locais com domínio dessa planta invasora (Hata *et al.* 2012), o efeito de *C. equisetifolia* na regeneração da vegetação pode ser espécie específica (Hata *et al.* 2010a; 2012).

Acredita-se que a introdução de *C. equisetifolia* no Brasil tenha ocorrido no período do Império, na cidade do Rio de Janeiro. Após 1950, seu plantio foi intensificado nas áreas de restinga como cerca-viva, na arborização e como fonte de combustível nos geradores termoelétricos (Dunley 2004). Com o passar dos anos essa árvore foi introduzida ao longo de toda a costa brasileira e atualmente é encontrada nas restingas do sul, sudeste e nordeste do país (I3N Brasil 2015). No Brasil, esta espécie está classificada como exótica naturalizada (Zenni and Ziller 2011; Potgieter *et al.* 2014), mas devido a grande extensão de áreas climaticamente favoráveis ao seu estabelecimento no país, invasões são esperadas no futuro (Potgieter *et al.* 2014).

As restingas são formadas por um mosaico de comunidades vegetais, desde formações abertas com ilhas de vegetação até florestas (Lacerda *et al.* 1993), e estão localizadas nas planícies arenosas formadas por depósitos marinhos no final do quaternário, entre o mar e a Floresta Atlântica Montana (Araújo & Lacerda 1987, Scarano 2002). Apesar de apresentar baixo endemismo, a riqueza nesses ambientes é alta, provavelmente devido ao grande número de espécies da Floresta Atlântica que conseguiram se adaptar às condições extremas e colonizar as planícies quaternárias. A grande plasticidade ecológica das espécies encontradas na restinga é uma característica

muito importante, frente às mudanças que estão ocorrendo no cenário global. Assim, os ecossistemas costeiros têm que ser vistos como áreas com grande prioridade de conservação (Scarano 2002).

Entre as principais causas da degradação das restingas, estão a ocupação desordenada pela expansão imobiliária, a extração irregular de espécies de interesse econômico e a invasão de plantas exóticas. A maioria das restingas fluminenses encontra-se fragmentada e entre as que apresentam situação mais crítica de degradação está a restinga presente no Parque Estadual da Costa do Sol (Decreto nº 42.929, de 18 de abril de 2011), antiga APA da Massambaba (Rocha *et al.* 2007). O Parque Estadual da Costa do Sol está inserido no Centro de Diversidade Vegetal de Cabo Frio, que apresenta a maior diversidade florística do litoral fluminense (Araújo *et al.* 2009) e foi classificado pelo WWF/IUCN como um dos 14 centros de diversidade vegetal do Brasil (Araújo 1997). Uma das causas de degradação deste parque é a invasão de *C. equisetifolia*, principalmente nas áreas impactadas pela ação humana (Bohrer *et al.* 2009).

Justificativa

O aumento da ocorrência de casos de introdução de espécies exóticas invasoras, o impacto na biodiversidade nativa e o crescente interesse na restauração da vegetação demandam um claro entendimento dos processos que influenciam a invasão nas comunidades (Levine & D'Antonio 1999; Hedja *et al.* 2009). Por isso, quantificar os possíveis efeitos das plantas invasoras é crucial para determinar se é necessário ou não o seu controle (Parker *et al.* 1999). Apesar dos avanços nas pesquisas sobre invasões biológicas no Brasil (Zenni & Ziller 2011), existem poucos estudos sobre o potencial de invasão e as mudanças causadas pelas populações naturalizadas de *C. equisetifolia* nas comunidades de restinga.

Entre os fatores ambientais que controlam a germinação e o crescimento de plântulas, a temperatura, a luz (quantidade e qualidade) e a água promovem o surgimento de respostas diferenciadas entre as espécies (Lüttge 2008; Baskin & Baskin 2014). Como *C. equisetifolia* apresenta potencial de colonizar ambientes degradados nas áreas costeiras (Wheeler *et al.* 2011), é necessário conhecer os fatores ecofisiológicos que limitam à germinação, a sobrevivência e o crescimento dessa espécie. O conhecimento das condições ambientais que controlam o recrutamento dessa planta exótica é fundamental para o seu manejo. Outro aspecto importante para o sucesso da invasão de uma espécie é a formação

de banco de sementes no solo, por isso, também é necessário conhecer o período de tempo em que as sementes de *C. equisetifolia* permanecem viáveis no solo.

Como *C. equisetifolia* apresenta potencial de invadir áreas costeiras e no Brasil a sua classificação é de espécie naturalizada, mas com potencial de tornar-se invasora devido as condições climáticas favoráveis ao seu estabelecimento (Potgieter *et al.* 2014), é necessário avaliar a real ameaça que essa espécie representa a conservação das restingas. Além disso, como a sua presença causa mudanças bióticas e abióticas nas comunidades em que foi introduzida (Parrotta 1999; Batish *et al.* 2001; Hata *et al.* 2009), e considerando que a erradicação de uma planta exótica é um processo oneroso e difícil (Pimentel *et al.* 2000), é importante fazer uma avaliação do recrutamento das espécies nativas nas áreas com domínio dessa árvore. Assim, é necessário avaliar tanto o potencial de invasão de *C. equisetifolia* na restinga, como a capacidade de regeneração natural das espécies nativas nas áreas com domínio dessa planta exótica, através da avaliação da dispersão de sementes, do banco de sementes e do banco de plântulas, pois esses três processos são indicadores do potencial de regeneração natural.

Diante da baixa riqueza de espécies nas áreas com domínio de *C. equisetifolia* (Parrotta 1999; Batish *et al.* 2001; Hata *et al.* 2009), estudos são necessários para avaliar se a qualidade do solo, o efeito físico e/ou químico da serapilheira e a liberação de compostos alelopáticos por outras partes da planta são responsáveis, em menor e maior intensidade, pela baixa regeneração natural nas áreas com domínio dessa árvore. O estudo do efeito da serapilheira na germinação e no estabelecimento das espécies nativas também é fundamental por fornecer informações sobre quais características funcionais das espécies auxiliam o estabelecimento nas áreas com domínio dessa planta exótica.

A avaliação da interação entre a espécie invasora e a vegetação nativa pode mostrar a capacidade de expansão dos invasores nos ecossistemas preservados e, além disso, fornecer informações de como tentar aumentar a riqueza das espécies nativas nas áreas invadidas (Fuentes-Ramírez *et al.* 2011). Contudo, a análise simultânea entre os processos de invasão e de recolonização da vegetação nativa foi pouco estudado (Fuentes-Ramírez *et al.* 2011; Emer & Fonseca 2011), sendo escassas as informações sobre o potencial das espécies residentes em colonizar as áreas invadidas através da ação conjunta da semeadura de sementes e do plantio de mudas. Por isso, é importante avaliar o potencial de chegada de propágulos, a capacidade de germinação e de sobrevivência das plantas jovens de *C. equisetifolia* e das espécies nativas, tanto na área de restinga preservada como na área com domínio dessa planta exótica. Caso as espécies nativas consigam germinar e sobreviver na

área com domínio dessa planta exótica, a semeadura de sementes e o plantio de mudas pode ser uma alternativa para tentar aumentar a riqueza de espécies nesse "novo ecossistema" (Hobbs *et al.* 2014). Por outro lado, se ocorrer o estabelecimento de *C. equisetifolia* na restinga preservada via sementes e se as plantas sobreviverem, medidas devem ser tomadas para evitar a invasão dessa espécie nesse ecossistema.

Portanto, considerando que as áreas costeiras no Brasil são climaticamente favoráveis ao estabelecimento de *C. equisetifolia*, e que invasões são esperadas no futuro (Potgieter *et al.* 2014), os resultados desse estudo poderão subsidiar ações de manejo referentes ao controle dessa planta exótica e, além disso, estratégias para tentar aumentar a diversidade nas áreas com domínio dessa espécie.

OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial de invasão de *C. equisetifolia* na restinga e analisar o potencial de regeneração natural e os fatores que impedem o estabelecimento das plantas nativas nas áreas com domínio dessa planta exótica.

Objetivos Específicos

- (i) Identificar as características funcionais que permitem *C. equisetifolia* ultrapassar as barreiras reprodutiva e de sobrevivência e tornar-se naturalizada na restinga;
- (ii) Determinar o potencial de invasão dessa planta exótica na restinga e a capacidade de regeneração natural da vegetação nas áreas com domínio dessa espécie, através da dispersão de sementes, banco de sementes e banco de plântulas;
- (iii) Quantificar o efeito do solo e da serapilheira (efeito físico e/ou químico) nas áreas com domínio de *C. equisetifolia* no recrutamento da vegetação em relação a massa das sementes e morfologia das plântulas;
- (iv) Analisar o potencial alelopático dessa planta exótica em relação a sazonalidade (verão e inverno), estágio de maturação (indivíduos jovens e adultos) e mecanismo de liberação de compostos aleloquímicos (lixiviação das folhas, decomposição da serapilheira (fresca e degradada) e exsudação das raízes).
- (v) Avaliar a chegada de propágulos e a capacidade de germinação e sobrevivência de *C. equisetifolia* e de duas espécies nativas na restinga e nas áreas com domínio dessa planta exótica.

HIPÓTESES

- (i) As sementes de *C. equisetifolia* apresentam alta longevidade no solo. Devido a grande amplitude climática em sua área de distribuição nativa (Whistler & Elevitch 2006; Potgieter *et al.* 2014), a hipótese é que as sementes germinem em grande amplitude de temperatura. Por ser uma espécie heliófita e encontrada principalmente próximo a corpos d'água (U.S. National Research Council 1984; Parrotta 1993), é esperado que baixas condições de umidade e luminosidade reduzam a germinação, sobrevivência e crescimento. Apesar da plasticidade fenotípica ser um fator importante no potencial de invasão (Daehler 2003; Richardson & Pyšek 2006; Rejmánek 2011), essa planta exótica é intolerante a sombra (Parrotta 1993), e se espera que a plasticidade fenotípica em relação a gradientes de luminosidade seja baixa. A integração fenotípica pode limitar a plasticidade de uma espécie (Gianoli 2004; Gianoli & Palacio-López 2009), e a hipótese é que exista uma correlação negativa entre a plasticidade fenotípica e a integração fenotípica em *C. equisetifolia*.
- (ii) O potencial de invasão de *C. equisetifolia* na restinga é alto devido a sua grande pressão de propágulos. Na área com domínio dessa planta exótica é baixa a capacidade de regeneração das espécies nativas, principalmente devido ao grande acúmulo de serapilheira;
- (iii) *Casuarina equisetifolia* altera as propriedades do solo nas áreas em que invade, e o estabelecimento das plantas nativas será menor no solo da área com domínio dessa espécie em relação ao solo da restinga. O efeito físico da serapilheira será maior que o químico, e a serapilheira afeta negativamente o crescimento das plântulas. A emergência de plântulas das espécies com sementes grandes e com cotilédones de reserva será maior sob a serapilheira em relação às com sementes pequenas e com cotilédones fotossintetizantes;
- (iv) Como o potencial alelopático apresenta variação sazonal (Lorenzo *et al.* 2011; Silva *et al.* 2014) e ocorre maior produção de metabólitos secundários quando aumentam as condições de estresse, como aumento de temperatura e incidência luminosa (Ramakrishna & Ravishankar 2011; Atkinson & Urwin 2012), a hipótese é que o potencial alelopático de *C. equisetifolia* seja maior no verão em relação ao inverno. A alta atividade metabólica nas plantas jovens pode aumentar a produção de metabólitos secundários (Zhang *et al.* 2010) e é esperado que o potencial

alelopático seja maior nos indivíduos jovens em relação aos adultos. A liberação de aleloquímicos por lixiviação das folhas e exsudação das raízes será mais intensa em relação a decomposição da serapilheira;

- (v) As sementes de *C. equisetifolia* são dispersas para a área de restinga preservada, têm a capacidade de germinar e as plantas jovens de sobreviver, tanto na área preservada como nos locais com domínio dessa espécie. Ocorre a chegada de propágulos das duas espécies nativas na área com domínio de *C. equisetifolia*, mas a germinação e a sobrevivência é baixa, principalmente devido a densa camada de serapilheira, e estas só terão sucesso no recrutamento no interior das moitas de vegetação da restinga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apfelbaum, S.I.; Ludwig, J.P. & Ludwig, C.E. 1983. Ecological problems associated with disruption of dune vegetation dynamics by *Casuarina equisetifolia* L. at Sand Island, Midway Atoll. Atoll Research Bulletin 261: 1-19.
- Araújo, D.S.D. 1997. The Cabo Frio Region. In: Davis, S. D.; Heywood, V. H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. & Hamilton, A. C. (eds.). Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation: The Americas, WWF/IUCN, Oxford. Vol. 3. Pp. 373-375.
- Araújo, D.S.D. & Lacerda, L.D. 1987. A natureza das restingas. Ciência Hoje 6 (33): 42-48.
- Araújo D.S.D.; Sá, C.F.C; Fontella-Pereira, J.; Garcia, D.S.; Ferreira, M.V.; Paixão, R.J; Schneider, S.M. & Fonseca-Kruel, V.S. 2009. Área de proteção ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. Rodriguésia 60 (1): 67-96.
- Atkinson, N.J. & Urwin, P.E.. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. Journal of Experimental Botany 10: 1-21.
- Baskin, J.M. & Baskin, C.C. 2014. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Second edition. San Diego, Academic Press.
- Batish, D.R.; Singh, H.P.; & Kohli, R.K. 2001. Vegetation exclusion under *Casuarina equisetifolia* L.: does allelopathy play a role? Community Ecology 2: 93-100.
- Belote, R.T.; Jones, R.H.; Hood, S.M. & Wender, B.W. 2008. Diversity-invasibility across an experimental disturbance gradient in Appalachian forests. Ecology 89(1) 183-192.
- Bergstrom, D.M.; Lucieer, A.; Kiefer, K.; Wasley, J.; Belbin, L.; Pedersen, T.K. & Chown, S.L. 2009. Indirect effects of invasive species removal devastate World Heritage Island. Journal of Applied Ecology 46: 73-81.
- Bohrer, C.B.A.; Dantas, H.G.R.; Cronemberger, F.M.; Vicens, R.S. & Andrade, S.F. 2009. Mapeamento da vegetação e do uso do solo no centro de diversidade vegetal de Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brasil. Rodriguésia 60(1): 1-33.
- Bulleri, F.; Bruno, J.F. & Benedetti-Cecchi, L. 2008. Beyond competition: incorporating positive interactions between species to predict ecosystem invasibility. Plos Biology 6(6): 1136-1140.

- Callaway, R.M. & Aschehou, E.T. 2000. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521–523.
- Castillo, S.A. & Moreno-Casasola, P. 1996. Coastal sand dune vegetation: an extreme case of species invasion. *Journal of Coastal Conservation* 2: 13–22.
- Daehler C.C. 2003. Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: implications for conservation and restoration. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34:183–211.
- Davies, K.F.; Chesson, P.; Hamson, S.; Inouye, B.D.; Melbourne, B.A. & Rice, K.J. 2005. Spatial heterogeneity explains the scale dependence of the native-exotic diversity relationship. *Ecology* 86: 1602–1610.
- Davis, M.A.; Grime, J.P. & Thompson, K. 2000. Fluctuating resources in plant communities: A general theory of invasibility. *Journal of Ecology* 88: 528–534.
- Davis, M.A.; Chew, M.K.; Hobbs, R.J.; Lugo, A.E.; Ewel, J.J.; Vermeij, G.J.; Brown, J.H.; Rosenzweig, M.L.; Gardener, M.R.; Carroll, S.P.; Thompson, K.; Pickett, S.T.A.; Stromberg, J.C.; Tredici, P.D.; Suding, K.N.; Ehrenfeld, J.G.; Grime P.J.; Mascaro, J. & Briggs, J.C. 2011. Don't judge species on their origins. *Nature* 474: 153–154.
- Denslow, J.S.; Uowolo, A.L. & Hughes, R.F. 2006. Limitations to seedling establishment in a mesic Hawaiian forest. *Oecologia* 148: 118–128.
- Diagne, N.; Diouf, D.; Svistoonoff, S.; Kane, A.; Noba, K.; Franche, C.; Bogusz, D. & Duponnois, R. 2013. *Casuarina* in Africa: distribution, role and importance of carbuncular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and Frankia on plant development. *Journal of Environmental Management* 128:204–209.
- Dunley, B.S. 2004. Avaliação de dois padrões de colonização da *Casuarina equisetifolia* (L.) (Casuarinales: Casuarinaceae) na Reserva Biológica das Orquídeas, restinga de Massambaba, Arraial do Cabo, RJ. Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 49p.
- Eckstein, R.L & Donath, T.W. 2005. Interactions between litter and water availability affect seedling emergence in four familial pairs of floodplain species. *Journal of Ecology* 93:807–816.
- Elfers, S.C. 1988. Element Stewardship Abstract for *Casuarina equisetifolia* – Australian Pine. The Nature Conservancy, Virginia. 15p.
- Emer, C. & Fonseca, C.R. 2011. Araucaria Forest conservation: mechanisms providing resistance to invasion by exotic timber trees. *Biological Invasions* 13:189–202
- Facelli, J.M. & Pickett, S. 1991a. Plant litter: its effect on plant community structure. *Botanical review* 57: 1–32.
- Facelli, J.M. & Pickett, S. 1991b. Plant litter: light interception and effects on an old-field plant community. *Ecology* 72: 1024–1031.
- Fridley, J.D.; Brown, R.L. & Bruno, J.F. 2004. Null models of species invasion and scale-dependent patterns of native and exotic species richness. *Ecology* 85:3215–3222.
- Fridley, J.D.; Stachowicz, J.J.; Naeem, S.; Sax, D.F.; Seabloom, E.W.; Smith, M.D.; Stohlgren, D.J.; Tilman, D. & Von Holle, B. 2007. The invasion paradox: reconciling pattern and process in species invasions. *Ecology* 88: 3–17.
- Fuentes-Ramírez, A.; Pauchard, A.; Cavieres, L.A. & García, R.A. 2011. Survival and growth of *Acacia dealbata* vs. native trees across an invasion front in south-central Chile. *Forest Ecology and Management* 261:1003–1009
- Gentle, C.B. & Duggin, J.A. 1997. Allelopathy as a competitive strategy in persistent thickets of *Lantana camara* L. in three Australian forest communities. *Plant Ecology* 132: 85–95.

- Gianoli, E. 2004. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Science* 165:825-832.
- Gianoli, E. & Palacio-López, K. 2009. Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos* 118:1924-1928.
- Gordon, D.R. 1998. Effects of invasive, non-indigenous plant species on ecosystem processes: lessons from Florida. *Ecological Applications* 8: 975-989.
- Gould, A.M.A. & Gorchoy, D.L. 2000. Effects of the exotic invasive shrub *Lonicera maackii* on the survival and fecundity of three species of native annuals. *The American Midland Naturalist Journal* 144: 36-50.
- Hata, K.; Kato, H. & Kachi, N. 2009. Community structure of saplings of native woody species under forests dominated by alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, in Chichijima Island. *Ogasawara Research* 34: 33-50.
- Hata, K.; Kato, H. & Kachi, N. 2010a. Litter of an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, inhibits seed germination and initial growth of a native tree on the Ogasawara Islands (subtropical oceanic islands). *Journal of Forest Research* 15: 384-390.
- Hata, K., Kato, H. & Kachi, N. 2010b. Litterfall in forests dominated by an alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, on Chichijima Island. *Ogasawara Research* 35: 1-14.
- Hata, K., Kato, H. & Kachi, N. 2012. Seedlings of a native shrub can establish under forests dominated by an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, on subtropical oceanic islands. *Journal of Forest Research* 17: 208-212.
- Hejda, M.; Pysek, P. & Vojtėch, J. 2009. Impact of invasive plants on the species richness, diversity and composition of invaded communities. *Journal of Ecology* 97: 393-403.
- Herben, T.; Mandák, B.; Bímová, K. & Munzbergová, Z. 2004. Invasibility and species richness of a community: a neutral model and a survey of published data. *Ecology* 85: 3223-3233.
- Hierro, J.L. & Callaway, R.M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil* 256: 29-39.
- Hobbs, R.J.; Higgs, E.S.; Hall, C.M.; et al. 2014. Managing the whole landscape: historical, hybrid and novel ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 12:557-564.
- Hovstad, K.A & Ohlson, M. 2008. Physical and chemical effects of litter on plant establishment in semi-natural grasslands. *Plant Ecology* 196: 251-260.
- I3N Brasil. 2015. Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras, I3N Brasil, Instituto Hórus de desenvolvimento e Conservação Ambiental. <<http://i3n.institutohorus.org.br>>. Acesso em 20 Maio 2015.
- John, J.; Sreekumar K.M. & Rekha, P. 2007. Allelopathic effects of leaf leachates of multipurpose trees on vegetables. *Allelopathy Journal* 19:507-516.
- Keane, R.M. & Crawley, M.J. 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 164-170.
- Lacerda, L.D.; Araújo, D.S.D. & Maciel, N.C. 1993. Dry coastal ecosystems of the tropical Brazilian coast. *In: Van der Maarel, E. (ed.). Dry coastal ecosystems: Africa, America, Asia, Oceania. Elsevier, Amsterdam. Pp. 477-493.*
- Levine, J.M. 2000. Species diversity and biological invasions: Relating local process to community pattern. *Science* 288: 852-854.
- Levine, J.M.; Adler, P.B. & Yelenik, S.G. 2004. A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters* 10: 975-989.
- Levine, J.M. & D'Antonio, C. (1999). Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 87: 15-26.

- Lonsdale, W.M. 1999. Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80: 1522-1536.
- Lorenzo, P.; Palomera-Pérez, A.; Reigosa, M.J & González, L. 2011. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* Link. on the physiological parameters of native understory species. *Plant Ecology* 212: 403–412.
- Lubke, R.A. 2004. Vegetation dynamics and succession on sand dunes of the eastern coasts of Africa. *In*: Martinez, M.L.; Psuty, N.P. (eds.). *Costal dunes: ecology and conservation*. Pp. 67-84.
- Lüttge, U. E. 2008. *Physiological Ecology of tropical Plants*. 2ed. Springer. 458p.
- MacDougall, A.S.; Gilbert, B. & Levine, J.M. 2009. Plant invasions and niche. *Journal of Ecology* 97: 609–615.
- MacDougall, A.S. & Turkington, R. 2005. Are invasive species the drivers or passengers of change in degraded ecosystems? *Ecology* 86: 42–55.
- Mitchell, C.E.; Agrawal, A.A.; Bever, J.D.; Gilbert, G.S.; Hufbauer, R.A.; Klironomos, J.N.; John, N.; Maron, J.L.; Morris, W.F.; Parker, I.M.; Power, A.G.; Seabloom, E.W.; Torchin, M.E.; Vazquez, D.P. 2006. Biotic interactions and plant invasions. *Ecology Letters* 9: 726-740.
- Morton, J.F. 1980. The Australian pine or beefwood (*Casuarina equisetifolia* L.) an invasive “weed” tree in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93: 87-95.
- Nakahira, Y. & Ohira, T. 2005. Study on the allelopathy of *Casuarina glauca* and *C. equisetifolia*. *Kyushu Journal of Forest Research* 58: 159-161.
- Navarro-Cano, J.A. 2008. Effect of grass litter on seedling recruitment of the critically endangered *Cistus heterophyllus* in Spain. *Flora* 203:663–668
- Ng, B.H. 1987. The effects of salinity on growth, nodulation and nitrogen fixation of *Casuarina equisetifolia*. *Plant and Soil* 103(1): 123-125.
- Nilsson, C; Engelman, O.; Cory, J.; Forsslund, A. & Carlborg, E. 2008. Differences in litter cover and understorey flora between stands of introduced lodgepole pine and native Scots pine in Sweden. *Forest Ecology and Management* 255:1900-1905.
- Parker, I.M.; Simberloff, D.; Lonsdale, W.M.; Goodell, K.; Wonham, M.; Kareiva, P.M.; Williamson, M.H.; Von Holle, B.; Moyle, P.B.; Byers, J.E. & Goldwasser, L. 1999. Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions* 1: 3–19.
- Parrotta, J.A. 1993. *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. SO-ITF-SM-46. International Institute of Tropical Forestry, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Río Piedras, Puerto Rico. 11p.
- Parrotta, J.A. 1995. Influence of overstorey composition on understory colonization by native species in plantations on a degraded tropical site. *Journal of Vegetation Science*. 6(5): 627–636.
- Parrotta, J.A. 1999. Productivity, nutrient cycling and succession in single- and mixed-species plantations of *Casuarina equisetifolia*, *Eucalyptus robusta* and *Leucaena leucocephala* in Puerto Rico. *Forest Ecology and Management* 90:45–77.
- Pimentel, D.; Lach, L.; Zuniga, R. & Morrison, D. 2000. Environmental and economic costs of non-indigenous species in the United States. *Bioscience* 50: 53–65.
- Potgieter, L.J.; Richardson, D.M. & Wilson, J.R.U. 2014, *Casuarina*: Biogeography and ecology of an important tree genus in a changing world. *Biological Invasions* 16:609-633.
- Ramakrishna, A. & Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals in secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6: 1720-1731.

- Reinert, F.; Roberts, A.; Wilson, J.M.; de Ribas, L.; Cardinot, G. & Griffiths, H. (1997) Gradation in nutrient composition and photosynthetic pathways across the restinga vegetation of Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 110:135-142.
- Rejmánek, M. 1996. A theory of seed plant invasiveness: a first sketch. *Biological Conservation* 78: 171–181.
- Rejmánek, M. 2011. Invasiveness. *In: Simberloff, D. & Rejmánek, M. (eds.). Encyclopedia of biological invasions.* University of California Press, Berkeley and Los Angeles. Pp. 379-385.
- Rejmánek, M. & Richardson, D.M. 1996. What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 77(6): 1655-1661.
- Rejmánek, M. & Richardson, D.M. 2013. Trees and shrubs as invasive alien species – 2013 update of the global database. *Diversity and Distributions* 19:1093–1094.
- Rentería, J.L. 2007. Plan de manejo para la erradicación de *Casuarina equisetifolia* L. (Casuarinaceae), especie invasora de limitada distribución en la isla Santa Cruz, Galápagos. Estación Científica Charles Darwin, Galápagos, Ecuador. 6p.
- Richardson, D.M.; Allsopp, N.; D'antonio, C.M.; Milton, S.J. & Rejmanek, M. 2000a. Plant invasions – the role of mutualisms. *Biological Reviews* 75: 65–93.
- Richardson, D.M. & Pyšek, P. 2006. Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography* 30:409-431.
- Richardson, D.M.; Pysek, P.; Rejmánek, M.; Barbour, M.G.; Panetta D.F. & West, C.J. 2000b. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions* 6: 93-107.
- Richardson, D.M. & Rejmanek, M. 2011. Trees and shrubs as invasive alien species - a global review. *Diversity and Distributions* 17: 788-809.
- Rodriguez, L.F. 2006. Can invasive species facilitate native species? Evidence of how, when, and why these impacts occur. *Biological Invasions* 8: 927–939.
- Rocha, C.F.D.; Bergallo, H.G.; Van Sluys, M.; Alves, M.A.S. & Jamel, C.E. 2007. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian Journal of Biology* 67: 263-273.
- Rotundo J.L. & Aguiar M.R. 2005. Litter effects on plant regeneration in arid lands: a complex balance between seed retention, longevity and soil–seed-contact. *Journal of Ecology* 93: 829–838.
- Scarano, F.R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90: 517-524.
- Schlaepfer, M.A.; Sax, D.F. & Olden, J.D. 2011. The Potential Conservation Value of Non-Native Species. *Conservation Biology* 25(3): 428–437.
- Shea, K. & Chesson, P. 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 17(4):170-176.
- Stachowicz, J.J. & Tilman, D. 2005. Species invasions and the relationships between species diversity, community saturation, and ecosystem functioning. *In: Sax, D.F.; Stachowicz, J.J. & Gaines, S.D (eds). Species Invasions: Insights into Ecology, Evolution, and Biogeography.* Sinauer Sunderland, MA. Pp. 41–64.
- Silva, E.R.; Overbeck, G.B. & Soares, G.L.G. 2014. Phytotoxicity of volatiles from fresh and dry leaves of two Asteraceae shrubs: Evaluation of seasonal effects. *South African Journal of Botany* 93:14-18.

- Tilman, D. 2004. Niche trade-offs, neutrality, and community structure: A stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. *Proceedings National Academy of Sciences* 101 (30): 10854-10861
- U.S. Research Council. 1984. *Casuarinas: nitrogen-fixing trees for adverse sites*. Washington: National Academy Press.
- Wheeler, G.S.; Taylor, G.S.; Gaskin, J.F. & Purcell, M.F. 2011. Ecology and management of sheoak (*Casuarina* spp.), an invader of coastal Florida, U.S.A. *Journal of Coastal Research* 27 (3): 485-492.
- Whistler, W.A. & C.R. Elevitch. 2006. *Casuarina equisetifolia* (reach she-oak) and *C. cunninghamiana* (river she-oak). In: Elevitch, C.R. (ed.). *Species profiles for Pacific Island agroforestry*. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii. 16p.
- Wilson, K.L. 1997. Casuarinaceae R. Brown: she-oak or *Casuarina* Family. In: *Flora of North America Editorial Committee* (ed.). *Flora of North America, North of Mexico*. Oxford University Press, New York. Vol. 3. 2p.
- Xiong, S. & Nilsson, C. 1999. The effects of plant litter on vegetation: a meta-analysis. *Journal of Ecology* 87: 984–994.
- Zhang, D., J. Zhang, W. Yang, F. Wu. 2010. Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across a range of plantation ages. *Ecological Research* 25: 13-23.
- Zenni R.D. & Ziller, S.R. 2011. An overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasil Bot* 34(3):431-446
- Zhong, C.; Gong, M.; Chen, Y. & Wang, F. 1995. Inoculation of *Casuarina* with mycorrhizal fungi and *Frankia*. In: Brundrett M, Dell B, Malajczuk N, Gong M (eds) *Mycorrhizas for Plantation Forests in Asia*. CSIRO, Canberra, pp 122–126.

ARTICLE 1: Factors mediating naturalization of an invasive tree on sandy coastal plains: An experimental assessment*

Thalita G. Zimmermann^{1*}, Antonio C. S. Andrade¹, David M. Richardson²

¹ Laboratório de Sementes. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rua Pacheco Leão, 915, Jardim Botânico, 22460-030, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Centre for Invasion Biology, Department of Botany and Zoology, Stellenbosch University, Matieland, 7602, South Africa.

*Corresponding author's e-mail address: thalitagabriella@gmail.com

*Article submitted to the journal AoB PLANTS (Special issue “Evolutionary dynamics of tree invasions: drivers, dimensions, and implications for management”).

ABSTRACT

As all naturalized species are potential invaders, it is important to better understand the determinants of naturalization of alien plants. This study sought to identify traits that enable the alien tree *Casuarina equisetifolia* to overcome the survival and reproductive barriers and to become naturalized on sandy coastal plains. Restinga vegetation in Brazil was used as a model system to conceptualize and quantify key stressors (high temperature, solar radiation, drought and salinity) which can limit the initial establishment of the plants. Experiments were conducted to evaluate the effects of these environmental factors on seed persistence in the soil (field), germination (laboratory), survival, growth, phenotypic plasticity and phenotypic integration (greenhouse). Results show that the expected viability of the seeds in the soil was 50 months. Seeds germinated in a similar way in constant and alternating temperatures (20-40 °C), except at 40 °C. Low light, water and salt stresses reduced germination, but seeds recovered germination when stress diminished. Young plants did not tolerate water stress (below 2% of soil moisture) or deep shade. Growth was greater in sunny than in shady conditions. Although low degree of phenotypic plasticity is important in habitats with multiple stress factors, this species exhibited high germination plasticity,

although young plants showed low plasticity. The positive effect of phenotypic integration on plastic expression in the shade shows that in stressful environments traits that show greater phenotypic plasticity values may have significant phenotypic correlations with other characters. The long-term seed persistence in the soil, broad germination requirements and the capacity to survive in a wide range of light intensity favours *C. equisetifolia* naturalization. However, the species did not tolerate water stress and deep shade; these factors limit the potential of naturalized populations of this species to become invasive on sandy coastal plain.

KEYWORDS: Biological invasions, germination, growth, phenotypic integration, phenotypic plasticity, shade, survival, trait, tree invasions, water stress.

INTRODUCTION

Biological invasions are conceptualized as occurring along an introduction-naturalization-invasion continuum (Blackburn *et al.* 2011; Richardson and Pyšek 2012). As all naturalized species have the potential to become invasive, naturalization is a critical stage of the invasion process (Richardson and Pyšek 2012). For an introduced population to become naturalized, it must overcome biotic and abiotic barriers to survival and reproduction (Blackburn *et al.* 2011). Research on naturalized populations is important for elucidating the ecological factors and species traits that mediate the transition of a population from casual to naturalized, but it is surprising that this phase is rarely explored in studies of invasions (Pyšek *et al.* 2008; Richardson and Pyšek 2012). In general, reproductive traits, such as seed bank longevity, seed germination and seedling survival and growth (Pyšek and Richardson 2007), in addition to high phenotypic plasticity and high phenotypic integration (Pigliucci 2003; Hamilton *et al.* 2005; Richards *et al.* 2006) are considered to be important determinants of invasiveness. However, studies that evaluate the importance of these factors in the transition of a population from casual to naturalized are scarce.

High levels of plasticity can increase the average fitness of a species, thereby expressing advantageous phenotypes that facilitate invasion across a

wide range of new environments (Richards *et al.* 2006; Funk 2008; Molina-Montenegro *et al.* 2012). Nonetheless, plasticity is not necessarily a crucial factor in invasiveness (Peperkorn *et al.* 2005; Godoy *et al.* 2011; Palacio-López and Gianoli 2011). It seems to be more relevant in habitats that experience the effects of multiple stress factors, where convergence to a low degree of phenotypic plasticity and high canalization may be advantageous (Valladares *et al.* 2007). Considering that the phenotype expressed by plants is the result of the integration of their characters in each environmental condition (Pigliucci 2003), it has been suggested that phenotypic integration, i.e. the pattern and magnitude of functional correlation among different plant traits (Pigliucci 2003), may play a role in constraining phenotypic plasticity (Gianoli 2004; Valladares *et al.* 2007; Gianoli & Palacio-López 2009). An integrated phenotype may have an important advantage in the invasion process because can respond to environmental variation more efficiently, producing a more adaptive response to the environment than less integrated phenotypes (Schlichting 1989; Gianoli 2004). Consequently, plants with a more integrated phenotype should be less plastic than plants that show lower number of correlations among their traits (Valladares *et al.* 2007; Gianoli and Palacio-López 2009). However, phenotypic plasticity and phenotypic integration can both favour plant fitness (Godoy *et al.* 2012). Further research is thus necessary to elucidate the direction of phenotypic change in invasive species for a better understanding of how ecological traits are influenced by new environmental conditions (Flores Moreno *et al.* 2015).

A genus of trees that has been widely planted outside its native range is *Casuarina* (Casuarinaceae) (Potgieter *et al.* 2014a). Casuarinas differ from other well-studied invasive trees (e.g. Australian acacias, *Eucalyptus* spp. and *Pinus*

spp.; Kueffer *et al.* 2013) since they invade a distinctive set of habitats (e.g. beach crests, rock coasts, young volcanic flows, riparian ecosystems) and present distinct requirements for successful invasion of other tree taxa (Morton 1980; Potgieter *et al.* 2014a, c). Thus, this genus can be used as a model for understanding how the interactions between ecological factors and species traits mediate naturalization and other stages along the introduction-naturalization-invasion continuum (Potgieter *et al.* 2014a). *Casuarina equisetifolia* L. is the most widely planted species in the genus and is one of the most invasive alien tree species in the world (Rejmánek and Richardson 2013, Potgieter *et al.* 2014a). In Brazil, the species was introduced along the entire coast, especially in sandy coastal plains (I3N Brazil 2015) and it is widely naturalized (Zenni and Ziller 2011; Potgieter *et al.* 2014a). Given the large extent of climatically suitable areas for *C. equisetifolia* in Brazil, including many areas with substantial plantings (high propagule pressure), further naturalizations and invasions of this species are likely in the future (Potgieter *et al.* 2014a).

Sandy coastal plain ecosystems are characterized by multiple stressful conditions (e.g. high solar radiation, drought, nutrient-poor sandy substrate, high temperatures and salinity, Reinert *et al.* 1997). These factors have the potential to limit germination, survival and growth of plants (Maun 1994; Scarano 2009). In Brazil, some communities of sandy coastal plains are called “restinga” (*sensu* Araújo 1992). Some restingas have a patchy structure, which is denominated open scrub vegetation. In many parts of the world, extensive areas of sandy coastal plains are covered by open scrub vegetation that may lie behind the coastal thicket or farther inland (Araújo and Pereira 2002). This vegetation provides a spatial heterogeneity of resources, resulting in two distinct microsites: vegetation patches

and open areas (Araújo and Pereira 2002) [see **Supporting Information**]. Woody species (up to 5m high) dominate and vines are also common components of the vegetation patches (Araújo and Pereira 2002, Araújo *et al.* 2009). Inside the patches, environmental conditions may be less harsh than open areas due to water supply and lower solar irradiation (Gómez-Aparicio *et al.* 2005). Nevertheless, shade beneath patch canopies can limit plant growth by reducing photosynthesis (Callaway and Walker 1997; Hastwell and Facelli 2003). The two distinct environmental conditions found in the restinga (high irradiance and low water (open area) versus low irradiance and high water (patches) (Matos 2014)) allow for the evaluation of the combined effects of shade and drought in the naturalization process.

The restinga is subjected to high levels of degradation (Araújo and Pereira 2002; Rocha *et al.* 2007) mainly through vegetation removal for housing development and invasion of alien plant species such as *C. equisetifolia* (Rocha *et al.* 2007). Despite its highly invasive potential and its increasing biological and economic impacts on sandy coastal plain (Potgieter *et al.* 2014a), relatively little is known about the ecophysiological traits that favour *C. equisetifolia* invasiveness. Thus, analysis of seed persistence in the soil, germination behaviour and plant growth performance in response to different environmental factors could allow a better understanding of the factors that make *C. equisetifolia* one of the most widespread invasive trees in coastal regions of the world (Rejmánek and Richardson 2013; Potgieter *et al.* 2014a).

The main objective of the study was to identify the sets of traits that enable *C. equisetifolia* to overcome the survival and reproductive barriers (Blackburn *et al.* 2011) and to become naturalized in the restinga. The hypotheses were: (i) *C.*

equisetifolia forms a persistent soil seed bank that favours invasion; (ii) given the wide climatic amplitude in its native range (Whistler and Elevitch 2006; Potgieter *et al.* 2014a), *C. equisetifolia* seeds can germinate across a broad range of temperatures; (iii) because the species is shade-sensitive and mostly found near water bodies (U.S. National Research Council 1984; Parrotta 1993), drought and shade should reduce its germination, survival and growth; (iv) *C. equisetifolia* should display a low trait plasticity, and (v) phenotypic plasticity and phenotypic integration of traits are inversely related in this species (Gianoli 2004; Gianoli and Palacio-López 2009). The knowledge of the traits and the environmental factors that facilitate its naturalization will help to elucidate the magnitude of the invasion debt (*sensu* Rouget *et al.* 2016) for this species in the many parts of the world where it has been planted but where invasions have not yet manifested.

METHODS

Study species

Casuarina equisetifolia (Australian pine or coastal she-oak) is an evergreen, fast-growing tree that attains a height of 10-40 m. The species has the largest natural distribution in the genus and is native to the east coast of Australia and Southeast Asia (Parrotta 1993). Reproduction is mainly by seeds (Morton 1980; Apfelbaum 1983), but it can also propagate vegetatively (Rentería 2007). Dispersal is mainly by wind (Morton 1980), but also by water (Rentería 2007) and birds (Ferriter *et al.* 2007). The species tolerates saline conditions and low soil fertility (Morton 1980). Symbiotic associations with N-fixing actinomycete in the genus *Frankia* as well as ecto-, endo-, and arbuscular mycorrhizal fungi allow *C. equisetifolia* to grow on nutrient-poor substrates (Zhong *et al.* 1995, Diagne *et al.* 2013). It has been planted in coastal regions in many parts of the world, mainly to stabilize dunes and

for windbreaks (Morton 1980; Parrotta 1993). *Casuarina equisetifolia* has the capacity to invade open areas in the dunes and replace the native vegetation, threatening biodiversity in coastal regions (Wheeler *et al.* 2011). The species is naturalized in at least 32 countries and it has become invasive in the Americas, Asia, the Middle East, southern Africa and on many islands (Rejmánek and Richardson 2013; Potgieter *et al.* 2014a).

Seed collection

Seeds of *C. equisetifolia* were collected in a naturalized population (2.2 ha, sea level, 22° 58'S, 42° 01'W) in the restinga of the State Park of Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ, Brazil). This restinga is located between the Atlantic Ocean and the Araruama lagoon, the largest hypersaline lagoon in the world. This region is characterized by a hot, semiarid climate, with 800 mm of annual precipitation occurring predominantly during the summer (November to February) (Barbière 1984). The mean annual temperature is 25 °C, with minimum and maximum temperatures of 12° and 36 °C, respectively (Scarano 2002). Approximately 8000 seeds were randomly collected from 20 trees, sampled with a minimal distance of 10 m from each other in August 2012. Mature seeds from opened dry dehiscent fruits were dried (18 °C; 18% relative humidity) for 3-5 days, and hermetically stored in sealed plastic bags at – 20°C (Bonner 2008).

Seed longevity in the soil

To evaluate the longevity of *C. equisetifolia* seeds in the soil, the seeds were packed in nylon mesh bags with sterilized (autoclaved at 121 °C for 0.5 h) sandy soil collected in the restinga (open area). Seventy bags (40 seeds per bag) were buried at a depth of 5 cm in the same area as the seeds were collected. Groups of ten bags were dug up after 1, 3, 6, 9, 12, 18 and 24 months and the viability of the

seeds buried in the soil was evaluated in a laboratory by germination tests. To test the effect of the light in germination of buried seeds, germination tests were carried out under light (photoperiod of 8/16h) and dark conditions. To compare the viability of the seeds (n=2800) buried in the soil with optimal storage conditions, about 1500 seeds were stored at -18 °C (control group) over the same period that they were buried. Seed germination tests of the control group were carried out under light conditions. Seeds were germinated in Petri dishes (9 cm diameter), lined with two filter paper discs, moistened with 5 mL of distilled water. The germination tests had a randomized design, with five replicates of 40 seeds; the seeds in each bag constituted a replication.

Seed traits and germination tests

Dry weight and moisture content of the seeds (5 replicates of 5 seeds) were determined according to the low-constant-temperature-oven method (103 °C/17h; ISTA 1999). Length and width were measured with a digital calliper for 50 samaras.

Germination tests were carried out to evaluate the effects of temperature, red/far-red light ratio (R:FR), water and salt stresses. The seeds were germinated in Petri dishes (9 cm diameter) lined with two filter paper discs, moistened with 5 mL of distilled water or specific osmotic solutions (sodium chloride (NaCl) or polyethylene glycol 8000 (PEG 8000)). The temperature of the germination chamber was determined by the temperature experiment. Unless light was an intended variable, a regime of 8 h light/16 h darkness was applied (4 x 20 W white fluorescent lamps; total flux rate of 90 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$).

The temperature experiment was represented by constant temperatures of 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C (± 1.0 °C) and by alternating regimes of 25/20, 30/20,

35/20 and 40/20 °C (8/16 h, respectively; the alternating temperature treatment was 8 h in the light at the higher temperature and 16 h in the dark at the lower temperature). In the temperatures of 25, 30 and 30/20 °C the germination was also evaluated in the dark, and the Petri dishes were wrapped in two aluminium foils. The optimal germination temperature was used in light, water and saline stresses experiments.

The light experiment included six R:FR irradiance treatments: 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0. Zero irradiance treatment was produced by wrapping the Petri dishes in two aluminium foils. The greatest R:FR treatment (1.0) was obtained by leaving the Petri dishes free of filters. Spectrum was provided by two fluorescent 22 W white lamps and one incandescent 15 W lamps, totalling 1.0 R:FR, which is close to the 1.19 R:FR of full sunlight (Smith 2000). The four remaining R:FR irradiance treatments were achieved by wrapping the Petri dishes with different colours of LEE filters. The R:FR irradiance was measured with sensors SKR 110 and SKP 215, coupled to SpectroSense (Skye Instruments Inc.).

The effect of water and salt stresses in the germination was tested with PEG 8000 and NaCl solutions, respectively. The osmotic potentials used were: 0.0, -0.25, -0.5, -0.75, -1.0, -1.25 and -1.5 MPa. These different potentials were found in the restinga (Martins *et al.* 2012). PEG 8000 and NaCl solutions were prepared according to Villela & Beckert (2001) and Salisbury and Ross (1992), respectively. To minimize water potential variation, seeds were transferred to a new Petri dish with the solution every seven days. After 30 days, in a recovery treatment, the ungerminated seeds from PEG 8000 and NaCl solutions were washed with distilled water. The seeds were then transferred to Petri dishes with distilled water to evaluate the germination potential.

In all experiments, the positions of Petri dishes inside germination chambers were randomly changed every day. A seed was considered to have germinated when its radicle emerged to a length of 1 mm. Germination was recorded daily for 30 days, and germinated seeds were removed from Petri dishes. In the light experiment, the germination was evaluated in a dark and closed room, with a green safelight. Five replicates of 40 seeds were used in all experiments. Seeds that did not germinate were subjected to the application of pressure with tweezers, and were either empty or had been colonized by fungi.

Survival and growth

To minimize genetic variation, all seeds used in this experiment came from a single tree, so the seedlings were half-siblings. Seeds were germinated in germination chambers (30 °C; 8 h photoperiod) and after two months seedlings were transplanted to individual plastic bags (2L) and transferred to the greenhouse of the Rio de Janeiro Botanic Garden. Soil substrate consisted of 1:1:1 volume homogenized mixture of soil of the area with *C. equisetifolia* invasion, sand collected inside the patches and bare sand. This mixture was used to provide a substrate with macro and micronutrients found in the restinga.

After four months the height and stem diameter of the young plants of *C. equisetifolia* were measured. These plants were submitted to a factorial experiment to simulate the light intensity and water availability found in three microsites of the restinga (inside vegetation patches, edge and open area) and in the *C. equisetifolia* stands. This experiment had eight treatments, with four light levels and two watering regimes. The plants were separated in eight groups and there were no significant differences in initial height of the individuals between groups ($p < 0.05$). Distinct conditions of light were established with shade cages of

wood (1 x 1 x 1 m), covered with cloth layers of different colours and thicknesses. The photosynthetic photon-flux density (PPFD%) and R:FR ($\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) inside each shade cage were: ~2%, 0.29 $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (inside vegetation patches); ~15%, 0.48 $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (edge); ~70%, 1.05 $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (*C. equisetifolia* stand); and ~100%, 1.12 $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (open area). At each light intensity, half of the young plants were grown under high water (HW, above 10% of soil water content) and other half at low water conditions (LW, below 2% of soil water content). Soil water content was monitored weekly from four soil samples per treatment, and was determined by gravimetric method (24h/103 °C). The soil was irrigated once or twice a week by applying 30 ml (2%, LW) to 150 ml (100%, HW) of water.

The values of PPFD%, R:FR and watering regimes inside patches, edge and open area in the restinga were obtained by Matos (2014). Data of PPFD% and R:FR of *C. equisetifolia* stands were measured at 20 random points ($68,5 \pm 11,2\%$ PPFD%, $1,05 \pm 0,10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The values of PPFD% were calculated taking as reference the mean full sunlight (100% PPFD = $2305.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). All measurements were made at midday, on sunny cloud-free days, with a radiometer SKR-100 linked to a SpectroSense 2 SKL 904 (Skye Instruments, Llandrindod Wells, UK). To minimize experimental error due to light variability inside the shade cages, positions of the young plants were rotated once a week. For survival analysis, 15 individuals per treatment were monitored weekly, for 16 weeks. Plants that lost all their aerial structure and did not have any photosynthetic active leaf were recorded as dead.

At the end of the experiment, samples of all young plants that survived were harvested to measure stem length, main root length and collar diameter. Thereafter, they were separated into leaves stems and roots, and each fraction

was dried (80 °C/48h) and weighted. Twelve morphological and biomass allocation traits were calculated: Total dry mass (TDM), Leaf mass fraction (LMF = leaf dry mass / plant dry mass), stem mass fraction (SMF = stem dry mass / plant dry mass), root mass fraction (RMF = root dry mass / plant dry mass), shoot: root ratio (RS = shoot dry mass / root dry mass), slenderness index (SI = stem height / collar diameter), specific stem length (SSL = stem length / stem dry mass), specific root length (SRL = root length / root dry mass), total leaf mass (TLM), total leaf area (TLA), specific leaf area (SLA = leaf area / total leaf mass) and leaf area ratio (LAR = leaf area / total plant dry mass). Leaf area and SLA were calculated following the protocol proposed by Gómez-Aparicio *et al.* (2006) for pines needles. Relative growth rates were calculated for total biomass (RGRb) and total leaf area (RGRa) using the pairing method (Evans 1972). RGR was calculated as $RGR = (\ln x_2 - \ln x_1) / (t_2 - t_1)$, where x_1 is the trait measured in time 1 (t_1) and x_2 is the trait measured in time 2 (t_2).

Phenotypic plasticity and phenotypic integration

Phenotypic plasticity in response to light for each trait was calculated as the relative distance plasticity index ($RDPI = \sum(d_{ij} \rightarrow i'j' / (x_{i'j'} + x_{ij})) / n$), where n is the total number of distances, and j and j' are two individuals belonging to different treatments (i and i'). This index ranges from 0 (no plasticity) to 1 (maximal plasticity). Overall RDPI was calculated by summing all relative distances obtained and dividing by the total number of distances (Valladares *et al.* 2006). It was not possible to calculate RDPI in relation to water regime because almost all young plants died in LW.

Phenotypic integration was estimated as the number of significant correlations ($p < 0.05$; Spearman's rank correlation coefficient) with the other traits

(pairwise comparison) for 15% of light (shady condition) and 100% of light (sunny condition) (Gianoli and Palácio-López 2009). Phenotypic integration index in each light condition was calculated based on the variance of the eigenvalues of the correlation matrix between phenotypic traits (Wagner 1984).

Data analysis

In the experiments to determine seed longevity in the soil and the effect of temperature, PEG 8000 and NaCl solutions, germination was evaluated by germination percentage and germination rate ($v = \sum ni / (\sum ni \cdot ti)$); where “ni” is the number of seeds germinated per day and “ti” is the incubation time (days) (Labouriau and Pacheco 1978). In the light experiment only the final germination percentage was evaluated.

The longevity of *C. equisetifolia* seeds in the soil and cold conditions was analysed through germination percentage and germination rate parameters by linear regression. An analysis of covariance (ANCOVA) was used to compare the slopes of regression lines between the two storage conditions of the seeds (cold storage X soil storage) and the effect of the light conditions on germination of the buried seeds in the soil (light X dark). The ANCOVA was used with germination percentage and germination rate as dependent variables, storage and light conditions as factors and storage time (1, 3, ..., 24 months) as covariate. The interaction between the conditions and time in the germination process was evaluated. Homogeneity of slopes was confirmed before conducting each ANCOVA. The differences in ANCOVA were in relation to the inclination.

The recovery germination percentage in the PEG 8000 and NaCl solutions was calculated by adding the germination values of each iso-osmotic solution and their respective germination value after transferal to distilled water. In the

experiments of temperature, PEG 8000 and NaCl solutions data were analysed for normality using the Kolmogorov–Smirnov test and for homogeneity of variance using Levene’s test. For data that did not show normality and/or variance homogeneity, germination percentage was arcsine $\sqrt{}$ transformed and germination rate transformed to $\log(x+1)$ (Zar 1999). Germination percentage and germination rate were tested in a factorial ANOVA, followed by a post-hoc Tukey’s test ($p < 0.05$). In the experiment of light the relationship between germination percentage (y) and R:FR (x) was determined using a logistic function (Pearson *et al.* 2003) and described by the following equation: $y = a / \{1 + \exp [- ((x - x_0) / b)]\}$, where a is a coefficient describing the maximum germination percentage, x_0 is a coefficient estimating the R:FR at 50% of maximum germination and b is a coefficient of the slope of the germination response calculated from estimates of R:FR.

For survival analysis the Kaplan Meier product limit method was used to estimate the survival function, and the Log-rank test was used to assess for significant differences in survival curves among treatments. Cox regression was used to evaluate the effects of light, water and their interactions on probability of the death of young plants.

Growth analyses were performed only in treatments of 15%, 70% and 100% of light under HW due to high mortality rates under LW and under deep shade (2%). To test the effect of light for all morphological and biomass allocation traits together Multivariate analysis of variance (MANOVA) was used. Traits that showed a significant effect in the MANOVA results were tested separately by one-way ANOVA, followed by a post-hoc Tukey’s test ($p < 0.05$). Before the analyses, normality of the data was tested by Shapiro-Wilk’s W test and homoscedasticity by Levene’s test. To check the homogeneity of covariance matrices Box M test and

the Bartlett's test was used to check for sphericity. Where necessary, data were ln-transformed to correct for deviations from these assumptions. Differences in RGR were submitted to a one-way ANOVA, using Tukey's post hoc test ($p < 0.05$). To minimize the influence of outliers and reduce the within-harvest-variation, prior to growth analysis data were trimmed by the removing the smallest and the largest plant from each treatment (Barnett and Lewis 1978).

Regression analysis was used to determine whether phenotypic plasticity in response to light (dependent variable) and phenotypic integration of traits in shady and sunny conditions (independent variable) are inversely related in *C. equisetifolia*. Values of RDPI were log-transformed before analysis ($\log(x+1)$). To test the statistical significance between phenotypic integration indices across light conditions, 95% confidence intervals for the overall R obtained in each environment were calculated by bootstrapping 1000 times (García-Verdugo *et al.* 2009).

Survival analysis was done using the 'survival' package (Therneau 2015) and phenotypic integration index and percentage of maximum possible integration were calculated using the 'PHENIX' package (Torices and Muñoz-Pajares 2015) in R version 3.0.3 (R Development Core Team 2014). The other analyses were done in Statistica (version 7.0, Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Graphical display was performed with R and Origin (version 8.0, OriginLab, MA, Cary, NC, USA).

RESULTS

Seed longevity in the soil

Casuarina equisetifolia seeds remained viable in the soil for at least 24 months, germinated under light and under dark (Fig. 1A), and had a predicted seed viability of 51.1 months ($y = 71.53 - 1.40x$). The interaction between storage

condition and storage time was significant for germination rate (ANCOVA, $F = 90.19$, $p < 0.001$) but not for germination percentage (ANCOVA, $F = 1.18$, $p = 0.28$). There were no significant interactions between light conditions and storage time for germination percentage (ANCOVA, $F = 6.72$, $p = 0.12$) and rate (ANCOVA, $F = 2.89$, $p = 0.09$) [see Supporting Information].

Germination percentage decreased over time ($R^2 = 0.55$, $p < 0.001$), but germination rate was not affected by the storage time ($R^2 < 0.001$, $p = 0.95$). In relation to the two storage conditions, there was no significant difference in germination percentage (ANCOVA, $F = 1.98$, $p = 0.16$; Fig. 1C). Nevertheless, germination rate was significantly higher in seeds stored in the soil than at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ANCOVA, $F = 104.34$, $p < 0.001$; Fig. 1D). For seeds buried in the soil, germination percentage and rate were significantly higher under light than under dark conditions (ANCOVA, $F = 25.62$, $p < 0.001$; $F = 55.08$, $p < 0.001$, respectively; Fig. 1A-B) [see Supporting Information].

Seed traits and germination tests

Casuarina equisetifolia seeds had a dry weight of 7.5 ± 1.2 mg, moisture content of $10.8 \pm 1.7\%$, length of 5.9 ± 0.5 mm and width of 3.1 ± 0.3 mm. Under light, there were no significant differences in relation to constant and alternating temperature regimes, except for the constant temperature of 40°C , which completely inhibited germination. The conditions that promoted the highest values of germination rates were 30 and $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Fig. 2). Thus, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ was chosen as optimal germination temperature for *C. equisetifolia* and was used in the other germination experiments. Germination percentage at 25 and $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ was significantly reduced under dark compared to the light conditions. Nevertheless, an alternating temperature of $30/20\text{ }^{\circ}\text{C}$ did not have significant differences between

the two regimes of light. The absence of luminosity reduced germination rate at all temperatures (Table 1).

Casuarina equisetifolia seeds responded significantly to the treatments involving exposure to the various R:FR ratios (Fig. 3). Seeds were considered neutral photoblastic and showed higher germination percentages in light than in dark conditions. Seed germination increased slightly up to the higher R:FR, as indicated by the good fit to the data ($R^2 = 0.981$; $p < 0.01$) provided by the regression analysis. Germination was also sensitive to water and salt stresses, but the decrease in germination percentage and rate was higher in PEG 8000 than in NaCl solution. Significant decreases in germination percentages were observed from the water and salt potential of -0.5 and -0.75 MPa, respectively. In both osmotic solutions germination was null from -1.0 MPa. Germination rate dropped as water and salt potentials decreased. After the seeds were transferred to distilled water (recovery treatment), total germination percentage in all treatments showed no significant differences from the control (Table 2).

Survival and growth

Survival rates of the young plants had a different response to the combined effect of light and water stress (Fig. 4). Survival was improved under HW conditions [**see Supporting Information**] and the probability of death was about 46 times higher under LW than under HW (Hazard Ratio = 45.97, Wald's p value < 0.001). Similarly, 2% light conditions had a negative effect on survival rates. Deep shade increased the risk of mortality almost four times (Hazard Ratio = 3.70, Wald's p value = 0.03). There were no significant differences between survival rates at 15%, 70% and 100% of light [**see Supporting Information**]. Under HW regime, survival was significantly lower at 2% light, while there were no significant

differences in survival between the light regimes under dry conditions. The interaction between light and water was significant (Wald's p value = 0.008) because the effect of drought was higher under high light (70 and 100% of light) than under low light (2 and 15% of light) **[see Supporting Information]**.

Light intensity had a significant effect in all morphological and biomass allocation traits that were measured. Shade conditions (15% of light) led to significantly lower values of relative growth rates in total biomass and total leaf area and root mass fraction. At high light (70 and 100% of light), leaf and shoot mass fraction, shoot: root fraction and slenderness index, were significantly lower than under shade. Young plants growing under shady conditions had higher values of specific leaf area and leaf area ratio than plants under sunny conditions. The only trait that differed significantly between 70 and 100% light was specific stem length (Table 3).

Phenotypic plasticity and phenotypic integration

The overall value of RDPI was 0.32. Phenotypic plasticity in response to light changed in relation to the trait. The value of RDPI ranged between 0.08 (LMF) until 0.59 (SRL). Trait plasticity could be ranked as: SRL > SSL > TDM > TLM > SI > LAR > SR > SLA > TLA > RMF > SMF > LMF (Fig. 5).

The phenotypic integration index and 95% confidence intervals overlap between light conditions (15% = 2.78 ± 1.97 ; 70% = 2.53 ± 1.83 ; 100% = 2.20 ± 1.40). The magnitude of individual correlations between the traits changed from one environment to another **[see Supporting Information]**. Phenotypic plasticity was positively associated with phenotypic integration under shade ($R^2=0.51$, $p=0.006$). Under sunny conditions, plasticity and integration of the traits showed no significant relationship ($R^2=0.011$, $p=0.74$) (Figure 6).

DISCUSSION

The long-term persistence of seeds in the soil, the broad germination ability under a wide range of temperature and light conditions, and a high survival rate in moderate and high irradiance and soil moisture are probably the key factors that allow *C. equisetifolia* to overcome barriers to germination, growth and establishment, increasing its probability to become naturalized in the restinga. Deep shade and water stress are the two fundamental factors that limit the naturalization of introduced populations of this species. As the capacity of the young plants of *C. equisetifolia* to change its morphological traits in response to light was low, phenotypic plasticity does not seem to be a key factor in the invasion process of this species.

In relation to the abiotic factors, high temperatures prevent seed germination and low light affects the survival and growth of young plants. As the impact of drought negatively affects the performance of both seeds and seedlings, water stress is the main environmental factor that limits its naturalization in open scrub vegetation, which covers large areas of sandy coastal plains in many parts of the world (Araújo and Pereira 2002).

Seed longevity under both storage (buried in the soil and cold/dry laboratory) conditions over 24 months was similar. These results, together with the small seed mass and the low moisture content at maturity, suggest that its seeds exhibit long-lived (orthodox) storage behaviour. Studies by Omram *et al.* (1989) on two species of *Casuarina* and Schmidt (2000) with *C. equisetifolia* corroborate the results of the present study. The capacity to form a persistent soil seed bank for potentially up to 50 months are likely due to the dry climate and low rainfall in the restinga of State Park of Costa do Sol (Barbière 1984); these conditions inhibit seed

deterioration, soil microbial activity and decomposition processes (Cuneo *et al.* 2010). Furthermore, the strong winds that are typical of the Cabo Frio region (Southeastern Brazil; Coelho-Souza *et al.* 2012), may contribute to the seed burial along the restinga, thereby facilitating the build-up of a persistent soil seed bank (Khurana and Singh 2001). As *C. equisetifolia* seeds can remain viable in the soil for almost four years, they may germinate whenever environmental conditions are favourable for germination (Baskin and Baskin 2014). All these features increase the overall probability of recruitment and further naturalization of this species on sandy coastal plains of Brazil.

Casuarina equisetifolia seeds had a fast physiological response when in contact with water, and germination started in 3-4 days after water uptake. For small-seeded species, high germination rate is crucial for the recruitment of new individuals, mainly in environments with water restrictions, as is the case in the restingas (Martins *et al.* 2012). Seeds exhibited high germination percentage across a wide range of temperatures, including low (15 °C) and high alternating temperature (40/20 °C), although with decrease in the germination rate. The optimal germination temperatures were 30 °C and 35 °C, but seeds were very sensitive to constant high temperature (40 °C). Supraoptimal temperatures can induce seed dormancy and play an ecologically important role in the preventing of germination on unfavourable environments (Baskin and Baskin 2014). The bare sand of the restinga may reach temperatures as high as 70 °C at the peak of radiation during mid-summer, in which the recruitment via seeds is restricted to a few species (Scarano 2002). In relation to the light conditions, although small seeds of some species often require light for germination (Milberg *et al.* 2000), *C. equisetifolia* seeds are negatively photoblastic, and darkness only partially

prevents its germination. At the optimal temperature (30 °C) a significant decrease in the germination percentage was found only from 0.2 R:FR ratio, and in the dark around 50% of the seeds germinated. All these results support the idea that *C. equisetifolia* seeds are non-dormant (sensu Baskin and Baskin, 2014). The high germination percentage of *C. equisetifolia* seeds across a wide range of temperature and light conditions was evidence of its robustness (i.e. the constant expression of a particular phenotype despite genotypic and environmental variation; Waddington 1942). In addition, germination rate increased in response to favourable conditions of temperature and water availability, indicating that this species displays germination plasticity. A potential advantage of germination plasticity is the opportunistic germination response to favourable environmental conditions (Richards *et al.* 2006). Germination plasticity may have adaptive value if it enables a species to establish in variable environments where resource levels fluctuate (Wainwright & Cleland 2013), as occurs in the restingas (Matos 2014). Both robustness of germination to a range of conditions and plastic fitness response to the environment may enhance the ability of alien species to invade new ecosystems (Richards *et al.* 2006; Wainwright & Cleland 2013).

Salinity and drought tolerance are also two important environmental determinants for plant recruitment on sandy coastal plain (Martins *et al.* 2012; Lai *et al.* 2015). Although *C. equisetifolia* colonizes extensive sandy areas (Morton 1980), its germinability (percentage and rate) was very sensitive to both salt and water stresses. Germination sensitivity to salt stress has been reported previously for this species (Tani and Sasakawa 2003) and for other 10 *Casuarina* species (Clemens *et al.* 1983). Regardless of complete germination inhibition below to -0.75 MPa in both osmotic treatments, *C. equisetifolia* seeds maintained viability for

30 days, with high germination values after transferred to distilled water. The ability of seeds to remain quiescent at extremely low (-1.50 MPa) water potentials, to recover germinability and produce normal seedlings suggest that short periods of salt and water stresses conditions do not affect seed viability. This germination pattern is typical of halophyte species (*sensu* Woodell 1985) where seeds retain viability under saline soils and germinate in favourable conditions (e.g. after a rainy period, when the salt is leached from the substrate). In addition to halophyte seed behaviour revealed in the study, *C. equisetifolia* seedlings show salt stress tolerance related to physiological and biochemical mechanisms (Clemens *et al.* 1983; Tani and Sasakawa 2003). Furthermore, symbiotic associations with N-fixing actinobacteria (*Frankia* spp.) and mycorrhizal fungi (Evelin *et al.* 2009) improve its tolerance to environmental stress. Therefore, the halophyte behaviour allows *C. equisetifolia* seeds become quiescent in response to salt-water stresses and ensure a fast and high germination when these limiting factors are overcome. This may be another important adaptive strategy for *C. equisetifolia* to become naturalized in the restingas.

Although its seeds have the capacity to germinate in environments with low levels of light, young plants are shade-intolerant and will not survive. Thus, even if *C. equisetifolia* seeds germinate inside vegetation patches, seedlings will not establish (T.G. Zimmermann *et al.* unpubl. data). In areas with high availability of water, young plants of *C. equisetifolia* can survive in a broad range of light conditions, except under deep shade (< 2% of light), condition that is often found inside vegetation patches. Mainly on sandy coastal plain, tolerance of high light intensities is an important constraint for plants to survive. As for germination, water availability is crucial for the survival of young plants of *C. equisetifolia*. This

species can tolerate dry climates only if the roots can grow down to the water table (Whistler and Elevitch 2006). Therefore, this tree has the capacity to become naturalized mainly in areas adjacent to watercourses. As in *C. equisetifolia*, distance to water bodies was also one of the main determinants of naturalization of *C. cunninghamiana* in South Africa (Potgieter *et al.* 2014b).

In contrast to *C. equisetifolia*, shaded microsites beneath the canopy in vegetation patches is the most favourable niche for regeneration for many restinga species (Matos 2014). As fluctuation in resource availability is a key factor controlling invasibility (Davis *et al.* 2000), alien species will be more successful at invading communities if they do not encounter intense competition from resident species for available resources such as light. Therefore, following a disturbance, a light increment followed by a rainy event will increase the susceptibility of the restinga to the invasion of *C. equisetifolia*.

Casuarina equisetifolia showed differences in growth rate and allocation in response to changes in light intensity. Although plant survival was high at 15% light levels under HW, shade conditions decreased growth and the young plants exhibited shade avoidance responses, such as high SR, SI, SSL and SMF (Ryser and Eek 2000). Under high water, *C. equisetifolia* exhibits similar growth between conditions of 100% of light and in the *Casuarina* stand (70% of light), which improves its potential to become naturalized on open areas. In attempt to minimize evaporative demand (Bloor and Grubb 2004), *C. equisetifolia* showed changes in leaf morphological traits under high light conditions, which results in lower SLA and LAR. This adaptation is important for an alien species to become naturalized in habitats with low water availability, such as the restinga. In addition, SLA is a

plant trait that has shown to be associated with invasive success across a broad range of species (van Kleunen *et al.* 2010; Leishman *et al.* 2014).

Although *C. equisetifolia* showed germination plasticity, young plants exhibited low morphological plasticity in response to light. Low phenotypic plasticity was also reported in other invasive species in habitats with multiple stress factors, as in *Acacia longifolia* in Mediterranean dunes (Peperkorn *et al.* 2005). Thus, plasticity is advantageous in favourable environments, whereas stability is more beneficial under adverse conditions (e.g. Valladares *et al.* 2000, 2007).

Several studies have shown that phenotypic integration tends to increase with environmental stress, and the higher levels of integration observed in these habitats should constrain the plastic responses of plants (Gianoli 2004; García-Verdugo *et al.* 2009; Gianoli and Palacio-López 2009). Nevertheless, in the stressful environment (shade) occurred a positive effect of phenotypic integration on the plastic expression of *C. equisetifolia* morphological traits. As long as environmental conditions ameliorate it is likely that this alien species does not need to coordinate the phenotype to exhibit plasticity. Therefore, phenotypic integration may not constrain phenotypic plasticity of plants in adverse conditions. The values of phenotypic integration index for *C. equisetifolia* was similar between shady (2.20) and sunny (2.78) conditions, even though the magnitude of individual correlations often changed from one environment to another. The phenotypic integration index for *C. equisetifolia* may be considered high, since studies showed that ranges from 0.77 to 1.63 (Waite and Levin 1993; Boucher *et al.* 2013). A high degree of phenotypic integration may thus be a facilitator of adaptation, because it can reduce maladaptive variation (Armbruster *et al.* 2014). This appears to be an

important strategy for an alien species to become naturalized in environments with multiple stress conditions. Nonetheless, the role of phenotypic integration in invasiveness remains poorly understood (Godoy *et al.* 2012), and more work is needed to elucidate the function of the trait correlations along the naturalization-invasion continuum.

The large production of small seeds (Apfelbaum 1983), associated with anemochory and hydrochory dispersal syndromes (Morton 1980, Rentería 2007, Wheeler *et al.* 2011), the long-term persistence of seeds in the soil, high germination, survival and growth under high light and water availability, higher efficiency in allocating biomass on structures for water absorption (low shoot: root ratio) and light-capturing (high LMF), together with the high phenotypic integration, are crucial factors that allow *C. equisetifolia* to overcome barriers to reproduction and survival and to become naturalized on sandy coastal plains. These traits, coupled with the salt tolerance and symbiotic association (Evelin *et al.* 2009) enable this species to invade mainly open, sandy habitat, adjacent to watercourses, especially along coastlines, where disturbances have occurred.

CONCLUSIONS

The capacity to germinate across a wide range of temperature and light conditions and the high survival rate of the young plants in moderate and high irradiance and soil moisture are key factors that favour the naturalization of *C. equisetifolia* in the restingas. In addition, the high phenotypic integration could facilitate adaptation, thereby improving the chances of this species becoming naturalized in environments with multiple stress conditions. Seed germination showed higher tolerance to shade and water stress than young plants. Although low degree of phenotypic plasticity is important in habitats with multiple stress

factors (Valladares *et al.* 2000, 2007), this species exhibited high germination plasticity, although young plants showed low plasticity. Thus, even if *C. equisetifolia* seeds germinate inside vegetation patches or in open areas in the restinga, seedlings probably will not establish. As *C. equisetifolia* does not tolerate shade and drought and invades mainly degraded areas, conservation of the restingas is crucial to limit invasion of this species.

SUPPORTING INFORMATION

The following Supporting [\[SUPPORTING INFORMATION\]](#) is available in the online version of this article:

File 1. Figure. Patchy structure of the restinga (patchy shrub vegetation).

File 2. Table. F-test of significance for main effects and interactions in an Analysis of covariance (ANCOVA) for the effects of storage and light conditions in germination of *Casuarina equisetifolia* seeds.

File 3. Figure. Survival curves of young plants of *Casuarina equisetifolia* in response to light (A), water stress (B), drought under high light (C) and drought under low light (D).

File 4. Table. Spearman's rank correlation matrices among 12 morphological traits of young plants of *Casuarina equisetifolia*.

LITERATURE CITED

- Apfelbaum SI, Ludwig JP, Ludwig CE. 1983. Ecological problems associated with disruption of dune vegetation dynamics by *Casuarina equisetifolia* L. at Sand Island, Midway Atoll. *Atoll Research Bulletin* **261**:1-19.
- Araújo DSD. 1992. Vegetation types of sandy coastal plains of tropical Brazil: a first approximation. In: Seeliger U, ed. *Coastal plant communities of Latin America*. San Diego: Academic Press, 337-347.
- Araújo DSD, Pereira MCA. 2002. *Sandy Coastal Vegetation*. International Commission on Tropical Biology and Natural Resources. Oxford: Eolss Publishers.
- Araújo DSD, Sá CFC, Fontella-Pereira J, Garcia DS, Ferreira MV, Paixão RJ, Schneider SM, Fonseca-Kruel VS. 2009. Área de proteção ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia* **60**:67-96.

- Armbruster WS, Pélabon C, Bolstad GH, Hansen TF. 2014. Integrated phenotypes: understanding trait covariation in plants and animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **369**:1-16.
- Barbière EB. 1984. Cabo Frio e Iguaba Grande, dois microclimas distintos a um curto intervalo espacial. In: Lacerda LD, Araújo DDD, Cerqueira R, Turcq B. eds. *Restingas: origem, estrutura, processos*. Niterói: CEUFF, 3-13.
- Barnett V, Lewis T. 1978. *Outliers in Statistical Data*. New York: John Wiley & Sons.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Second edition. San Diego: Elsevier/Academic Press.
- Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JRU, Richardson DM. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* **26**:333-339.
- Bloor JMG, Grubb PJ. 2004. Morphological plasticity of shade-tolerant tropical rainforest tree seedlings exposed to light changes. *Functional Ecology* **18**:337-348.
- Bonner FT. 2008. Storage of seeds. In: Bonner FT, Karrfalt RP. ed. *The woody plant seed manual*. Agriculture Handbook 727. Washington: Department of Agriculture, 85-95.
- Boucher FC, Thuiller W, Arnoldi C, Albert CH, Lavergne S. 2013. Unravelling the architecture of functional variability in wild populations of *Polygonum viviparum* L. *Functional Ecology* **27**:382-391.
- Callaway RM, Walker LR. 1997. Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* **78**:1958-1965.
- Clemens J, Campbell LC, Nurisjah S. 1983. Germination, growth and mineral ion concentrations of *Casuarina* species under saline conditions. *Australian Journal of Botany* **31**:1-9.
- Coelho-Souza SA, López MS, Guimaraes JRD, Coutinho R, Candella R. 2012. Biophysical interactions in the Cabo Frio upwelling system, Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography* **60**:353-365.
- Cuneo P, Offord CA, Leishman MR. 2010. Seed ecology of the invasive woody plant African Olive (*Olea europaea* subsp. *cuspidata*): implications for management and restoration. *Australian Journal of Botany* **58**:342-348.
- Davis MA, Grime JP, Thompson K. 2000. Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of Ecology* **88**:528-534.
- Diagne N, Diouf D, Svistoonoff S, Kane A, Noba K, Franche C, Bogusz D, Duponnois R. 2013. *Casuarina* in Africa: distribution, role and importance of carbuncular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and *Frankia* on plant development. *Journal of Environmental Management* **128**:204-209.
- Evans GC. 1972. *The quantitative analysis of plant growth*. Berkley: University of California Press.
- Evelin H, Kapoor R, Giri B. 2009. AMF in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany* **104**:1263-1280.
- Ferriter A, Doren B, Thayer D, et al. 2007. The status of nonindigenous species in the south Florida environment. *South Florida Environmental Report* 1 - 9.
- Flores-Moreno H, García-Trevino ES, Letten AD, Moles AT. 2015. The beginning: phenotypic change in three invasive species through their first two centuries since introduction. *Biological Invasions* **17**:1215-1225.

- Funk JL. 2008. Differences in plasticity between invasive and native plants from a low resource environment. *Journal of Ecology* **96**:1162-1173.
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, Casas RR, Balaguer L. 2009. Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* **96**:1454-1461.
- Gianoli E. 2004. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Science* **165**:825-832.
- Gianoli E, Palacio-López K. 2009. Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos* **118**:1924-1928.
- Godoy O, Valladares F, Castro-Díez P. 2011. Multispecies comparison reveals that invasive and native plants differ in their traits but not in their plasticity. *Functional Ecology* **25**:1248-1259.
- Godoy O, Valladares F, Castro-Díez P. 2012. The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytologist* **195**:912-922.
- Gómez-Aparicio L, Valladares F, Zamora R, Quero JL. 2005. Response of tree seedlings to the abiotic heterogeneity generated by nurse shrubs: an experimental approach at different scales. *Ecography* **28**:757-768.
- Gómez-Aparicio L, Valladares F, Zamora R. 2006. Differential light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiology* **26**:947-958.
- Hamilton MA, Murray BR, Cadotte MW, Hose GC, Baker AC, Harris CJ, Licari D. 2005. Life-history correlates of plant invasiveness at regional and continental scales. *Ecology Letters* **8**:1066-1074.
- Hastwell GT, Facelli JM. 2003. Differing effects of shade-induced facilitation on growth and survival during the establishment of a chenopod shrub. *Journal of Ecology* **91**(6):941–950.
- ISTA. 1999. *International Rules for Seed Testing*. Zürich: Seed Science Technology, ISTA.
- I3N Brazil. 2015. Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras, I3N Brasil, Instituto Hórus de desenvolvimento e Conservação Ambiental. <http://i3n.institutohorus.org.br>. Accessed 20 May 2015.
- Khurana E, Singh JS. 2001. Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environmental Conservation* **28**:39–52.
- Kueffer C, Pyšek P, Richardson DM. 2013. Integrative invasion science: model systems, multi-site studies, focused meta-analysis and invasion syndromes *New Phytologist* **200**:615–633.
- Labouriau LG, Pacheco A. 1978. On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. *Plant and Cell Physiology* **19**:507-512.
- Lai L, Tian Y, Wang Y, Zhao X, Jiang L, Baskin JM, Baskin CC, Zheng Y. 2015. Distribution of three congeneric shrub species along an aridity gradient is related to seed germination and seedling emergence. *AoB PLANTS* **7**: plv071; doi:10.1093/aobpla/plv071.
- Leishman LR, Cooke J & Richardson DM. 2014. Evidence for shifts to faster growth strategies in novel ranges of invasive alien plants. *Journal of Ecology* **102**:1451–1461.

- Martins LST, Pereira TS, Carvalho ASR, Barros CF, Andrade ACS. 2012. Seed germination of *Pilosocereus arrabidaei* (Cactaceae) from a semiarid region of south-east Brazil. *Plant Species Biology* **27**:191–200.
- Matos IS. 2014. *Crescimento, Sobrevivência e Plasticidade Fenotípica de Plântulas de Espécies de Restinga sob Gradientes Experimentais de Intensidade de Luz e de Disponibilidade Hídrica*. Masters dissertation, Rio de Janeiro Botanical Garden Research Institute, Brazil.
- Maun MA. 1994. Adaptations enhancing survival and establishment of seedlings on coastal dune systems. *Vegetatio* **111**:59-70.
- Milberg P, Anderson L, Thompson K. 2000. Large seeded species are less dependent on light for germination than small seeded ones. *Seed Science Research* **10**: 99-104.
- Molina-Montenegro MA, Peñuelas J, Munné-Bosch S, Sardans J. 2012. Higher plasticity in ecophysiological traits enhances the performance and invasion success of *Taraxacum officinale* (dandelion) in alpine environments. *Biological Invasions* **14**:21-33.
- Morton JF. 1980. The Australian pine or beefwood (*Casuarina equisetifolia* L.) an invasive “weed” tree in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* **93**:87-95.
- Omram TA, El-Lakani MH, Shehata MS. 1989. Effect of storage on seed germination and subsequent seedling growth of *Casuarina*. *The International Tree Crops Journal* **5**:247-256.
- Palacio-López K, Gianoli E. 2011. Invasive plants do not display greater phenotypic plasticity than their native or non-invasive counterparts: a meta-analysis. *Oikos* **120**:1393–1401.
- Parrotta JA. 1993. *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. SO-ITF-SM-46. In: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. *International Institute of Tropical Forestry*. Puerto Rico: Río Piedras, 1-11.
- Pearson TRH, Burslem DFRP, Mullins CE, Dalling JW. 2003. Functional significance of photoblastic germination in neotropical pioneer trees: a seed’s eye view. *Functional Ecology* **17**:394-402.
- Peperkorn R, Werner C, Beyschlag W. 2005 Phenotypic plasticity of an invasive acacia versus two native Mediterranean species. *Functional Plant Biology* **32**:933-944.
- Pigliucci, M. 2003. Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters* **6**:265-272.
- Potgieter LJ, Richardson DM, Wilson JRU. 2014a. *Casuarina*: Biogeography and ecology of an important tree genus in a changing world. *Biological Invasions* **16**:609-633.
- Potgieter LJ, Richardson DM, Wilson JRU. 2014b. *Casuarina cunninghamiana* in the Western Cape, South Africa: Determinants of naturalisation and invasion, and options for management. *South African Journal of Botany* **92**: 134–146.
- Potgieter LJ, Wilson JRU, Strasberg D, Richardson DM. 2014c. *Casuarina* invasion alters primary succession on lava flows on La Réunion Island. *Biotropica* **46**:268-275.
- Pyšek P, Richardson DM. 2007. Traits associated with invasiveness in alien plants: where do we stand? In: Nentwig W, ed. *Biological invasions, Ecological Studies*. Berlin: Springer-Verlag, 97–125.

- Pyšek P, Richardson DM, Pergl J, Jarošík V, Sixtová Z, Weber E. 2008. Geographical and taxonomic biases in invasion ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **23**:237–244.
- R Core Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>
- Reinert F, Roberts A, Wilson JM, Ribas L, Cardinot G, Griffiths H, et al. 1997. Gradation in nutrient composition and photosynthetic pathways across the restinga vegetation of Brazil. *Botanica Acta* **110**:135–142.
- Rejmánek M, Richardson DM. 2013. Trees and shrubs as invasive alien species – 2013 update of the global database. *Diversity and Distributions* **19**:1093–1094.
- Rentería JL. 2007. Plan de manejo para la erradicación de *Casuarina equisetifolia* L. (Casuarinaceae), especie invasora de limitada distribución en la isla Santa Cruz, Galápagos. Estación Científica Charles Darwin, Galápagos, Ecuador.
- Richards CL, Bossdorf O, Muth NZ, Gurevitch J, Pigliucci M. 2006. Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecology Letters* **9**:981–993.
- Richardson DM, Pyšek P. 2012. Naturalization of introduced plants: ecological drivers of biogeographical patterns. *New Phytologist* **196**:383–396.
- Rocha CFD, Van Sluys M, Alves MS, Jamel CE. 2007. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian Journal of Biology* **67**: 263–273.
- Rouget M, Robertson MP, Wilson JRU, Hui C, Essl F, Renteria J, Richardson DM. 2016. Invasion debt - quantifying future biological invasions. *Diversity and Distributions* **22** (in press) doi: 10.1111/ddi.12408.
- Ryser P, Eek L. 2000. Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of above-ground and below-ground resources. *American Journal of Botany* **87**:402–411.
- Salisbury FB, Ross CW. 1992. *Plant physiology*. Belmont: Wadsworth Publishing Company Inc.
- Scarano FR. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* **90**:517–524.
- Scarano FR. 2009 Plant communities at the periphery of the Atlantic rain forest: Rare-species bias and its risks for conservation. *Biological Conservation* **142**:1201–1208.
- Schlichting CD. 1989. Phenotypic plasticity in Phlox II. Plasticity of character correlations. *Oecologia* **78**:496-501.
- Schmidt L. 2000. *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. Humlebaek: DANIDA Forest Seed Centre.
- Smith H. 2000. Phytochromes and light signal perception by plants - an emerging synthesis. *Nature* **407**:585–591.
- Tani C, Sasakawa H. 2003. Salt tolerance of *Casuarina equisetifolia* and *Frankia* Ceq1 strain isolated from the root nodules of *C. equisetifolia*. *Soil Science & Plant Nutrition* **49**:215-222.
- Therneau T. 2015. A package for survival analysis in S. R package. <http://CRAN.R-project.org/package=survival>.
- Torices R, Muñoz-Pajares AJ. 2015. PHENIX: An R package to estimate a size-controlled phenotypic integration index. *Applications in Plant Sciences* **3**:1-4.

- U.S. Research Council. 1984. *Casuarinas: nitrogen-fixing trees for adverse sites*. Washington: National Academy Press.
- Valladares F, Gianoli E, Gómez JM. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* **176**:749–763.
- Valladares F, Sánchez-Gómez D, Zavala MA. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* **94**:1103–1116.
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Robert WP. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* **81**:1925–1936.
- van Kleunen M, Weber E, Fischer M. 2010. A meta-analysis of trait differences between invasive and non-invasive plant species. *Ecology Letters* **13**:235–245.
- Villela FA, Beckert OP. 2001. Potencial osmótico de soluções aquosas de polietileno glicol 8000. *Revista Brasileira de Sementes* **23**:267–275.
- Waddington CH. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* **150**:563–565.
- Wainwright CE, Cleland EE (2013). Exotic species display greater germination plasticity and higher germination rates than native species across multiple cues. *Biological Invasions* **15**:2253–2264.
- Wagner GP. 1984. On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices: Evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. *Journal of Mathematical Biology* **21**:77–95.
- Waite DE, Levin DA. 1993. Phenotypic integration and plastic correlations in *Phlox drummondii* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* **80**:1224–1233.
- Wheeler GS, Taylor GS, Gaskin JF, Purcell MF. 2011. Ecology and management of sheoak (*Casuarina* spp.), an invader of coastal Florida, U.S.A. *Journal of Coastal Research* **27**:485–492.
- Whistler WA, Elevitch CR. 2006. *Casuarina equisetifolia* (reach she-oak) and *C. cunninghamiana* (river she-oak). In: Elevitch CR, ed. *Species profiles for Pacific Island agroforestry*. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii.
- Woodell SRJ. 1985. Salinity and seed germination patterns in coastal plants. *Vegetatio* **61**:223–229.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*, 4 th edn. Upper Saddle River: Prentice Hall.
- Zenni RD, Ziller SR. 2011. An overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* **34**:431–446.
- Zhong C, Gong M, Chen Y, Wang F. 1995. Inoculation of *Casuarina* with mycorrhizal fungi and *Frankia*. In: Brundrett M, Dell B, Malajczuk N, Gong M. eds. *Mycorrhizas for Plantation Forests in Asia*. Canberra: CSIRO, 122–126.

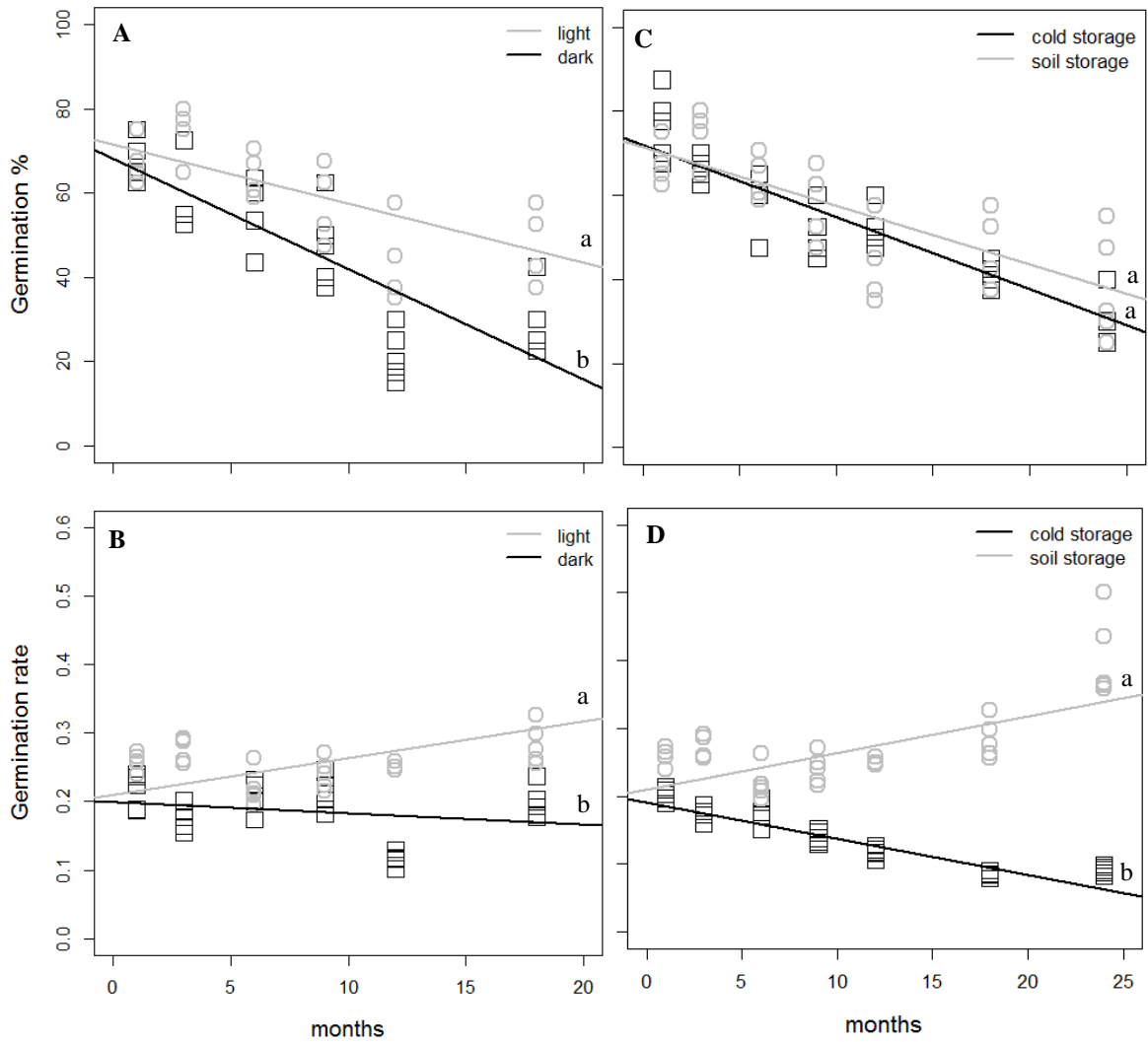


Figure 1. Relationships between storage period (months) and germination percentage (A; C) or germination rate (B; D) for *Casuarina equisetifolia* L seeds. A-B: Differences in germination between seeds stored in cold conditions and buried in the soil; C-D: effect of the light in germination of seeds buried in the soil. Data points were fitted with a linear regression function. Germination percentage: light = soil storage ($y = -1.50x + 72.11$; $R^2 = 0.52$; $p < 0.001$); dark ($y = -2.63x + 68.17$; $R^2 = 0.67$; $p < 0.001$); cold storage ($y = -1.71x + 71.87$; $R^2 = 0.77$; $p < 0.001$). Germination rate: light = soil storage ($y = 0.0009x + 0.25$; $R^2 = 0.005$; $p = 0.29$); dark ($y = -0.002x + 0.20$; $R^2 = 0.03$; $p = 0.20$); cold storage ($y = -0.005x + 0.20$; $R^2 = 0.84$; $p < 0.001$). Different letters denote significant differences between the curves with ANCOVA ($p < 0.05$; Table S2).

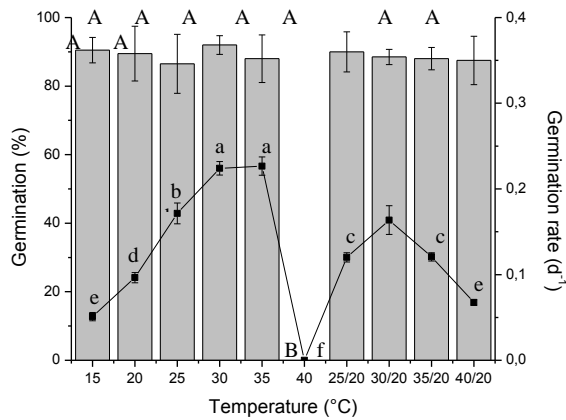


Figure 2. Seed germination of *Casuarina equisetifolia* at constant and alternating temperatures. Different capital letters denote significant differences between final germination percentage (bars, left y-axis); different lowercase letters denote significant differences between germination rate (line and symbol, right y-axis). ANOVA, post hoc Tukey's test ($p < 0.05$).

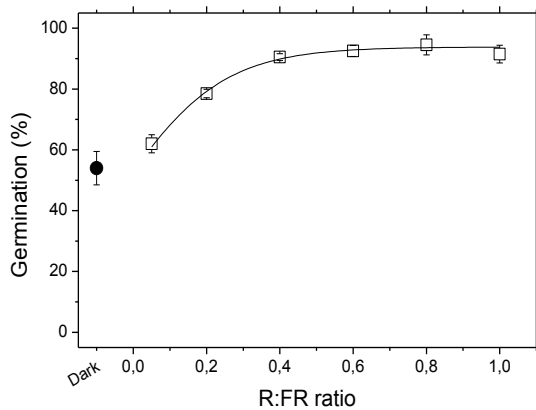


Figure 3. Effect of R:FR ratios on mean final germination percentage (\pm s.d.) of *Casuarina equisetifolia* L. Data points were fitted with a sigmoidal regression function (solid line; $R^2 = 0.983$; $p < 0.05$).

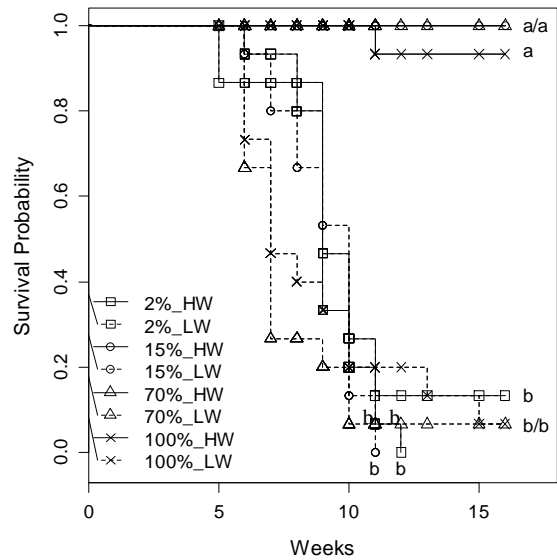


Figure 4. Survival curves of *Casuarina equisetifolia* young plants ($n=15$) under combined effects of light (2%, 15%, 70% and 100%) and water regimes (HW - high water, LW - low water) over 16 weeks. Survival analysis was performed with the Kaplan-Meier product limit method. The letter codes indicate homogeneous groups (Log-rank test, $p < 0.05$).

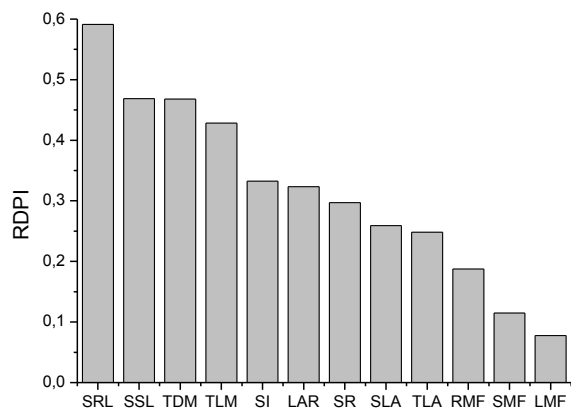


Figure 5. Relative Distance Plasticity Index (RDPI) for 12 allocation traits of young *Casuarina equisetifolia* plants in response to three levels of light (15, 70 and 100% of photosynthetic photon-flux density) after 16 weeks. The traits shown are specific root length (SRL), specific stem length (SSL), total dry mass (TDM), total leaf mass (TLM), slenderness index (SI), leaf area ratio (LAR), shoot: root ratio (SR), specific leaf area (SLA), total leaf area (TLA), root mass fraction (RMF), stem mass fraction (SMF) and leaf mass fraction (LMF). The RDPI values range from 0 (no plasticity) to 1 (maximal plasticity).

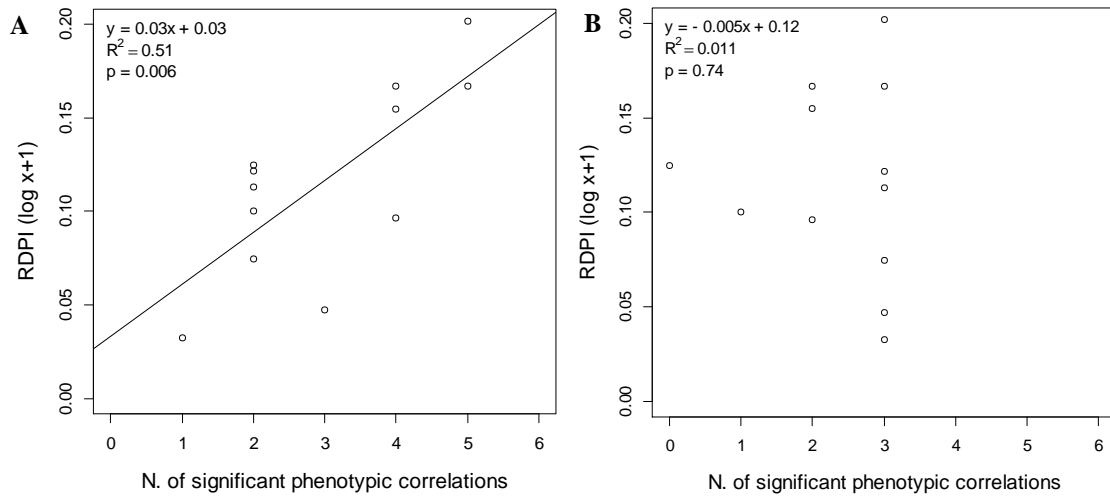


Figure 6. Regression analysis between Mean Relative distance plasticity index (RDPI) in response to light and Phenotypic Integration (PI) in response to shady (15% of light; A) and sunny conditions (100% of light; B) among 12 morphological traits of *Casuarina equisetifolia* young plants. Each point in the regression analysis corresponds to a single trait.

Table 1. Light and temperature effects on seed germination (mean \pm standard deviation) of *Casuarina equisetifolia*. Letters denote significant differences between the treatments (Student's t-test, $p < 0.05$).

Temperature ($^{\circ}$ C)	Germination (%)		Germination rate (d^{-1})	
	light	Dark	light	dark
25	86.5 \pm 8.6 a	16.5 \pm 6.5 b	17.1 \pm 1.2 a	12.7 \pm 0.9 b
30	92.0 \pm 2.7 a	54.0 \pm 5.5 b	22.4 \pm 0.8 a	11.6 \pm 0.3 b
30/20	88.5 \pm 2.2 a	92.5 \pm 4.0 a	16.4 \pm 1.7 a	14.1 \pm 0.6 b

Table 2. Mean (\pm standard deviation) germination percentage and germination rate of *Casuarina equisetifolia* seeds in response to osmotic (NaCl) and water (PEG 8000) potential and recovery treatments. The letter codes indicate homogeneous groups among treatments, ns, not significant (Tukey's test, $p < 0.05$).

Treatment	Potentials (MPa)	Germination (%)	Germination rate (10^{-2})	Recovery germination (%)
NaCl	0.00	91.5 \pm 4.2 a	20.3 \pm 1.8 a	91.5 \pm 4.2 ns
	-0.25	88.5 \pm 4.5 a	13.7 \pm 2.6 b	88.5 \pm 4.5
	-0.50	86.5 \pm 1.4 a	8.0 \pm 0.3 c	92.0 \pm 4.1
	-0.75	43.5 \pm 5.2 b	6.3 \pm 0.3 c	86.0 \pm 2.8
	-1.00	0 c	0 d	84.0 \pm 5.8
	-1.25	0 c	0 d	94.0 \pm 2.9
	-1.50	0 c	0 d	85.0 \pm 7.3
PEG 8000	0.00	91.5 \pm 4.2 a	20.3 \pm 1.8 a	91.5 \pm 4.2 ns
	-0.25	84.5 \pm 7.8 a	9.9 \pm 1.2 b	84.5 \pm 7.8
	-0.50	57.0 \pm 6.9 b	5.3 \pm 0.2 c	93.5 \pm 5.8
	-0.75	3.0 \pm 1.1 c	4.3 \pm 0.3 c	90.0 \pm 5.0
	-1.00	0 c	0 d	92.5 \pm 4.7
	-1.25	0 c	0 d	93.0 \pm 2.1
	-1.50	0 c	0 d	90.5 \pm 4.1

Table 3. Mean \pm standard deviation, F and p -values (one way ANOVA) on data for 12 morphological and biomass allocation traits of young *Casuarina equisetifolia* plants in response to three light levels (15, 70 and 100% of photosynthetic photon-flux density) after 16 weeks. The traits shown are relative growth rate in total biomass (RGRb) and total leaf area (RGRa), leaf mass fraction (LMF), stem mass fraction (SMF), root mass fraction (RMF), shoot: root ratio (SR), slenderness index (SI), specific stem length (SSL), specific root length (SRL), specific leaf area (SLA) and leaf area ratio (LAR). The letter codes indicate homogeneous groups among treatments for light intensities (Tukey's test, $p < 0.05$).

Traits	15%	70%	100%	F	p
RGRb	0.025 \pm 0.002 b	0.040 \pm 0.002 a	0.040 \pm 0.003 a	168.88	< 0.01
RGRa	0.021 \pm 0.02 b	0.027 \pm 0.002 a	0.027 \pm 0.003 a	24.85	< 0.001
LMF	0.58 \pm 0.02 a	0.48 \pm 0.02 b	0.48 \pm 0.04 b	62.15	< 0.001
SMF	0.20 \pm 0.01 a	0.14 \pm 0.01 b	0.16 \pm 0.02 b	35.27	< 0.001
RMF	0.22 \pm 0.02 b	0.38 \pm 0.03 a	0.36 \pm 0.05 a	76.68	< 0.001
SR	0.88 \pm 0.11 a	0.39 \pm 0.05 b	0.45 \pm 0.12 b	95.40	< 0.001
SI	170.85 \pm 19.07 a	69.01 \pm 6.77 b	63.02 \pm 5.44 b	385.02	< 0.01
SSL	129.09 \pm 21.33 a	33.97 \pm 3.96 b	28.95 \pm 3.12 c	480.98	< 0.01
SRL	99.78 \pm 20.46 a	13.21 \pm 3.46 b	13.67 \pm 3.39 b	28.79	< 0.001
SLA	227.65 \pm 20.93 a	116.62 \pm 20.96 b	113.07 \pm 15.08 b	153.26	< 0.01
LAR	132.77 \pm 14.43 a	56.56 \pm 11.57 b	54.23 \pm 7.88 b	195.87	< 0.01

Supporting Information: Zimmermann TG, Andrade ACS, Richardson DM. Factors mediating naturalization of an invasive tree on sandy coastal plains: An experimental assessment. AoB PLANTS.



Figure S1. Patchy structure of the restinga (open scrub vegetation) with two distinct microsites: vegetation patches that support a high diversity and abundance of species; and open areas around the patches, usually covered by a low diversity of herbaceous vegetation.

Table S2. F-test of significance for main effects and interactions in an Analysis of covariance (ANCOVA) for the effects of storage (cold storage (-18°C) vs. soil storage (buried in the soil)) and light conditions (light vs. dark) in germination of *Casuarina equisetifolia* seeds at intervals of 1, 3, 6, 9, 12, 18 and 24 months of storage.

Effect	DF	Dependent variable			
		Germination percentage		Germination rate	
		<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Cold storage vs. Soil storage</i>					
Storage conditions	1	1.980	.163	104.347	.000
Storage time	1	153.640	.000	.008	.931
Storage conditions vs. Storage time	1	1.180	.281	90.190	.000
<i>Soil storage light vs. Soil storage dark</i>					
Light conditions	1	25.617	.000	55.079	.000
Storage time	1	81.933	.000	.196	.660
Light conditions vs. Storage time	1	6.721	.012	2.891	.095

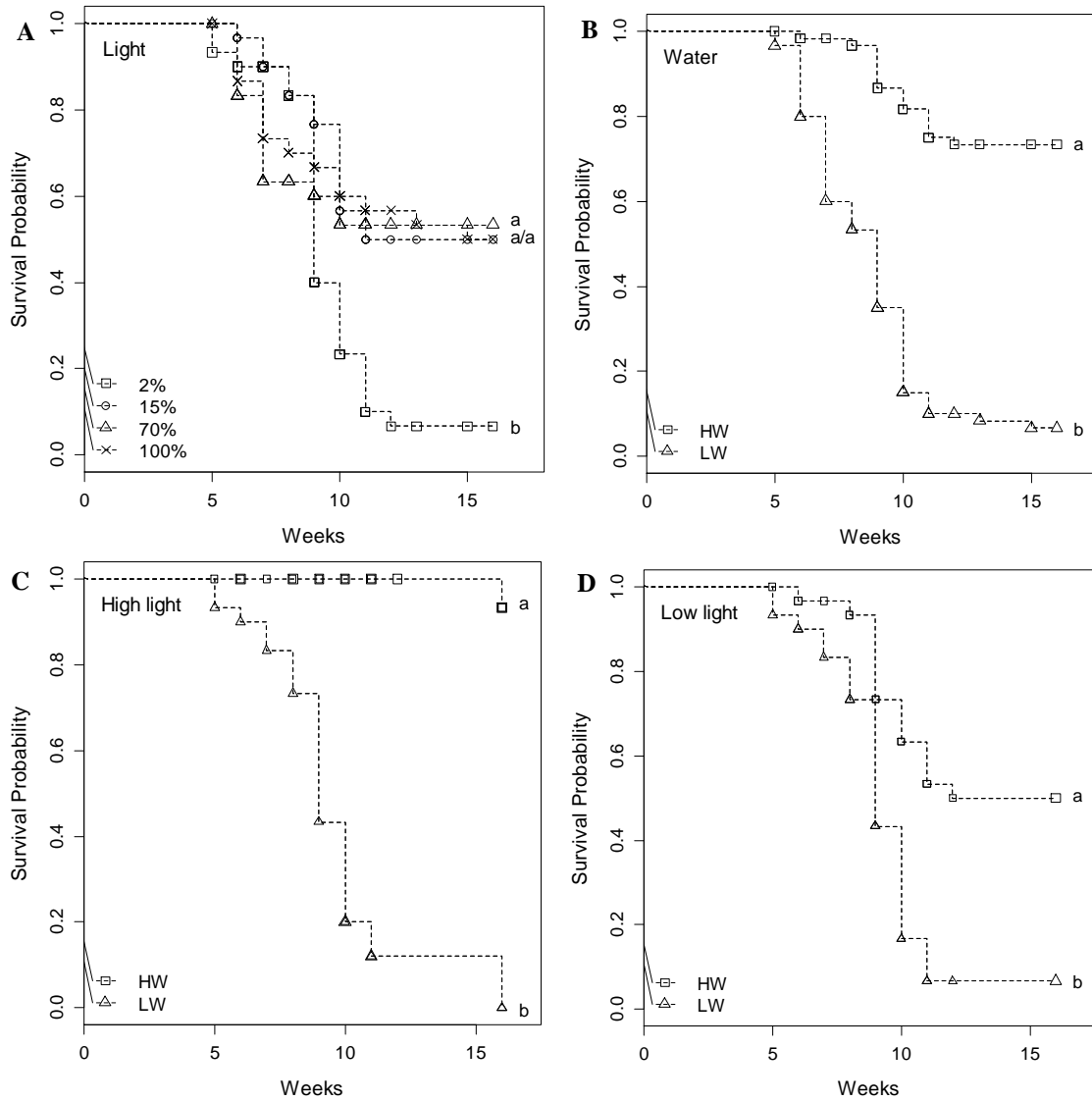


Figure S3. Survival curves of young plants of *Casuarina equisetifolia* (n=15) in response to light (A), water stress (B), drought under high light (70% and 100% of light; C); drought under low light (2 and 15% of light; D). Survival analysis was performed with the Kaplan-Meier product limit method. The letter codes indicate homogeneous groups (Log-rank test).

Table S4. Spearman's rank correlation matrices among 12 morphological traits of *Casuarina equisetifolia* young plants (total dry mass – TDM; root: shoot ratio – RS; slenderness index – SI; leaf mass fraction – LMF; stem mass fraction – SMF; root mass fraction – RMF; specific stem length – SSL; specific root length – SRL; total leaf area – TLA; total leaf mass – TLM; specific leaf area – SLA and leaf area ratio – LAR). Matrix shows correlations coefficients for traits measured at 15% (A), 70% (B), and 100% (C). Significant correlations at $p < 0.05$ are show in bold.

(A)	TDM	SR	SI	LMF	SMF	RMF	SSL	SRL	TLA	TLM	SLA	LAR
TDM	1.00											
SR	-0.13	1.00										
SI	-0.52	0.03	1.00									
LMF	0.12	0.47	0.12	1.00								
SMF	-0.13	0.73	-0.07	-0.16	1.00							
RMF	0.08	-0.81	-0.15	-0.82	-0.30	1.00						
SSL	-0.93	0.02	0.70	0.03	-0.07	-0.13	1.00					
SRL	-0.80	0.31	0.56	-0.11	0.34	-0.24	0.79	1.00				
TLA	0.88	-0.20	-0.40	0.38	-0.43	-0.04	-0.76	-0.81	1.00			
TLM	0.97	-0.10	-0.52	0.25	-0.24	-0.02	-0.90	-0.83	0.96	1.00		
SLA	-0.15	-0.42	0.27	0.33	-0.67	0.03	0.26	-0.11	0.27	0.01	1.00	
LAR	-0.24	-0.30	0.40	0.48	-0.64	-0.13	0.40	-0.04	0.20	-0.08	0.96	1.00

(B)	TDM	SR	SI	LMF	SMF	RMF	SSL	SRL	TLA	TLM	SLA	LAR
TDM	1.00											
SR	0.05	1.00										
SI	0.26	0.31	1.00									
LMF	-0.45	0.43	0.06	1.00								
SMF	0.14	0.90	0.18	0.10	1.00							
RMF	0.16	-0.85	-0.18	-0.79	-0.60	1.00						
SSL	-0.79	-0.29	0.09	0.42	-0.47	-0.03	1.00					
SRL	-0.70	0.47	-0.05	0.52	0.40	-0.60	0.41	1.00				
TLA	0.28	0.19	0.41	0.40	0.04	-0.30	-0.10	-0.08	1.00			
TLM	0.92	0.19	0.36	-0.17	0.21	-0.07	-0.70	-0.53	0.38	1.00		
SLA	-0.47	-0.12	0.05	0.40	-0.20	-0.15	0.53	0.48	0.54	-0.37	1.00	
LAR	-0.53	-0.06	0.10	0.51	-0.15	-0.23	0.60	0.54	0.51	-0.37	0.97	1.00

(C)	TDM	SR	SI	LMF	SMF	RMF	SSL	SRL	TLA	TLM	SLA	LAR
TDM	1.00											
SR	0.07	1.00										
SI	-0.24	0.10	1.00									
LMF	0.08	0.76	0.03	1.00								
SMF	0.12	0.97	0.05	0.70	1.00							
RMF	-0.10	-0.96	-0.06	-0.90	-0.91	1.00						
SSL	-0.80	-0.01	0.50	0.23	-0.09	-0.06	1.00					
SRL	-0.64	0.38	0.24	0.43	0.30	-0.42	0.69	1.00				
TLA	0.45	0.43	-0.27	0.47	0.37	-0.46	-0.38	0.13	1.00			
TLM	0.88	0.37	-0.17	0.48	0.40	-0.45	-0.55	-0.38	0.61	1.00		
SLA	-0.32	0.12	-0.24	-0.07	0.03	0.01	0.09	0.35	0.42	-0.29	1.00	
LAR	-0.30	0.44	-0.14	0.48	0.32	-0.43	0.27	0.55	0.66	-0.02	0.80	1.00

ARTIGO 2: Invasividade, invasibilidade e o papel da regeneração natural em áreas costeiras com invasão de espécie exótica arbórea*

Thalita G. Zimmermann^{a, **}, Antonio C. S. Andrade^a

^a Laboratório de Sementes, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rua Pacheco Leão, 915, Jardim Botânico, 22460-030, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

** Autor para correspondência: thalitagabriella@gmail.com

*Periódico a ser submetido este artigo: *Biological Conservation*

RESUMO

O processo de invasão biológica é regulado pela interação entre a invasibilidade e a invasividade, sendo que a probabilidade de invasão depende do ajuste entre as características da espécie invasora e do tipo de habitat. Além disso, é importante avaliar o potencial de regeneração natural das plantas nativas em áreas com invasão e as alterações causadas por uma espécie exótica invasora. Este estudo teve como objetivo avaliar: (i) a invasividade de *C. equisetifolia* na restinga, (ii) a invasibilidade desse ecossistema e (iii) a capacidade de regeneração natural das espécies nativas em área com domínio dessa planta exótica. Foram realizadas avaliações da chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas de *C. equisetifolia* e das espécies nativas, em local com domínio dessa planta exótica, na área de transição (borda) e na restinga preservada (moita e área aberta). A produção e a decomposição de serapilheira no solo também foram mensuradas. Apesar de ocorrer a chegada de propágulos das espécies nativas na área com domínio de *C. equisetifolia*, o recrutamento é baixo, e entre os principais responsáveis pela baixa regeneração natural está o grande acúmulo de serapilheira. Ocorreu dispersão de sementes de *C. equisetifolia* nas áreas preservadas da restinga, mas não houve recrutamento dessa espécie no banco de sementes e no banco de plântulas. Apesar de *C. equisetifolia* apresentar alta invasividade, essa espécie não parece ter a capacidade de invadir as restingas preservadas, e sugere-se que a invasibilidade desse ecossistema é baixa.

Palavras-chave: chuva de sementes, banco de sementes, banco de plântulas, *Casuarina equisetifolia*, invasão biológica, serapilheira.

1. Introdução

Várias hipóteses foram postuladas para tentar explicar o sucesso de invasão das plantas introduzidas (Hierro *et al.* 2005; MacDougall *et al.* 2009). Elas têm o foco tanto nas propriedades que se relacionam com a susceptibilidade à invasão a nível de ecossistema, comunidade ou habitat (invasibilidade, Lonsdale 1999), ou nas características e no histórico de vida das espécies exóticas que tiveram sucesso na invasão (invasividade, Rejmánek 1996; Rejmánek & Richardson 1996; Richardson & Rejmánek 2004). Existe uma interação entre a invasibilidade e a invasividade, sendo que a probabilidade de invasão depende do ajuste entre as características da espécie exótica e do tipo de habitat (Alpert *et al.* 2000).

A invasibilidade pode ser definida como as características do ambiente ou os componentes de uma comunidade que determinam a sua vulnerabilidade a invasão (Sakai *et al.* 2001; Richardson *et al.* 2011). A invasibilidade pode ser medida como a taxa de sobrevivência das espécies exóticas introduzidas no ecossistema, determinando as perdas devido a competição com as espécies nativas, o efeito dos inimigos naturais, eventos ao acaso, entre outros (Lonsdale 1999; Richardson *et al.* 2011). Entre os fatores que propiciam que um habitat tenha maior invasibilidade estão o baixo nível de estresse ambiental e intensidade de competição, alto regime de distúrbio e disponibilidade de recursos (Alpert *et al.* 2000). O estresse devido a baixos níveis de nutrientes, água e luminosidade pode reduzir a invasibilidade dos habitats, e nos ambientes em que a disponibilidade hídrica é baixa, o estresse hídrico parece ser um fator que limita a invasão (Alpert *et al.* 2000; Zefferman *et al.* 2015). Contudo, em locais com baixa disponibilidade de recursos algumas espécies exóticas invasoras podem ter uso mais eficiente dos recursos em relação as nativas e conseguir invadir o habitat, apesar deste ter condições de luz, água ou nutrientes limitantes (Funk & Vitousek 2007). Isso mostra que não é apenas as condições de recursos do habitat que determinam se este apresenta baixa ou alta vulnerabilidade a invasão, mais também as características das espécies invasoras e nativas e as relações de competição entre elas (Funk & Vitousek 2007; Leger & Espeland 2010).

A invasividade se refere as características da espécie exótica relacionadas a sua capacidade em superar as barreiras bióticas e abióticas a invasão no novo ecossistema, como o seu histórico de vida e modos de reprodução (Richardson *et al.* 2011). Uma espécie pode se tornar invasora quando: (i) ocorre algum distúrbio natural ou

antropogênico que afeta a comunidade (hipótese do distúrbio; Mack *et al.* 2000); (ii) as espécies nativas facilitam o seu estabelecimento na comunidade (teoria da facilitação; Bruno *et al.* 2003), (iii) ocorre uma flutuação na disponibilidade de recursos ao longo do espaço e do tempo (teoria da flutuação na disponibilidade de recursos; Davis *et al.* 2000) ou existem nichos disponíveis (hipótese do nicho vazio; Mack 1996; Levine & D'Antonio 1999). Identificar as características que podem predizer o potencial de invasão de uma espécie é difícil, e isto ocorre principalmente devido a atributos distintos favorecerem a invasividade em diferentes habitats (Alpert *et al.* 2000). Contudo, alguns atributos funcionais podem aumentar o potencial de invasão de uma espécie, entre eles estão o habitat natural com grande amplitude geográfica e a rápida dispersão, que inclui pequena massa da semente (< 50 mg), curtos períodos na fase juvenil (< 10 anos) e pequenos intervalos entre a produção de sementes (Rejmánek 1996; Rejmánek & Richardson 1996; Richardson & Rejmánek 2004).

Casuarina equisetifolia L. está entre as espécies arbóreas com maior potencial invasor do mundo (Rejmánek & Richardson 2013). No Brasil, essa espécie foi plantada principalmente nas áreas costeiras e é amplamente encontrada nas restingas do sul, sudeste e nordeste do país (I3N Brasil), sendo o seu status de espécie naturalizada (Zenni & Ziller 2011; Potgieter *et al.* 2014), que é a espécie exótica que mantém uma população viável sem a intervenção do homem (Richardson *et al.* 2000b). Devido a grande extensão de áreas climaticamente adequadas para o seu estabelecimento, é alta a probabilidade de invasão dessa espécie no país (Potgieter *et al.* 2014). Entre as características que aumentam a invasividade de *C. equisetifolia* estão: (i) reprodução através de sementes de pequeno tamanho, produzidas em grande quantidade (Apfelbaum 1983) e dispersas principalmente pelo vento (Morton, 1980), (ii) capacidade de rápida rebrota (Morton 1980), (iii) longos períodos de floração e frutificação (Whistler & Elevitch 2006), (iv) crescimento rápido e maturação precoce (Parrotta 1993), (v) produção de compostos alelopáticos que inibem o crescimento de outras espécies vegetais (Batish *et al.* 2001; Nakahira & Ohira 2005; John *et al.* 2007), e (vi) associações simbióticas com actinomicetos (*Frankia* sp.) do solo, que permitem essa espécie crescer em locais com baixa concentração de nitrogênio (Zhong *et al.* 1995; Diagne *et al.* 2013).

As plantas invasoras podem alterar as condições abióticas das comunidades em que invadem, afetando o recrutamento das espécies nativas (Richardson *et al.* 2000a). Nas áreas com invasão de *C. equisetifolia* a densidade e a riqueza de espécies são

menores quando comparada aos locais com vegetação nativa (Parrotta 1999; Batish *et al.* 2001; Hata *et al.* 2009). A baixa regeneração natural nos locais com domínio dessa árvore pode ser devido a falta de dispersão de sementes (Hata *et al.* 2009) e/ou inibição da germinação e do estabelecimento das plântulas em decorrência da densa camada de serapilheira nas áreas com invasão dessa espécie (Parrotta 1995; 1999; Hata *et al.* 2009; 2010a; 2010b). A serapilheira dessa árvore apresenta decomposição lenta e uma alta concentração de selênio e sais (Parrotta 1993), o que pode dificultar ou impedir a colonização de outras plantas (Elfers 1988; Rentéria 2007). Apesar de *C. equisetifolia* invadir principalmente ambientes em áreas costeiras (Morton 1980; Wheeler *et al.* 2011; Potgieter *et al.* 2014), são escassos os estudos nesse ecossistema que avaliaram o potencial de recrutamento das plantas nativas nos locais invadidos por essa espécie (Batish *et al.* 2001; Hata *et al.* 2009). Como a erradicação de uma planta exótica invasora é um processo oneroso e difícil (Pimentel *et al.* 2000), torna-se fundamental a realização de estudos que avaliem a capacidade de regeneração natural da vegetação nativa nas áreas invadidas por espécies exóticas, principalmente através da chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas.

Considerando as características edafoclimáticas da restinga, como altas temperaturas, radiação solar, déficit hídrico, solos salinos e oligotróficos (Reinert *et al.* 1997; Scarano 2009), a naturalização de *C. equisetifolia* nesse ecossistema é um ótimo sistema modelo para estudar em conjunto a invasividade de uma espécie exótica versus a invasibilidade do habitat. Além de estudar o potencial de invasão, também torna-se fundamental avaliar a capacidade de regeneração natural nas áreas invadidas e a persistência das plantas nativas nesse novo ecossistema (Hobbs *et al.* 2014). Desse modo, o objetivo desse estudo foi avaliar (i) a invasividade de *C. equisetifolia* na restinga, (ii) a invasibilidade desse ecossistema e (iii) a capacidade de regeneração natural das espécies nativas em área com domínio dessa planta exótica. Foram realizadas avaliações sazonais da dispersão de propágulos e do recrutamento de *C. equisetifolia* e das outras espécies através da chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas, no local com domínio dessa espécie exótica, na área de transição e na restinga preservada. Além disso, foram mensuradas a produção e a decomposição de serapilheira no solo. As hipóteses foram: (i) O potencial de invasão de *C. equisetifolia* na restinga é alto devido a sua grande capacidade de dispersão (ii) *C. equisetifolia* é uma espécie invasora de ambientes costeiros, o que torna a vulnerabilidade a invasão de *C. equisetifolia* na restinga alta, sendo alta a invasibilidade desse ecossistema; (iii) na área

com domínio dessa planta exótica é baixa a capacidade de regeneração das espécies nativas, principalmente devido ao grande acúmulo de serapilheira

2. Métodos

2.1. Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área de restinga (22°94'S, 42°04'W) localizada no Parque Estadual da Costa do Sol, em Arraial do Cabo (RJ). O parque está inserido no Centro de Diversidade Vegetal de Cabo Frio, que apresenta a maior diversidade florística do litoral fluminense (Araújo *et al.* 2009) e foi classificado pelo WWF/IUCN como um dos 14 centros de diversidade vegetal do Brasil (Araújo 1997). O clima na região é classificado como semi-árido quente (Bsh), a precipitação é baixa (820 mm anuais), com uma estação seca no inverno e o predomínio das chuvas no verão (Barbière 1984). A temperatura média anual é de 25°C, com máxima de 36°C e mínima de 12°C (Scarano 2002).

A área de estudo apresenta 25,1 ha, sendo 22,9 ha de área de restinga preservada, classificada como formação arbustiva aberta não inundável (fácies alta) (Araújo *et al.* 2009). Essa formação caracteriza-se por uma vegetação arbustiva formada por moitas de diversos tamanhos de comprimento, com até 5 m de altura, e com cobertura relativamente esparsa de plantas herbáceas ou subarbustivas entre as moitas (Araújo *et al.* 2009), que pode ser chamada de área aberta. Em 2,2 ha ocorre o domínio de *C. equisetifolia*, em que os indivíduos foram plantados no local após a construção de um canal na década de 1960 (Material suplementar S1). O estudo foi realizado em quatro locais: (i) interior das moitas de vegetação e (ii) área aberta da restinga, (iii) borda, que foi a área de transição entre a restinga preservada e o local com domínio de *C. equisetifolia*, cuja largura variou entre dois e cinco metros do indivíduo de *C. equisetifolia* mais ao extremo; (iv) área com domínio de *C. equisetifolia*, cujo status é de espécie naturalizada. A área com domínio de *C. equisetifolia* apresenta 0,31 ind/m² (3.048 ind/ha) dessa espécie, com altura de 7,27 m ± 3,86 m e DAP de 5,77 ± 5,18 (n=450).

2.2. Chuva de sementes

Foram instalados em cada local 20 coletores permanentes de sementes com 0,8 m de diâmetro (0,5 m²), perfazendo 10 m² em cada local, a 0,5 m de altura do solo. Na área de restinga preservada foram traçados dois transectos, com cerca de 50 e 100 m de distância do limite da área com domínio de *C. equisetifolia*. Foram colocados em cada transecto 10 coletores no interior das moitas (totalizando 20 moitas), em que as moitas tinham uma distância de cerca de 50 m. Os coletores na área aberta foram montados com uma distância de 1 m da moita em que foi colocado o coletor. Devido a menor área da borda e do local com domínio de *C. equisetifolia*, os coletores foram colocados ao longo de um transecto, com uma distância aproximada de 20 metros.

Os coletores foram instalados no final de março/2013 e a sua coleta foi realizada mensalmente entre abril de 2013 e março de 2014. Em cada coletor foi colocado uma bolsa tecido, que era substituída mensalmente para a coleta das sementes. As bolsas de tecido, separadas por ponto de coleta, foram armazenadas em sacos plásticos, e as sementes coletadas foram identificadas e quantificadas. Quando não foi possível identificar a espécie através das sementes, estas foram colocadas para germinar, para posterior identificação das plântulas.

2.3. Banco de sementes

Em cada local foram realizadas 20 coletas de solo para avaliar o banco de sementes. As coletas foram realizadas no final de cada estação, durante o período de um ano (outono – 11/06/13; inverno – 23/09/13; primavera - 16/12/13; verão -17/03/14). Na restinga preservada, a coleta do solo foi realizada nos dois transectos utilizados para a coleta da chuva de sementes. As moitas em que o solo foi coletado estavam a uma distância aproximada de 25 m das moitas em que foram colocados os coletores de sementes. Assim, o solo foi coletado em moitas que estavam a uma distância de cerca de 50 m. O solo da área aberta foi coletado a uma distância de cerca de 1 m da borda da moita em que foi coletado o solo. Na área da borda e na área com domínio de *C. equisetifolia* o solo foi coletado no mesmo transecto dos coletores de sementes, a uma distância de cerca de 10 metros destes, tendo os locais de coleta de solo uma distância aproximada de 20 metros. Nas mesmas moitas em que o solo foi coletado foram instaladas as parcelas para a avaliação do banco de plântulas, sendo que em cada estação do ano a coleta do solo em todos os locais foi realizada de um lado diferente da parcela.

As amostras de solo de foram coletadas em uma área com 0,16 m² (40 x 40 cm), perfazendo 3,2 m² por local, com profundidade de 1,5 cm. As amostras de solo foram armazenadas em sacos plásticos, e quando a serapilheira estava presente, esta foi coletada e armazenada em uma amostra separada. As coletas foram levadas para a casa de vegetação. Cada amostra de solo (repetição) foi colocada em uma bandeja plástica (30,3 x 22,1 x 7,5 cm), e foram separadas em cinco condições: (i) solo do interior da moita + serapilheira; (ii) solo da área aberta da restinga; (iii) solo da área de borda + serapilheira (quando estava presente), (iv) solo da área com domínio de *C. equisetifolia*; (v) serapilheira de *C. equisetifolia*. A serapilheira de *C. equisetifolia* foi separada do solo por apresentar uma grande espessura, e para poder diferenciar as espécies que estavam presentes no solo e na serapilheira.

A avaliação do banco de sementes foi realizada semanalmente na casa de vegetação pelo método de emergência de plântulas, conforme Christoffoleti & Caetano (1998), durante o período de seis meses. As bandejas foram cobertas com uma estrutura de madeira (1 x 1 x 1 m), forradas com tecido branco transparente, para evitar a contaminação por material externo. O solo foi revolvido a cada dois meses para estimular a germinação das sementes. As plântulas foram quantificadas e identificadas a partir do mostruário do Laboratório de Sementes para espécies da restinga e com a ajuda de especialistas.

2.4. Banco de plântulas

Em cada local foram instaladas 20 parcelas permanentes de 1 m² (100 x 100 cm), perfazendo 20 m² em cada local. As moitas em que foi avaliado o banco de plântulas foram as mesmas em que foi coletado o solo para a avaliação do banco de sementes (n=20). As parcelas instaladas na área aberta tinham uma distância de 1 m da borda da moita em que foram instaladas as parcelas. Na área da borda e na área com domínio de *C. equisetifolia* as parcelas foram instaladas no mesmo transecto dos coletores de sementes, a uma distância de cerca de 10 metros destes, com uma distância entre as parcelas aproximada de 20 metros.

Em março de 2013 foram marcadas e quantificadas todas as plântulas presentes nas parcelas. A cada três meses foi realizado um monitoramento para avaliar as plântulas que foram recrutadas. O monitoramento foi realizado durante o período de um ano, no final de cada estação (junho/2013 – outono; setembro/2013 - inverno;

dezembro/2013 – primavera e março/2014 - verão). Quando não foi possível identificar as espécies no campo, foram tiradas fotos para posterior identificação por especialistas.

Para avaliar o efeito da serapilheira na emergência do banco de plântulas na área com domínio de *C. equisetifolia*, em março de 2014 foi retirada a serapilheira em uma parcela (1 x 1m) adjacente a cada uma das 20 parcelas do monitoramento do banco de plântulas. A avaliação da emergência das plântulas nas parcelas com domínio e com a retirada da serapilheira foi mensal (abril/2014 a março/2015) ao longo de um ano.

2.5. Produção e decomposição da serapilheira

A produção de serapilheira foi avaliada nos quatro locais a partir da coleta da serapilheira nos coletores utilizados para a coleta de sementes (n=20 em cada local). A coleta foi realizada mensalmente, durante um ano, entre abril de 2013 e março de 2014. Após a coleta, a serapilheira foi armazenada em sacos plásticos e levadas para o laboratório. Elas foram secas durante 10 dias (20°C; 20%UR_{ar}) e separadas em sete categorias: (i) folhas de *C. equisetifolia*, (ii) folhas de outras espécies, (iii) ramos; (iv) cones (brácteas modificadas) de *C. equisetifolia*, (v) flores, (vi) sementes e (vii) cascas de árvore. A espessura da serapilheira depositada no solo foi avaliada nos pontos em que foram retiradas as amostras de solo e de serapilheira para a avaliação do banco de sementes em cada estação do ano (n=20 em cada local).

Para a avaliação da taxa de decomposição da serapilheira de *C. equisetifolia*, em novembro de 2014 foram instalados 20 coletores na área com domínio da espécie. Foram colocados dois coletores por indivíduo jovem e dois coletores por indivíduo adulto, sendo cinco indivíduos em cada estágio de maturação. Os indivíduos de *C. equisetifolia* estavam a uma distância mínima de 5 metros entre eles. Após um mês, foi realizada a coleta da serapilheira. Esta foi colocada em sacos plásticos e separada por indivíduos jovens (DAP < 5 cm) e adultos (DAP > 5 cm). No laboratório, foram armazenadas em sacos de papéis e colocadas para secar em dessecador por um período de 15 dias, quando o peso permaneceu constante. A serapilheira de indivíduos jovens e adultos foi pesada e colocadas separadamente em bolsas de tecido (4g de serapilheira/bolsa). Foram confeccionadas 30 bolsas (15 de jovens e 15 de adultos). Em dezembro de 2014 estas bolsas foram colocadas no solo na área com domínio de *C. equisetifolia*. Estas bolsas foram retiradas após 4, 8 e 12 meses (cinco repetições) e levadas para o laboratório. A serapilheira de cada bolsa foi seca (103°C/24h) e pesada.

2.6. Análise de dados

Os dados foram avaliados em relação a (i) invasividade de *C. equisetifolia* e (ii) a regeneração natural das outras espécies. Para analisar a invasividade de *C. equisetifolia* foi avaliada a abundância de sementes dessa espécie na chuva de sementes entre os quatro locais e entre as quatro estações através da análise de modelos lineares generalizados mistos (GLMM). Também foi avaliado o número de sementes dispersas em função da distância da área com domínio de *C. equisetifolia* na restinga. Devido ao pequeno número de plântulas no banco de sementes e do valor nulo de indivíduos no banco de plântulas dessa espécie, não foi realizada análise para avaliar a abundância de plântulas em relação aos locais e estação.

Para avaliar o número de espécies em comum (exceto de *C. equisetifolia*) no interior das moitas de vegetação, na área aberta e no local com domínio de *C. equisetifolia* foi construído o diagrama de Venn com o número de espécies encontradas na chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas. Para avaliar a riqueza e a abundância na chuva de sementes, no banco de sementes e no banco de plântulas entre os quatro locais e entre as quatro estações foi realizada análise de GLMM. Na área com domínio de *C. equisetifolia* foi construído o diagrama de Venn para avaliar as espécies em comum entre a chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas.

Nas análises de GLMM foi utilizado como variável resposta o valor de riqueza ou abundância, sendo utilizada a distribuição de Poisson para a avaliação da riqueza e a distribuição negativa binomial para a avaliação da abundância, com a função “log”. O efeito fixo foi o local e a estação. Como cada repetição é independente, esta foi considerada no modelo como fator randômico. A escolha do melhor modelo foi baseada no critério de informação de Akaike, usando a máxima probabilidade. A análise a posteriori foi realizada com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

O valor máximo do número de indivíduos por espécie no banco de plântulas nas parcelas com e sem a serapilheira na área com domínio de *C. equisetifolia* monitoradas durante um ano foi comparada utilizando teste-t ($p < 0,05$). Para avaliar as diferenças na espessura da serapilheira depositada no solo e a média total de serapilheira produzida por ano entre os quatro locais foi realizada ANOVA, seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$). Na avaliação da produção de serapilheira por estação em cada local também foi utilizada ANOVA, seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$). A quantidade de serapilheira decomposta de *C. equisetifolia* ao longo do tempo foi calculada a partir da diferença do

peso da serapilheira no início do experimento em relação ao peso seco da serapilheira retirada da bolsa após 4, 8 ou 12 meses. Para avaliar se houve diferença na decomposição após um ano entre a serapilheira de indivíduos jovens e adultos foi realizado teste-t ($p < 0,05$). A partir de uma análise de regressão foi calculado o tempo de decomposição da serapilheira de *C. equisetifolia* no solo.

As análises estatísticas foram realizadas usando o programa R versão 3.0.3 (R Development Core Team 2014), utilizando os pacotes “lme4”, “MASS” e “RVAideMemoire” para o GLMM e “stats” para ANOVA, test-t e análise de regressão.

3. Resultados

3.1. Chuva de sementes

Durante um ano de avaliação da dispersão de propágulos foram encontradas nos coletores dos quatro locais 7.939 sementes (198,5 sementes/m²), pertencentes a 75 espécies e 30 famílias (Tabela S2). Em relação a *C. equisetifolia*, foram coletadas 1.555 sementes, o que representou 19,6% do total. Na área com domínio dessa planta exótica foi encontrada a maior abundância de sementes dessa espécie (Tabela 1), sendo responsável por 62% das sementes coletadas nesse local (Tabela 2). A área da borda foi o segundo local com maior dispersão de sementes dessa planta exótica (Tabela 1), sendo que 17,2% das sementes coletadas nesse local foram de *C. equisetifolia* (Tabela 2). Já a menor abundância ocorreu no interior das moitas de vegetação e na área aberta da restinga (Tabelas 1 e 2). O maior número de sementes dispersas de *C. equisetifolia* foi durante o verão e a menor abundância foi na primavera (Tabelas 1 e 2). Houve uma redução do número de sementes dispersas em função da distância da área com domínio dessa planta exótica na restinga (Figura 1).

Em relação a dispersão das sementes das outras espécies, a riqueza e abundância foram maiores no interior das moitas de vegetação, seguido da borda e do local com domínio de *C. equisetifolia*, e o local com os menores valores foi a área aberta (Tabelas 3, 4 e 5). No local com domínio da planta exótica, as espécies *Cecropia pachystachya* Trécul, Cactaceae sp. (cf. *Pilococereus arrabidae*), *Dalechampia micromeria* Baill. e *Varronia curassavica* Jacq. foram as mais abundantes. Na chuva de sementes foram encontradas oito espécies em comum entre a moita, área aberta e o local com domínio

de *C. equisetifolia*. O maior número de espécies exclusivas foi observado no interior da moita. Já na área com domínio de *C. equisetifolia* foram encontradas sete espécies exclusivas (Figura 2a). Em relação a estação do ano, a riqueza e a abundância foram maiores no verão quando comparado ao outono e ao inverno, mas não diferiu da primavera (Tabelas 3, 4 e 5).

3.2. Banco de sementes

No banco de sementes durante um ano ocorreu o recrutamento de 1.315 plântulas (102,7 plântulas/m²), pertencentes a 84 espécies e 40 famílias (Tabela S2). Em relação ao recrutamento de plântulas de *C. equisetifolia*, este ocorreu apenas no solo coletado na área de borda (n=4) e na serapilheira dessa espécie (n=6), o que representou 0,8% do total de plântulas recrutadas. Não houve germinação dessa planta no solo coletado na área com domínio dessa espécie, no solo da moita e no solo da área aberta (Tabela 2).

Em relação ao recrutamento das plântulas das outras espécies, a riqueza e a abundância foram maiores na área da borda em relação a área aberta e o local com domínio de *C. equisetifolia* (solo e serapilheira), mas não diferiram da moita. Não houve diferença entre a riqueza e a abundância na moita e na área aberta, já a riqueza nesses dois ambientes foi maior que na área com domínio de *C. equisetifolia*, mas a abundância desse local não diferiu da área aberta, mas foi menor em relação a moita. Os menores valores de riqueza e abundância foram encontrados na serapilheira (Tabelas 3, 4 e 5). No solo coletado na área com domínio de *C. equisetifolia* ocorreu a emergência de 21 espécies, e na serapilheira houve o recrutamento de cinco espécies (seis com *C. equisetifolia*), sendo que destas, duas (três com *C. equisetifolia*) foram recrutadas apenas na serapilheira (Tabela 4 e S2). Apenas duas espécies foram comuns entre o banco de sementes do interior das moitas, área aberta e local com domínio de *C. equisetifolia* (*Melinis repens* (Willd.) Zizka e *Solanum torvum* Sw.). O maior número de espécies exclusivas no banco de sementes também foi observado no interior da moita. Na área com domínio de *C. equisetifolia* foram encontradas doze espécies exclusivas (Figura 2b). Em relação a estação do ano, não houve diferença na riqueza e na abundância no banco de sementes (Tabela 3).

3.3. Banco de plântulas

No banco de plântulas foram recrutados durante um ano 452 indivíduos (5,65 plântulas/m²), pertencentes a 48 espécies e 22 famílias (Tabela S2). Não houve recrutamento de plântulas de *C. equisetifolia* nos quatro locais (Tabela 2). A maior riqueza de espécies foi encontrada na área aberta em comparação a moita e a borda. Já em relação a abundância não houve diferença entre esses três locais. Os menores valores de riqueza e abundância foram encontrados na área com domínio de *C. equisetifolia* (Tabelas 3, 4 e 5). Não houve espécies em comum no banco de plântulas na moita, área aberta e na área com domínio de *C. equisetifolia*. Somente uma espécie foi comum entre a área com *C. equisetifolia* e a moita (*D. micromeria*) e entre a área aberta e o local com *C. equisetifolia* (*Euphorbia thymifolia* L.) (Figura 2c). Em relação a estação do ano, a riqueza e a abundância foram menores no verão, e não houve diferença entre as outras estações (Tabela 3).

Na área com domínio de *C. equisetifolia*, o número de espécies recrutadas com e sem a retirada de serapilheira foi nove e dez, respectivamente. Duas espécies foram recrutadas apenas no banco de plântulas após a retirada da serapilheira (*Pluchea* sp. e *Solanum americanum* Mill.) (Tabelas S2 e 6). O número de plântulas recrutadas com a retirada da serapilheira foi significativamente maior ($t = -2,22$, $p = 0,03$) em relação as parcelas com serapilheira (Tabela 6).

3.4. Produção e decomposição da serapilheira

A quantidade anual de serapilheira produzida não diferiu entre a área com domínio de *C. equisetifolia* e o interior das moitas de vegetação (Figura 3a). Já a espessura da serapilheira na área com domínio de *C. equisetifolia* foi significativamente maior em relação as outras áreas (Figura 3b). Houve variação na produção de serapilheira em relação as estações na área com domínio de *C. equisetifolia* e no interior das moitas, já na borda e na área aberta não houve diferença da produção ao longo do ano. Na área com *C. equisetifolia* a produção foi maior no inverno e na primavera em relação ao verão, e na moita a produção foi maior na primavera e no verão em relação ao outono (Figura 4). Na área com domínio de *C. equisetifolia* a serapilheira é formada principalmente por folhas dessa espécie ($86,9 \pm 4,3\%$) e galhos ($9,2 \pm 3,1\%$), e apenas $0,2\%$ ($\pm 0,2\%$) de sementes. Na área da borda a serapilheira também é formada principalmente por folhas de *C. equisetifolia* ($84,1 \pm 7,5\%$), mas também apresenta

folhas de outras espécies ($9,0 \pm 4,8\%$) e galhos ($5,8 \pm 2,2\%$). A serapilheira produzida no interior das moitas é composta principalmente por folhas das espécies nativas ($86,9 \pm 5,7\%$), galhos ($7,8 \pm 2,0\%$) e sementes ($3,1 \pm 3,1\%$) (Tabela S3).

Após um ano, não houve diferença ($t = -1,76$; $p = 0,12$) nas taxas de decomposição da serapilheira de indivíduos jovens e adultos de *C. equisetifolia*, que foram de $31,8\%$ ($\pm 2,6\%$) e $32,5\%$ ($\pm 4,1\%$), respectivamente (Figura 5). A taxa de decomposição teve associação positiva com o tempo ($R=0,97$, $R^2=0,94$, $p < 0,001$), e foi estimado um período de cerca de 42,8 meses para a decomposição total da serapilheira ($y = -0,09x + 3,85$).

4. Discussão

4.1. Invasividade versus invasibilidade

A invasividade de uma espécie está relacionada as suas características biológicas e ecológicas (Rejmánek 1996; Rejmánek & Richardson 1996). *Casuarina equisetifolia* produz grande quantidade de sementes, que são dispersas pelo vento (Apfelbaum 1983), podendo alcançar distâncias maiores que 100 metros. Apesar disso, houve uma baixa pressão de propágulos dessa planta exótica na área aberta e no interior das moitas, e não houve recrutamento tanto no banco de sementes como no banco de plântulas na restinga. Isso mostra que, apesar de *C. equisetifolia* ser uma espécie invasora de áreas costeiras (Potgieter *et al.* 2014), na restinga arbustiva aberta preservada esta planta exótica apresentou potencial praticamente nulo de invasão. Já na área da borda ocorreu uma grande pressão de propágulos e o recrutamento de plântulas dessa espécie no banco de sementes. Apesar de na área da borda não ter sido observado o recrutamento de plântulas durante o período de monitoramento, foram observadas plântulas dessa planta exótica nessa área. Isso mostra que o local com domínio de *C. equisetifolia* está se expandindo em direção a restinga preservada, e que é necessário que ocorra o monitoramento do crescimento dessa população.

A restinga é um ecossistema que apresenta grande variação nas condições de luminosidade (0,2% no interior das moitas, 100% na área aberta), temperatura (19 a 44°C) e umidade (0,1 a 39,8%) (Matos 2014). *Casuarina equisetifolia* apresenta capacidade de germinar em ampla faixa de temperaturas e, apesar da luz não ser um fator limitante na germinação, as plântulas dessa espécie não toleram baixa

luminosidade. Além disso, o estresse hídrico limita tanto a germinação como a sobrevivência das plantas (artigo 1). Apesar das sementes dessa planta exótica serem dispersas para a restinga, não ocorre o seu estabelecimento, e acredita-se que isso seja devido a essa espécie não tolerar as condições abióticas desse ecossistema. Assim, é provável que filtros ambientais (Kraft *et al.* 2015) estejam limitando o recrutamento de *C. equisetifolia* na restinga. Entretanto, as sementes dessa espécie apresentam alta longevidade no solo (aproximadamente 50 meses), e caso ocorra um evento de chuva e os níveis de umidade do solo aumentarem, as sementes podem ter a capacidade de germinar (artigo 1), e ocorrer o recrutamento dessa planta exótica na restinga.

Habitats caracterizados por algum fator de estresse ambiental, como baixa umidade do solo e alto sombreamento, geralmente apresentam baixos níveis de invasão (Alpert *et al.* 200; Zefferman *et al.* 2015). Existem duas hipóteses principais para explicar esse padrão: o mecanismo de limitação de propágulos, que sugere que a invasão de locais com condições estressantes é limitado devido a baixa chegada de propágulos comparado com habitats com condições ambientais moderadas, enquanto o mecanismo de resistência a invasão sugere que habitats com condições hostis tem menor invasibilidade devido as condições abióticas estressantes e/ou devido a resistência biótica das espécies nativas (Zefferman *et al.* 2015). Em ambos os casos a limitação de propágulos e a resistência a invasão podem simultaneamente contribuir para a baixa invasibilidade de locais com condições de estresse (Zefferman *et al.* 2015). Como a dispersão de sementes na restinga preservada foi baixa, tanto o mecanismo de resistência como a limitação de propágulo estão atuando para limitar a invasão de *C. equisetifolia* na restinga. Assim, em ecossistemas que apresentem múltiplas condições de estresse, como as restingas (Reinert *et al.* 1997), os fatores abióticos estão entre os mecanismos que controlam a resistência a invasão (Zefferman *et al.* 2015). Para tentar limitar a invasão dessa planta exótica nesse ecossistema, medidas devem ser focadas em restaurar ou manter as condições de estresse do local para reduzir a invasibilidade (Zefferman *et al.* 2015).

Apesar da grande produção de sementes, o recrutamento de *C. equisetifolia* ocorreu somente no banco de sementes coletado na área da borda e na serapilheira dessa planta exótica, e não houve recrutamento no banco de sementes do solo coletado na área com domínio dessa espécie. Isso mostra que a grande maioria das sementes não conseguem ultrapassar a espessa camada de serapilheira e alcançar o solo. Como a serapilheira de *C. equisetifolia* é uma barreira tanto física (artigo 3) como química

(artigo 4) à germinação da própria espécie, isso limita o seu recrutamento principalmente em áreas onde a deposição de serapilheira seja pequena, como em locais com poucos indivíduos da espécie e na área da borda.

4.2. Regeneração natural

Em floresta de *C. equisetifolia* em uma ilha do Pacífico, Hata *et al.* (2009) mostraram que a falta de dispersão de sementes e o acúmulo de serapilheira dessa planta exótica foram os principais fatores responsáveis pela baixa regeneração nos locais com invasão dessa espécie. Já nesse estudo, foi observado que a baixo recrutamento na área com domínio de *C. equisetifolia* não foi devido à baixa chegada de propágulos das espécies nativas, mas principalmente pelo grande acúmulo de serapilheira no solo. A chuva de sementes na área com domínio dessa planta exótica ocorreu durante todo o ano, e apresentou valor de riqueza e de abundância similar ao encontrado na borda e maior em relação a área aberta. Apesar de ocorrer a dispersão de propágulos, a riqueza de espécies recrutadas no banco de plântulas foi de apenas dez, valor baixo quando comparado a restinga preservada e a borda. Na área com domínio de *C. equisetifolia* apenas duas espécies foram encontradas em comum entre a chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas, o que mostra que a grande maioria das espécies que foram dispersas durante esse um ano de monitoramento não foram recrutadas (Figura 6). Dentre as 29 espécies encontradas na chuva de sementes, apenas quatro (13,8%) foram recrutadas no banco de plântulas (*D. micromeria*, *V. curassavica*, *M. repens* e *Schinus terebinthifolius* Raddi), sendo que as duas primeiras estão entre as espécies com maior abundância de sementes dispersas nesse local. Dentre as 24 espécies encontradas no banco de sementes, apenas seis (25%) foram recrutadas no banco de plântulas durante o período de um ano. Outros estudos também mostraram o baixo estabelecimento de espécies nativas em áreas com invasão de *C. equisetifolia* (Parrotta 1999, Batish *et al.* 2001; Hata *et al.* 2009), e acredita-se que a serapilheira seja o principal fator limitante a regeneração natural. A retirada da serapilheira no campo aumentou o número de indivíduos recrutados. Contudo, não aumentou a riqueza de espécies, sendo que nas parcelas com serapilheira foram recrutadas nove espécies e com a retirada da serapilheira emergiram dez espécies. *Pluchea* sp. e *S. americanum* Mill. foram as duas espécies que foram recrutadas somente nas parcelas que foram retiradas a serapilheira no campo e também foram encontradas no banco de sementes do solo da

área com domínio de *C. equisetifolia* na casa de vegetação. Isso mostra que a serapilheira pode ser uma barreira a germinação e o estabelecimento de algumas espécies, cujo recrutamento só vai ocorrer com a sua retirada.

Apesar de na área aberta e na moita terem sido coletadas na chuva de sementes onze espécies em comum, o número de espécies compartilhadas no banco de plântulas nesses dois locais foi nulo (Figura 2). A composição distinta nas espécies entre esses dois ambientes também foi observada por Carvalho (2014). Isso mostra que poucas espécies conseguem se adaptar a dois ambientes tão distintos em relação a temperatura, luz e umidade (Matos 2014).

A riqueza de espécies dispersas foi maior na moita em relação a área aberta, já o banco de sementes não diferiu entre esses dois ambientes, mas o número de espécies foi maior no banco de plântulas da área aberta. Carvalho (2014) também observou maior riqueza de espécies na chuva de sementes no interior da moita em comparação com a área aberta. Contudo, apesar de apresentar alta dispersão de sementes, as condições de baixa luminosidade no interior das moitas de vegetação podem ter efeito negativo no recrutamento das plântulas devido a redução das taxas fotossintéticas (Callaway & Walker, 1997; Hastwell & Facelli, 2003). Em relação área com domínio de *C. equisetifolia*, 75,8% das espécies cujas sementes foram dispersas e 50% das espécies no banco de sementes foram em comum com a restinga, contudo, apenas 20% das espécies no banco de plântulas foram compartilhadas com esse ecossistema. Isso mostra que, apesar da grande maioria das sementes que foram dispersas na área com *C. equisetifolia* também terem sido dispersas na restinga, são poucas as espécies nativas que foram recrutadas.

A sazonalidade afetou tanto a dispersão de sementes como o recrutamento no banco de plântulas, mas não influenciou a emergência no banco de sementes. Carvalho (2014) também observou maior dispersão de sementes no verão em relação ao inverno. Apesar da maior dispersão de sementes, o recrutamento no banco de plântulas foi menor no verão, e isso provavelmente ocorreu devido a baixa precipitação durante esse período, que foi de apenas 0,2 mm em janeiro e 19 mm em fevereiro (INMET 2014). Houve uma redução pela metade no número de sementes dispersas (198,5 ind./m²) em relação ao número de plântulas que emergiram no banco de sementes (102,7 ind./m²). Já a proporção do número de plântulas (5,65 ind./m²) que foram recrutadas em relação ao número de sementes que foram dispersas foi de apenas 0,03. É provável que o recrutamento na restinga via sementes ocorra principalmente após eventos de chuva,

proporcionado as condições adequadas para os episódios de regeneração (Venter & Witkowski 2013).

A produção de serapilheira de *C. equisetifolia* ocorreu durante todo o ano, com pico de produção na primavera, estação que, juntamente com o verão, ocorre grande frutificação das espécies da restinga. Assim, um dos períodos com a maior produção de serapilheira coincide com a época de alta dispersão de sementes, e o efeito físico gerado pela deposição da serapilheira no solo pode diminuir a probabilidade de recrutamento das espécies que foram dispersas para o local com domínio *C. equisetifolia* (artigo 3). A serapilheira fresca dessa planta exótica também apresenta potencial alelopático, sendo o efeito químico outro fator limitante a regeneração natural (artigo 4). Aproximadamente 90% da serapilheira produzida na área com domínio dessa planta exótica foi composta de folhas, já este valor foi de cerca de 70% nas florestas dominadas por essa espécie nas ilhas do pacífico (Hata *et al.* 2010b). Dessa forma, o grande acúmulo de serapilheira nos locais com domínio dessa espécie é devido ao grande acúmulo de folhas mortas.

Como neste estudo, Hata *et al.* (2009) também mostraram que a espessura da serapilheira em áreas com invasão de *C. equisetifolia* em uma ilha do Pacífico foi maior quando comparado a vegetação nativa. Na área com domínio dessa planta exótica a espessura da serapilheira chegou a apresentar o valor de 15 cm (T.G. Zimmermann observação pessoal). Contudo, contrário a este estudo, Hata *et al.* (2010b) observaram que a produção anual de serapilheira de *C. equisetifolia* foi maior em relação aos locais com domínio das espécies nativas. Como a quantidade de serapilheira produzida no interior das moitas de vegetação não diferiu das áreas com domínio de *C. equisetifolia*, mas a espessura da serapilheira foi maior no local com essa planta exótica, o grande acúmulo de serapilheira foi provavelmente devido a sua baixa taxa de decomposição. Após o período de um ano, apenas cerca de 30% da quantidade de serapilheira de *C. equisetifolia* produzida foi decomposta, com uma previsão de decomposição total de aproximadamente 3 anos e meio. Como a serapilheira foi colocada dentro de bolsas de tecido, o que dificulta a decomposição por macroinvertebrados, esse período de decomposição pode ter sido superestimado. Pires *et al.* (2006) avaliaram que o tempo de decomposição de folhas das espécies da restinga variou entre 0,92 a 1,09 anos. Isso mostra que a taxa de decomposição da serapilheira de *C. equisetifolia* é menor em relação as espécies da restinga, o que proporciona o maior acúmulo de serapilheira nas áreas com domínio dessa planta exótica.

4.3. Conservação e implicações para o manejo

Casuarina equisetifolia apresentou potencial praticamente nulo de invasão na restinga arbustiva aberta preservada. Contudo, a restinga é um ecossistema que apresenta altos níveis de degradação (Araújo & Pereira 2002; Rocha *et al.* 2007), o que pode abrir janelas de oportunidade para a invasão dessa planta exótica principalmente em áreas abertas próximos a corpos d'água, que são as condições ambientais favoráveis ao seu estabelecimento (artigo 1). A restinga preservada apresentou resistência a invasão de *C. equisetifolia*, e acredita-se que a invasibilidade desse ecossistema seja baixa, principalmente devido as condições de estresse hídrico e baixa luminosidade encontradas nesse ambiente. Devido a essa planta exótica apresentar capacidade de rebrota (Morton 1980) e um banco de sementes com alta longevidade no solo (artigo 1), torna-se difícil a sua erradicação. Assim, a retirada dessa espécie nas áreas de restinga pode não ter sucesso. Como no local com domínio de *C. equisetifolia* ocorre a chegada de propágulos das plantas nativas, mas a serapilheira é um dos principais limitantes a regeneração natural, uma alternativa para tentar aumentar a abundância no local seria retirar ou deixar a serapilheira degradada em menor quantidade, para que esta ajude na retenção da umidade do solo. Portanto, torna-se necessário o manejo desse novo ecossistema (Hobbs *et al.* 2014), para tentar aumentar a regeneração das espécies nativas.

Papel das fontes de financiamento

Ao Jardim Botânico do Rio de Janeiro pelos recursos para realizar a pesquisa e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela bolsa de doutorado da primeira autora.

Agradecimentos

A F. Silva, D. Fernandes, B. Damaceno e M. Ribeiro pela ajuda na coleta do material no campo e L. L. Leal pela ajuda na casa de vegetação. Pela ajuda na identificação de sementes e de plântulas de A. Carvalho, dos alunos de pós graduação e de pesquisadores do Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, principalmente C. F. C. de Sá, V. S. Fonseca-Kruel e E. F. Guimarães.

Referências

- Alpert, P., Bone, E., Holzapfel, C. 2000. Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 3 (1): 52–66.
- Apfelbaum, S.I., Ludwig, J.P., Ludwig, C.E. 1983. Ecological problems associated with disruption of dune vegetation dynamics by *Casuarina equisetifolia* L. at Sand Island, Midway Atoll. *Atoll Research Bulletin* 261: 1-19.
- Araújo, D.S.D. 1997. The Cabo Frio Region. *In*: Davis, S. D., Heywood, V. H., Herrera-MacBryde, O., Villa-Lobos, J., Hamilton, A. C. (eds.). *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation: The Americas*, WWF/IUCN, Oxford. Vol. 3. Pp. 373-375.
- Araújo, D.S.D., Pereira, M.C.A. 2002. *Sandy Coastal Vegetation*. International Commission on Tropical Biology and Natural Resources. Eolss Publishers, Oxford.
- Araújo D.S.D., Sá, C.F.C, Fontella-Pereira, J., Garcia, D.S., Ferreira, M.V., Paixão, R.J, Schneider, S.M., Fonseca-Kruel, V.S. 2009. Área de proteção ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia* 60 (1): 67-96.
- Barbière, E.B. 1984. Cabo Frio e Iguaba Grande, dois microclimas distintos a um curto intervalo espacial. *In*: Lacerda, L.D., Araújo, D.D.D., Cerqueira, R. & Turcq, B. (eds.). *Restingas: origem, estrutura, processos*. CEUFF, Niterói. pp. 3-13.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K. 2001. Vegetation exclusion under *Casuarina equisetifolia* L.: does allelopathy play a role? *Community Ecology* 2: 93-100.
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J., Bertness, M.D. 2003. Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology and Evolution* 18:119–125.
- Callaway, R.M., Walker, L.R. 1997. Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* 78(7):1958–1965.
- Carvalho, A.S.R. 2014. Processos de regeneração "via semente" em uma formação arbustiva aberta de restinga da APA de Massambaba. Tese. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.
- Christoffoleti, P.J., Caetano, R.S.X. 1998. Soil seed banks. *Scientia Agricola - Special issue*, Piracicaba. Vol. 55. 7p.
- Davis, M.A., Grime, J.P., Thompson, K. 2000. Fluctuating resources in plant communities: A general theory of invasibility. *Journal of Ecology* 88: 528–534.
- Diagne, N., Diouf, D., Svistoonoff, S., Kane, A., Noba, K., Franche, C., Bogusz, D., Duponnois, R. 2013. *Casuarina* in Africa: distribution, role and importance of carbuncular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and *Frankia* on plant development. *Journal of Environmental Management* 128:204-209.
- Elfers, S.C. 1988. Element Stewardship Abstract for *Casuarina equisetifolia* – Australian Pine. The Nature Conservancy, Virginia. 15p.
- Funk, J.L., Vitousek, P.M. 2007. Resource-use efficiency and plant invasion in low-resource systems. *Nature* 446:1079–1081.
- Hastwell, G.T., Facelli, J.M. 2003. Differing effects of shade-induced facilitation on growth and survival during the establishment of a chenopod shrub. *Journal of Ecology* 91(6):941-950.
- Hata, K., Kato, H., Kachi, N. 2009. Community structure of saplings of native woody species under forests dominated by alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, in Chichijima Island. *Ogasawara Research* 34: 33–50.

- Hata, K., Kato, H., Kachi, N. 2010a. Litter of an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, inhibits seed germination and initial growth of a native tree on the Ogasawara Islands (subtropical oceanic islands). *Journal of Forest Research* 15: 384-390.
- Hata, K., Kato, H., Kachi, N. 2010b. Litterfall in forests dominated by an alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, on Chichijima Island. *Ogasawara Research* 35: 1-14.
- Hierro, J.L., Maron, J.L., Callaway, R.M. 2005. A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology* 93:5-15.
- Hobbs, R.J., Higgs, E.S., Hall, C.M., et al. 2014. Managing the whole landscape: historical, hybrid and novel ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 12:557-564.
- INMET. 2014. <http://inmet.gov.br>. Acesso em 15 Julho 2014.
- I3N Brasil. 2015. Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras, I3N Brasil, Instituto Hórus de desenvolvimento e Conservação Ambiental. <http://i3n.institutohorus.org.br>. Acesso em 20 Maio 2015.
- John, J., Sreekumar K.M., Rekha, P. 2007. Allelopathic effects of leaf leachates of multipurpose trees on vegetables. *Allelopathy Journal* 19:507–516.
- Kraft, N.J.B., Adler, P.B., Godoy, O., James, E.C., Fuller, S., Levine J.M., 2015. Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor. *Functional Ecology* 29: 592–599.
- Leger, E.A., Espeland, E.K. 2010. Coevolution between native and invasive plant competitors: implications for invasive species management. *Evolutionary Applications* 3 (2): 4366-4379.
- Levine, J.M., D'Antonio, C. 1999. Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 87: 15–26.
- Lonsdale, M. 1999. Global patterns of plant invasions and the concept of invisibility. *Ecology* 80: 1522-1536.
- Mack, R.N. 1996. Predicting the identity and fate of plant invaders: emergent and emerging approaches. *Biological Conservation* 78: 107-121.
- Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10: 689–710.
- MacDougall, A.S., Gilbert, B., Levine, J.M. 2009. Plant invasions and the niche. *Journal of Ecology* 97: 609–615.
- Matos, I.S. 2014. Crescimento, Sobrevivência e Plasticidade Fenotípica de Plântulas de Espécies de Restinga sob Gradientes Experimentais de Intensidade de Luz e de Disponibilidade Hídrica. Dissertação, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Morton, J.F. 1980. The Australian pine or beefwood (*Casuarina equisetifolia* L.) an invasive “weed” tree in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93: 87-95.
- Nakahira, Y., Ohira, T. 2005. Study on the allelopathy of *Casuarina glauca* and *C. equisetifolia*. *Kyushu Journal of Forest Research* 58: 159-161.
- Parrotta, J.A. 1993. *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. SO-ITF-SM-46. International Institute of Tropical Forestry, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Río Piedras, Puerto Rico. 11p.
- Parrotta, J.A. 1995. Influence of overstory composition on understory colonization by native species in plantations on a degraded tropical site. *Journal of Vegetation Science* 6(5): 627–636.

- Parrotta, J.A. 1999. Productivity, nutrient cycling and succession in single- and mixed-species plantations of *Casuarina equisetifolia*, *Eucalyptus robusta* and *Leucaena leucocephala* in Puerto Rico. *Forest Ecology and Management* 90:45–77.
- Pimentel, D., Lach, L., Zuniga, R., Morrison, D. 2000. Environmental and economic costs of non-indigenous species in the United States. *Bioscience* 50: 53–65.
- Pires, L.A., Brites, R.M., Martel, G., Pagano, S.N. 2006. Produção, acúmulo e decomposição da serapilheira em uma restinga da Ilha do Mel, Paranaguá, PR, Brasil. *Acta Botânica Brasílica* 20 (1): 173-184.
- Potgieter, L.J., Richardson, D.M., Wilson, J.R.U. 2014. Casuarina: Biogeography and ecology of an important tree genus in a changing world. *Biological Invasions* 16: 609-633.
- R Core Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>
- Reinert, F., Roberts, A., Wilson, J.M., Ribas, L., Cardinot, G., Griffiths, H. 1997. Gradation in nutrient composition and photosynthetic pathways across the restinga vegetation of Brazil. *Botanica Acta* 110: 135–142.
- Rejmánek, M. 1996. A theory of seed plant invasiveness: a first sketch. *Biological Conservation* 78: 171–181.
- Rejmánek, M., Richardson, D.M. 1996. What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 77(6): 1655-1661.
- Rejmánek, M., Richardson, D.M. 2013. Trees and shrubs as invasive alien species – 2013 update of the global database. *Diversity and Distributions* 19, 1093–1094.
- Rentería, J.L. 2007. Plan de manejo para la erradicación de *Casuarina equisetifolia* L. (Casuarinaceae), especie invasora de limitada distribución en la isla Santa Cruz, Galápagos. Estación Científica Charles Darwin, Galápagos, Ecuador. 6p.
- Richardson, D.M., Allsopp, N., D'antonio, C.M., Milton, S.J., Rejmanek, M. 2000a. Plant invasions – the role of mutualisms. *Biological Reviews* 75: 65–93.
- Richardson, D.M., Pyšek, P., Rejmánek, M., Barbour, G., Panetta, F.D., West, C.J. 2000b. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions* 6: 93-107.
- Richardson D.M., Pyšek, P., Carlton, J.T. 2011. A compendium of essential concepts and terminology in invasion ecology. *In*: Richardson, D.M. (ed.). Fifty years of invasion ecology. The legacy of Charles Elton. Wiley-Blackwell, Oxford, Pp.409-420.
- Richardson D.M., Rejmánek, M. 2004. Conifers as invasive aliens: a global survey and predictive framework. *Diversity and Distributions* 10: 321–331.
- Rocha, C.F.D., Van Sluys, M., Alves, M.S., Jamel, C.E. 2007. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian Journal of Biology* 67 (2): 263-273.
- 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., Weller, S.G. 2001. The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematic* 32: 305-332.
- Scarano, F.R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90: 517-524.
- Scarano, F.R. 2009. Plant communities at the periphery of the Atlantic rain forest: Rare-species bias and its risks for conservation. *Biological Conservation* 42 (6): 1201–1208.

- Venter, S.M., Witkowski, E.T.F. 2013. Where are the young baobabs? Factors affecting regeneration of *Adansonia digitata* L. in a communally managed region of southern Africa. *Journal of Arid Environments* 92: 1-13.
- Wheeler, G.S., Taylor, G.S., Gaskin, J.F., Purcell, M.F. 2011. Ecology and management of sheoak (*Casuarina* spp.), an invader of coastal Florida, U.S.A. *Journal of Coastal Research* 27 (3): 485-492.
- Whistler, W.A., C.R. Elevitch. 2006. *Casuarina equisetifolia* (reach she-oak) and *C. cunninghamiana* (river she-oak). In: Elevitch, C.R. (ed.). Species profiles for Pacific Island agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii. 16p.
- Zefferman, E., Stevens, J.T., Charles, G.K., Dunbar-Irwin, M., Emam, T., Fick, S., Morales, S.V., Wolf, K.M., Young, D.J.N., Young, T.P. 2015. Plant communities in harsh sites are less invaded: a summary of observations and proposed explanations. *AoB PLANTS* 7:plv056.
- Zenni, R.D., Ziller, S.R. 2011. An overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 34(3):431-446.
- Zhong, C., Gong, M., Chen, Y., Wang, F. 1995. Inoculation of *Casuarina* with mycorrhizal fungi and *Frankia*. In: Brundrett M, Dell B, Malajczuk N, Gong M (eds) *Mycorrhizas for Plantation Forests in Asia*. CSIRO, Canberra, pp 122–126.

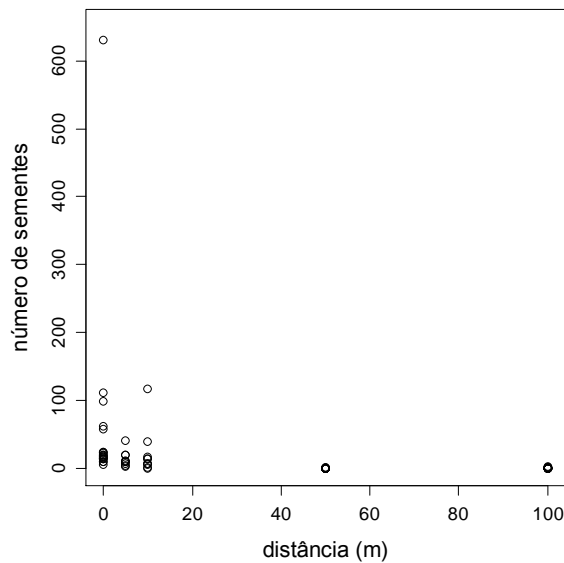


Fig. 1. Número de sementes ($0,5m^2$) dispersas de *Casuarina equisetifolia* L. (80 coletores de sementes) durante um ano em função da distância da área com domínio dessa espécie na restinga localizada no Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

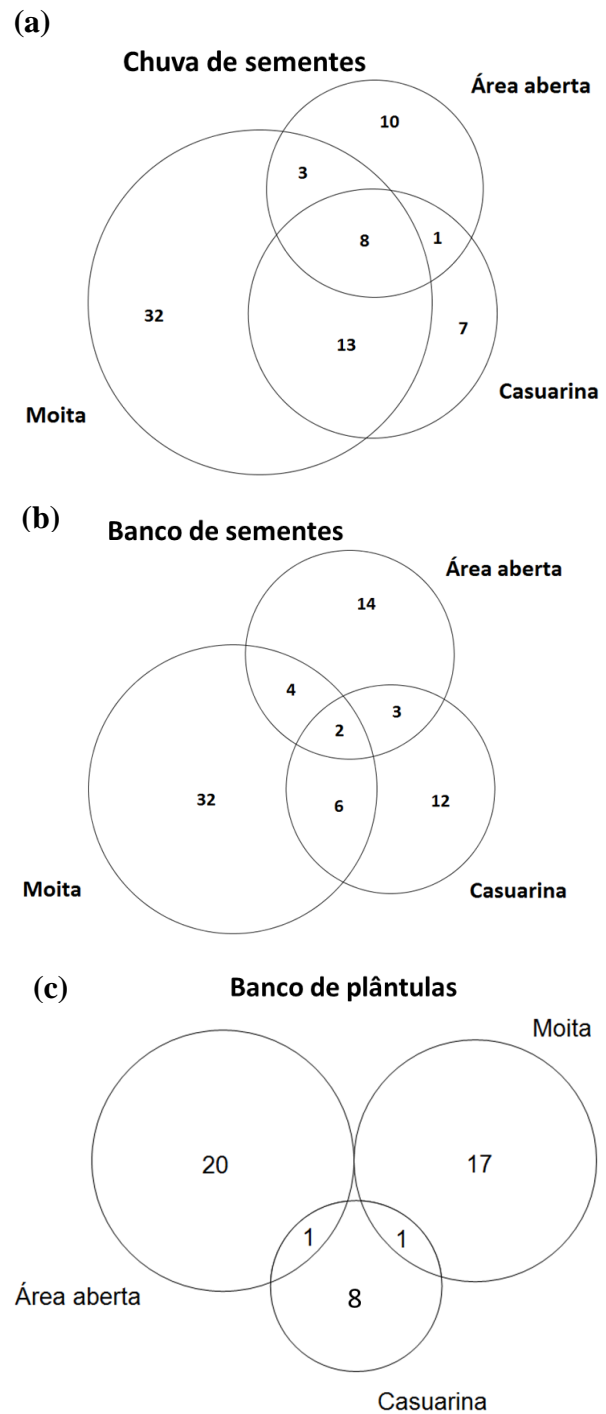


Fig. 2. Diagrama de Venn para o número de espécies (exceto *Casuarina equisetifolia* L.) encontradas na chuva de sementes (a), banco de sementes (b) e banco de plântulas (c) na área com domínio de *Casuarina equisetifolia* L., no interior das moitas de vegetação e na área aberta durante um ano na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

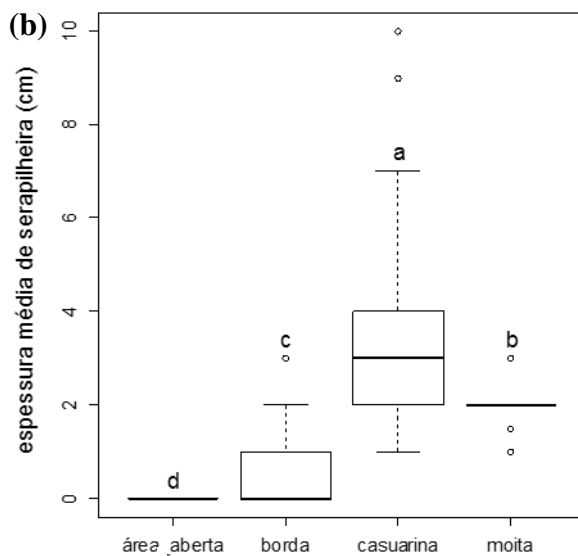
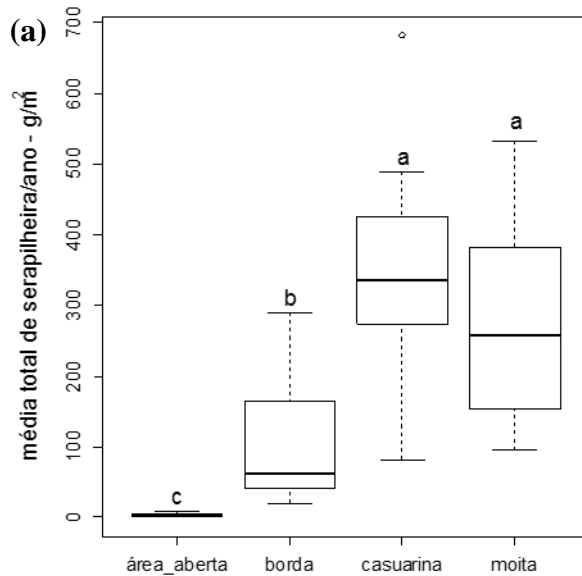


Fig. 3: Média total (\pm desvio padrão) de serapilheira produzida por ano (g/m^2) (a) e espessura (\pm desvio padrão) de serapilheira depositada sobre o solo (cm) (b) no interior das moitas de vegetação, na área aberta, na transição entre a área com invasão e a restinga (borda) e no local com domínio de *Casuarina equisetifolia* L., na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ). Letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

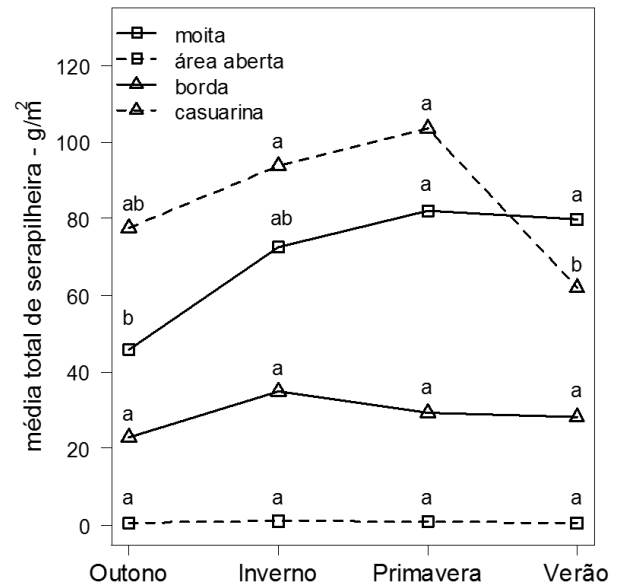


Fig. 4: Média total de serapilheira produzida por estação do ano no interior das moitas de vegetação, na área aberta, na transição entre a área com invasão e a restinga (borda) e no local com domínio de *Casuarina equisetifolia* L., na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ). Letras distintas em cada linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

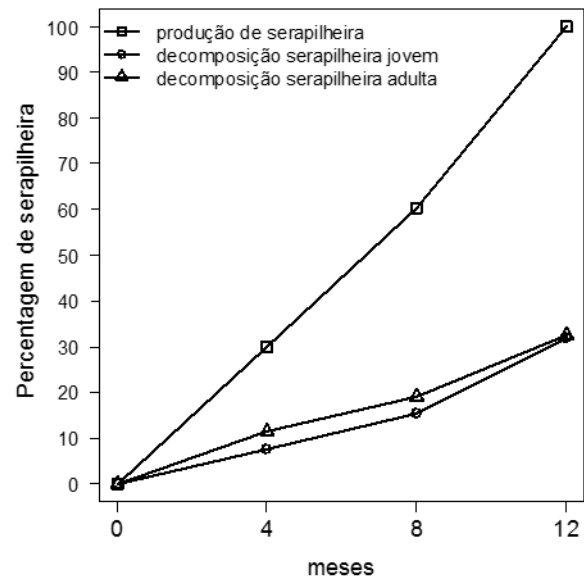


Fig. 5: Produção e decomposição de serapilheira (indivíduos jovens e adultos) de *Casuarina equisetifolia* L. durante um ano em área com domínio da espécie na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

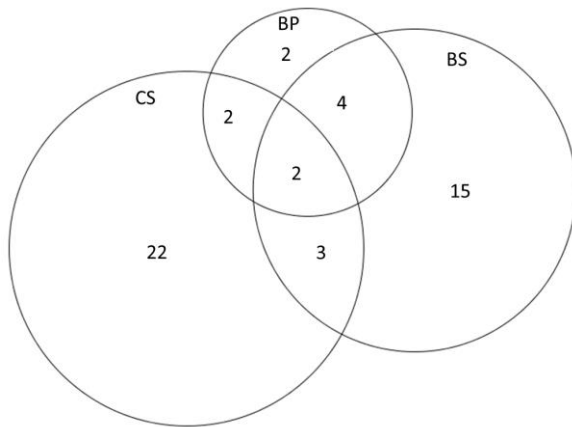


Fig. 6. Diagrama de Venn para o número de espécies encontradas na chuva de sementes (CS), banco de sementes (BS) e banco de plântulas (BP) na área com domínio de *Casuarina equisetifolia* L. durante um ano na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

Tabela 1

Estatística para Modelos lineares generalizados mistos para a abundância de sementes de *Casuarina equisetifolia* L. dispersas em relação ao local (L.) e a estação do ano (E.), na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ). Valores significativos de *p* estão em negrito.

Variável	Estim.	Erro	Valor z	<i>p</i>
Interc.	-4,801	0,726	6,608	<0,001
L.borda	4,821	0,769	6,265	<0,001
L.casuarina	5,716	0,736	7,764	<0,001
L.moita	0,778	0,824	0,944	0,345
E.outono	1,203	0,092	13,002	<0,001
E.primavera	-0,897	0,151	-5,951	<0,001
E.verão	1,704	0,088	19,318	<0,001

Tabela 2

Abundância total de sementes coletadas na chuva de sementes (CS) e de plântulas no banco de sementes (BS) e no banco de plântulas (BP) de *Casuarina equisetifolia* L. no interior das moitas de vegetação, na área aberta, na borda e na área com a domínio de *C. equisetifolia*, durante um ano na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

	Local	Out	Inv	Prim	Ver	Total
CS	moita	1	1	0	4	6
	área aberta	1	0	0	1	2
	borda	121	53	14	162	350
	casuarina	383	98	48	668	1197
BS	moita	0	0	0	0	0
	área aberta	0	0	0	0	0
	borda	1	2	0	1	4
	casuarina	0	0	0	0	0
	serapilheira	5	1	0	0	6
BP	moita	0	0	0	0	0
	área aberta	0	0	0	0	0
	borda	0	0	0	0	0
	casuarina	0	0	0	0	0

Tabela 3

Estatística para Modelos lineares generalizados mistos para a riqueza e abundância (exceto *Casuarina equisetifolia* L.) na chuva de sementes, banco de sementes e banco de plântulas, em relação ao local e estação do ano na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ). Legenda: Interc. (área aberta e inverno). Valores significativos de p estão em negrito.

Variável	Estim.	Erro	Valor z	p	Variável	Estim.	Erro	Valor z	p
Chuva de sementes									
<i>Riqueza</i>					<i>Abundância</i>				
Interc.	-0,135	0,178	-0,761	0,446	Interc.	0,223	0,356	0,626	0,532
L.borda	0,723	0,211	3,437	<0,001	L.borda	1,524	0,502	3,032	0,002
L.casuarina	0,685	0,175	3,924	<0,001	L.casuarina	1,17	0,421	2,781	0,005
L.moita	1,204	0,208	5,778	<0,001	L.moita	2,553	0,488	5,222	<0,001
E.outono	-0,006	0,114	-0,057	0,955	E.outono	0,215	0,171	1,262	0,201
E.primavera	0,038	0,111	0,339	0,735	E.primavera	0,568	0,17	3,333	<0,001
E.verão	0,281	0,106	2,634	0,008	E.verão	0,679	0,169	4,011	<0,001
Banco de sementes									
<i>Riqueza</i>					<i>Abundância</i>				
Interc.	0,405	0,125	3,253	0,001	Interc.	0,672	0,231	2,914	0,004
L.borda	0,262	0,123	2,128	0,03	L.borda	0,908	0,338	2,683	0,007
L.casuarina	-0,558	0,153	-3,639	<0,001	L.casuarina	-0,578	0,316	-1,828	0,068
L.moita	0,242	0,124	1,957	0,051	L.moita	0,425	0,243	1,754	0,079
L.serapilheira	-2,277	0,303	-7,513	<0,001	L.serapilheira	-2,611	0,488	-5,348	<0,001
E.outono	0,023	0,124	0,186	0,852	E.outono	0,009	0,171	0,056	0,955
E.primavera	-0,179	0,131	-1,368	0,171	E.primavera	-0,002	0,173	-0,014	0,988
E.verão	0,023	0,124	0,186	0,852	E.verão	0,141	0,171	0,826	0,409
Banco de plântulas									
<i>Riqueza</i>					<i>Abundância</i>				
Interc.	0,353	0,169	2,086	0,037	Interc.	0,645	0,234	2,755	0,006
L.borda	-0,588	0,168	-3,495	<0,001	L.borda	-0,325	0,321	-1,009	0,312
L.casuarina	-1,599	0,245	-6,524	<0,001	L.casuarina	-1,767	0,437	-4,049	<0,001
L.moita	-0,501	0,164	-3,061	0,002	L.moita	-0,528	0,364	-1,448	0,147
E.outono	0,068	0,165	0,412	0,68	E.outono	0,23	0,203	1,134	0,257
E.primavera	-0,073	0,171	-0,427	0,669	E.primavera	-0,201	0,211	-0,956	0,339
E.verão	-1,218	0,248	-4,904	<0,001	E.verão	-1,112	0,249	-4,462	<0,001

Tabela 4

Riqueza de espécies coletadas na chuva de sementes (CS) e de plântulas no banco de sementes (BS) e no banco de plântulasP) (exceto de *Casuarina equisetifolia* L.) no interior das moitas de vegetação, na área aberta, na borda e na área com domínio de *C. equisetifolia*, durante um ano na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

	Local	Out	Inv	Prim	Ver	Total
CS	moita	29	23	26	23	55
	área aberta	7	8	15	11	20
	borda	15	12	19	21	31
	casuarina	9	14	9	19	28
BS	moita	15	27	12	23	46
	área aberta	13	12	11	9	23
	borda	20	16	14	16	30
	casuarina	11	12	8	8	21
BP	serapilheira	2	2	2	1	5
	moita	11	5	12	5	18
	área aberta	14	14	12	2	21
	borda	9	12	7	6	16
	casuarina	8	4	2	0	10

Tabela 5

Abundância de sementes coletadas na chuva de sementes (CS) e de plântulas no banco de sementes (BS) e no banco de plântulas (BP) (exceto de *Casuarina equisetifolia* L.) no interior das moitas de vegetação, na área aberta, na borda e na área com domínio de *C. equisetifolia*, durante um ano, na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

	Local	Out	Inv	Prim	Ver	Total
CS	moita	574	744	1537	683	3538
	área aberta	57	37	77	243	414
	borda	619	120	589	363	1691
	casuarina	150	179	223	189	741
BS	moita	72	64	57	111	304
	área aberta	51	82	46	45	224
	borda	104	145	259	134	642
	casuarina	29	42	26	28	125
BP	serapilheira	3	2	4	1	10
	moita	25	19	41	19	104
	área aberta	68	43	43	6	160
	borda	62	43	21	27	153
	casuarina	20	12	3	0	35

Tabela 6

Valor máximo de indivíduos por espécie que foram recrutadas no banco de plântulas na área com domínio de *Casuarina equisetifolia* L. com a presença e com a retirada da serapilheira no solo após um ano (abril/15), na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

Família	Espécie	com serap.	sem serap.
Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	4	12
Apocynaceae	Apocynaceae sp.	4	1
Asteraceae	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson	2	1
	<i>Pluchea</i> sp.	0	3
	<i>Vernonanthura beyrichii</i> (Less.) H. Rob.	1	20
Boraginaceae	<i>Varronia curassavica</i> Jacq.	1	1
Convulvulaceae	<i>Ipomoea pes-caprae</i> (L.) R. Br.	2	0
Euphorbiaceae	<i>Dalechampia micromeria</i> Baill.	4	3
	<i>Euphorbia thymifolia</i> L.	1	0
Poaceae	Poaceae sp.3	3	6
Solanaceae	<i>Solanum americanum</i> Mill.	0	3
Violaceae	<i>Pombalia calceolaria</i> (L.) Paula-Souza	0	7
Total	13	22	57

Material Suplementar

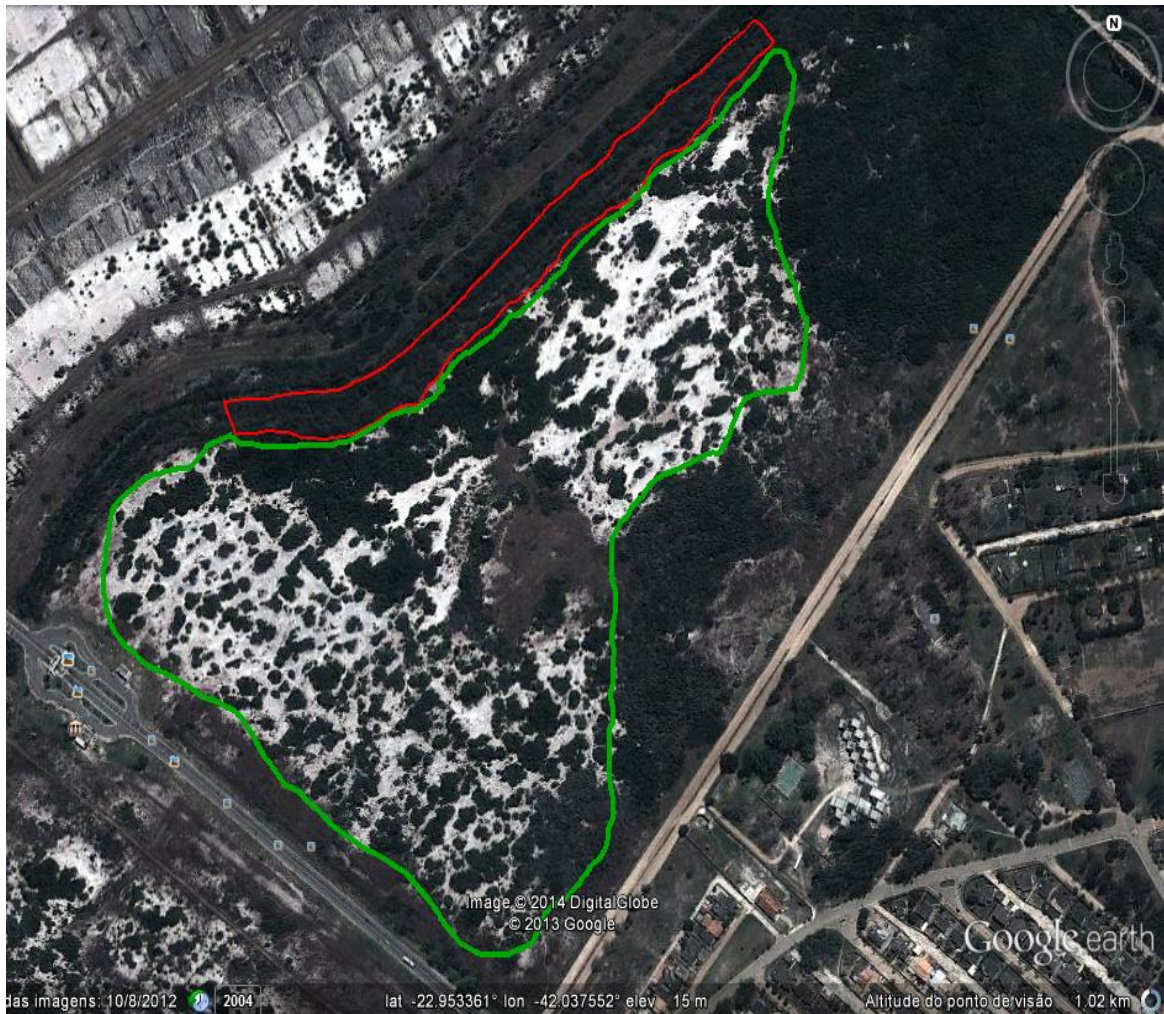


Figura S1: Mapa de localização da área de estudo com a invasão de *Casuarina equisetifolia* L. no Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ). A área marcada em vermelho (2,2 ha) apresenta invasão da espécie, e a área em verde apresenta vegetação de restinga (22,9 ha). Fonte: Google Earth.

Tabela S2

Lista de Família e espécies que foram coletadas na chuva de sementes (CS) no banco de sementes do solo (BS) e no banco de plântulas (BP) no interior das moitas de vegetação (M), na área aberta (A), na borda (B) e na área com domínio de *Casuarina equisetifolia* L. (C; S – serapilheira casuarina) na restinga da Massambaba (Arraial do Cabo, RJ).

Família	Espécie	CS				BS					BP			
		M	A	B	C	M	A	B	C	S	M	A	B	C
Acanthaceae	Acanthaceae sp.					X								
Aizoaceae	<i>Sesuvium portulacastrum</i> L.			X					X					
Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	X		X	X									X
	<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.			X	X									
Apocynaceae	Asclepiadoideae sp.	X												
	Apocynaceae sp.									X				X
	<i>Oxypetalum banksii</i> R.Br. ex Schult.					X	X							
Aquifoliaceae	<i>Ilex</i> sp.					X								
Araceae	<i>Anthurium harrisii</i> (Graham) G.Don											X		
	<i>Anthurium maricense</i> Nadruz & Mayo	X	X	X		X						X		
	<i>Anthurium</i> sp.											X	X	
Arecaceae	<i>Allagoptera arenaria</i> (Gomes) Kuntze						X							
Asteraceae	<i>Conyza sumatrensis</i> (Retz.) E.Walker							X						
	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson			X					X	X			X	X
	<i>Lepidaploa rufogrisea</i> (St. Hil.) H. Rob.	X	X	X	X									
	<i>Pluchea</i> sp.					X		X	X					
	<i>Schwenckia americana</i> Rooyen ex L.						X	X					X	
	<i>Vernonanthura beyrichii</i> (Less.) H.Rob.							X	X	X			X	X
	<i>Vernonia rufogrisea</i> A.St.-Hil.	X	X	X								X	X	
	cf. <i>Baccharis</i>								X					
	Asteraceae sp.1	X												
	Asteraceae sp.2		X											
	Asteraceae sp.3				X	X								
	Asteraceae sp.4					X								
	Asteraceae sp.5							X	X					
	Asteraceae sp.6					X								
	Asteraceae sp.7						X							
Bignoniaceae	Bignoniaceae sp.	X												
Boraginaceae	<i>Tournefortia</i> cf. <i>membranacea</i>					X								
	<i>Varronia curassavica</i> Jacq.	X		X	X	X	X							X
Bromeliceae	Bromeliaceae sp.1	X	X	X	X									
	Bromeliaceae sp.					X	X				X			
Burseraceae	<i>Protium</i> sp.	X												
	<i>Hylocereus setaceus</i> (Salm-Dick ex DC.)	X												
Cactaceae	<i>Pilosocereus</i> sp.					X	X	X						
	Cactaceae sp.	X	X	X	X									
Casuarinaceae	<i>Casuarina equisetifolia</i> L.	X	X	X	X		X		X					

Família	Espécie	CS				BS					BP				
		M	A	B	C	M	A	B	C	S	M	A	B	C	
Celastraceae	<i>Maytenus obtusifolia</i> Mart.	x			x	x						x			
Clusiaceae	<i>Clusia hilariana</i> Schltld.	x		x	x	x						x			
Commelinaceae	<i>Commelina erecta</i> L.					x									
Convolvulaceae	<i>Evolvulus genistoides</i> Ooststr.							x							
	<i>Ipomoea pes-caprae</i> (L.) R. Br.													x	
Cucurbitaceae	Cucurbitaceae sp.					x									
	<i>Bulbostylis capillaris</i> var. <i>tenuifolia</i> (L.)														
Cyperaceae	C.B.Clarke														x
	<i>Bulbostylis</i> cf. <i>amabayensis</i>							x							
	<i>Bulbostylis</i> cf. <i>subtilis</i>								x						
	<i>Cyperus hermaphroditus</i> (Jacq.) Standl.					x									
	<i>Cyperus ligularis</i> L.					x		x	x						
	<i>Fimbristylis cymosa</i> R. Br.								x	x					
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum ovalifolium</i> Peyr.	x	x		x	x						x		x	
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> sp.1	x		x	x										
	<i>Croton</i> sp.2				x										
	<i>Dalechampia micromeria</i> Baill.	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x		x	x
	<i>Euphorbia prostata</i> Aiton					x									
	<i>Euphorbia thymifolia</i> L.							x	x				x	x	x
	<i>Sebastiania glandulosa</i> (Mart.) Pax					x	x						x		
Fabaceae	<i>Chamaecrista flexuosa</i> (L.) Greene							x	x				x	x	
	<i>Chamaecrista ramosa</i> (Vogel) H.S.Irwin & Barneby			x	x				x					x	
	<i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willd					x									
	<i>Senna</i> sp.1			x											
	<i>Senna</i> sp.2			x											
	<i>Sophora</i> sp.1	x													
	<i>Sophora</i> sp.2								x						
	<i>Stylosanthes guianensis</i> (Aubl.) Sw.							x	x				x	x	
	<i>Stylosanthes viscosa</i> (L.) Sw.												x	x	
	<i>Zornia curvata</i> Mohlenbr.								x					x	
	Papilonoideae sp.	x													
	<i>Neomarica northiana</i> (Schneev.) Sprague									x				x	
Iridaceae	Sprague														
Lauraceae	<i>Ocotea</i> sp.1	x													
	<i>Ocotea</i> sp.2									x					
Lythraceae	<i>Cuphea flava</i> Spreng.	x	x	x					x					x	
Malpighiaceae	<i>Byrsonima sericeae</i> D.C.				x				x	x	x			x	
	<i>Peixotoa hispidula</i> A. Juss.	x													
	Malpighiaceae sp.1													x	
Malvaceae	<i>Sida cordifolia</i> L.													x	
Marcgraviaceae	<i>Schwartzia brasiliensis</i> Choisy	x													
	<i>Tibouchina gaudichaudiana</i> (DC.) Baill.														
Melastomataceae	Baill.									x					

Família	Espécie	CS				BS					BP			
		M	A	B	C	M	A	B	C	S	M	A	B	C
	<i>Tibouchina</i> sp.							X						
Molluginaceae	<i>Mollugo verticillata</i> L.						X	X	X			X		
Moraceae	<i>Ficus</i> aff <i>hirsuta</i>									X				
Myrtaceae	<i>Eugenia astringens</i> Cambess.	X			X									
	<i>Eugenia puniceifolia</i> (H.B.K.) DC.	X												
	<i>Eugenia</i> sp.	X												
	<i>Myrcia</i> cf. <i>lundiana</i>	X												
	<i>Myrciaria tenella</i> (DC.) Berg.					X								
	<i>Myrrhinium atropurpureum</i> Schott.	X			X									
	<i>Neomitranthes obscura</i> (DC.) N.J.E.Silveira	X				X								
	Myrtaceae sp.1							X						
	Nyctaginaceae	<i>Guapira</i> aff. <i>obtusata</i>											X	
<i>Guapira obtusata</i> (Jacq.) Little						X								
Ochnaceae	<i>Ouratea cuspidata</i> (A.St.-Hil.) Engl.	X				X						X		
Orquidaceae	Orquidaceae sp.	X												
Passifloraceae	<i>Passiflora</i> sp.					X								
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus</i> sp.					X								
Poaceae	<i>Axonopus polydactylus</i> (Steud.) Dedecca													
	<i>Eragrostis ciliaris</i> (L.) R.Br.						X					X		
	<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs								X	X				
	<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka.	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X
	<i>Paspalum arenarium</i> Schrad.		X	X			X	X				X	X	
	Poaceae sp.1		X											
	Poaceae sp.2											X		
	Poaceae sp.3													X
	Poaceae sp.			X								X	X	
	Polygonaceae	<i>Coccoloba declinata</i> (Vell.) Mart.	X											
Portulacaceae	<i>Portulaca mucronata</i> Link						X	X	X					
Rubiaceae	<i>Chiococca alba</i> (L.) Hitchc.					X								
	<i>Coccocypselum</i> sp.					X								
	<i>Diodella apiculata</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Delprete						X	X				X	X	
	<i>Diodella radula</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Delprete					X	X	X				X		
	<i>Mitracarpus lhotzkyanus</i> Cham.											X		
	<i>Mitracarpus salzmannianus</i> DC						X	X	X			X	X	
Sapindaceae	<i>Allophylus</i> sp.	X				X								
	<i>Cupania emarginata</i> Cambess.	X		X	X									
	<i>Paullinia weinmanniifolia</i> Mart.	X			X	X						X		
Sapotaceae	<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk.													
Smilacaceae	<i>Smilax rufescens</i> Griseb.	X			X	X								
Solanaceae	<i>Cestrum axillare</i> Vell.					X								
	<i>Solanum americanum</i> Mill.			X	X	X		X	X					

Família	Espécie	CS				BS					BP			
		M	A	B	C	M	A	B	C	S	M	A	B	C
	<i>Solanum cordifolium</i> Dunal	x	x	x	x	x								
	<i>Solanum sycocarpum</i> Mart. & Sendtn.			x										
	<i>Solanum torvum</i> Sw.	x		x	x	x	x		x					
Urticaceae	<i>Cecropia pachystachya</i> Trécul		x	x	x	x		x						
Verbenaceae	<i>Stachytarpheta restingensis</i> Moldenke						x						x	
	Verbenaceae sp.1												x	
	Verbenaceae sp.2					x								
Violaceae	<i>Pombalia calceolaria</i> (L.) Paula-Souza										x			x
Xyridaceae	<i>Xyris</i> sp.	x		x	x									
	indet.1	x	x	x										
	indet.2	x												
	indet.3	x												
	indet.4	x		x										
	indet.5	x												
	indet.6	x		x										
	indet.7	x		x	x									
	indet.8		x	x										
	indet.9	x												
	indet.10	x												
	indet.11	x	x	x	x									
	indet.12	x												
	indet.13	x												
	indet.14	x												
	indet.15	x												
	indet.16				x									
	indet.17				x									
	indet.18	x												
	indet.19												x	
	indet.20												x	
	indet.21												x	
	indet.22												x	
	indet.23													x
Total	150	56	22	32	29	46	23	31	21	6	18	21	16	10

Tabela S3: Quantidade média de serapilheira (g/m²) produzida por mês ao longo de um ano (abril/2013 a março/2014) no interior das moitas de vegetação, na área aberta, na borda e na área com domínio de *Casuarina equisetifolia* L na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol. A serapilheira foi dividida em: folhas de *C. equisetifolia* (F. *C.e.*), folhas de outras espécies (F. outras sp.), ramos, cones de *C. equisetifolia*, flores, sementes e cascas de árvore.

material vegetal	moita		área aberta		borda		casuarina	
	qtde. (g)	%	qtde. (g)	%	qtde. (g)	%	qtde. (g)	%
F. <i>C.e.</i>	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,0	7,3 e ⁻⁵ ± 1,7 e ⁻⁴	0,03 ± 0,06	7,23 ± 2,43	84,1 ± 7,5	24,70 ± 6,83	86,9 ± 4,3
F. outras sp.	20,89 ± 6,32	86,9 ± 5,7	0,22 ± 0,12	86,1 ± 9,8	0,71 ± 0,31	9,0 ± 4,8	0,59 ± 0,32	2,1 ± 1,0
Ramos	1,86 ± 0,76	7,8 ± 2,1	0,02 ± 0,01	9,2 ± 7,5	0,46 ± 0,14	5,8 ± 2,2	2,45 ± 0,77	9,2 ± 3,1
Cones <i>C.e.</i>	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,0	0,03 ± 0,04	0,3 ± 0,4	0,31 ± 0,29	1,5 ± 1,9
Flores	0,59 ± 0,91	1,9 ± 2,9	0,003 ± 0,004	1,5 ± 2,3	0,02 ± 0,03	0,3 ± 0,6	9,2e ⁻⁴ ± 1,5e ⁻³	0,004 ± 0,008
Sementes	0,85 ± 0,92	3,1 ± 3,1	0,003 ± 0,004	1,4 ± 1,7	0,02 ± 0,02	0,3 ± 0,4	0,05 ± 0,04	0,2 ± 0,2
Cascas	0,02 ± 0,02	0,1 ± 0,1	0,005 ± 0,004	1,8 ± 1,5	9,6e ⁻⁴ ± 2,7e ⁻³	0,1 ± 0,1	0,029 ± 0,031	0,09 ± 0,08
Total	24,22 ± 7,69		0,25 ± 0,13		8,46 ± 2,53		28,13 ± 6,87	

ARTIGO 3: Emergência e crescimento de plântulas de espécies lenhosas da restinga sob condições experimentais de invasão de planta exótica arbórea: efeitos do solo e da serapilheira*

T. G. Zimmermann, A. C. S. Andrade

T. G. Zimmermann, A. C. S. Andrade

Laboratório de Sementes, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rua Pacheco Leão, 915, Jardim Botânico, 22460-030, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

email: thalitagabriella@gmail.com

*Periódico a ser submetido este artigo: *Biological Invasions*

Resumo Áreas com invasão de espécies exóticas geralmente apresentam menor riqueza de plantas nativas. O objetivo desse estudo foi avaliar se o solo e/ou acúmulo de serapilheira (efeito físico e/ou químico) em área de restinga com domínio da espécie arbórea *Casuarina equisetifolia* limitam a regeneração natural. Em experimento em casa de vegetação foram testadas oito espécies lenhosas com diferente massa de semente e morfologia funcional de plântula. A produção de biomassa das plântulas foi maior no solo da moita da restinga e não houve diferença no crescimento entre o solo da área com *C. equisetifolia* esterilizado e não esterilizado. A serapilheira inibiu a emergência e causou alterações no crescimento das plântulas em maior intensidade nas espécies com sementes pequenas e com cotilédones fotossintetizante em relação as espécies com sementes grandes e cotilédones de reserva. A emergência das plântulas sob as cerdas plásticas não diferiu em relação a serapilheira. Em locais com grande acúmulo de serapilheira, o solo parece não ser o principal determinante da composição da vegetação, mas sim a espessura da serapilheira sobre o substrato. O efeito físico da serapilheira devido a barreira mecânica à protrusão da radícula e ao crescimento das plântulas foi maior que o efeito químico. Além do tamanho da semente, o tipo de morfologia da plântula determina a capacidade da espécie em ultrapassar a serapilheira. A serapilheira de *C. equisetifolia* parece ser o principal limitante a regeneração natural, determinando a composição da vegetação nas áreas com invasão dessa espécie.

Palavras-chave: *Casuarina equisetifolia*, invasão biológica, morfologia de plântula, semente, restinga.

Introdução

Espécies exóticas invasoras alteram a composição e diminuem a riqueza e a abundância das espécies das comunidades em que invadem (Falinski 1998; Hejda *et al.* 2009). No novo ecossistema, as espécies exóticas invasoras podem causar mudanças nas características do solo (de la Penã *et al.* 2010; Novoa *et al.* 2014), aumento da quantidade de serapilheira (Parrota 1999; Nilsson *et al.* 2008) e liberação de compostos alelopáticos (Hiero & Callaway 2003; Inderjit *et al.* 2008), o que pode limitar o recrutamento das plantas nativas. Identificar como as espécies exóticas afetam a estrutura da comunidade é uma tarefa importante no processo de erradicação ou controle, além da conservação dos ecossistemas naturais (Levine *et al.* 2003).

A alteração da composição de espécies em uma comunidade provocada pela invasão de plantas exóticas pode alterar os processos de ciclagem de nutrientes e a fertilidade do solo (Ehrenfeld 2003). Além disso, as espécies exóticas podem liberar substâncias aleloquímicas que afetam a composição química do solo, limitando a germinação e estabelecimento da vegetação nativa (Bais *et al.* 2003; Inderjit *et al.* 2008). Compostos secundários liberados pelas plantas podem influenciar a competição por recursos, a dinâmica de nutrientes e a ecologia microbiana (Wardle *et al.* 1998, Novoa *et al.* 2014). Assim, além das interferências diretas mediadas pela liberação de aleloquímicos, também é necessário avaliar os efeitos dos metabólitos secundários nos processos bióticos e abióticos do solo, já que os efeitos mais importantes dos compostos liberados no substrato pelas plantas nos outros membros da comunidade ocorrem através de efeitos indiretos (Inderjit & Weiner 2001).

As plantas exóticas invasoras também podem aumentar a quantidade de serapilheira depositada sobre o solo nas áreas em que foram introduzidas (Parrota 1999; Nilsson *et al.* 2008). A serapilheira é um importante determinante da dinâmica da vegetação e da estrutura da comunidade devido ao efeito na germinação das sementes e no estabelecimento das plântulas (Facelli & Pickett 1991a; Xiong & Nilsson 1999; Hovstad & Ohlson 2008). Contudo, dependendo das condições ambientais (Eckstein *et al.* 2012), do estágio do ciclo de vida (Eckstein *et al.* 2011), da quantidade e da qualidade (Donath & Eckstein 2008; Scharfy *et al.* 2011), o efeito da serapilheira pode ser de facilitação ou de inibição (Holmgren *et al.* 1997). O efeito de facilitação da serapilheira é influenciado pelas condições edáficas e climáticas (Facelli & Pickett 1991a; Holmgren *et al.* 1997; Eckstein & Donath 2005) e tende a ser mais importante

em locais com condições ambientais estressantes, pois reduz a evaporação e o estresse hídrico (Murphy *et al.* 2004). Em contraste, a serapilheira pode reduzir o estabelecimento, sendo que existe uma correlação negativa entre a quantidade de serapilheira das espécies exóticas e a diversidade de plantas nativas (Parrota 1999; Nilsson *et al.* 2008; Hata *et al.* 2009). O efeito negativo da serapilheira na germinação e no estabelecimento das plântulas pode ser físico, químico e/ou biológico (Facelli & Pickett 1991a). A serapilheira pode apresentar efeito biológico através da introdução de novos patógenos (Chambers & MacMahon 1994; Rotundo & Aguiar 2005). Também pode atuar como uma barreira mecânica (efeito físico), impedindo a penetração da raiz no solo e obstruindo o crescimento das plântulas (Facelli & Pickett 1991a; Xiong & Nilsson 1999; Rotundo & Aguiar 2005; Hovstad & Ohlson 2008; Navarro-Cano 2008). Além disso, pode modificar a quantidade e a qualidade de luz recebida por uma semente no solo, inibindo o processo de germinação (Facelli & Pickett 1991b; Eckstein & Donath 2005). A serapilheira também pode liberar compostos alelopáticos (efeito químico) (Gentle & Duggin 1997; Batish *et al.* 2001; Hiero & Callaway 2003), que podem reduzir a densidade das outras espécies, aumentando a disponibilidade de recursos disponíveis para o invasor (Callaway & Aschehout 2000). Embora a liberação de substâncias aleloquímicas possa afetar negativamente a germinação e o crescimento das plântulas (Hiero & Callaway 2003; Inderjit *et al.* 2008), estudos mostraram que o efeito físico da serapilheira predomina em relação ao químico (Facelli & Pickett 1991a; Xiong & Nilsson 1999; Rotundo & Aguiar 2005; Hovstad & Ohlson 2008). Contudo, foram poucos os estudos que compararam o efeito físico e químico da serapilheira de plantas exóticas em relação ao estabelecimento da vegetação nativa (Navarro-Cano 2008; Valera-Burgos *et al.* 2012; Loydi *et al.* 2015) e da própria espécie exótica (Qi *et al.* 2014). Assim, ainda existe uma lacuna sobre qual efeito inibitório da serapilheira ocorre em maior intensidade no processo de invasão.

Alguns estudos mostraram que o efeito inibitório da serapilheira na germinação apresenta uma tendência em ser maior em espécies com sementes menores (Rebollo *et al.* 2001; Jensen & Gutkunst 2003; Eckstein & Donath 2005; Lönnberg & Eriksson 2013), já outros não observaram uma relação entre o tamanho da semente e a resposta ao acúmulo de serapilheira na germinação (Hovstad & Ohlson 2008). Entre as principais características funcionais (i.e. qualquer característica morfológica, fisiológica ou fenológica medida ao nível do indivíduo, sem levar em consideração as características ambientais ou outro nível de organização; Violle *et al.* 2007) nas plantas

está o tamanho da semente (Moles & Westoby 2004; Lönnberg & Eriksson 2013). O tamanho da semente influencia vários aspectos no ciclo de vida, como a dispersão, exigências por hidratação durante a germinação, crescimento e sobrevivência das plântulas (Milberg & Lamont 1997; Khurana & Singh 2001). Sementes pequenas têm maior chance de penetrar no solo em relação a sementes grandes, o que aumenta as chances de formar um banco de sementes (Wunderle 1997). Contudo, sementes grandes apresentam maior quantidade de reserva, o que auxilia na sobrevivência e no crescimento das plântulas (Milberg & Lamont 1997).

O tipo de morfologia funcional da plântula também é um fator importante na emergência e crescimento (Garwood *et al.* 1996). As plântulas podem variar em relação a morfologia (plântulas que expandem as folhas cotiledonares ou cotilédones de reserva – fanerocotiledonar; plântulas que mantêm o cotilédone no interior do tegumento, mesmo após o seu estabelecimento – criptocotiledonar) e a natureza morfofuncional dos cotilédones (reserva ou fotossintetizante) (Garwood *et al.* 1996). Assim, as características presentes no início do ciclo de vida das plantas refletem as estratégias das espécies para colonizar determinado tipo de habitat (Zanne *et al.* 2005). Contudo, até o momento, não se conhece nenhum estudo que tenha relacionado a morfologia da plântula com a capacidade de ultrapassar a camada de serapilheira. Portanto, além da massa da semente, o tipo de desenvolvimento da plântula pode influenciar o potencial da espécie em ultrapassar a barreira imposta pela serapilheira.

Entre as plantas exóticas invasoras que produzem grande quantidade de serapilheira está *Casuarina equisetifolia* L. (Parrotta 1995; 1999; Hata *et al.* 2010b). Essa espécie acumula grande quantidade de serapilheira, podendo alcançar até 15 cm de espessura (T.G. Zimmermann obs. pessoal), o que pode limitar a regeneração natural nos locais com domínio dessa árvore (Parrotta 1995; 1999; Hata *et al.* 2009; 2010a). Além disso, sua serapilheira apresenta decomposição lenta e alta concentração de selênio e sais, podendo apresentar toxicidade (Parrotta 1993). Esta espécie é nativa da costa leste da Austrália e sudeste da Ásia e foi introduzida em várias regiões costeiras do mundo, principalmente para estabilizar dunas e como barreira contra o vento (Parrotta 1993; Wheeler *et al.* 2011). Como é tolerante à salinidade, às condições áridas e à baixa fertilidade do solo (Morton 1980), apresenta capacidade de invadir áreas abertas nas dunas, substituindo a vegetação nativa e ameaçando a diversidade biológica nas regiões costeiras (Wheeler *et al.* 2011). *Casuarina equisetifolia* é a espécie com maior potencial invasor do gênero (Potgieter *et al.* 2014) e é uma das principais espécies arbóreas

invasoras do mundo (Rejmánek & Richardson 2013). No Brasil, essa árvore foi plantada nas restingas do sul, sudeste e nordeste (I3N Brasil 2015) e causou diminuição na riqueza de espécies, quando comparada as áreas preservadas (artigo 2).

Como o solo e a serapilheira desempenham papel fundamental no recrutamento das plântulas (Novoa *et al.* 2012; Warren *et al.* 2013; West *et al.* 2014), é necessário avaliar o efeito desses dois fatores no estabelecimento das plantas nativas, e também de *C. equisetifolia*, nas áreas costeiras com domínio dessa espécie. Além disso, o efeito dessa planta exótica na regeneração da vegetação pode ser espécie específica (Hata *et al.* 2010a; 2012). Assim, o estudo do efeito do solo e da serapilheira na emergência e no crescimento das espécies nativas, com diferentes tamanhos de semente e tipo de morfologia de plântula, é fundamental para fornecer informações sobre quais características funcionais das sementes e das plântulas apresentam potencial para serem recrutadas nas áreas com domínio dessa espécie. Com o objetivo de avaliar o impacto de *C. equisetifolia* nos ecossistemas invadidos e no estabelecimento das plantas, foram testadas as seguintes hipóteses: (i) *C. equisetifolia* libera compostos químicos que alteram as propriedades do solo nas áreas em que invade em relação ao solo da restinga preservada; (ii) o crescimento das plântulas das espécies nativas será menor no solo da área com domínio dessa planta exótica em relação ao solo da restinga, (iii) o efeito físico da serapilheira vai ser maior que o químico, e a serapilheira vai causar alterações negativas no crescimento das plântulas; (iv) a emergência de plântulas das espécies com sementes grandes e com cotilédones de reserva será maior sob a serapilheira em relação as com sementes pequenas e com cotilédones fotossintetizantes.

Material e Métodos

Espécies de estudo

As espécies selecionadas para este estudo foram a planta exótica *C. equisetifolia* e sete espécies típicas da formação arbustiva aberta de restinga (Araújo *et al.* 2009). Essas espécies apresentam diferenças na massa das sementes e morfologia das plântulas (Tabela 1). De acordo com a massa da semente, as espécies foram divididas em 3 classes de tamanho: pequena (*C. equisetifolia* e *Schinus terebinthifolius* Raddi), média (*Clusia hilariana* Schltld., *Erythroxylum ovalifolium* Peyr. e *Maytenus obtusifolia* Mart.) e grandes (*Cupania emarginata* Cambess., *Ormosia arborea* (Vell.) Harms e

Pouteria caimito (Ruiz & Pav.) Radlk.). Em relação à natureza morfofuncional dos cotilédones da plântula, as espécies foram divididas em dois grupos: cotilédone fotossintetizante (*C. equisetifolia*, *C. hilariana*, *E. ovalifolium* e *S. terebinthifolius*) e cotilédones de reserva (*C. emarginata*, *M. obtusifolia*, *O. arborea* e *P. caimito*). Devido à menor quantidade de sementes, para a avaliação do efeito do solo não foram testadas as espécies *C. emarginata* e *P. caimito*.

Tabela 1: Espécie (*Casuarina equisetifolia* L. (*C.eq.*), *Clusia hilariana* Schltld. (*C.h.*), *Cupania emarginata* Cambess. (*C.em.*) *Erythroxylum ovalifolium* Peyr. (*E.o.*), *Maytenus obtusifolia* Mart. (*M.o.*), *Ormosia arborea* (Vell.) Harms (*O.a.*), *Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk. (*P.c.*) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (*S.t.*)), família, massa seca das sementes (média \pm desvio padrão; n=20), tamanho da semente (pequena (P), média (M) e grande (G)), morfologia da plântula (Morf.: fanerocotiledonar (F) ou criptocotiledonar (C)) e a natureza morfofuncional dos cotilédones da plântula (Cotil.: fotossintetizante (F) ou reserva (R)).

Espécie	Família	Massa seca (g)	Tamanho	Morf.	Cotil.
<i>C.eq.</i>	Casuarinaceae	0,0012 \pm 0,0005	P	F	F
<i>S.t.</i>	Anacardiaceae	0,0129 \pm 0,0012	P	F	F
<i>C.h.</i>	Clusiaceae	0,0136 \pm 0,0052*	M	F	F
<i>M.o.</i>	Celastraceae	0,0337 \pm 0,0045*	M	C	R
<i>E.o.</i>	Erythroxylaceae	0,0460 \pm 0,0042*	M	F	F
<i>C.em.</i>	Sapindaceae	0,2233 \pm 0,0270	G	C	R
<i>P.c.</i>	Sapotaceae	0,6358 \pm 0,0709	G	F	R
<i>O.a.</i>	Fabaceae	0,7657 \pm 0,0827*	G	F	R

* (dados obtidos de Matos 2014).

Coleta de sementes, solo e serapilheira

As coletas de sementes, solo e serapilheira foram realizadas na formação arbustiva aberta da restinga (22°58'S, 42°01'O), localizada no Parque Estadual da Costa do Sol, no município de Arraial do Cabo (RJ). O clima na região é classificado como semi-árido quente (Bsh) e a pluviosidade é reduzida em relação às regiões contíguas, apresentando uma média anual de 800mm, com uma estação seca no inverno e o predomínio das chuvas no verão (Barbière 1984). A temperatura média anual é de 25°C, com máxima de 36°C e mínima de 12°C (Scarano 2002). A vegetação da formação arbustiva aberta apresenta dois ambientes distintos: moitas de vegetação e área aberta. As moitas são formadas principalmente por espécies arbustivas, que podem alcançar até

cinco metros de altura. A área aberta apresenta principalmente plantas herbáceas e uma menor riqueza de espécies comparada às moitas de vegetação (Araújo *et al.* 2009).

As sementes foram coletadas de no mínimo cinco indivíduos de cada espécie. O período da coleta foi realizado de acordo com o período de frutificação de cada espécie, entre março de 2013 e setembro de 2014. Após a coleta, as sementes foram levadas para o laboratório, beneficiadas e armazenadas a temperatura de 10°C (exceto *C. equisetifolia* que foi a -18°C) até a montagem do experimento.

As amostras de solo foram coletadas na área com domínio de *C. equisetifolia*, no interior das moitas de vegetação e na área aberta da restinga preservada e contígua a área com domínio dessa planta exótica. Foram realizadas seis coletas de solo (0,5 X 0,5 m) em cada local. O solo do interior das moitas foi coletado naquelas cuja a espécie dominante era *C. hilariana*. As amostras foram retiradas da superfície do solo, com aproximadamente 10 cm de profundidade, e colocadas em sacos plásticos. Após a coleta, o solo foi levado para casa de vegetação, colocado em bandejas e seco a temperatura ambiente.

A serapilheira de *C. equisetifolia* foi coletada na área com invasão da espécie. Primeiramente, foi realizada a coleta aleatória de 50 amostras (0,04 m²) de serapilheira depositada sobre o solo. As amostras foram levadas ao laboratório, secas em condições controladas (20°C, 20% UR) durante uma semana e posteriormente pesadas. Essa coleta foi realizada para avaliar a quantidade de serapilheira depositada sobre o solo na área com domínio dessa espécie. Após, a serapilheira foi coletada aleatoriamente em dez pontos, misturada e seca.

Análise das propriedades do solo

Foram coletadas seis amostras em cada local (área com domínio de *C. equisetifolia*, interior de moita de vegetação e área aberta da restinga) para avaliação dos teores de pH, Al, Ca, Na, Mg, K, P, V (% de saturação por bases), Carbono orgânico e nitrogênio disponível.

Emergência e crescimento de plântulas

Os experimentos foram montados na casa de vegetação do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro durante os anos de 2013 e 2014, de acordo com o período de

frutificação das espécies. A metade da quantidade de solo retirada da área com domínio de *C. equisetifolia* foi esterilizado em autoclave ($1,0\text{KgF/cm}^2$ e 120°C) para retirar os metabólitos secundários (compostos químicos). As sementes foram semeadas a uma profundidade de cerca de 2 cm no solo. Para avaliar o efeito da qualidade (fertilidade e umidade) do solo no crescimento de plântulas foram testados quatro tratamentos:

- i. solo na área com domínio de *C. equisetifolia*;
- ii. solo na área com domínio de *C. equisetifolia* esterilizado;
- iii. solo na área aberta de restinga;
- iv. solo no interior das moitas de vegetação da restinga.

Para avaliar o efeito da serapilheira na emergência e no crescimento de plântulas, as amostras de serapilheira foram pesadas e divididas em duas classes de peso baseado no histograma de frequência (baixa – 1º quartil, alta – 3º quartil). A quantidade de serapilheira utilizada no experimento foi de aproximadamente 3.000 e 6.000 g/m^2 no tratamento com baixa e alta serapilheira, respectivamente. O substrato utilizado foi vermiculita expandida textura média, e este foi escolhido por ser inerte e apresentar boa capacidade de retenção de umidade. Foram testados os tratamentos:

- i. sob baixa serapilheira;
- ii. sob alta serapilheira;
- iii. sob baixa cerdas plásticas;
- iv. sob alta cerdas plásticas;
- v. sobre baixa serapilheira;
- vi. sobre alta serapilheira;
- vii. controle (sem serapilheira ou cerdas plásticas).

A semeadura das sementes foi realizada a uma profundidade de cerca de 2 cm na vermiculita (nos tratamentos sob a serapilheira ou cerdas plásticas) ou sobre a serapilheira. Os tratamentos com baixa e alta quantidade de serapilheira tiveram aproximadamente 4 cm ($70\text{g}/0,023\text{m}^2$) e 8 cm ($140\text{g}/0,023\text{m}^2$) de espessura, respectivamente. Nos tratamentos com baixa e alta cerdas plásticas foram utilizadas menor quantidade de material para atingir a espessura de 4 cm e 8 cm ($62\text{g}/0,023\text{m}^2$ e $124\text{g}/0,023\text{m}^2$, respectivamente). As cerdas plásticas tinham diâmetro e comprimento semelhante as folhas e ramos de *C. equisetifolia*, e foram utilizadas para simular o efeito físico da serapilheira. Como o plástico não libera nutrientes ou produz compostos alelopáticos (Facelli & Pickett 1991a), o efeito negativo na emergência e no crescimento das plântulas, tanto na serapilheira como nas cerdas plásticas, será atribuído ao efeito

físico. Caso ocorra efeito negativo apenas no tratamento com serapilheira, é possível que compostos alelopáticos estejam sendo liberados da serapilheira. Devido ao menor número de sementes, não foram realizados os tratamentos com cerdas plásticas com as espécies *C. emarginata*, *M. obtusifolia* e *P. caimito*.

A semeadura das sementes foi realizada em caixa de plástico (0,023 m², com 0,17 m em comprimento x 0,13 m em largura x 0,11 m em altura). Em cada caixa foram adicionados 750 ml de solo (experimento qualidade do solo) ou vermiculita (experimento serapilheira), com altura aproximada de quatro centímetros. As caixas plásticas foram cobertas com uma caixa de madeira (1 m x 1 m x 1 m), revestida com tecido branco. Cada repetição foi umedecida uma ou duas vezes por semana com 170 ml de água. O volume semanal entre 170 e 340 ml foi determinado a partir da média de precipitação no município de Arraial do Cabo, que é de 64 mm mensal e 770 mm anual (INMET 2013). Para cada tratamento de solo, serapilheira e cerdas plásticas foi montada uma caixa adicional para avaliação do teor de umidade do substrato. O teor de água foi avaliado com a coleta semanal de solo e vermiculita, com três amostragens, através do método gravimétrico (103°C/24h).

A avaliação da emergência (protrusão da parte aérea) das plântulas foi realizada semanalmente, durante 12 semanas, período em que cessou a emergência em todas as espécies. Posteriormente, foram escolhidas aleatoriamente 30 plântulas de cada tratamento para avaliação do crescimento. Nos tratamentos em que esse número foi menor, foram medidas todas as plântulas que emergiram. Foram avaliadas a percentagem final de emergência (número total de plântulas / número de sementes) e a velocidade de emergência (Labouriau & Pacheco 1978). Após 12 semanas de experimento (período em que cessou a emergência de plântulas em todas as espécies), foram medidos o comprimento da raiz, caule e diâmetro do colo e posteriormente as plântulas foram fracionadas em raiz, caule e folhas e pesada a massa seca (80°C/48h). No experimento do efeito da serapilheira foram avaliados seis atributos morfológicos: massa seca total (MST - soma da massa seca das folhas, raízes e caule), razão da massa seca das folhas (MSF - massa seca das folhas / massa seca total), razão da massa seca do caule (MSC - massa seca do caule / massa seca total), razão da massa seca das raízes (MSR - massa seca das raízes / massa total), razão caule / raiz (RCR - massa seca do caule / massa seca da raiz) e índice de robustez (IR - altura do caule / diâmetro do caule). No experimento do efeito da qualidade do solo foram avaliados três atributos morfológicos: MST, RCR e IR. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado,

com cinco repetições de 20 ou 25 sementes para cada espécie. Semanalmente as caixas plásticas foram trocadas de lugar para diminuir o efeito da posição dentro das caixas de madeira.

Análise estatística

Os resultados de percentagem e velocidade de emergência foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov (Santana & Ranal 2004). Os dados de comprimento e biomassa das plântulas e de fertilidade do solo foram avaliados pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para avaliar a homogeneidade das variâncias foi realizado o teste de Levene. Quando os dados não atenderam aos pressupostos, realizou-se a transformação arco-seno para os valores em percentagem e $\log(x+1)$ para os demais dados (Zar 1999). Posteriormente, foi realizada análise de variância (ANOVA), com comparação entre médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa R versão 3.0.3 (R Development Core Team 2014), usando o pacote 'stats'.

Resultados

Análise de solo

O pH do solo e a percentagem de saturação por bases (V) na área com domínio de *C. equisetifolia* foram significativamente maiores em relação ao solo de moita. Os teores de carbono orgânico, nitrogênio disponível, Ca, Na e K não diferiram significativamente entre os solos da área com domínio de *C. equisetifolia* e de moita, mas foram menores no solo da área aberta. As quantidades de Al e P não diferiram entre os três solos (Tabela 2).

Efeito do solo

O teor de umidade do solo de moita foi significativamente maior em relação aos outros solos. Em relação ao solo da área com domínio de *C. equisetifolia* e a área aberta, não houve diferença significativa no teor de água, exceto nos experimentos com as espécies

C. equisetifolia e *C. hilariana* (Tabela 3). A MST das plântulas foi significativamente maior no solo de moita, exceto em *O. arborea*, em que não houve diferença significativa entre os solos. O IR foi alto no solo de moita e baixo no solo da área aberta, exceto em *E. ovalifolium* e *O. arborea* em que não houve diferença significativa entre esses dois tipos de solos. No geral, não houve diferença no crescimento das plântulas no solo da área com domínio de *C. equisetifolia* esterilizado e não esterilizado (Tabela 3).

Efeito da serapilheira

Nas espécies com sementes pequenas (*C. equisetifolia* e *S. terebinthifolius*) e médias (*C. hilariana* e *E. ovalifolium*) com plântulas com cotilédones fotossintetizantes, quanto maior a quantidade de serapilheira, menor a percentagem e a velocidade de emergência. *Clusia hilariana* foi a única espécie com cotilédones fotossintetizantes em que não houve diferença na percentagem de emergência entre o controle, baixa serapilheira e baixo plástico. Nas espécies com plântulas que apresentam cotilédones de reserva com sementes médias (*M. obtusifolia*) e grandes (*C. emarginata* e *O. arborea*) não houve diferença na percentagem de emergência entre o controle e os tratamentos sob a serapilheira. *Pouteria caimito* foi a única espécie com cotilédones de reserva em que a serapilheira reduziu a percentagem de emergência em relação ao controle. Na maioria das espécies com cotilédones de reserva a serapilheira reduziu a velocidade de emergência. Em *M. obtusifolia* e *C. emarginata* a redução já ocorreu na baixa serapilheira, e em *P. caimito* a velocidade foi afetada apenas na alta serapilheira em relação ao controle. *Ormosia arborea* foi a única espécie em que velocidade de emergência sob a baixa serapilheira foi maior que o controle, mas esta foi reduzida na alta serapilheira. A emergência das plântulas sob as cerdas plásticas não foi maior quando comparada ao tratamento com a mesma proporção de serapilheira em nenhuma das espécies estudadas. Somente em *C. equisetifolia* houve emergência na semeadura sobre a serapilheira, em que emergiram quatro plântulas. O tratamento controle apresentou teores de umidade do solo estatisticamente inferiores aos demais tratamentos em todas as espécies estudadas (Tabela 4).

A MST de duas espécies com cotilédones fotossintetizantes (*C. equisetifolia* e *C. hilariana*) e de duas espécies com cotilédones de reserva (*C. emarginata* e *M. obtusifolia*) foi maior no controle em relação aos outros tratamentos. A MST não diferiu

entre o controle e a baixa serapilheira em *E. ovalifolium*, *O. arborea* e *P. caimito*. Nas duas espécies com os maiores valores de massa seca da semente houve diferente produção de biomassa nas plântulas sob alta serapilheira em relação ao controle, sendo que em *P. caimito* houve redução e em *O. arborea* houve aumento da biomassa total. *Schinus terebinthifolius* foi a única espécie em que as plântulas do tratamento controle apresentaram a menor MST, e quanto maior a quantidade de serapilheira e cerdas plásticas, maior a biomassa total. Na maioria das espécies a RMF foi maior no tratamento controle, e apenas em *P. caimito* não houve diferença na RMF entre o controle e a alta serapilheira. A RMC foi menor no tratamento controle, exceto nas duas espécies com sementes pequenas (*C. equisetifolia* e *S. terebinthifolius*). A RMR foi maior no controle ou este não diferiu da baixa serapilheira na maioria das espécies. *Ormosia arborea* e *S. terebinthifolius* foram as únicas duas espécies em que a RMR foi maior na alta serapilheira e alta cerdas plásticas em relação aos demais tratamentos. No geral, a RCR e o IR aumentaram com o acréscimo da quantidade de serapilheira e cerdas plásticas, com exceção de *O. arborea* e *S. terebinthifolius*, em que os valores de RCR foram maiores na baixa quantidade. O crescimento das plântulas sob as cerdas plásticas não foi maior quando comparada ao tratamento com a mesma proporção de serapilheira (Tabela 4).

Discussão

O solo na área com domínio de *C. equisetifolia* não é um dos fatores limitantes ao estabelecimento da vegetação, ao contrário da serapilheira, que apresentou uma tendência em diminuir a emergência com o aumento da quantidade, principalmente nas espécies com sementes pequenas e plântulas com cotilédones fotossintetizantes. Além disso, o efeito físico da serapilheira foi predominante em relação ao químico. A importância do contato da semente com o solo foi evidenciada pela emergência nula das espécies nativas sobre a serapilheira, o que ocorreu independente da massa da semente e morfologia funcional das plântulas.

Apesar da dominância de uma única espécie na comunidade poder causar alterações nas propriedades do solo (Wardle *et al.* 1998), a concentração da maioria dos nutrientes do solo não diferiu entre a área com domínio de *C. equisetifolia* e o interior das moitas, mas os valores foram menores na área aberta, provavelmente devido ao acúmulo de material vegetal nesse solo ser baixo (Araújo *et al.* 2009). Contudo, o solo

da área com domínio dessa planta exótica apresentou o maior valor de percentagem de saturação por bases, indicando maior fertilidade que os dois ambientes na restinga. *Casuarina equisetifolia* é uma espécie arbórea, com porte maior que as espécies arbustivas nativas da restinga, assim, na área com domínio dessa espécie deve ocorrer maior realocação de nutrientes, o que pode ser uma das causas da maior fertilidade do solo. O solo do interior das moitas de vegetação apresentou maior teor de acidez em relação ao solo da área com domínio da planta exótica. Essa diferença no pH do solo pode ser devido a diferente composição da serapilheira de *C. equisetifolia* e das moitas de vegetação, que tinham como espécie dominante *C. hilariana*. Já o valor do pH do solo da área com domínio dessa planta exótica da restinga ($6,7 \pm 0,6$) foi semelhante ao de uma plantação dessa espécie com 20 anos na Índia ($6,0 \pm 0,4$) (Batish *et al.* 2001).

Apesar da área com domínio de *C. equisetifolia* o solo apresentar maior fertilidade, a produção de biomassa das plântulas foi maior no solo da moita em cinco das seis espécies. Sugere-se que a maior massa seca total tenha ocorrido devido ao solo do interior das moitas apresentar maior teor de umidade, o que favoreceu a produção de biomassa. Como a avaliação foi realizada logo após 3 meses da semeadura das sementes, acredita-se que as espécies tenham utilizado, além dos nutrientes do solo, a reserva da semente para o crescimento inicial, principalmente nas espécies com sementes com massa média e grande (Khurana & Singh 2001) e, por isso, a fertilidade do solo não tenha sido um fator determinante para a produção de biomassa. As diferenças de crescimento das plântulas em relação aos quatro tipos de solos foram maiores nas espécies com sementes com massa pequena e média em relação as grandes. Em *O. arborea* (semente com massa grande) não houve diferença na produção e alocação de biomassa em relação a qualidade do solo, somente na RCR, que foi maior no solo da área com domínio de *C. equisetifolia* em relação a área aberta. Plântulas com sementes grandes absorvem os nutrientes para o seu estabelecimento e crescimento em maior quantidade dos cotilédones do que do solo (Khurana & Singh 2001), o que auxilia o crescimento, principalmente em solos com baixa concentração de nutrientes (Milberg & Lamont 1997), como as restingas (Reinert *et al.* 1997). Já plântulas com massa de semente pequena e cotilédones reduzido apresentam menor taxa de crescimento em solos com deficiência de nutrientes, devido ao crescimento inicial ser regulado principalmente pela absorção de nutrientes do solo (Khurana & Singh 2001). No geral, não houve diferença na produção de biomassa e no crescimento das plântulas entre o solo da área com domínio de *C. equisetifolia* esterilizado e não esterilizado, o que

permite sugerir que, caso o solo apresente compostos aleloquímicos, esses estão em baixa quantidade, e não limitam o estabelecimento das espécies nativas. Batish *et al.* (2001) encontraram baixa concentração de aleloquímicos e também não observaram efeito alelopático do solo da área com domínio de *C. equisetifolia* na Índia em experimentos em laboratório.

As respostas das plantas a serapilheira de *C. equisetifolia* dependeram da identidade da espécie e da quantidade de serapilheira, o que também foi observado por Hovstad & Ohlson (2008). Na maioria das espécies, quanto maior a quantidade de serapilheira, menor foi a emergência e produção de biomassa das plântulas. Hata *et al.* (2010a) também observaram que o acúmulo de serapilheira de *C. equisetifolia* causou menores taxas de germinação e crescimento das plântulas de uma espécie nativa. Os resultados confirmaram a hipótese de que sementes com maior massa apresentaram vantagem em atravessar a serapilheira (Rebollo *et al.* 2001; Jensen & Gutekunst 2003; Eckstein & Donath 2005; Lönnberg & Eriksson 2013). Ultrapassar a serapilheira é um dos desafios das plântulas e os recursos disponíveis (reservas) nas sementes grandes parece ser crucial para superar essa barreira (Lönnberg & Eriksson 2013). Contudo, a morfologia dos cotilédones parece ter sido o principal fator na capacidade das plântulas em ultrapassar a barreira mecânica imposta pela serapilheira. Independentemente da massa da semente, espécies cuja a plântula apresente morfologia fanerocotiledonar e cotilédones fotossintetizantes tiveram redução na percentagem de emergência com o aumento da quantidade de serapilheira. Nesse tipo de plântula é necessário a emissão dos cotilédones para a realização da fotossíntese e obtenção dos recursos necessários ao crescimento (Garwood *et al.* 1996). *Clusia hilariana* foi a única espécie com cotilédones fotossintetizantes em que não houve diferença na emergência com a ausência ou presença de serapilheira na baixa quantidade em relação ao controle. Acredita-se que isso ocorreu devido ao caule das suas plântulas terem a capacidade de realizar fotossíntese, o que auxiliou o seu crescimento e a ultrapassar a barreira física da serapilheira.

Na maioria das espécies com cotilédones de reserva (exceto em *P. caimito*), independentemente da massa da semente, a serapilheira não afetou a percentagem de emergência das plântulas, apesar de ocorrer redução da velocidade de emergência. *Maytenus obtusifolia* foi a única espécie com sementes de tamanho médio em que as plântulas conseguiram ultrapassar a baixa e a alta camada de serapilheira na mesma percentagem que o tratamento controle, o que somente foi registrado em espécies com

sementes de tamanho grande (*C. emarginata* e *O. arborea*). Sugere-se que isso ocorreu devido a *M. obtusifolia* apresentar morfologia da plântula criptocotiledonar e cotilédones de reserva, em que a plântula mantém o cotilédone no interior do tegumento, mesmo após o seu estabelecimento (Garwwod *et al.* 1996). Desse modo, as plântulas conseguem utilizar os nutrientes presentes em seus cotilédones de reserva para o seu crescimento até que o caule consiga ultrapassar a camada de serapilheira e emitir as folhas para realizar a fotossíntese. Em *C. emarginata* e *O. arborea*, a serapilheira de *C. equisetifolia* também não foi uma barreira a emergência das plântulas. Essas espécies apresentam sementes com grande quantidade de reserva, que estimulam a germinação e o crescimento (Milberg & Lamont 1997), o que permite que a plântula consiga ultrapassar a serapilheira. Em *O. arborea*, a baixa serapilheira estimulou a velocidade de emergência em relação ao controle, e isso pode ser devido ao aumento do teor de umidade proporcionado pela presença da serapilheira. O aumento da emergência de uma espécie nativa semeada sob a serapilheira de *C. equisetifolia* comparada as sementes semeadas sem a presença da serapilheira foi observado por Hata *et al.* (2012). Desse modo, em baixa quantidade, a serapilheira pode ter um papel de facilitação no estabelecimento das plântulas, pois esta retém o teor de umidade do solo, o que é um fator importante para o recrutamento, principalmente em locais com estresse hídrico, como a restinga (Reinert *et al.* 1997).

Apenas as sementes de *C. equisetifolia* conseguiram germinar sobre a serapilheira. Como a semente dessa espécie é pequena, é provável que esta tenha conseguido ultrapassar a camada de serapilheira e tenha alcançado o substrato vermiculita e, por isso, tenha conseguido germinar, já que a serapilheira dessa espécie retém pouca umidade, e as suas sementes não germinam em condições de estresse hídrico (artigo 1). Assim, a presença da sua própria serapilheira parece ser um dos principais limitantes ao recrutamento dessa espécie, sendo o mesmo observado em outras espécies exóticas invasoras (Warren *et al.* 2013; Qi *et al.* 2014). Em relação as espécies nativas, apesar de ocorrer dispersão na área com domínio de *C. equisetifolia* (artigo 2), essas dificilmente conseguirão germinar caso fiquem retidas na serapilheira e não consigam ultrapassar essa barreira e atingir o solo. Portanto, a serapilheira de *C. equisetifolia* pode inibir o estabelecimento das plântulas, pelo impedimento do contato da semente com o solo e da absorção de nutrientes pela radícula (Schramm & Ehrenfeld 2010).

A produção e alocação de biomassa das plântulas também foi afetada pela serapilheira. A MST das plântulas sob alta serapilheira em metade das espécies foi

menor em relação ao tratamento sob baixa serapilheira e controle. Redução na produção de biomassa de uma espécie nativa sob alta quantidade de serapilheira também foi observado por Hata *et al.* (2010a). Assim, a serapilheira atua como uma barreira física, diminuindo a biomassa das plântulas. A serapilheira também reduziu a alocação de biomassa para a raiz e causou alongamento do caule, o que aumentou a RMC, RCR e IR das plântulas da maioria das espécies em relação ao controle. Em locais como a restinga, que apresenta baixa disponibilidade hídrica, menor alocação de biomassa para a parte radicular pode afetar o estabelecimento da plântula.

Apesar das espécies que produzem grande quantidade de serapilheira com baixa taxa de decomposição geralmente conterem altos níveis de metabólitos secundários (Wardle *et al.* 1996), acredita-se que a serapilheira degradada de *C. equisetifolia* tenha liberado pequena quantidade de compostos alelopáticos, e que o efeito químico não tenha causado inibição do estabelecimento das plântulas. Evidências de liberação de substâncias alelopáticas também não foram encontradas por Hata *et al.* (2010a) em experimento em casa de vegetação. Entretanto, Batish *et al.* (2001) avaliaram em laboratório que os extratos da serapilheira de *C. equisetifolia* inibiram a germinação e o crescimento de duas plantas agrícolas, e sugerem que a liberação de compostos químicos seja o principal mecanismo responsável pela baixa riqueza de espécies nas áreas com invasão. Além de espécies agrícolas, também é importante que testes de alelopatia sejam realizados com plantas nativas. Como o efeito alelopático pode ser espécie específica (Hovstand & Ohlson 2008), estudos são necessários para avaliar o efeito da serapilheira e de outras partes de *C. equisetifolia*, como folhas e raízes, para analisar o potencial químico dessa planta exótica nas espécies nativas da restinga.

Considerações finais

Em ambientes com grande acúmulo de serapilheira, o solo parece não ser o principal determinante da estrutura da vegetação, mas sim a espessura da serapilheira, sendo que quanto maior a quantidade, maior o impacto no estabelecimento das espécies. O efeito físico predominou sobre o químico, e isso pode indicar que a decomposição da serapilheira degradada de *C. equisetifolia* libere baixa quantidade de metabólitos secundários. O efeito físico da serapilheira na emergência não depende somente da massa da semente, mas também da morfologia da plântula. Plântulas com cotilédones de reserva apresentam maior probabilidade de ultrapassar a barreira física em relação as

que apresentam cotilédones fotossintetizantes, pois estas precisam atravessar a barreira imposta pela serapilheira para poder obter os recursos necessários ao seu crescimento. Assim, espécies com sementes grande e plântulas com cotilédones de reserva tem maior probabilidade de germinar sob a serapilheira. Contudo, caso as sementes sejam dispersas e fiquem retidas sobre a serapilheira, dificilmente conseguirão germinar, já que a serapilheira de *C. equisetifolia* retém pouca umidade e é uma barreira mecânica, principalmente a protrusão da radícula. Portanto, o acúmulo de serapilheira dessa espécie exótica parece ser a principal barreira a regeneração natural, e tem papel crucial na dinâmica da vegetação nas áreas com invasão em ambientes costeiros.

Agradecimentos A Fabiano Silva pela ajuda na coleta do material no campo, Luísa Lima Leal pela ajuda na casa de vegetação e Ana Paula Cruz pela ajuda no laboratório. Ao Jardim Botânico do Rio de Janeiro pelos recursos para realizar a pesquisa e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela bolsa de doutorado da primeira autora.

Referências

- Araújo DSD, Sá CF.C; Fontella-Pereira J, Garcia DS, Ferreira MV, Paixão RJ, Schneider SM, Fonseca-Kruel VS (2009) Área de proteção ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia* 60(1):67-96
- Bais HP, Vepachedu R, Gilroy S, Callaway RM, Vivanco JM (2003) Allelopathy and Exotic Plant Invasion: From Molecules and Genes to Species Interactions. *Science* 301:1377-1380
- Barbière EB (1984) Cabo Frio e Iguaba Grande, dois microclimas distintos a um curto intervalo espacial. In: Lacerda LD, Araújo DDD, Cerqueira R, Turcq B (eds.) *Restingas: origem, estrutura, processos*. CEUFF, Niterói, pp 3-13
- Batish DR, Singh HP, Kohli RK (2001) Vegetation exclusion under *Casuarina equisetifolia* L.: does allelopathy play a role? *Community Ecol* 2:3-100.
- Callaway RM, Aschehou ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290:521–523
- Chambers JC, MacMahon JA (1994) A day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annu Rev Ecol Syst* 25:263–292
- de la Penã E, De Clerq N, Bonte D, Roiloa S, Rodríguez-Echeverría S, et al (2010) Plant-soil feedback as mechanism of invasion by *Carpobrotus edulis*. *Biol Invasions* 12:3637–3648
- Donath TW, Eckstein RL (2008) Grass and oak litter exert different effects on seedling emergence of herbaceous perennials from grasslands and woodlands. *J Ecol* 96:272–280
- Eckstein RL, Donath TW (2005) Interactions between litter and water availability affect seedling emergence in four familial pairs of floodplain species. *J Ecol* 93:807–816
- Eckstein RL, Pereira E, Milbau A et al (2011) Predicted changes in vegetation structure affect the susceptibility to invasion of bryophyte-dominated subarctic heath. *Ann Bot* 108:177–183

- Eckstein RL, Ruch D, Otte A et al (2012) Invasibility of a nutrient-poor pasture through resident and non-resident herbs is controlled by litter, gap size and propagule pressure. *PLoS One* 7:e41887
- Ehrenfeld JG (2003) Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes. *Ecosystems* 6:503–523
- Facelli JM, Pickett S (1991a) Plant litter: its effect on plant community structure. *Bot Rev* 57:1-32
- Facelli JM, Pickett S (1991b) Plant litter: light interception and effects on an old-field plant community. *Ecology* 72:1024-1031
- Falinski J (1998) Invasive alien plants and vegetation dynamics. In: Starfinger U, Edwards K, Kowarik I, Williamson M (eds) *Plant invasions: ecological mechanisms and human responses*. Backhuys, Leiden, pp 3–21
- Garwood NC (1996) Functional morphology of tropical tree seedlings. In: Swaine MD (ed.) *The ecology of tropical forest tree seedlings man and the biosphere*. Vol. 18. Parthenon Publishing Group, New York, pp 59-129
- Gentle CB, Duggin JA (1997) Allelopathy as a competitive strategy in persistent thickets of *Lantana camara* L. in three Australian forest communities. *Plant Ecol* 132: 85–95
- Hata K, Kato H, Kachi N (2009) Community structure of saplings of native woody species under forests dominated by alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, in Chichijima Island. *Ogasawara Research* 34:33–50
- Hata K, Kato H, Kachi N (2010a) Litter of an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, inhibits seed germination and initial growth of a native tree on the Ogasawara Islands (subtropical oceanic islands). *J For Res* 15:384-390
- Hata K, Kato H, Kachi N (2010b) Litterfall in forests dominated by an alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, on Chichijima Island. *Ogasawara Research* 35:1-14
- Hata K, Kato H, Kachi, N (2012) Seedlings of a native shrub can establish under forests dominated by an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, on subtropical oceanic islands. *J For Res* 17: 208–212
- Hejda M, Pysek P, Vojtěch J (2009) Impact of invasive plants on the species richness, diversity and composition of invaded communities. *J Ecol* 97: 393–403
- Hierro JL, Callaway RM (2003) Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil* 256: 29–39
- Holmgren M, Scheffer M, Huston MA (1997) The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology* 78:1966–1975
- Hovstad KA, Ohlson M (2008) Physical and chemical effects of litter on plant establishment in semi-natural grasslands. *Plant Ecol* 196:251–260
- Inderjit, Weiner J (2001) Plant allelochemical interference or soil chemical ecology? *PPEES* 4(1):3–12
- Inderjit, Seastedt TR, Callaway RM, Pollock JL, Kaur J (2008) Allelopathy and plant invasions: traditional, congeneric, and bio-geographical approaches. *Biol Invasions* 10: 875–890
- INMET (2013) <http://inmet.gov.br>. Accessed 12 January 2013
- I3N Brasil. 2015. Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras, I3N Brasil, Instituto Hórus de desenvolvimento e Conservação Ambiental. <http://i3n.institutohorus.org.br>. Accessed 20 May 2015
- Jensen K, Gutkunst K (2003) Effects of litter on establishment of grassland plant species: the role of seed size and successional status. *Basic Appl Ecol* 4:579–587

- Khurana E, Singh JS (2001) Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environ Conserv* 28(1):39–52
- Labouriau LG, Pacheco A (1978) On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. *Plant Cell Physiol* 19:507–512
- Levine JM, Vilá M, D'Antonio CM, Duker JS, Grigulis K, Lavorel S (2003) Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proc R Soc Lond Ser B* 270:775–781
- Lönnberg K, Eriksson O (2013) Rules of the seed size game: contests between large-seeded and small-seeded species. *Oikos* 122: 1080–1084
- Loydi A, Donath TW, Eckstein RL, Otte A (2015) Non-native species litter reduces germination and growth of resident forbs and grasses: allelopathic, osmotic or mechanical effects? *Biol Invasions* 17:581–595
- Milberg P, Lamont BB (1997) Seed/cotyledon size and nutrient content play a major role in early performance of species on nutrient-poor soil. *New Phytol* 137: 665–72
- Morton JF (1980) The Australian pine or beefwood (*Casuarina equisetifolia* L.) an invasive “weed” tree in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93:87-95
- Moles AT, Westoby M (2004) What do seedlings die from and what are the implications for evolution of seed size? *Oikos* 106:193-199
- Murphy SR, Lodge GM, Harden S (2004) Surface soil water dynamics in pastures in northern New South Wales. *Aust J Exp Agric* 44:571–583
- Navarro-Cano JA (2008) Effect of grass litter on seedling recruitment of the critically endangered *Cistus heterophyllus* in Spain. *Flora* 203:663–668
- Nilsson C, Engelmark O, Cory J, Forsslund A, Carlborg E (2008) Differences in litter cover and understorey flora between stands of introduced lodgepole pine and native Scots pine in Sweden. *Forest Ecol Manag* 255:1900–1905
- Novoa A, González L, Moravcová L, Pysek P (2012) Effects of soil characteristics, allelopathy and frugivory on establishment of the invasive plant *Carpobrotus edulis* and a cooccurring native, *Malcolmia littorea*. *PLoS One* 7(12):e53166
- Novoa A, Rodríguez R, Richardson D, González L (2014) Soil quality: a key factor in understanding plant invasion? The case of *Carpobrotus edulis* (L.) N.E.Br. *Biol Invasions* (2014) 16:429–443
- Parrotta JA (1993) *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. International Institute of Tropical Forestry, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Río Piedras, Puerto Rico
- Parrotta JA (1995) Influence of overstory composition on understory colonization by native species in plantations on a degraded tropical site. *J Veg Sci* 6(5):627–636
- Parrotta JA (1999) Productivity, nutrient cycling and succession in single- and mixed-species plantations of *Casuarina equisetifolia*, *Eucalyptus robusta* and *Leucaena leucocephala* in Puerto Rico. *Forest Ecol Manag* 90:45–77
- Potgieter LJ, Richardson DM, Wilson JR (2014) *Casuarina*: Biogeography and ecology of an important tree genus in a changing world. *Biol Invasions* 16:609-633
- Qi S, Dai Z, Miao S, Zhai D, Si C, Huang P, Wang R, Du D (2014) Light limitation and litter of an invasive clonal plant, *Wedelia trilobata*, inhibit its seedling recruitment. *Ann Bot* 114:425–433
- R Core Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>

- Rebollo S, Perez-Camacho L, Garcia-de Juan MT, Rey Benayas JM, Gomez-Sal A (2001) Recruitment in a Mediterranean annual plant community: seed bank, emergence, litter, and intra- and inter-specific interactions. *Oikos* 95:485–495
- Reinert F, Roberts A, Wilson JM, Ribas L, Cardinot G, Griffiths H (1997) Gradation in nutrient composition and photosynthetic pathways across the restinga vegetation of Brazil. *Botanica Acta* 110: 135–142
- Rejmaněk M, Richardson DM (2013) Trees and shrubs as invasive alien species – 2013 update of the global database. *Divers Distrib* 19:1093–1094
- Rotundo JL, Aguiar MR (2005) Litter effects on plant regeneration in arid lands: a complex balance between seed retention, longevity and soil–seed-contact. *J Ecol* 93:829–838
- Santana DG, Ranal MA (2004) Análise da germinação. Um enfoque estatístico. Editora Universidade de Brasília, Brasília
- Scarano FR (2002) Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Ann Bot* 90:517–524
- Scharfy D, Funk A, Venterink HO et al (2011) Invasive forbs differ functionally from native graminoids, but are similar to native forbs. *New Phytol* 189:818–828
- Schramm JW, Ehrenfeld JG (2010) Leaf litter and understory canopy shade limit the establishment, growth and reproduction of *Microstegium vimineum*. *Biol Invasions* 12:3195–3204
- Valera-Burgos J, Díaz-Barrabadas MC; Zunzunegui M (2012) Effects of *Pinus pinea* litter on seed germination and seedling performance of three Mediterranean shrub species. *Plant Growth Regul* 66:285–292
- Violle C, Navas M, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116:882-892
- Wardle DA, Nicholson KS, Rahman A (1996) Use of a comparative approach to identify allelopathic potential and relationship between allelopathy bioassays and “competition” experiments for ten grassland and plant species. *J Chem Ecol* 22:933–948
- Wardle DA, Nilsson MC, Gallet C, Zackrisson O (1998) An ecosystem level perspective of allelopathy. *Biol Rev* 73:305–319
- Warren RJ, Bahn V, Bradford MA (2013) Decoupling litter barrier and soil moisture influences on the establishment of an invasive grass. *Plant Soil* 367:339–346
- West NM, Matlaga DP, Davis AS (2014) Quantifying targets to manage invasion risk: light gradients dominate the early regeneration niche of naturalized and pre-commercial *Miscanthus* populations. *Biol Invasions* 16:1991–2001
- Wheeler GS, Taylor GS, Gaskin JF, Purcell MF (2011) Ecology and management of sheoak (*Casuarina* spp.), an invader of coastal Florida, U.S.A. *J Coastal Res* 27 (3):485-492
- Wunderle JM (1997) The role of animal seed dispersal in accelerating native forest regeneration on degraded tropical lands. *Forest Ecol Manag* 99:223–36
- Xiong S, Nilsson C (1999) The effects of plant litter on vegetation: a meta-analysis. *J Ecol* 87:984–994
- Zanne AE, Chapman CA, Kitajima K (2005) Evolutionary and ecological correlates of early seedling morphology in East African trees and shrubs. *Am J Bot* 92:972-978
- Zar JH (1999) *Biostatistical Analysis*, 4 th edn. Prentice Hall, Upper Saddle River

Tabela 2: Propriedades do solo (média \pm desvio padrão) na área com domínio de *Casuarina equisetifolia* L., área aberta e interior das moitas de vegetação na restinga do Parque Estadual Costa do Sol. Valores com letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Componente	<i>Casuarina</i>	Área aberta	Moita
pH H ₂ O 1:2,5	6,77 \pm 0,63 a	5,63 \pm 0,41 ab	5,00 \pm 0,82 b
Al (cmol _c /dm ³)	0,00 \pm 0,00 a	0,03 \pm 0,05 a	0,72 \pm 1,61 a
Ca (cmol _c /dm ³)	5,85 \pm 1,83 a	0,00 \pm 0,00 b	2,96 \pm 2,02 a
Na (mg/dm ³)	172,00 \pm 86,22 a	1,50 \pm 1,00 b	86,67 \pm 50,39 a
Mg (cmol _c /dm ³)	2,50 \pm 0,42 a	0,65 \pm 0,60 b	1,32 \pm 1,05 ab
K (mg/dm ³)	31,25 \pm 8,65 a	4,00 \pm 0,00 b	39,16 \pm 14,81 a
P (mg/dm ³)	2,50 \pm 1,33 a	0,73 \pm 0,25 a	2,60 \pm 1,27 a
V (% de saturação por bases)	79,25 \pm 24,05 a	21,75 \pm 6,18 c	50,20 \pm 9,84 b
Carbono orgânico (g/kg)	20,77 \pm 7,35 a	1,90 \pm 1,71 b	23,33 \pm 13,38 a
Nitrogênio disponível (g/kg)	1,43 \pm 0,51 a	0,28 \pm 0,05 b	1,45 \pm 0,89 a

Tabela 3: Média (\pm desvio padrão) do teor de umidade do solo, massa seca total (MST), razão caule: raiz (RCR) e índice de robustez (IR) de plântulas da espécie exótica *Casuarina equisetifolia* L. e de cinco espécies nativas da restinga, no solo coletado na área com domínio de *Casuarina* (esterilizado e não esterilizado) e na restinga (área aberta e interior das moitas de vegetação) do Parque Estadual da Costa do Sol. Valores com letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Espécie/solo	Teor de umidade	MST (g)	RCR (g.g⁻¹)	IR (cm.cm⁻¹)
<i>C. equisetifolia</i>				
<i>Casuarina</i>	4,65 \pm 2,09 b	0,007 \pm 0,002 b	1,07 \pm 0,33 a	58,85 \pm 10,33 b
Esterilizado	4,18 \pm 1,72 b	0,007 \pm 0,002 b	1,17 \pm 0,24 a	52,01 \pm 6,14 bc
Área aberta	1,52 \pm 1,64 c	0,006 \pm 0,002 b	0,59 \pm 0,15 c	47,49 \pm 10,04 c
Moita	7,15 \pm 2,57 a	0,008 \pm 0,002 a	0,92 \pm 0,20 b	68,83 \pm 16,92 a
<i>C. hilariana</i>				
<i>Casuarina</i>	4,92 \pm 2,41 b	0,095 \pm 0,018 b	0,42 \pm 0,11 b	13,23 \pm 2,04 a
Esterilizado	4,58 \pm 2,24 b	0,087 \pm 0,014 bc	0,53 \pm 0,12 a	13,00 \pm 2,37 ab
Área aberta	1,99 \pm 2,23 c	0,074 \pm 0,017 c	0,27 \pm 0,08 c	11,64 \pm 1,65 b
Moita	9,23 \pm 2,81 a	0,129 \pm 0,035 a	0,19 \pm 0,05 d	13,71 \pm 2,19 a
<i>E. ovalifolium</i>				
<i>Casuarina</i>	3,79 \pm 2,30 b	0,049 \pm 0,006 bc	0,73 \pm 0,19 c	49,48 \pm 8,31 a
Esterilizado	3,93 \pm 2,55 b	0,054 \pm 0,010 b	1,00 \pm 0,18 a	51,49 \pm 7,58 a
Área aberta	1,80 \pm 1,24 b	0,045 \pm 0,006 c	0,85 \pm 0,16 b	43,03 \pm 7,78 b
Moita	8,17 \pm 3,28 a	0,089 \pm 0,017 a	0,69 \pm 0,15 c	47,48 \pm 6,25 ab
<i>M. obtusifolia</i>				
<i>Casuarina</i>	3,68 \pm 1,94 b	0,041 \pm 0,009 b	0,88 \pm 0,20 a	54,55 \pm 8,02 a
Esterilizado	3,10 \pm 1,63 b	0,038 \pm 0,006 b	0,86 \pm 0,20 ab	57,90 \pm 9,42 a
Área aberta	2,79 \pm 1,54 b	0,042 \pm 0,007 b	0,69 \pm 0,13 c	45,10 \pm 7,14 b
Moita	7,81 \pm 2,46 a	0,057 \pm 0,009 a	0,74 \pm 0,14 bc	56,36 \pm 5,71 a
<i>O. arborea</i>				
<i>Casuarina</i>	3,35 \pm 1,48 b	0,422 \pm 0,054 a	1,50 \pm 0,25 a	25,53 \pm 3,58 a
Esterilizado	2,65 \pm 1,33 b	0,412 \pm 0,058 a	1,25 \pm 0,24 bc	21,60 \pm 3,60 a
Área aberta	1,95 \pm 1,38 b	0,448 \pm 0,043 a	1,24 \pm 0,21 c	20,86 \pm 3,05 a
Moita	7,38 \pm 2,59 a	0,447 \pm 0,050 a	1,43 \pm 0,25 ab	24,38 \pm 3,82 a
<i>S. terebinthifolius</i>				
<i>Casuarina</i>	3,45 \pm 2,44 b	0,066 \pm 0,010 b	0,41 \pm 0,09 c	51,85 \pm 7,86 b
Esterilizado	3,63 \pm 1,95 b	0,062 \pm 0,013 b	0,56 \pm 0,16 b	53,76 \pm 7,66 b
Área aberta	2,20 \pm 1,45 b	0,060 \pm 0,013 b	0,56 \pm 0,12 b	40,54 \pm 6,21 c
Moita	7,99 \pm 2,88 a	0,149 \pm 0,032 a	0,99 \pm 0,22 a	63,18 \pm 8,64 a

Tabela 4: Efeito da serapilheira no teor de umidade do solo, percentagem (%E) e velocidade (VE) de emergência, massa seca total (MST), razão de massa foliar (RMF), razão de massa caulinar (RMC), razão de massa radicular (RMR), razão caule: raiz (RCR) e índice de robustez (IR) de plântulas da espécie exótica *Casuarina equisetifolia* L. e de sete espécies nativas da restinga. Valores representam a média \pm desvio padrão. Valores com letras distintas diferem pelo teste de Tukey. ($p < 0,05$). Legenda: Sob BS: sob baixa serapilheira; Sob BP: sob baixo plástico; Sob AS: sob alta serapilheira; Sob AP: sob alto plástico; Sobre BS: sobre baixa serapilheira; Sobre AS: sobre alta serapilheira.

Espécie/ Tratamento	Teor de Umidade	%E	VE (10^{-2})	MST (g)	RMF ($g \cdot g^{-1}$)	RMC ($g \cdot g^{-1}$)	RMR ($g \cdot g^{-1}$)	RCR ($g \cdot g^{-1}$)	IR ($cm \cdot cm^{-1}$)
<i>C. equisetifolia</i>									
Controle	33,96 \pm 9,03 b	49,60 \pm 8,76 a	5,66 \pm 0,69 a	0,013 \pm 0,004 a	0,77 \pm 0,03 a	0,06 \pm 0,02 b	0,17 \pm 0,02 b	0,38 \pm 0,11 b	42,35 \pm 7,92 b
Sob BS	56,59 \pm 2,91 a	8,80 \pm 5,22 b	2,01 \pm 0,89 b	0,003 \pm 0,002 b	0,63 \pm 0,14 b	0,29 \pm 0,11 a	0,08 \pm 0,04 c	4,46 \pm 2,13 a	160,54 \pm 40,20 a
Sob BP	53,40 \pm 4,22 a	0,80 \pm 1,79 bc	0,02 \pm 0,04 c	-	-	-	-	-	-
Sob AS	55,44 \pm 3,53 a	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-
Sob AP	54,90 \pm 2,52 a	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre BS	-	3,20 \pm 4,38 bc	1,12 \pm 1,80 bc	0,004 \pm 0,000 b	0,22 \pm 0,06 c	0,05 \pm 0,01 b	0,73 \pm 0,05 a	0,07 \pm 0,01 c	127,04 \pm 30,86 a
Sobre AS	-	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-
<i>C. hilariana</i>									
Controle	35,85 \pm 3,43 b	75,20 \pm 10,35 a	6,68 \pm 0,28 a	0,069 \pm 0,015 a	0,59 \pm 0,04 a	0,23 \pm 0,04 c	0,18 \pm 0,02 a	1,34 \pm 0,31 c	12,96 \pm 1,62 d
Sob BS	57,95 \pm 2,85 a	76,80 \pm 9,55 a	2,61 \pm 0,27 b	0,058 \pm 0,018 b	0,48 \pm 0,07 b	0,37 \pm 0,07 b	0,15 \pm 0,02 b	2,62 \pm 0,71 b	37,56 \pm 6,72 c
Sob BP	55,22 \pm 2,30 a	77,60 \pm 8,29 a	2,81 \pm 0,21 b	0,056 \pm 0,017 b	0,47 \pm 0,07 b	0,39 \pm 0,08 b	0,14 \pm 0,02 b	2,90 \pm 0,84 b	34,77 \pm 5,24 c
Sob AS	58,20 \pm 2,76 a	53,60 \pm 14,59 b	1,77 \pm 0,10 c	0,038 \pm 0,016 c	0,36 \pm 0,11 c	0,52 \pm 0,11 a	0,12 \pm 0,03 c	4,59 \pm 1,71 a	52,61 \pm 8,52 a
Sob AP	56,39 \pm 1,48 a	55,20 \pm 8,67 b	1,82 \pm 0,21 c	0,043 \pm 0,014 c	0,40 \pm 0,09 c	0,47 \pm 0,09 a	0,12 \pm 0,02 c	4,06 \pm 1,28 a	46,57 \pm 8,11 b
Sobre BS	-	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-
<i>C. emarginata</i>									
Controle	26,26 \pm 8,06 b	25,00 \pm 5,00 a	2,21 \pm 0,17 a	0,285 \pm 0,035 a	0,45 \pm 0,05 a	0,12 \pm 0,02 b	0,17 \pm 0,04 a	0,73 \pm 0,11 c	31,92 \pm 2,55 c
Sob BS	54,59 \pm 2,43 a	28,33 \pm 2,89 a	1,75 \pm 0,10 b	0,213 \pm 0,034 b	0,33 \pm 0,06 b	0,22 \pm 0,04 a	0,10 \pm 0,02 b	2,35 \pm 0,43 b	50,79 \pm 7,43 b
Sob AS	57,91 \pm 1,79 a	23,33 \pm 2,89 a	1,52 \pm 0,09 b	0,215 \pm 0,045 b	0,33 \pm 0,07 b	0,23 \pm 0,04 a	0,08 \pm 0,01 b	3,12 \pm 0,52 a	60,01 \pm 7,71 a
Sobre BS	-	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-	-	-	-	-	-

Cont. tabela 4

Espécie/ Tratamento	Teor de Umidade	%E	VE (10⁻²)	MST (g)	RMF (g.g⁻¹)	RMC (g.g⁻¹)	RMR (g.g⁻¹)	RCR (g.g⁻¹)	IR (cm.cm⁻¹)
<i>E. ovalifolium</i>									
Controle	22,98 ± 3,30 b	68,80 ± 7,69 a	6,08 ± 0,34 a	0,051 ± 0,011 a	0,59 ± 0,05 a	0,20 ± 0,04 b	0,21 ± 0,03 a	0,99 ± 0,27 b	75,37 ± 9,68 b
Sob BS	41,65 ± 5,42 a	39,20 ± 14,59 b	3,04 ± 0,52 b	0,051 ± 0,015 a	0,53 ± 0,06 b	0,31 ± 0,05 a	0,16 ± 0,03 b	1,99 ± 0,42 a	115,15 ± 21,27 a
Sob BP	41,36 ± 4,82 a	16,00 ± 9,38 c	2,69 ± 0,42 b	0,036 ± 0,023 b	0,48 ± 0,11 b	0,35 ± 0,09 a	0,17 ± 0,03 b	2,06 ± 0,42 a	106,64 ± 21,08 a
Sob AS	44,32 ± 3,45 a	2,40 ± 5,37 d	0,36 ± 0,79 c	-	-	-	-	-	-
Sob AP	40,92 ± 6,84 a	0,80 ± 1,79 d	0,72 ± 1,59 c	-	-	-	-	-	-
Sobre BS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
<i>M. obtusifolia</i>									
Controle	22,51 ± 3,85 b	62,40 ± 8,29 a	3,59 ± 0,36 a	0,047 ± 0,008 a	0,36 ± 0,05 a	0,13 ± 0,02 c	0,16 ± 0,02 a	0,77 ± 0,16 c	65,9 ± 10,2 c
Sob BS	41,02 ± 5,97 a	55,20 ± 6,57 a	2,19 ± 0,24 b	0,038 ± 0,006 b	0,23 ± 0,04 b	0,24 ± 0,03 b	0,12 ± 0,02 b	2,04 ± 0,41 b	133,87 ± 17,50 b
Sob AS	43,67 ± 3,26 a	55,20 ± 9,12 a	1,39 ± 0,11 c	0,029 ± 0,005 c	0,10 ± 0,04 c	0,27 ± 0,03 a	0,08 ± 0,01 c	3,33 ± 0,62 a	162,39 ± 19,41 a
Sobre BS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
<i>O. arborea</i>									
Controle	23,59 ± 7,95 b	78,00 ± 4,47 a	2,06 ± 0,08 bc	0,439 ± 0,063 b	0,34 ± 0,06 b	0,15 ± 0,02 c	0,14 ± 0,02 b	1,10 ± 0,19 c	20,25 ± 3,06 c
Sob BS	42,95 ± 4,29 a	83,00 ± 4,47 a	2,22 ± 0,07 a	0,457 ± 0,072 b	0,38 ± 0,05 a	0,22 ± 0,02 b	0,13 ± 0,02 b	1,69 ± 0,33 a	30,40 ± 3,98 b
Sob BP	43,87 ± 6,01 a	82,00 ± 10,95 a	2,10 ± 0,13 ab	0,463 ± 0,072 b	0,36 ± 0,05 ab	0,24 ± 0,03 a	0,14 ± 0,02 b	1,78 ± 0,34 a	30,51 ± 2,95 b
Sob AS	44,89 ± 6,48 a	83,00 ± 8,37 a	1,92 ± 0,04 cd	0,958 ± 0,073 a	0,29 ± 0,04 c	0,26 ± 0,02 a	0,18 ± 0,01 a	1,45 ± 0,12 b	38,87 ± 5,00 a
Sob AP	47,05 ± 6,86 a	79,00 ± 4,18 a	1,79 ± 0,07 d	0,927 ± 0,061 a	0,29 ± 0,03 c	0,26 ± 0,02 a	0,19 ± 0,01 a	1,31 ± 0,11 b	37,62 ± 5,11 a
Sobre BS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-

Cont. tabela 4

Espécie/ Tratamento	Teor de Umidade	%E	VE (10⁻²)	MST (g)	RMF (g.g⁻¹)	RMC (g.g⁻¹)	RMR (g.g⁻¹)	RCR (g.g⁻¹)	IR (cm.cm⁻¹)
<i>P. caimito</i>									
Controle	26,27 ± 7,82 b	50,00 ± 5,00 a	2,93 ± 0,34 a	0,584 ± 0,427 a	0,25 ± 0,07 a	0,11 ± 0,03 c	0,18 ± 0,05 a	0,65 ± 0,11 c	39,62 ± 5,42 c
Sob BS	44,98 ± 2,65 a	30,00 ± 8,66 b	2,72 ± 0,12 a	0,527 ± 0,106 a	0,24 ± 0,05 a	0,17 ± 0,03 b	0,18 ± 0,05 a	1,00 ± 0,23 b	48,60 ± 4,85 b
Sob AS	45,48 ± 5,36 a	33,33 ± 10,41 b	2,06 ± 0,17 b	0,427 ± 0,077 b	0,20 ± 0,07 a	0,21 ± 0,04 a	0,12 ± 0,04 b	1,84 ± 0,62 a	60,79 ± 9,54 a
Sobre BS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
<i>S. therebinthifolius</i>									
Controle	24,73 ± 8,71 b	80,00 ± 8,94 a	10,91 ± 1,75 a	0,210 ± 0,075 c	0,59 ± 0,05 a	0,24 ± 0,04 b	0,17 ± 0,03 b	1,48 ± 0,40 b	115,3 ± 16,40 c
Sob BS	55,48 ± 2,06 a	55,20 ± 8,20 b	7,03 ± 0,25 b	0,393 ± 0,141 b	0,55 ± 0,04 b	0,29 ± 0,03 a	0,16 ± 0,03 b	1,86 ± 0,48 a	122,60 ± 26,08 c
Sob BP	57,79 ± 2,10 a	32,80 ± 11,80 c	5,47 ± 0,61 b	0,571 ± 0,315 b	0,59 ± 0,04 a	0,27 ± 0,03 ab	0,14 ± 0,02 b	1,90 ± 0,40 a	128,70 ± 24,81 bc
Sob AS	58,33 ± 1,84 a	4,00 ± 4,90 d	2,18 ± 2,11 c	1,059 ± 0,702 a	0,51 ± 0,04 b	0,23 ± 0,01 b	0,25 ± 0,04 a	0,93 ± 0,17 c	152,07 ± 13,56 ab
Sob AP	58,76 ± 1,82 a	4,00 ± 5,66 d	1,17 ± 1,61 c	1,048 ± 0,665 a	0,52 ± 0,04 b	0,22 ± 0,02 b	0,26 ± 0,05 a	0,89 ± 0,19 c	159,05 ± 12,71 a
Sobre BS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
Sobre AS	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-	-	-	-

ARTIGO 4: O efeito alelopático de espécie exótica arbórea limita o estabelecimento de espécies nativas e da sua própria espécie em áreas costeiras?*

Thalita G. Zimmermann^{1, 3}, Antonio C. S. Andrade¹, Luísa L. Leal²

¹ Laboratório de Sementes, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rua Pacheco Leão, 915, Jardim Botânico, 22460-030, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

³ Autor para correspondência: thalitagabriella@gmail.com

*Periódico a ser submetido este artigo: *American Journal of Botany*

PREMISSA DO ESTUDO: Novos mecanismos de interação com a comunidade podem ser os responsáveis pelo sucesso de algumas espécies exóticas durante o processo de invasão biológica, como a liberação de substâncias aleloquímicas, que podem ter efeito negativo na regeneração natural.

MÉTODOS: O potencial alelopático da espécie exótica *C. equisetifolia* foi avaliado em área costeira (restinga) em relação a: (i) sazonalidade (verão e inverno), (ii) estágio de maturação (plantas jovens e adultas) e (iii) via de liberação de compostos aleloquímicos (lixiviação das folhas, decomposição da serapilheira (fresca e degradada) e exsudação das raízes). Foram utilizadas como plantas alvo uma espécie agrícola (*Lactuca sativa*) e duas espécies nativas (*Pilosocereus arrabidae* e *Schinus terebinthifolius*), além de *C. equisetifolia*, para avaliar o seu potencial autotóxico. As variáveis respostas utilizadas foram a velocidade de germinação, comprimento da raiz e condutividade elétrica das plântulas.

RESULTADOS CHAVES: O efeito alelopático teve uma tendência em ser mais intenso no verão. Na maioria das espécies não houve diferença no potencial alelopático a partir do material coletado de indivíduos jovens e adultos. Os extratos aquosos das folhas e da serapilheira fresca causaram maior inibição em relação as raízes e a serapilheira degradada.

CONCLUSÕES: Além de inibir a germinação e o crescimento tanto da espécie agrícola como das plantas nativas, *C. equisetifolia* também apresenta autotoxicidade, o que pode limitar o recrutamento de indivíduos dessa espécie nas áreas com invasão. Assim, a liberação de compostos alelopáticos, principalmente pelas folhas e serapilheira fresca, é um dos responsáveis pela baixa regeneração natural nas áreas com invasão dessa espécie. Contudo, outros fatores também podem ajudar no processo de invasão de *C. equisetifolia*, como o grande acúmulo de serapilheira, que limita o processo de sucessão.

PALAVRAS-CHAVE: alelopatia, *Casuarina equisetifolia*, condutividade, índice de efeito global, invasão biológica, velocidade de germinação.

A invasão de espécies exóticas é considerada uma das principais ameaças a conservação dos ecossistemas naturais (Keane & Crawley, 2002; Sharma et al., 2005; Hejda et al., 2009), sendo as plantas invasoras responsáveis pela diminuição na diversidade das espécies nativas nos ambientes em que foram introduzidas (Callaway et al., 2005). Vários mecanismos foram propostos para explicar o sucesso no processo de invasão (MacDougall et al., 2009), entre estes está o aumento da capacidade de competição devido a diminuição dos inimigos naturais (Maron & Vilà, 2001; Keane & Crawley, 2002), maior disponibilidade de recursos na comunidade invadida (Davis *et al.*, 2000) ou liberação de metabólitos secundários com potencial alelopático pelas espécies exóticas, que podem ter efeito altamente inibitório na nova comunidade através de mecanismos diretos ou indiretos (Rice, 1984; Callaway & Aschehoug, 2000; Inderjit et al., 2008). Contudo, é provável que vários mecanismos não exclusivos sejam responsáveis pelo sucesso de invasão das plantas exóticas (MacDougall et al., 2009).

Em relação ao efeito negativo dos aleloquímicos liberados pelas espécies exóticas, esses podem limitar a germinação e o estabelecimento das espécies nativas (Callaway & Aschehoug, 2000; Callaway & Ridenour, 2004; Inderjit et al., 2008; Lorenzo et al., 2011; Chu et al., 2014), o que pode aumentar o potencial de competição das plantas exóticas, favorecendo a sua invasão no novo ecossistema (Reigosa et al., 2002). Assim, para testar a importância da liberação de substâncias alelopáticas como um dos mecanismos responsáveis pelo sucesso durante o processo de invasão, é necessário avaliar o efeito alelopático das espécies exóticas em relação as nativas (Callaway & Ridenour, 2004; Inderjit et al., 2008) e não apenas em espécies agrícolas (Batish *et al.* 2001; Nakahira & Ohira, 2005).

Apesar do efeito alelopático geralmente ser interespecífico, este também pode ter efeito intraespecífico, caso os aleloquímicos liberados por uma planta no ambiente inibam a germinação e o crescimento dos indivíduos da mesma espécie, sendo este fenômeno denominado autotoxicidade (Miller, 1996). A autotoxicidade influencia a distribuição geográfica das espécies, atua na adaptação à dormência induzida, previne as sementes e propágulos do apodrecimento e diminui a competição intra-específica (Singh et al., 1999; Wu et al., 2007; van de Voorde et al., 2012). Apesar da sua importância ecológica, a grande maioria dos estudos que avaliaram a autotoxicidade foram realizados com espécies agrícolas (Singh et al., 1999), e poucos estudos avaliaram esse efeito em espécies exóticas invasoras (Perry et al., 2005; Zhu et al., 2009; Lorenzo et al., 2010; Qi et al., 2014).

Os aleloquímicos (principalmente compostos fenólicos e terpenos) podem ser liberados pelas plantas por diferentes mecanismos, como a lixiviação das folhas, decomposição da serapilheira e exsudação das raízes (Rice, 1984). Apesar disso, os estudos em sua maioria avaliaram o efeito alelopático através de apenas uma via de liberação, geralmente a lixiviação (Reigosa et al., 2013, mas veja Dorning & Cipollini, 2006; Fernandez et al., 2006; Naderi & Bijanzadeh, 2012). A liberação de aleloquímicos também pode variar com a idade da planta (Inderjit & Asakawa, 2001; Fernandez et al., 2006, 2008; Zhu et al., 2009; Zhang et al., 2010), e indivíduos jovens, por apresentarem maior atividade metabólica, podem produzir maior quantidade de metabólitos secundários (Zhang et al., 2010). Outro fator que interfere na produção de aleloquímicos é a sazonalidade (Conway et al., 2002; Muscolo & Sidari, 2006; Lorenzo et al., 2011; Silva et al., 2014). A variação da produção de substâncias aleloquímicas ao longo do ano está relacionada às condições bióticas e abióticas em que a planta está crescendo, como a presença de herbívoros (Karban, 2007) e patógenos (Heil & Bostock, 2002), temperatura (Lur et al., 2009) e precipitação (Gray et al., 2003). Contudo, a maioria dos estudos avaliaram o potencial alelopático apenas em um período do ano (Reigosa et al., 2013). Apesar da sazonalidade, estágio de maturação da planta e mecanismo de liberação dos aleloquímicos estarem entre os principais fatores que influenciam a produção dos compostos aleloquímicos, não foram encontrados estudos que tenham avaliado o efeito em conjunto desses três fatores no potencial alelopático de uma planta. Existem apenas pesquisas que avaliaram simultaneamente o efeito alelopático de uma espécie em relação ao mecanismo de liberação e a idade da planta (Fernandez et al., 2006; Zhu et al., 2009); o mecanismo de liberação e a sazonalidade (Oueslati et al., 2005), e a idade e a sazonalidade (Liu et al., 1998). Desse modo, para testar a influência do efeito aleloquímico no processo de invasão, são necessários estudos que avaliem o potencial alelopático das espécies exóticas em relação a esses três fatores em conjunto.

Os metabólitos secundários são compostos responsáveis pela defesa e adaptação das plantas, assim, as condições ambientais também influenciam diretamente a sua produção (Lovett et al., 1989; Ramakrishna & Ravishankar, 2011). Condições de estresse limitam a disponibilidade de recurso das plantas e podem causar acúmulo de metabólitos e, conseqüentemente, causar maior efeito alelopático (Pedrol et al., 2006). Entre os principais fatores abióticos responsáveis por condições de estresse nas plantas estão as altas temperaturas, incidência luminosa e salinidade, baixa disponibilidade hídrica e baixa fertilidade do solo (Ramakrishna & Ravishankar, 2011; Atkinson &

Urwin, 2012), fatores estes que são característicos das planícies arenosas costeiras, como as restingas (Reinert et al., 1997).

As restingas estão localizadas nas planícies arenosas formadas por depósitos marinhos no final do quaternário, entre o mar e a Floresta Atlântica Montana (Araújo & Lacerda, 1987; Scarano, 2002). Esse ecossistema apresenta alto nível de degradação, principalmente devido a ocupação desordenada pela expansão imobiliária, a extração irregular de espécies de interesse econômico e pela presença de plantas exóticas, como *Casuarina equisetifolia* L. (Casuarinaceae) (Rocha et al., 2007). Essa espécie é nativa da costa leste da Austrália e sudeste da Ásia (Parrotta, 1993) e foi introduzida no Brasil principalmente nas restingas do sul, sudeste e nordeste (I3N Brazil, 2015). Está entre as principais espécies arbóreas invasoras do mundo (Rejmánek & Richardson, 2013) e no Brasil o seu status é de espécie exótica naturalizada (Zenni & Ziller, 2011; Potgieter et al., 2014). Contudo, devido as condições climáticas favoráveis a ocupação dessa espécie, várias áreas na restinga estão susceptíveis a invasão por essa planta (Potgieter et al., 2014). A invasão de *C. equisetifolia* reduz a abundância e riqueza de plantas nativas (Parrotta, 1999; Batish et al., 2001; Hata et al., 2009). Estudos em laboratório mostraram que os extratos aquosos das folhas (Batish et al., 2001; John et al., 2007), casca do caule e raiz (Nakahira & Ohira, 2005), serapilheira e cones (Batish et al., 2001) de *C. equisetifolia* apresentaram efeito alelopático, o que poderia ser a causa da baixa riqueza de espécies nos locais onde foi introduzida. Contudo, Hata et al. (2010) não encontraram evidência da liberação de aleloquímicos sob condições de casa de vegetação e no campo, e acreditam que o baixo recrutamento da vegetação nativa nas áreas com domínio dessa planta arbórea seja provocado pelo grande acúmulo de serapilheira. Como algumas espécies conseguem colonizar os locais com invasão dessa planta exótica (Hata et al., 2012), o efeito alelopático na regeneração da vegetação pode ser espécie específica (Hata et al., 2010). Assim, para avaliar se a baixa regeneração nas áreas com domínio de *C. equisetifolia* na restinga (artigo 2) é devido a liberação de compostos químicos, é necessário testar o seu potencial alelopático nas espécies nativas desse local.

O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial alelopático da espécie exótica *C. equisetifolia* em relação a: (i) sazonalidade (verão e inverno), (ii) estágio de maturação (plantas jovens e adultas) e (iii) mecanismo de liberação de compostos aleloquímicos (lixiviação das folhas, decomposição da serapilheira (fresca e degradada) e exsudação das raízes). Para testar o efeito alelopático, além da espécie agrícola (*Lactuca sativa* L.,

Asteraceae), foram utilizadas duas espécies nativas (*Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D.Rowley (Cactaceae) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)), e a própria *C. equisetifolia*, para avaliar o potencial de autotoxicidade da espécie. Considerando que a liberação de compostos aleloquímicos seja uma das responsáveis pelo sucesso no processo de invasão dessa planta exótica, as seguintes hipóteses foram testadas: (i) o potencial alelopático de *C. equisetifolia* apresenta variação sazonal, com maior efeito durante o verão, estação em que a temperatura e a incidência luminosa são maiores, o que aumenta a produção de metabólitos secundários; (ii) a alta atividade metabólica nas plantas jovens aumenta a produção de compostos aleloquímicos em relação as plantas adultas; (iii) a liberação de aleloquímicos de *C. equisetifolia* por lixiviação e exsudação será mais intensa do que por decomposição da serapilheira.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de coleta - A coleta de material vegetal foi realizada na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (antiga APA da Massambaba), em Arraial do Cabo, RJ. A área (22° 58'S, 42° 01'O) apresenta 25,1 ha, sendo 22,9 ha de restinga preservada, classificada como formação arbustiva aberta não inundável (fácies alta) (Araújo et al., 2009). O restante da área (2,2 ha) apresenta domínio de *C. equisetifolia*, em que os indivíduos foram plantados no local após a construção de um canal na década de 1960. O clima na região é classificado como semi-árido quente (Bsh) e a pluviosidade é reduzida em relação às regiões contíguas, apresentando uma média anual de 800mm, com uma estação seca no inverno e o predomínio das chuvas no verão (Barbière, 1984). A temperatura média anual é de 25°C, com máxima de 36°C e mínima de 12°C (Scarano, 2002).

Coleta do Material – As sementes de *C. equisetifolia* foram coletadas na área com domínio dessa espécie, em fevereiro de 2014. As sementes das duas espécies nativas foram coletadas na área de restinga preservada adjacente ao local com domínio dessa planta exótica. As sementes de *P. arrabidae* foram coletadas em dezembro de 2013 e janeiro de 2014, já as sementes de *S. terebinthifolius* foram coletadas em abril e maio de 2014. A coleta foi realizada em no mínimo dez indivíduos de cada espécie.

As folhas e ramos verdes, serapilheira fresca, serapilheira degradada e raízes foram coletadas de 10 indivíduos de *C. equisetifolia*, sendo cinco jovens (< 5 cm DAP)

e cinco adultos que apresentavam frutos (> 10 cm DAP). Foram coletados em cada indivíduo aproximadamente 100g de cada material. As coletas foram realizadas no verão (fevereiro/14) e no inverno (agosto/14), sendo realizadas nos mesmos indivíduos, que tinham uma distância mínima de cinco metros do indivíduo mais próximo de *C. equisetifolia*. Folhas e ramos foram coletados com tesoura de poda, principalmente na extremidade da copa. Como as folhas de *C. equisetifolia* são muito pequenas, e esta espécie apresenta muitos ramos finos, rijos, cilíndricos, semelhantes a acículas (U.S. National Research Council, 1984), a coleta das folhas foi realizada junto com os ramos verdes. Dois coletores de madeira, com área de 0,5 m² e com uma bolsa de tecido, foram instalados sob a copa de cada indivíduo para a coleta da serapilheira fresca, que foi coletada após o período de um mês de queda das folhas. A serapilheira degradada foi coletada em um raio de até um metro da base do tronco do indivíduo selecionado, sendo retiradas as folhas que estavam na superfície, que seriam as folhas que teriam caído recentemente. As raízes foram cortadas próximo a base do tronco. As amostras de cada material vegetal de cada indivíduo foram acondicionadas em sacos plásticos separados. No laboratório, as raízes foram cuidadosamente lavadas com água para retirar o solo. Todo o material vegetal foi seco em estufa a 40°C, durante o período de seis dias, quando o teor de água ficou próximo a zero. Após a secagem, o material foi acondicionado em sacos plásticos vedados e mantido armazenado a -20°C até a realização dos experimentos.

Espécies testes – Foram utilizadas quatro espécies teste para a avaliação do efeito alelopático de *C. equisetifolia*. A espécie agrícola *L. sativa* (cultivar “baba de verão”) é amplamente utilizada em estudos de fitotoxicidade, devido à alta velocidade e homogeneidade de germinação, o que permite comparar os resultados com outros estudos de alelopatia (Lotina-Hennsen et al., 2006). *Pilosocereus arrabidae* e *S. terebinthifolius* são duas espécies nativas da Mata Atlântica (Silva-Luz & Pirani, 2014; Taylor et al., 2014), e são abundantes na restinga do Parque Estadual da Costa do Sol (Araújo et al., 2009). Essas duas espécies produzem grande quantidade de sementes, com massa de 0,0008 (\pm 0,0002g; n=20) para *P. arrabidae* e 0,0129 (\pm 0,0012g; n=20) para *S. terebinthifolius*. *Casuarina equisetifolia* foi utilizada para a avaliação da autotoxicidade. Essa espécie produz grande quantidade de sementes (Apfelbaum, 1983), com uma massa de 0,0012 (\pm 0,0005g; n=20). As sementes das quatro espécies podem ser armazenadas a temperatura controlada (-18°C para *L. sativa*, *P. arrabidae* e *C.*

equisetifolia; 10°C para *S. terebinthifolius*) sem perda da viabilidade por no mínimo um ano, o que é importante em estudos de alelopatia que avaliem o efeito sazonal.

Bioensaios - Os extratos aquosos foram produzidos com as (i) folhas e ramos verdes, (ii) serapilheira fresca, (iii) serapilheira degradada e (vi) raízes, de indivíduos jovens e adultos, coletados durante o verão e o inverno, perfazendo 16 tratamentos (quatro vias de liberação de aleloquímicos X dois estágios de maturação X duas estações do ano). As raízes utilizadas nos bioensaios foram usadas inteiras quando o seu diâmetro era menor que 3 cm, e quando estas tinham diâmetro maior que 3 cm foram utilizados fragmentos de sua casca. Os extratos aquosos foram preparados com a mistura das amostras de cada material vegetal coletado dos indivíduos jovens ou adultos (n=5) em cada estação, para reduzir a variabilidade genética entre as amostras (Conway et al., 2002). Foram colocados 10g (2g por indivíduo) de cada material (folhas e ramos verdes, serapilheira fresca, serapilheira degradada ou raízes) em 100 mL de água destilada, para fazer uma proporção de 1:10 massa/volume (concentração de 10%) de extrato aquoso. O método de extração utilizado foi a maceração estática (Soares & Vieira 2000), onde os extratos foram mantidos a temperatura de 25°C durante 24 horas, sob fotoperíodo de 8h de luz e 16h de escuro. Após, o material foi filtrado com papel de filtro Whatman #1 e o extrato foi caracterizado quanto ao pH, aferido com pHmetro.

Os testes de germinação foram realizados com cinco repetições de 40 sementes para cada tratamento por espécie teste. Foi utilizado placa de Petri (9cm) com duas folhas de papel filtro, umedecidas com 5 mL dos extratos ou água destilada (controle). As placas foram vedadas com filme plástico para diminuir a evaporação dos extratos. Os testes foram realizados em câmara de germinação, sob fotoperíodo de 8h de luz e 16h de escuro (lâmpadas fluorescentes; 20 W; 90 μ mol m⁻² s⁻¹) e na temperatura ótima de germinação para cada espécie: 30°C para *C. equisetifolia* (artigo 1), 20°C para *L. sativa* (Thompson et al., 1979), 25°C para *P. arrabidae* (Martins et al., 2012) e 20/30°C para *S. terebinthifolius* (Pacheco et al., 2011). A avaliação da germinação em *L. sativa* foi realizada a cada 12h, durante sete dias. Para as outras espécies a avaliação foi realizada a cada 24h, até o término do processo germinativo, que teve o período de 20 dias para *C. equisetifolia*, 25 dias para *S. terebinthifolius* e 30 dias para *P. arrabidae*. O critério de germinação foi a protusão de 1 mm da radícula. Os extratos foram trocados a cada sete dias, sendo as sementes de cada tratamento transferidas para placas de Petri com novos extratos. O parâmetro avaliado foi a velocidade de germinação, através da

fórmula $v = Sni/(Sni \cdot ti)$, em que ni é o número de sementes germinadas por dia e ti o número de dias do experimento (Labouriau & Pacheco, 1978).

Para a avaliação do comprimento da raiz e da condutividade elétrica das plântulas, sementes de cada espécie foram previamente germinadas em água destilada nas condições equivalentes ao teste de germinação. Após a protrusão da radícula, as plântulas foram transferidas para placas de Petri (9 cm), com duas folhas de papel de filtro, umedecidas com 5 mL dos extratos ou água destilada (controle), perfazendo doze plântulas por placa, com cinco repetições. As plântulas foram medidas em diferentes intervalos de tempo, que variaram de acordo com a velocidade de crescimento de cada espécie, sendo sete dias para *L. sativa* e *S. terebinthifolius*, 10 dias para *C. equisetifolia* e 25 dias para *P. arrabidae*. As condições de temperatura e fotoperíodo foram as mesmas utilizadas nos testes de germinação, exceto para *C. equisetifolia*, em que foi utilizado 25°C, pois a 30°C a evaporação do extrato seria alta. A condutividade elétrica foi medida para avaliar o extravasamento de solutos das plântulas, que é causado devido a algum dano na membrana plasmática das suas células. Em cada placa de Petri foram retiradas aleatoriamente 10 plântulas, que foram colocadas em recipientes de plástico (5 repetições), com 50 ml de água destilada. Os recipientes foram mantidos durante 24h em temperatura de 20°C, para posterior medida da condutividade (condutivímetro Seven Easy, S30). O resultado da condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}^3/\text{g}$) foi expresso pela fórmula: [(condutividade da água destilada com as plântulas) - (condutividade da água destilada pura)/peso fresco das plântulas]. Quanto maior o extravasamento de solutos, maior é o valor da condutividade elétrica. Após a medida da condutividade, foi avaliado o comprimento da raiz das plântulas. Foram medidas 30 plântulas de cada tratamento, sendo escolhidas aleatoriamente seis indivíduos de cada recipiente utilizado no experimento da condutividade.

Análise estatística - Os experimentos foram montados em delineamento inteiramente casualizado. Foi calculado o índice de efeito global (GEI) modificado a partir de Ribeiro (2011). No cálculo do GEI as variáveis respostas utilizadas foram a velocidade de germinação, o comprimento da raiz e a condutividade elétrica das plântulas. Quanto menor o valor do GEI, maior o efeito inibitório. Para cada tratamento foram calculados cinco valores de GEI para a velocidade de germinação (VG_rT/VG_mC), comprimento da raiz (CR_rT/CR_mC) e condutividade elétrica (CE_mC/CE_rT), em que VG é a velocidade de germinação, CR é o comprimento da raiz, CE é a condutividade elétrica, rT é o valor

de cada repetição do tratamento, e mC é a média do tratamento controle. Para calcular os valores de GEI para cada tratamento, os cinco valores de GEI para cada variável resposta (velocidade de germinação, comprimento da raiz e condutividade) foram multiplicados entre si. Assim, para cada tratamento foram obtidos 125 valores de GEI.

Como os valores de GEI não apresentaram normalidade a partir do teste Shapiro–Wilks, foi utilizada a análise de modelos lineares generalizados (GLM) para avaliar se houve diferença no efeito alelopático entre as estações do ano (verão X inverno), idade da planta (jovem X adulto) e mecanismos de liberação de aleloquímicos (folhas e ramos verdes X serapilheira fresca X serapilheira degradada X raízes). Para avaliar o efeito alelopático espécie-específico, em cada espécie teste foi realizada uma análise. Para avaliar o efeito alelopático em conjunto, foi feita uma análise utilizando as espécies *L. sativa*, *P. arrabidae* e *S. terebinthifolius*. Na análise em conjunto das espécies não foi utilizado *C. equisetifolia* para isolar o efeito da autotoxicidade. Também foi realizada uma análise de GLM para comparar o efeito alelopático entre as quatro espécies teste em cada estação do ano. Na análise de GLM foi usado como variável resposta os valores de GEI, utilizando a distribuição negativa binomial e a função “log”. Como efeito fixo foram utilizadas a estação do ano, idade da planta, a via de liberação de aleloquímicos e a interação entre eles. A escolha do melhor modelo foi baseada no critério de informação de Akaike, usando a máxima probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa R versão 3.0.3 (R Development Core Team 2014), utilizando os pacotes “lme4” e “MASS” para GLM.

RESULTADOS

Os valores de pH dos extratos do material vegetal de *C. equisetifolia* oscilaram entre 5,08 e 5,93 no verão e 5,25 e 6,56 no inverno, apresentando um caráter ácido (Tabela 1).

Em relação a sazonalidade, em *L. sativa* e *S. terebinthifolius* o valor do GEI foi maior no inverno quando comparado ao verão ($p < 0,001$). Já em *P. arrabidae* não houve diferença entre as duas estações ($p = 0,60$). O valor do GEI em *L. sativa* e *P. arrabidae* não diferiu em relação a idade da planta ($p = 0,87$ e $p = 0,12$; respectivamente), mas em *S. terebinthifolius* foi maior no extrato aquoso proveniente de indivíduos jovens em comparação aos adultos ($p = 0,03$). Em relação a via de liberação de aleloquímicos, nas três espécies o valor do GEI foi maior no extrato aquoso das raízes, e em duas delas este não diferiu do extrato da serapilheira degradada (*L. sativa* (p

= 0,11) e *S. terebinthifolius* ($p = 0,90$)). Em *L. sativa*, o extrato aquoso das folhas apresentou o menor valor do GEI ($p < 0,001$), já em *S. terebinthifolius* este extrato não diferiu da serapilheira fresca. Em *P. arrabidae* o extrato aquoso da serapilheira fresca apresentou o menor valor do GEI ($p = 0,003$), e foi a única espécie em que não houve diferença entre os extratos aquosos das folhas e da serapilheira degradada ($p = 0,80$). Entre os mecanismos de liberação de aleloquímicos, apenas os extratos aquosos das raízes apresentaram interação com a estação, em *L. sativa* ($p < 0,001$), e com a idade, em *S. terebinthifolius* ($p < 0,001$), em que o valor do GEI foi menor no inverno (Tabela 2).

Em *C. equisetifolia* (autotoxidade), não houve diferença nos valores do GEI em relação a estação do ano ($p = 0,20$) e o estágio de maturação da planta ($p = 0,29$). Os valores do GEI também foram menores nos extratos aquosos das folhas e da serapilheira fresca em comparação aos extratos da serapilheira degradada e das raízes ($p < 0,001$), e estas não apresentaram diferença significativa ($p = 0,14$). Também houve interação entre a exsudação das raízes e a estação, em que o valor do GEI foi menor no inverno (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Casuarina equisetifolia produziu compostos químicos que afetaram as espécies teste, tanto na fase de germinação como na fase de plântula. Isso confirma a hipótese de que essa planta exótica libera substâncias alelopáticas que limitam o processo de regeneração natural nas áreas invadidas. Desse modo, a liberação de compostos aleloquímicos (Callaway & Aschehoug, 2000; Callaway & Ridenour, 2004; Inderjit et al., 2008) é uma das responsáveis pelo sucesso no processo de invasão dessa espécie exótica.

Essa espécie apresentou autotoxidade principalmente através da lixiviação das folhas e da degradação da serapilheira fresca. Mas não houve diferença do efeito autotóxico em relação a sazonalidade e a idade da planta, e essa mesma resposta aos extratos de *C. equisetifolia* foi encontrada na espécie nativa *P. arrabidae*. Foi observado que a autotoxidade diminuiu a velocidade de germinação, causou danos as membranas celulares das plântulas e inibiu o crescimento das raízes, sendo a única espécie teste em que todos os extratos causaram inibição nesse órgão vegetal (resultados não mostrados). Em *Acacia dealbata* Link, uma das principais espécies exóticas invasoras da Europa, foi

observado o padrão oposto, em que os extratos da serapilheira causaram aumento do comprimento da raiz, sugerindo um efeito auto-alelopático positivo (Lorenzo et al., 2010). Já o recrutamento de novos indivíduos de *C. equisetifolia* nas áreas com domínio dessa espécie pode ser limitado pelo efeito autotóxico. Contudo, a autotoxidade pode ser um fator importante na diminuição da competição intraespecífica (Singh et al., 2009). Além da autotoxidade, a espessa camada de serapilheira também limita a emergência e o crescimento das suas plântulas (artigo 3). Como essa planta exótica produz alta quantidade de sementes (Apfelbaum, 1983), que conseguem germinar em uma grande amplitude de temperaturas e luminosidade, além de ter a capacidade de tolerar desidratação e apresentar alta longevidade no solo (artigo 1), caso existam condições adequadas, as sementes podem germinar e ocorrer o recrutamento de novos indivíduos dessa espécie na área com invasão.

Como ocorreu com a própria *C. equisetifolia*, a espécie agrícola e as nativas também tiveram a germinação e o crescimento das plântulas afetados pelos compostos aleloquímicos liberados por essa planta exótica, contudo, em alguns casos, estas mostraram diferentes respostas. A espécie agrícola, quando comparada as nativas, apresentou a mesma resposta em relação ao efeito sazonal com *S. terebinthifolius*, e o mesmo comportamento quando avaliado o efeito da idade da planta com *P. arrabidae*. *Lactuca sativa* é utilizada como espécie teste em vários estudos de alelopátia, principalmente por apresentar uma resposta rápida (Reigosa et al., 2013). Batish et al. (2001) também utilizaram *L. sativa* como espécie teste para avaliar o potencial alelopático de *C. equisetifolia*, contudo, esses autores avaliaram o efeito químico dessa planta exótica apenas em espécies agrícolas. Para avaliar o real potencial alelopático de uma planta exótica, também é necessário que os estudos utilizem como espécies teste plantas nativas, principalmente quando o objetivo do estudo é avaliar as novas interações químicas causadas pela introdução de uma espécie exótica na comunidade (Callaway & Ridenour, 2004; Inderjit et al., 2008). Apesar de *P. arrabidae* e *S. terebinthifolius* serem duas espécies sensíveis aos compostos alelopáticos produzidos por essa planta exótica, ambas são encontradas nas áreas com domínio de *C. equisetifolia* no Parque Estadual da Costa do Sol (Fontes, 2013). Essas duas espécies estão entre aquelas que apresentam o maior número de sementes dispersas para esse local (artigo 2). Isso mostra que a liberação de substâncias aleloquímicas pode limitar, mas não é um fator que impede que as espécies nativas consigam se estabelecer na área com domínio dessa planta exótica.

As maiores temperaturas, incidência luminosa e estresse hídrico durante o verão na restinga (Matos, 2014) podem aumentar a produção de compostos secundários (Pedrol et al., 2006; Ramakrishna & Ravishankar, 2011; Atkinson & Urwin, 2012), o que provavelmente foi o responsável pelo maior potencial alelopático dos extratos aquosos de *C. equisetifolia* no verão em relação ao inverno, em duas das quatro espécies testes, sendo uma delas nativa. *Schinus terebinthifolius* teve menor efeito inibitório no inverno, estação que precede o maior período de frutificação da espécie, que é o outono. Isso mostra que algumas plantas nativas podem ter maior resistência aos aleloquímicos produzidos por essa espécie exótica, apresentando maiores chances de colonizar as áreas com invasão. Contudo, a dispersão de sementes na restinga ocorre principalmente durante a primavera e o verão (Carvalho, 2014; artigo 2), e como o potencial alelopático de *C. equisetifolia* apresenta a tendência ser mais intenso durante o verão, acredita-se que essa maior liberação de compostos aleloquímicos é mais um fator que pode limitar o recrutamento via sementes das espécies nativas na área com domínio dessa planta exótica.

Apesar de outros estudos terem mostrado que ocorrem mudanças na produção de compostos secundários em relação a idade da planta (Inderjit & Asakawa 2001; Fernandez et al., 2006, 2008; Zhu et al., 2009; Zhang et al., 2010), em *C. equisetifolia* não houve diferença entre o potencial alelopático entre indivíduos jovens e adultos em três das quatro espécies teste. *Schinus terebinthifolius* foi a única espécie teste em que o efeito aleloquímico foi maior nos extratos provenientes de indivíduos adultos em relação aos jovens, apesar de ter sido marginalmente significativa. Isso também diferiu do esperado, já que a produção de aleloquímicos tende a ser maior nas plantas jovens devido à alta atividade metabólica (Zhang et al., 2010). Como na maioria dos casos não houve diferença do potencial alelopático em relação ao estágio de maturação, acredita-se que durante o processo de invasão não ocorram diferenças na produção de aleloquímicos por *C. equisetifolia*. Contudo, nesse estudo não foi avaliado o potencial alelopático de espécies com DAP menor que 5 cm, e que talvez possam apresentar alta produção metabólica. Apesar disso, tanto nos locais em que a invasão dessa planta exótica seja recente ou que esteja presente a um longo período, vai ocorrer a liberação de compostos alelopáticos, que podem limitar a regeneração natural.

As espécies teste apresentaram diferentes respostas em relação ao potencial alelopático entre as vias de liberação de aleloquímicos, contudo, houve uma tendência do efeito alelopático ser maior através da lixiviação das folhas e da decomposição da

serapilheira fresca em relação a exsudação das raízes e a decomposição da serapilheira degradada, o que ocorreu tanto na avaliação interespecífica como na intraespecífica. Esse padrão somente não ocorreu em *P. arrabidae*, em que o efeito alelopático das folhas não diferiu da serapilheira degradada. Devido a pequena variação dos valores de pH entre os extratos aquosos das folhas, serapilheira fresca, serapilheira degradada e raízes, tanto em relação a idade da planta como estação do ano (valores de pH entre 5,0 e 6,5 - Tabela 1), acredita-se que a diferença de acidez entre os extratos não tenha sido o responsável pela diferença no potencial de inibição. Apesar de Batish et al. (2001) ter encontrado maior quantidade de fenóis totais nas folhas em relação a serapilheira fresca, o presente estudo mostrou que, no geral, o potencial alelopático não diferiu entre essas duas vias de liberação de aleloquímicos. Acredita-se que o efeito alelopático tenha ocorrido principalmente devido as altas concentrações de ácido cafeico nas folhas, e de ácido ferúlico e ácido 4-hidroxibenzoico na serapilheira fresca (Zimmermann et al., dados não publicados). Esses compostos fenólicos também foram encontrados em alta concentração nas folhas da espécie exótica *Pinus halepensis*, sendo responsáveis pelo potencial alelopático dessa espécie (Fernandez et al., 2006). Como *C. equisetifolia* produz uma grande quantidade anual de serapilheira (artigo 2), compostos aleloquímicos estão continuamente sendo liberados no ambiente. Em relação a exsudação, outros estudos também mostraram que o potencial alelopático dos extratos das raízes é menor em relação as folhas (Dorning & Cipollini 2006; Naderi & Bijanzadeh 2012). Contudo, a exsudação foi o único mecanismo que causou redução no comprimento das raízes das plântulas de todas as espécies. Esse órgão apresenta altas concentrações de ácido p-cumárico (Zimmermann et al., dados não publicados), composto fenólico que pode causar inibição no crescimento de raízes (Ray & Hastings, 1992). Apesar da exsudação ser um importante processo de liberação direta e indireta de aleloquímicos, é um fenômeno que ainda é pouco estudado (Callaway & Aschehoug 2000; Fernandez et al., 2006). O menor efeito alelopático da serapilheira degradada em relação a serapilheira fresca e as folhas pode ser devido a menor quantidade total de fenóis presente, em decorrência do maior tempo em que este material vegetal está em decomposição no solo (Batish et al., 2001). Os extratos da serapilheira foram os únicos que estimularam o crescimento das raízes das plântulas de duas espécies (*L. sativa* e *S. terebinthifolius*; resultados não mostrados), e isso pode ser devido a menor quantidade de aleloquímicos, que quando presentes em baixa concentração, podem apresentar efeito estimulatório no crescimento das espécies alvo (Rice, 1984).

O uso do GEI e as modificações propostas neste artigo para o seu cálculo são de grande importância para a análise em conjunto das variáveis respostas em estudos de alelopátia, principalmente quando o foco são as plantas exóticas e as novas interações que elas produzem na comunidade introduzida. O uso desse índice em artigos sobre invasão biológica é importante para a comparação do efeito alelopático entre as espécies exóticas e para avaliar se os efeitos inibitórios diferem em relação as espécies testes e as condições ambientais.

CONCLUSÃO

Casuarina equisetifolia apresenta potencial alelopático, que é um dos fatores responsáveis pela baixa regeneração natural nas áreas com invasão dessa espécie. O efeito fitotóxico depende da estação do ano e da parte da planta, mas não ocorre mudanças na produção de aleloquímicos ao longo do processo de invasão entre indivíduos jovens e adultos. Como o efeito alelopático em espécies agrícolas pode diferir das espécies nativas, é necessário que na avaliação do efeito alelopáticos das espécies exóticas também seja utilizado como espécies teste plantas nativas, para entender melhor a dinâmica do processo de regeneração nas áreas invadidas. A avaliação do efeito alelopático em laboratório é importante, mas também sugere-se que estudos sejam realizados em condições de campo, para avaliar as interações entre as espécies exóticas e nativas e na predição do sucesso e do impacto a longo prazo das espécies introduzidas (Zarnetske et al., 2013). Apesar da liberação de compostos alelopáticos ser um fator importante no processo de invasão de *C. equisetifolia*, mais de um mecanismo pode ser responsável pelo sucesso de invasão de uma espécie, como a grande produção de serapilheira.

AGRADECIMENTOS

Ao Jardim Botânico do Rio de Janeiro pelos recursos para realizar a pesquisa e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela bolsa de doutorado da primeira autora. A Fabiano Silva pela sua ajuda na coleta do material no campo, a Ana Paula Cruz, Patrícia A. Villela e Rachel Rosado pela ajuda no laboratório.

Literatura citada

- Apfelbaum, S. I., J. P. Ludwig, and C. E. Ludwig, 1983. Ecological problems associated with disruption of dune vegetation dynamics by *Casuarina equisetifolia* L. at Sand Island, Midway Atoll. *Atoll Research Bulletin* 261: 1-19.
- Araújo, D.S.D. and L.D. Lacerda, 1987. A natureza das restingas. *Ciência Hoje* 6 (33): 42-48.
- Araújo D. S. D., C. F. C. Sá, J. Fontella-Pereira, D. S. Garcia, M. V. Ferreira, R. J. Paixão, S. M. Schneider and V. S. Fonseca-Kruel. 2009. Área de proteção ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia* 60 (1): 67-96.
- Atkinson, N. J. and P. E. Urwin. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 10: 1-21.
- Barbière, E. B. 1984. Cabo Frio e Iguaba Grande, dois microclimas distintos a um curto intervalo espacial. In L. D. Lacerda, D. D. D. Araújo, R. Cerqueira and B. Turcq [eds.]. *Restingas: origem, estrutura, processos*, 3 – 13. CEUFF, Niterói, Brazil.
- Batish, D. R., H. P. Singh and R. K. Kohli. 2001. Vegetation exclusion under *Casuarina equisetifolia* L.: does allelopathy play a role? *Community Ecology* 2: 93-100.
- Callaway, R. M. and E. T. Aschehou. 2000. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521-523.
- Callaway, R. M. and W. M. Ridenour. 2004. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2: 436-443.
- Callaway, R. M., W. M. Ridenour, T. Laboski, T. Weir and J. M. Vivanco. 2005. Natural selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants. *Journal of Ecology* 93: 576–583.
- Carvalho, A. S. R. 2014. Processos de regeneração "via semente" em uma formação arbustiva aberta de restinga da APA de Massambaba. Ph.D. Thesis. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Chu, C, P. E. Mortimer, H. Wang, Y. Wang, X. Liu, S. Yu. 2014. Allelopathic effects of *Eucalyptus* on native and introduced tree species. *Forest Ecology and Management* 323: 79–84.
- Conway, W. C, L. M. Smith and J. F. Bergan. 2002. Potential allelopathic interference by the exotic chinese tallow tree (*Sapium sebiferum*). *The American Midland Naturalist Journal* 148: 43–53.
- Davis, M. A., J. P. Grime and K. Thompson. 2000. Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of Ecology* 88: 528-534.
- Dorning, M. and D. Cipollini. 2006. Leaf and root extracts of the invasive shrub, *Lonicera maackii*, inhibit seed germination of three herbs with no autotoxic effects. *Plant Ecology* 184: 287-296.
- Fernandez, C., B. Lelong, B. Vila, J. P. Mévy, C. Robles, S. Greffs, S. Dupouyet and A. Bousquet-Mélou. 2006. Potential allelopathic effect of *Pinus halepensis* in the secondary succession, an experimental approach. *Chemoecology* 16: 97-105.
- Fernandez, C., S. Voiriot, J. P. Mévy, B. Vila, E. Ormeño, S. Greffs, S. Dupouyet, A and Bousquet-Mélou. 2008. Regeneration failure of *Pinus halepensis* Mill.: the role of autotoxicity and some abiotic environmental parameters. *Forest Ecology and Management* 255(7): 2928-2936.
- Fontes, A. H. N. B. 2013. Invasão biológica de *Casuarina equisetifolia* na Restinga da

- Massambaba: Estrutura, Riqueza e Regeneração. Ph.D. Dissertation, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Gray, D. E., S. G. Pallardy, H. E. Garrett and G. E. Rottinghaus. 2003. Effect of acute drought stress and time of harvest on phytochemistry and dry weight of St. John's wort leaves and flowers. *Planta Medica* 69: 1024-1030.
- Hata, K., H. Kato and N. Kachi. 2009. Community structure of saplings of native woody species under forests dominated by alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, in Chichijima Island. *Ogasawara Research* 34: 33-50.
- Hata, K., H. Kato and N. Kachi. 2010. Litter of an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, inhibits seed germination and initial growth of a native tree on the Ogasawara Islands (subtropical oceanic islands). *Journal of Forest Research* 15: 384-390.
- Hata, K., H. Kato and N. Kachi. 2012. Seedlings of a native shrub can establish under forests dominated by an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, on subtropical oceanic islands. *Journal of Forest Research* 17: 208-212.
- Hedja, M. P., P. Pyšek and V. Jarosík. 2009. Impact of invasive plants on the species richness, diversity and composition of invaded communities. *Journal of Ecology* 97: 393-403.
- Heil, M. and R. M. Bostock. 2002. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. *Annals of Botany* 89: 503-512.
- Inderjit and 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: 261-265.
- Inderjit, T. R. Seastedt, R. M. Callaway, J. L. Pollock and J. Kaur. 2008. Allelopathy and plant invasions: traditional, congeneric, and bio-geographical approaches. *Biological Invasions* 10: 875-890.
- Inderjit; D. A. Wardle, R. Karban and R. M. Callaway. 2011. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution* 26: 655-662.
- I3N Brazil. 2015. Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras, I3N Brasil, Instituto Hórus de desenvolvimento e Conservação Ambiental [online]. Website <http://i3n.institutohorus.org.br> [Acesso 20 Maio 2015].
- John, J. K. M. Sreekumar and P. Rekha. 2007. Allelopathic effects of leaf leachates of multipurpose trees on vegetables. *Allelopathy Journal* 19: 507-516.
- Karban, R. 2007. Experimental clipping of sagebrush inhibits seed germination of neighbours. *Ecological Letters* 10: 791-797.
- Keane, R.M. and M. J. Crawley. 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecology and Evolution* 17: 164-170.
- Labouriau L. G. and A. Pacheco. 1978. On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. *Plant and Cell Physiology* 19: 507-512.
- Liu, Z., S. B. Carpenter, W. J. Bourgeois, Y. Yu, R. J. Constantin, M. J. Falcon and J. C. Adams. 1998. Variations in the secondary metabolite camptothecin in relation to tissue age and season in *Camptotheca acuminata*. *Tree Physiology* 18: 265-270.
- Lorenzo, P., A. Palomera-Pérez, M. J. Reigosa and L. González. 2011. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* Link. on the physiological parameters of native understory species. *Plant Ecology* 212: 403-412.
- Lorenzo, P., E. Pazos-Malvido, M. J. Reigosa and L. González. 2010. Differential responses to allelopathic compounds released by the invasive *Acacia dealbata* Link (Mimosaceae) indicate stimulation of its own seed. *Australian Journal of Botany* 58: 546-553.

- Lotina-Hennsen, B., B. King-Diaz, M. I. Aguilar and M. G. H. Terrones. 2006. Plant secondary metabolites. Targets and mechanisms of allelopathy. *In* M. J. Reigosa, N. Pedrol, L. González [eds.]. *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*, 229-265. Springer, Netherlands.
- Lovett, J. V., M. Y. Ryuntyu and D. L. Liu. 1989. Allelopathy, chemical communication, and plant defense. *Journal of Chemical Ecology* 15: 1193-1202.
- Lur, H.S, C. L. Hsu, C. W. Wu, C. Y. Lee, C. L. Lao, Y. C. Wu, S. J. Chang, C. Y. Wang and M. Kondo. 2009. Changes in temperature, cultivation timing and grain quality of rice in Taiwan in recent years. *Crop, Environment & Bioinformatics* 6: 175–182.
- MacDougall, A. S., B. Gilbert and J. M. Levine. 2009. Plant invasions and the niche. *Journal of Ecology* 97: 609–615.
- Maron J. L. and M. Vilà. 2001. Do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95: 363–73.
- Martins, L. S. T., T. S. Pereira, A. S. R. Carvalho, C. F. Barros and A. C. S. Andrade. 2012. Seed germination of *Pilosocereus arrabidaei* (Cactaceae) from a semiarid region of south-east Brazil. *Plant Species Biology* 27: 191-200.
- Matos I. S. 2014. Crescimento, Sobrevivência e Plasticidade Fenotípica de Plântulas de Espécies de Restinga sob Gradientes Experimentais de Intensidade de Luz e de Disponibilidade Hídrica. Dissertation, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Miller, D. A. 1996. Allelopathy in forage crop systems. *Agronomy Journal* 88 (6): 854–859.
- Muscolo, A. and M. Sidari. 2006. Seasonal fluctuations in soil phenolics of a coniferous forest: effects on seed germination of different coniferous species. *Plant Soil* 284: 305–318.
- Naderi, R. and E. Bijanzadeh. 2012. Allelopathic potential of leaf, stem and root extracts of some Iranian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) growth. *Plant Knowledge Journal* 1(2): 37-40.
- Nakahira, Y. and T. Ohira. 2005. Study on the allelopathy of *Casuarina glauca* and *C. equisetifolia*. *Kyushu Journal of Forest Research* 58: 159-161.
- Oueslati, O., M. Ben-Hammouda, M. H. Ghorbal, M. Guezzah and R. J. Kremer. 2005. Barley Autotoxicity as Influenced by Varietal and Seasonal Variation. *Journal of Agronomy & Crop Science* 191: 249-254.
- Pacheco, M. V., C. S. Silva, T. M. T. Silveira, L. S. Hölbíg, L. S., F. S. Harter and F. A. Villela. 2011. Physiological quality evaluation of the *Schinus terebinthifolius* Raddi seeds. *Revista Brasileira de Sementes* 33: 762-767.
- Parrotta, J.A. 1993. *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. SO-ITF-SM-46. International Institute of Tropical Forestry, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Río Piedras, Puerto Rico.
- Parrotta, J.A. 1999. Productivity, nutrient cycling and succession in single- and mixed-species plantations of *Casuarina equisetifolia*, *Eucalyptus robusta* and *Leucaena leucocephala* in Puerto Rico. *Forest Ecology and Management* 90: 45–77.
- Pedrol, N., L. González and M. J. Reigosa. 2006. Allelopathy and abiotic stress. *In* M. J. Reigosa, N. Pedrol and L. González [eds.]. *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Perry, L., G. Thelen, W. Ridenour, T. Weir and R. Callaway. 2005. Dual role for an allelochemical: (+) catechin from *Centaurea maculosa* root exudates regulates conspecific seedling establishment. *Journal of Ecology* 93: 1126-1135

- Potgieter L. J., D. M. Richardson and J. R. U. Wilson. 2014. *Casuarina*: Biogeography and ecology of an important tree genus in a changing world. *Biological Invasions* 16: 609-633.
- Qi S., Z. Dai, S. Miao, D. Zhai, C. Si, P. Huang, R. Wang and D. Du. 2014. Light limitation and litter of an invasive clonal plant, *Wedelia trilobata*, inhibit its seedling recruitment. *Annals of Botany* 114: 425–433.
- R Core Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ramakrishna, A. and G. A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals in secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6: 1720-1731.
- Ray H. and P. J. Hastings 1992. Ariation within Flax (*Linum usitatissimum*) and Barley (*Hordeum vulgare*) in response to allelopathic chemicals. *Theoretical and Applied Genetics* 84(3): 460-465.
- Reigosa, M., A. S. Gomes, A. G. Ferreira and F. Borghetti. 2013. Allelopathic research in Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 27: 629-646.
- Reigosa, M.J., N. Pedrol, A. M. Sánchez-Moreiras and L. González. 2002. Stress and allelopathy. In M. J. Reigosa and N. Pedrol [eds.] *Allelopathy: from molecules to ecosystems*, 231 - 256. Science Publishers Inc., Plymouth, Inglaterra.
- Reinert F, A. Roberts, J. M. Wilson, L. de Ribas, G. Cardinot and H. Griffiths. 1997. Gradation in nutrient composition and photosynthetic pathways across the restinga vegetation of Brazil. *Botanica Acta* 110:135-142.
- Rejmánek, M. and D. M. Richardson. 2013. Trees and shrubs as invasive alien species – 2013 update of the global database. *Diversity and Distributions* 19: 1093–1094.
- Ribeiro, J. P. N. 2011. Global Effect Index: A New Approach to Analyzing Allelopathy Survey Data. *Weed Science* 59(1): 113-118.
- Rice, E. L. 1984. *Allelopathy*. Academic Press, New York, New York, USA.
- Rocha C. F. D., M. Van Sluys, M. S. Alves and C. E. Jamel. 2007. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian journal of biology* 67(2): 263-273.
- Scarano F. R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90:517-524.
- Sharma, G. P, J. S. Singh and A. S. Raghubanshi. 2005. Plant invasions: emerging trends and future Implications. *Current Science* 88(5): 726-734.
- Silva, E.R., G. B. Overbeck and G. L. G. Soares. 2014. Phytotoxicity of volatiles from fresh and dry leaves of two Asteraceae shrubs: Evaluation of seasonal effects. *South African Journal of Botany* 93:14-18.
- Silva-Luz, C. L. and J. R. Pirani. 2015. Anacardiaceae. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro [online]. Website <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB4401> [Acesso 15 Setembro 2014].
- Singh, H. P., D. R. Batish and R. K. Kohli. 1999. Autotoxicity: Concept, Organisms, and Ecological Significance. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18(6): 757-772.
- Soares, G. L. G. and T. R. Vieira. 2000. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv “grand rapids”) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. *Floresta e Ambiente* 7(1): 180-197.
- Taylor, N., M. R. Santos, J. Larocca and D. Zappi. Cactaceae. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [online]. Website

- <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1643> [Acesso 15 Setembro 2014].
- Thompson, P. A., S. A. Cox and R. H. Sanderson. 1979. Characterization of the Germination Responses to Temperature of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Achenes. *Annals of Botany* 43 (3): 319-334.
- U.S. Research Council. 1984. Casuarinas: nitrogen-fixing trees for adverse sites. National Academy Press, Washington, D. C., Washington, USA.
- van de Voorde, T.F., M. Ruijten, W. H. van der Putten and T. M. Bezemer. 2012. Can the negative plant–soil feedback of *Jacobaea vulgaris* be explained by autotoxicity? *Basic Applied Ecology* 13: 533–541.
- Wu, H., J. Pratley, D. Lemerle, M. Na and D. L. Liu. 2007. Autotoxicity of wheat (*Triticum aestivum* L.) as determined by laboratory bioassays. *Plant Soil* 296: 85-93.
- Zarnetske P. L., T. C. Gouhier, S. D. Hacker, E. W. Seabloom and V. A. Bokil. 2013. Indirect effects and facilitation among native and non-native species promote invasion success along an environmental stress gradient. *Journal of Ecology* 101: 905-915.
- Zenni R. D. and S. R. Ziller. 2011. An overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 34(3): 431-446.
- Zhang, D., J. Zhang, W. Yang, F. Wu. 2010. Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across a range of plantation ages. *Ecological Research* 25: 13-23.
- Zhu, M., M. A. Changming, Y. Wang, L. Zhang, H. Wang, Y. Yuan and K. Du. 2009. Effect of extracts of Chinese pine on its own seed germination and seedling growth. *Frontiers of Agriculture in China* 3(3): 353–358.

Tabela 1: Valores de pH dos extratos aquosos do material vegetal de *Casuarina equisetifolia* coletados durante a estação verão (fevereiro/2014) e inverno (agosto/2014) de indivíduos jovens e adultos na restinga da Massambaba, no Parque Estadual da Costa do Sol (Arraial do Cabo, RJ).

Extrato aquoso	pH	
	Verão	Inverno
água destilada	7,00	7,10
folha jovem	5,38	5,37
folha adulta	5,74	5,53
serapilheira fresca jovem	5,45	6,09
serapilheira fresca adulta	5,93	6,56
serapilheira degrad. jovem	5,08	5,33
serapilheira degrad. adulta	5,48	6,42
raiz jovem	5,25	5,73
raiz adulta	5,28	5,25

Tabela 2: Estatística para Modelos lineares generalizados para o índice de efeito global (GEI) para extratos aquosos de *Casuarina equisetifolia* L. em relação a estação do ano (Est), idade (Id) e parte da planta (PP) em quatro espécies testes. Legenda: verão (V), inverno (I), jovem (J), adulto (A), folhas e ramos (F), serapilheira fresca (SF), serapilheira degradada (SD) e raízes (R). Valores significativos de *p* estão em negrito.

Variável	Estim.	Erro	Valor z	<i>p</i>
<i>L. sativa</i>				
Int:V,A,SD	-0,636	0,096	-6,596	< 0,001
Est: I	0,539	0,109	4,945	< 0,001
Id: J	0,014	0,084	0,162	0,871
PP: SF	-1,441	0,198	-7,277	< 0,001
PP: F	-2,032	0,255	-7,984	< 0,001
PP: R	-0,201	0,129	-1,56	0,119
I X SF	-0,858	0,295	-2,904	0,004
I X F	-0,535	0,355	-1,506	0,132
I X R	-4,076	0,58	-7,025	< 0,001
<i>C. equisetifolia</i>				
Int:V,A,SD	-1,097	0,116	-9,435	< 0,001
Est: I	0,185	0,145	1,281	0,200
Id: J	0,091	0,087	1,046	0,295
PP: SF	-1,036	0,209	-4,959	< 0,001
PP: F	-1,004	0,206	-4,862	< 0,001
PP: R	0,212	0,144	1,476	0,139
I X SF	0,435	0,265	1,639	0,101
I X F	0,067	0,276	0,243	0,808
I X R	-0,727	0,215	-3,39	< 0,001
<i>P. arrabidaea</i>				
Int:V,A,SD	-1,392	0,111	-12,565	< 0,001
Est: I	0,046	0,089	0,514	0,601
Id: J	-0,137	0,091	-1,526	0,127
PP: SF	-0,428	0,146	-2,93	0,003
PP: F	-0,033	0,131	-0,252	0,801
PP: R	0,431	0,118	3,656	< 0,001
<i>S. terebinthifolius</i>				
Int:V,A,SD	-1,027	0,101	-10,136	< 0,001
Est: I	0,586	0,074	7,887	< 0,001
Id: J	0,256	0,119	2,152	0,03
PP: SF	-0,583	0,149	-3,903	< 0,001
PP: F	-0,569	0,148	-3,825	< 0,001
PP: R	-0,015	0,127	-0,122	0,903
J X SF	-0,115	0,202	-0,57	0,569
J X F	-0,257	0,206	-1,25	0,211
J X R	-0,621	0,184	-3,369	< 0,001

ARTICLE 5: Seed dispersal and regeneration of invasive alien and native woody species in invaded and uninvaded areas on sandy coastal plains*

Thalita G. Zimmermann^{a,**}, Antonio C. S. Andrade^a, David M. Richardson^b

^aLaboratório de Sementes, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Pacheco Leão Street, 915, Jardim Botânico, 22460-030, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

^bCentre for Invasion Biology, Department of Botany and Zoology, Stellenbosch University, Matieland, 7602, South Africa.

**Corresponding author. E-mail address: thalitagabriella@gmail.com (T.G. Zimmermann).

ABSTRACT

Sandy coastal plains (called *restinga* in Brazil) are ecosystems with multiple stressful conditions. The *restinga* was used as a model system to test the factors that potentially limit the initial establishment of alien and native woody plants in invaded and non-invaded areas. Despite the importance of biodiversity conservation in invaded ecosystems, little attention has been given to investigating the interplay between invasion of alien species and re-colonization of native species. The study tested the influence of three environmental factors expected to be key determinants of early seedling recruitment: light availability, soil quality and litter layer. We evaluated (i) seed dispersal, (ii) seedling emergence and seedling establishment, (iii) young plants survival and growth of an alien tree (*Casuarina equisetifolia*) and two native shrubs (*Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia*) in a stand of invasive *C. equisetifolia* and inside vegetation patches in the *restinga*, using experimental manipulations of litter. In a greenhouse we tested the effect of soil quality and the physical and allelopathic effects of *C. equisetifolia* litter on seedling emergence of the three species. Although seed dispersal of the alien species occurred in the non-invaded *restinga*, there was hardly any seedling emergence or survival of young plants. *Casuarina equisetifolia* is sensitive to both drought and shade, and abiotic stresses in the form of light and water are among the main mediators of the low invasibility of the *restinga*. The main cause of low recruitment of the native species under the *Casuarina* stands is not the lack of seed dispersal, the low light conditions or soil quality, but rather the amount of litter accumulated. Litter layer had a greater physical than chemical effect on seed germination. However, if seeds can overcome barriers imposed by the litter layer, the likelihood of seedling emergence improves, as does young plant survival, mainly because of the increased soil moisture. Anthropogenic disturbances are providing opportunities for invasion by altering the key processes that naturally make *restinga* resistant to invasion. Thus, one of the best ways of hampering invasion of *C. equisetifolia* in the *restinga* is to conserve the remaining fragments. As eradication of invasive plants is difficult, a key intervention should be to improve the persistence of native plant species in the invaded areas by sowing seeds below the litter and planting young plants of native shrubs with litter.

Keywords: biological invasions, *Casuarina equisetifolia*, litter, soil, tree invasions.

1. Introduction

Factors affecting seed dispersal and seedling establishment are crucial mediators of plant invasions (Lockwood et al., 2005; Colautti et al., 2006; Warren et al., 2012). Increased propagule pressure (more seeds, in total number and over time) enhances the probability of effective dispersal and spread of alien species in the introduced range (Richardson, 2006). However, biotic and abiotic barriers often limit the establishment success of an alien plant in a new environment (Lonsdale, 1999; Levine et al., 2004). Alien species can only invade if seeds (or other propagules) reach suitable habitat, germinate and plant establish (Coutts et al., 2011). Knowledge of the factors that limit or promote seed germination, seedling survival and growth is therefore essential for determining potential areas of invasion (McAlpine and Jesson, 2008; Dechoum et al., 2015). Nonetheless, seed and establishment limitation are usually investigated separately (Warren et al., 2012). This hampers our ability to understand interactions between these potential barriers or enhancements to the invasion process.

When an alien species invades a new habitat, it often modifies abiotic factors, such as light availability, soil parameters and litter layer, which can restrict recruitment of the native vegetation through germination or seedling suppression (Eckstein and Donath, 2005; de la Penã et al., 2010; Novoa et al., 2012). Some alien species can release allelopathic substances and affect the chemicals of the soil, which may limit the establishment of native species (Bais et al., 2003; Inderjit et al., 2008). Soil moisture is also a critical variable in plant survival, as desiccation is an important cause of seedling mortality (Engelbrecht et al., 2006; Warren et al., 2013). Plant litter is another key factor in the recruitment, and may have positive or negative effects during the early life-cycle stages of the plants (Facelli and Pickett, 1991; Xiong and Nilsson, 1999). Litter usually decreases the amplitude of fluctuations in soil temperature and evaporation, thus increasing soil moisture and enhancing conditions for seed germination and seedling establishment (Eckstein and Donath, 2005; Hovstad and Ohlson, 2008). On the other hand, litter can have negative physical and/or chemical effects on seeds and seedlings (Facelli and Pickett, 1991; Hovstad and Ohlson, 2008; Inderjit et al., 2011; Loydi et al., 2015), in which physical are generally stronger than chemical effects (Xiong and Nilsson, 1999; Rotundo and Aguiar, 2005; Hovstad and Ohlson, 2008). Thus, an improved knowledge of the interactions between invasion of alien plants and changes in soil and litter composition is important for mitigating impacts of invasions.

To help implement effective recovery efforts in the invaded areas a better understanding of the factors that limit establishment of native species is required (Ens and French, 2008; Fuentes-Ramírez et al., 2011). For example, if seed dispersal of native plants is limited in the invaded area, seed addition may be required to ensure the persistence of certain native components. If seedling emergence is the most vulnerable stage, planting of young plants might be more effective than sowing seeds. Nevertheless, little is known about the potential for re-colonization of native species into invaded stands (Holmes and Richardson, 1999; Fuentes-Ramírez et al., 2011). Although both are important for conservation of the ecosystems, little attention has been given to the concomitant interplay between invasion of alien species and native re-colonization (Emer and Fonseca, 2011; Fuentes-Ramírez et al., 2011), mainly in stressful environments.

Sandy coastal plains are ecosystems with multiple stressful conditions (e.g. high solar radiation, drought, high temperatures and salinity, Reinert et al., 1997). A type of vegetation called *restinga* (*sensu* Araújo, 1992) occurs in sandy plains along the Brazilian coast. Some restingas have a patchy structure, which is denominated open scrub vegetation. In many parts of the world, extensive areas of sandy coastal plains are covered by open scrub vegetation that may lie behind the coastal thicket or farther inland (Araújo and Pereira 2002). Open scrub vegetation presents two distinct microsites: patches (supporting high species diversity and abundance) and open areas (usually covered by low herbaceous species diversity) (Araújo and Pereira, 2002; Correia et al., 2010). Patches provide higher water supply and lower irradiance and temperature in relation to open areas (Pugnaire et al., 2004; Gómez-Aparicio et al., 2005). However, shady conditions inside patches can have negative effects on plant recruitment by reduction of photosynthesis rate (Callaway and Walker, 1997; Hastwell and Facelli, 2003). The restinga supports several rare, endemic and threatened species (Araújo and Pereira, 2002; Rocha et al., 2007; Scarano, 2009). This ecosystem is subject to high levels of degradation (Araújo and Pereira, 2002; Rocha et al., 2007) caused mainly by vegetation removal for housing development and invasion of alien plant species, such as *Casuarina equisetifolia* L. (Rocha et al., 2007). As many low-resource environments have high species and functional diversity, a better understanding of invasion dynamics in these systems is crucial in order to conserve and restore native biodiversity (Funk, 2013).

Casuarina equisetifolia is one of the most widespread invasive alien trees around the world (Rejmánek and Richardson, 2013). The species is native to the east coast of Australia and Southeast Asia and it has been planted in several coastal regions in many parts of the world (Morton, 1980; Parrotta, 1993). Low recruitment of native species beneath *Casuarina* stands may be due to the lack of seed dispersal (Hata et al., 2009) and/or inhibition of germination and seedling establishment due to the thick litter accumulation of this tree (Parrotta, 1995; 1999; Hata et al., 2009; 2010a, 2010b). However, the main causes of low natural regeneration in areas invaded by this alien species on sandy coastal plains are not known. The invasion ecology of *C. equisetifolia* in the Brazilian restingas thus provides a good model system to elucidate as environmental factors can limit the invasion of an alien species and the potential for re-colonization of native plants in invaded areas, both from seed dispersal to young plant survival.

The study tested the influence of three environmental factors expected to be key determinants of early seedling recruitment: light availability, soil quality and litter layer. We evaluated: (i) seed dispersal, (ii) seedling emergence and seedling establishment, (iii) young plants survival and growth of an alien tree (*C. equisetifolia*) and two native shrubs (*Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia*) in an invasive stand of *Casuarina* and inside vegetation patches in the restinga, using experimental manipulations of litter. In open area of the restinga were only sown seeds and planted young plants of *C. equisetifolia*, because it is known that regeneration of *C. hilariana* and *M. obtusifolia* is restricted to sites inside patches (Matos, 2014). We also undertook a greenhouse experiment to assess how differences in soil quality and physical and allelopathic properties of litter affected seedling emergence for the three species. The following hypotheses were examined: (i) *C. equisetifolia* exhibit higher levels of seed dispersal, emergence, survival and growth capacity under its own canopy than in uninvaded restinga; (ii) seed dispersal and recruitment by native shrubs are only successful inside vegetation patches; (iii) soil under the *Casuarina* stands may have chemical substances that limit the establishment of native species; (vi) litter layer of *C. equisetifolia* decrease rates of recruitment of native plants, and litter physical effects are stronger than chemical effects.

2. Materials and methods

2.1. Study species

Casuarina equisetifolia L. (Casuarinaceae) (Australian pine or coastal she-oak) is a fast-growing, evergreen tree that attains a height of 10-40 m. The species is wind-pollinated and reproduction is mainly by seeds (Morton, 1980; Apfelbaum, 1983), but it can also propagate vegetatively (Rentería, 2007). Seeds consist mostly of a membranous samara, have a mass of 0.0075 ± 0.0012 g (T.G. Zimmermann et al., unpublished data) and are enclosed within a nut borne in a 4-5 mm long cone (Whistler and Elevitch, 2006). Production of seeds is large (Apfelbaum, 1983) and dispersal is mainly by wind (Morton, 1980), but can also occur by water (Rentería, 2007). It forms a permanent seed bank, with a predicted seed viability of 50 months (T.G. Zimmermann et al., unpublished data). The species is naturalized in at least 32 countries (Potgieter et al., 2014) and it has become invasive in the Americas, Asia, the Middle East, southern Africa and on many islands (Rejmánek and Richardson, 2013). In Brazil, *C. equisetifolia* is widely naturalized (Zenni and Ziller, 2011; Potgieter et al., 2014). Given the widespread planting and the large extent of climatically suitable areas, there is a large invasion debt (sensu Rouget et al., 2016); further naturalizations and invasions are inevitable in the future.

Clusia hilariana Schlttdl. (Clusiaceae) is a shade-tolerant evergreen native shrub (Matos, 2014). It occurs in the Atlantic Forest in Brazil, between the states of Pernambuco and Rio de Janeiro (Bittrich et al., 2015). In the restingas the species can attain a height of 8 m (Dias et al., 2006). The species is an important component of some woody vegetation patches in the restingas; it is a key nurse plant, providing safe germination sites for other plant species (Scarano, 2002; Dias et al., 2006). It is a dioecious species and fruit production occurs from January to May (Faria et al., 2006). Fruits are globular capsules rich in lipids (Barroso et al., 1999). Seeds have a mass of 0.05 ± 0.01 g (Matos, 2014), a thin coat (Braz and de Mattos, 2010), an orange aril (Cavalcante et al., 2010) and are dispersed by birds (Gomes, 2006). The species has obligate CAM-photosynthesis (Franco et al., 1996), which may favor seedling survival during periods of water shortage (Cavalcante et al., 2010).

Maytenus obtusifolia Mart. (Celastraceae) is a shade-tolerant evergreen native shrub (Matos, 2014) that occurs in several states of northeastern and southeastern Brazil (Lombardi et al., 2015). The species is abundant in the southeastern restinga and attains a height less than 5 m (Benevides et al., 2013). In the restinga of Massambaba it is one

of the most common species in the patchy shrub vegetation (Araújo et al., 2009). Individuals can be dioecious or hermaphrodites (Benevides et al., 2013). Fruit production is mostly between January and April (T.G. Zimmermann, per. obs.). The fruit is a capsule, it is red when ripe and opens into two valves. It has 1 to 3 seeds surrounded by a white pulp. Seeds have fresh mass of 0.06 g (\pm 0.01 g; Matos, 2014) and are dispersed by birds.

2.2. Study area

The study site is located in the restinga of Massambaba, which forms part of the Costa do Sol State Park (22° 58'S, 42° 01'W, sea level), in Arraial do Cabo, state of Rio de Janeiro, Brazil. The Massambaba sandy plains are located between the Atlantic Ocean and the Araruama lagoon, the largest hypersaline lagoon in the world. This region is characterized by a hot, semiarid climate, with 800 mm of annual precipitation, occurring predominantly during summer (November to February) (Barbière, 1984). Annual precipitation in 2014 and 2015 in Arraial do Cabo was 718 and 577 mm, respectively, with minimal rainfall in January 2015 (0.2 mm) and maximum rainfall in April 2014 (193 mm) (Fig. A.1, Appendix A in Supplementary data). Periods of low soil water potential are very common in the restinga throughout the year, due to low capacity for water retention of sandy soil and the occurrence of dry spells during rainy season (Cavalin and de Mattos, 2007). Mean annual temperature in the restinga of Massambaba is 25° C, with minimum and maximum temperatures of 12° and 36°C, respectively (Scarano, 2002).

Most individuals of *C. equisetifolia* in the Costa do Sol State Park were planted close to Araruama Lagoon. Naturalized populations of the species are mainly close to this lagoon, in degraded areas and in abandoned salines. The study area is 25.1 ha in extent and has one of the largest *Casuarina* stands (2.2 ha) adjoining an uninvaded restinga (22.9 ha) in the park. The *C. equisetifolia* stand has 0.31 ind/m² (3.048 ind/ha), height of 7.27 m \pm 3.86 m and DBH of 5.77 \pm 5.18 (n=450; T.G. Zimmermann et al., unpublished data). Data on photosynthetic photon-flux density (PPFD%) and red/far-red light ratio (R:FR; mol.mol⁻¹) under the *C. equisetifolia* stands were measured at 20 points, separated by 20 m. Values of PPFD% were 68.5 \pm 11.2% and R:FR were 1.05 \pm 0.10 mol.mol⁻¹. Inside patches values of PPFD% were 0.7 \pm 0.6% and R:FR were 0.29 \pm 0.05 mol.mol⁻¹ (Matos, 2014). Values of PPFD% were calculated by taking as reference

the mean full sunlight (100% PPFD = 2305.3 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). All measurements were made at midday, on sunny cloud-free days with a radiometer SKR-100 linked to a SpectroSense 2 SKL 904 (Skye Instruments, Llandrindod Wells, UK).

2.3. Seed collection and seed viability

Seeds of *C. equisetifolia* and two native species were collected between February and March 2013 from at least 10 plants. Minimum distance between matrices was 10 m. Seeds were removed from the fruit in the laboratory and were then stored in sealed plastic bags at 10°C. Initial seed viability was determined by placing six replicates of 50 seeds on two moist filter papers in Gerbox. Seeds were incubated in a germination chamber at 25°C (*C. hilariana* and *M. obtusifolia*) or 30°C (*C. equisetifolia*), at 8/16 hours photoperiod. Germination was recorded and distilled water was added every three days. Final germination was $74.2 \pm 7.4\%$ for *C. equisetifolia*, $80.8 \pm 8.8\%$ for *C. hilariana* and $88.4 \pm 7.6\%$ for *M. obtusifolia*.

2.4. Field experiments

Experiments were conducted to evaluate (i) seed dispersal, (ii) seedling emergence and seedling establishment, (iii) young plant survival and growth for three species in an area invaded by *Casuarina* and in vegetation patches in the restinga. For *C. equisetifolia* seeds were also sown and young plants were planted in open areas in the restinga.

2.4.1. Seed dispersal

Twenty seed traps were placed in each vegetation type to estimate annual seed rain. Beneath *Casuarina* canopies the traps were set 20 m apart and inside patches they were separated by 50 m. The difference in the distance between seed traps for each vegetation type was due to different size of each environment (*Casuarina* stand = 2.2 ha; restinga = 22.9 ha). Seed traps were made from two wooded stakes of 0.5 m long, joined by a metal clamp with a diameter of 0.8 m and surface area of 0.5 m². A white cloth with 0.1 mm mesh was fixed inside the seed trap using an elastic band at the metal clamp. A stone was placed in the center of the cloth to prevent seeds from being blown

out of the trap. The two vegetation types were visited once a month between April 2013 and March 2014. During each visit, cloths were collected and replaced. The collected seeds of the alien species and the two native plants were separated and counted in the laboratory.

2.4.2. Seedling emergence and establishment

Six plots of 2 x 2 m were established in each vegetation type. Under the *Casuarina* stand the minimum distance between plots was 20 m. In the restinga, each plot was inside a patchy with *C. hilariana* as a dominant species, with a minimum distance of 50 m between patches. Minimum size of patches was 6 X 6 m. Three parallel transects were laid out in each plot and seeds of one species were sown in each transect. For each transect three 0.2 x 0.2 m subplots (hereafter the seed sub-plots) were established, separated by 0.2 m. Each seed sub-plot was surrounded with 1 mm² pore screen mesh, fixed with four metal wires, to prevent seed predation by animals and seed removal by wind. To evaluate effects of litter on seedling emergence, each seed subplot was subjected to a different treatment of seed sowing: (i) above, (ii) below and (iii) without litter layer. Fifty seeds of each species were sown in each seed subplot (50 seeds x 3 seed subplot x 6 plots = 900 seeds/species/vegetation type). The depth of the litter layer was 4 cm. The mean litter depth was measured at 20 random points (Mean = 4.53 ± 2.20 cm). As controls, we established two seed subplots (0.2 x 0.2 m), with and without litter. These were needed to verify the contribution of the seed bank to seedling emergence. These were not included in analyses as they were only used to assess potential site and treatment contamination. In the open area we sowed only *C. equisetifolia* seeds without litter. After sowing, each seed subplot was irrigated with 200 ml of water. Sowing seeds were carried out in March 2014, following the natural seed dispersal events for the three species. Seedling emergence was defined by the shoot emergence. Emergence was recorded monthly as the number of seedlings appearing in the first four months (until July 2014), when emergence had ceased. Emergence proportion P(Em) was defined as the total number of emerged seedling, divided by the total number of seeds initially disposed in each seed subplot (i.e. 50 seeds). Seedling establishment P(Es) was defined as the total number of seedlings that survived after 24 months of sowing (February 2016), divided by the total number of emerged seedling. Finally, to verify the recruitment proportion P(R), we multiplied the proportion of

emerged seedling with the proportion of established seedlings (Guerrero and Bustamante, 2007).

2.4.3. *Young plant survival and growth*

Between March and April 2013 seeds were incubated in a germination chamber at 25°C (*C. hilariana* and *M. obtusifolia*) or 30°C (*C. equisetifolia*), at 8/16 hours photoperiod. In May 2013 seedlings were transferred to the greenhouse of the Botanical Garden of Rio de Janeiro. In December 2013 young plants were transplanted to the field. In each vegetation type were established six plots, 4 m x 3 m in size. The minimum distance between plots in the *Casuarina* stand was 20 m. In the restinga, plots were inside the same patches as were used for the sowing of seeds. Inside each plot, six parallel transects, separated by 0.5 m, were established. Thirty young plants were planted in each plot, 10 of each species - five young plants of one species along each transect. To evaluate the effects of litter removal on young plants survival and growth, half of the young plants were planted with and half without litter layer (4 cm thick). Sixty young plants of each species were planted in each vegetation type. Only young plants of *C. equisetifolia* (n=30) were planted in open areas, without litter. A total of 390 young plants were planted (30 young plants × 3 species × 2 conditions of litter × 2 vegetation types + 30 young plants of *C. equisetifolia* in the open area = 390). Young plants were separated by 50 cm to avoid direct effects of competition. All young plants were labeled on the day of planting and were recorded height. The number of leaves was not counted for *C. equisetifolia* as the leaves are too small to be easily counted. After planting, each young plant was irrigated with 100 ml of water. The survival of young plants was monitored monthly over 15 months and the final evaluation was done after 24 months (December 2015). At the end of the first (December 2014) and the second years (December 2015) the heights and number of leaves of each living young plant was noted.

2.5. *Greenhouse experiments*

To evaluate the effects of soil quality and physical and allelopathic properties of litter on emergence of seedlings of the three species, an experiment was conducted in

the greenhouse of the Botanical Garden of Rio de Janeiro, between March and June 2013.

Soil samples and litter were collected in March 2013. Soil samples were collected under the *Casuarina* stand and inside vegetation patches in the restinga. In the *Casuarina* stand six random sites (0.5 X 0.5 m) were selected near a *C. equisetifolia* individual to collect sandy soil. In the restinga, soil samples were taken from sites (0.5 X 0.5 m) inside the patches where seeds had been sown and young plants planted. Litter was removed prior to soil collection. Soil samples were taken from the top 10 cm at each point. Half the amount of soil collected in *Casuarina* stand was sterilized by autoclaving (1.0 KgF/cm² and 120 °C) to remove any secondary metabolites. To test the soil quality, seeds were sown in the: (i) *Casuarina* stand soil, (ii) sterilized *Casuarina* stand soil and (iii) soil from patches. Seeds were buried at a depth of 2 cm in the soil.

Casuarina equisetifolia litter was also collected at six random points. Litter was mixed and air dried before the experiment. To test the physical effect of litter, seeds were buried in vermiculite and covered with litter (below-litter treatment) or placed above the litter layer (above-litter treatment). To determine the chemical effect of litter, seeds were buried in vermiculite and covered by plastic fibers (below plastic fiber treatment). Plastic fibers were of similar size and shape to *C. equisetifolia* litter. Because plastic does not produce allelopathic compounds (cf. Facelli and Pickett, 1991), any negative effect in seedling emergence in both litter and plastic fibers are attributable to physical effect. Chemical effect, such as release of allelopathic substances from litter, would increase emergence under plastic. The thickness of litter layer and plastic fibers applied was 4 cm (70g/0,023m² for litter and 62g/0,023m² for plastic fibers). As control, seeds were buried in vermiculite.

Treatments consisted of 25 seeds of each species sown into pots (0,023m², with 0.17 m in length, 0.13 m in width and 0.11 m in height), arranged in five blocks (replicates). Treatments were assigned randomly to pots within each block (randomized block design). Each pot was filled with 4 cm (750 ml) of soil or vermiculite. Substrate moisture was monitored weekly from three soil samples per treatment, as gravimetric moisture content (103°C/24h). Experimental pots were watered once or twice a week. Seedling emergence (shoot emergence) was recorded every week for 3 months.

2.6. Data analysis

To test differences between seed dispersal of the three species in relation to vegetation type (*Casuarina* stand and vegetation patches) were used the Mann–Whitney U test, as the Shapiro-Wilk test revealed that the data did not conform with expectations of normality.

Generalized linear mixed models (GLMM) for nested data were used to evaluate the seedling emergence and establishment in the field. The response variable was the proportion of seedling emergence after four months and seedling establishment after 24 months. The Binomial distribution was assumed for the response variable and the logit function for the relationship between the response and explanatory variables. The explanatory variables vegetation type (*Casuarina* stand and patches) and seed sowing position (above, below and without litter), and the interaction between these factors, were initially considered fixed effects. As the variables were highly correlated, the inclusion or exclusion of fixed effects for each species was based on Akaike Information Criterion values calculated using maximum likelihood. Seed subplots were spatially dependent, whereas plots were considered replicates of each vegetation type and inserted into the model as a random effect. The GLMMs were performed with random intercepts and slopes. The mixed model was fitted using maximum likelihood and adaptive Gauss–Hermite quadrature to the deviance.

For the young plants analysis, the Kaplan Meier product limit method was used to estimate the survival function, and the Log-rank test was used to test for significant differences in survival curves among treatments. Cox regression was used to evaluate the effects of vegetation type, presence of litter and their interactions on probability of the death of young plants.

To evaluate the annual growth of young plants were used a dependent samples t-test taken between the difference in height and number of leaves at the end of the first year and at the beginning of the experiment (Δ height or number of leaves year one = time 12 months - time 0 month), and at the end of the second year and at the end of the first year (Δ height or number of leaves year two = time 24 months - time 12 months) for each surveyed young plant.

In the greenhouse, the differences in soil quality and effect of litter in the emergence percentage and emergence rate were tested using a factorial ANOVA, followed by a post-hoc Tukey's test ($p < 0.05$). Before performing ANOVA, data were analyzed for normality using the Kolmogorov–Smirnov test and for homogeneity of variance using the Levene's test. For data that did not show normality and/or variance

homogeneity, emergence percentage was arcsine $\sqrt{}$ transformed and germination rate transformed to $\log(x+1)$ (Zar, 1999).

All statistical analyses and figures were done with R version 3.0.3 (R Development Core Team 2014), using the 'lme4' package for GLMM, 'survival' package for survival analysis and 'stats' for Mann–Whitney U test, ANOVA and t-test.

3. Results

3.1. Seed dispersal

Seed dispersal of *Casuarina equisetifolia* occurred year-round, with the highest number of dispersed seeds in February and March. For *C. hilariana*, the highest seed dispersal occurred in December and March, and for *M. obtusifolia* most seed dispersal took place between January and February (Fig. 1). The average number of *C. equisetifolia* seeds dispersed over a year was higher under the *Casuarina* stand than inside patches ($U < 0.001$; $p < 0.001$). In relation to the native species, the average number of *C. hilariana* dispersed seeds was higher inside the patches ($U = 35$, $p = 0.03$), but for *M. obtusifolia* there was no significant difference in the average number of seeds dispersed between *Casuarina* stand and inside vegetation patches ($U = 65$, $p = 0.71$) (Table 1).

3.2. Seedling emergence and establishment

There was no significant difference on seedling emergence between the two vegetation types for the three species. There was virtually no seedling emergence (P(Em)) of *C. equisetifolia*; only one seedling emerged in each vegetation type, and these all died after one month. For the two native species, the position of seed sowing had a significant effect on emergence, with most emergence occurring for seeds sown below litter, and there was no difference between the treatments above- and without-litter treatments. For *C. hilariana*, seedling emergence occurred in the *Casuarina* stand only for seeds sown below litter, and inside the patches only for seeds sown below- and above-litter, but all seedlings died within 12 months. *Maytenus obtusifolia* was the species with the highest emergence. The interaction between vegetation and seed sowing position were only significant for emergence of *M. obtusifolia*, for which

the highest value was in the *Casuarina* stand below litter (Table 2 and 3). No seedlings emerged from the control seed subplots.

The probability of a seed becoming an established seedling was zero for *C. equisetifolia* and *C. hilariana* in both vegetation types within one year. *Maytenus obtusifolia* was the only species of which seedlings survived after 24 months, and the values of recruitment proportion (P(R)) ranged between 0.02 (± 0.00) and 0.19 (± 0.16) (Table 2). There was no effect of the vegetation type and litter on the establishment of the *M. obtusifolia* seedlings (Table 3).

3.3. Young plant survival and growth

The highest survival probability of young plants of *C. equisetifolia* was under the *Casuarina* stand. All plants died inside patches and open area in less than 13 months (Fig. 2a). The risk of *C. equisetifolia* death inside patches was 32 times and in open area 30 times higher than under the *Casuarina* stand (Hazard Ratio = 32.31, Wald's p value < 0.001; Hazard Ratio = 30.37, Wald's p value < 0.001, respectively). There was no significant influence of litter in the survival of *C. equisetifolia* (Hazard Ratio = 1.44, Wald's p value = 0.23).

The probability of survival of young plants of *C. hilariana* was significantly lower under the *Casuarina* stand without litter than under other conditions (Fig. 2b). There was no significant difference between survival rates of *C. hilariana* in relation to the vegetation type (Hazard Ratio = 0.28 Wald's p value = 0.60). Litter layer had no significant influence on *C. hilariana* survival inside patches (Hazard Ratio = 1.78, Wald's p value = 0.18), but, the probability of death was almost seven times higher without litter than with litter under the *Casuarina* stand (Hazard Ratio = 6.86, Wald's p value = 0.009).

Likewise, the lowest survival rate of young plants of *M. obtusifolia* occurred under the *Casuarina* stand without litter (Fig. 2c). The risk of *M. obtusifolia* death was ten times higher under the *Casuarina* stand than inside patches (Hazard Ratio = 10.1, Wald's p value = 0.001). There was no significant difference on survival rates in relation to the presence of litter inside patches (Hazard Ratio = 1.31, Wald's p value = 0.25). However, under the *Casuarina* stand the probability of death of *M. obtusifolia* without litter was five times higher than with the presence of litter layer (Hazard Ratio = 5.32, Wald's p value = 0.02).

After 24 months under the *Casuarina* stand, the highest survival probability was for *C. equisetifolia* (42%). There was no significant difference between survival rates of the two native species (18.0% for *C. hilariana* and 25% for *M. obtusifolia*; Fig. A.2a). The risk of death under the *Casuarina* stand was almost 13 times higher without litter than with litter (Hazard Ratio = 12.71, Wald's p value < 0.001) after 24 months (Fig. A.2b). On the other hand, after 24 months inside vegetation patches, *M. obtusifolia* was the species with the highest probability of survival (43.3%), followed by *C. hilariana* (6.0%); there was zero survival for *C. equisetifolia* (Fig. A.2c). There was no significant difference between survival rates with and without a litter layer (Hazard Ratio = 1.43, Wald's p value = 0.23) after 24 months inside patches (Fig. A.2d). After two years, 34.2% of young plants of *M. obtusifolia* remained alive. For *C. hilariana* and *C. equisetifolia*, only 12.0% and 19.1% of young plants survived, respectively. The overall survival rate after 24 months under the *Casuarina* stand was 25.2% and 17.5% inside patches.

At the beginning of the experiment the plant height was 12.58 ± 2.05 cm for *C. equisetifolia*, 9.42 ± 2.06 cm for *C. hilariana* and 11.57 ± 1.31 cm for *M. obtusifolia*. Height increment of *C. equisetifolia* was significant under the *Casuarina* stand with presence and absence of litter in the first ($t = -9.11$; $p < 0.001$, $t = -8.10$; $p < 0.001$, respectively) and in the second year ($t = -3.74$; $p = 0.003$, $t = -2.65$; $p = 0.04$, respectively), but in the first year the height increment was higher than in the second year ($t = 7.74$; $p < 0.001$). Height growth of *C. hilariana* was significantly inside patches with and without litter ($t = -2.48$; $p = 0.04$ and $t = -3.71$; $p = 0.006$, respectively), and under the *Casuarina* stand with litter ($t = -2.29$; $p = 0.03$) in the first year. In the second year, the increment in height of *C. hilariana* was significant only under the *Casuarina* stand ($t = -2.69$; $p = 0.009$). *Maytenus obtusifolia* grew significantly in height only inside patches with litter ($t = -2.70$; $p = 0.02$) in the first year (Fig. 3).

The number of leaves at the beginning of the experiment was 9.02 ± 2.14 for *C. hilariana* and 12.33 ± 1.48 for *M. obtusifolia*. The number of leaves for *C. hilariana* decreased significantly inside patches with presence and absence of litter ($t = 6.79$; $p = 0.006$ and $t = 3.22$; $p = 0.01$, respectively), and under the *Casuarina* stand with litter ($t = 2.25$; $p = 0.048$) in the first year. In the second year, *C. hilariana* had a significant increase in the number of leaves only under the *Casuarina* stand with litter ($t = -3.64$; $p = 0.008$). *Maytenus obtusifolia* did not increase in number of leaves, and had a

significant decrease inside patches without litter ($t = 4.19$; $p < 0.001$) in the first year (Fig. 4).

3.4. Greenhouse experiments

There was no significant variation in percentage emergence for the three species in relation to soil quality. However, emergence rate was significantly higher in soil from patches than in soil collected from the *Casuarina* stand (for both sterilized and non-sterilized treatments). The highest moisture content was also in soil from patches (Table 4).

Emergence of *C. equisetifolia* was influenced by the seed sowing position in the litter. The highest seedling emergence was in the control. Emergence percentage and emergence rate was significantly lower below plastic fibers than below litter layer. For *C. hilariana* and *M. obtusifolia* the presence and type of litter layer did not significantly affect the emergence percentage. Litter significantly reduced emergence rate compared to the control treatment, and *Casuarina* litter and plastic fiber had similar effects for the two native species. No seedlings emerged from the seeds sown above litter. The moisture content in the control treatment was lower than in the two types of litter. There was no significant difference in moisture content between *C. equisetifolia* litter and plastic fibers (Table 4).

4. Discussion

The restinga has been exposed to propagule pressure from stands of *C. equisetifolia*, but there was hardly any seedling emergence and young plants did not survive. Although this species is highly invasive in many parts of the world (Rejmánek and Richardson, 2013), the preserved fragments of restinga have, until now, resisted the invasion of this alien plant. This suggests that in ecosystem characterized by multiple stressful conditions, abiotic factors are controlling the resistance to invasion (Zefferman et al., 2015). In relation to the re-colonization of native species, both the lack of seed dispersal and the soil quality are not the responsible of low regeneration under the *Casuarina* stands. The depth of *C. equisetifolia* litter appears to be the main factor limiting the seedling emergence. After plant establishment, however, litter increased young plants survival, improving the recovery of the invaded stand (Fig. 5).

Presence of litter had a more important role than the differences in light availability between the invaded and uninvaded restinga on seedling emergence of the native species. This is in contrast to results from a subtropical island where the difference in the numbers of emerged seedlings of a native shrub between a *C. equisetifolia* forest and a native forest could be explained by the forest type rather than the presence of litter (Hata et al., 2010a). In ecosystems with dry conditions, as the restinga, litter layer can improve soil moisture, which may increase seed germination (Xiong and Nilsson, 1999; Warren et al., 2012). As there was no differences between seedling emergence below plastic fibers and real litter, the negative effect of *C. equisetifolia* litter on seedling emergence must be physical rather than chemical; this agrees with results from other studies (Rotundo and Aguiar, 2005; Hovstad and Ohlson, 2008). Differently of the seeds sown below litter, seedling emergence of the native species rarely occurred for those seeds that were sown on top of the litter in the field and in the greenhouse. Litter keeps the seeds from reaching the soil surface, acting as a physical barrier to dispersing seeds and limit seedling establishment (West et al., 2014). Seeds can be able to germinate whether they overcome the litter layer, however, the litter depth can reach 15 cm (T.G. Zimmermann, per. obs.), reducing the likelihood of them reach the soil. As the inhibitory effect of litter in germination has a tendency to be higher in species with smaller seeds (Jensen and Gutekunst, 2003; Eckstein and Donath, 2005), comparisons of the effects of *C. equisetifolia* litter on seedling emergence of native species with different seed mass are necessary.

Absence of litter layer also reduced seedling emergence of the native species in the field. Likewise, Hata et al. (2012) observed that removal of litter reduced seedling establishment of a native shrub in an area invaded by *C. equisetifolia*. On the contrary of the results in the field, in the greenhouse there were no difference between the percentage of seedling emergence for the native species in relation to the treatments without (control) and below litter. In addition, emergence percentage in the field was much lower than those in the greenhouse experiment. One of the reasons for the lower emergence in the field may be a difference in the frequency of watering of the two experiments. In the greenhouse, the soil in the pots was moist once or twice per week. Although seeds were moistened after sowing, and the following month had a higher precipitation (April 2014; 190mm; Fig. A.1), they may undergo certain periods of drought. Fluctuations in water availability can be an obstacle for recruitment of many

species in the restinga and might restrict the seed germination and seedling growth in specific regeneration safe-sites (Cavalcante et al., 2010).

Soil quality did not affect the percentage of seedling emergence, but influenced the emergence rate in the greenhouse. The highest emergence in soil from patches may be due the soil moisture be higher than in *Casuarina* soil, which may have accelerated the germination process. Hata et al. (2010a) also not observed differences in the seedling emergence of a native shrub between soil from a *C. equisetifolia* forest and from a native forest. As *C. equisetifolia* have a high production of litter, with low decomposition rate and high toxic concentrations of selenium and salts (Parrotta, 1993), it was expected a release of allelochemicals in the soil of te invaded area as the litter is decomposing (Wardle, 1996). However, allelopathic inhibition of plant establishment by soil under the *Casuarina* stand did not occur. Furthermore, litter of this alien species did not show also a chemical effect in the seedling emergence. These results thus strongly suggested that soil and *C. equisetifolia* litter did not present biochemical compounds that limit plant recruitment. Nevertheless, Nakahira and Ohira (2005) detected allelochemicals in leachates of *C. equisetifolia* litter in bioassay experiments. Therefore, studies to evaluate the response of other native species in response of the allelopathy potential of this alien species are necessary.

As *C. equisetifolia* seed dispersal took place throughout the year, regeneration from seeds can therefore potentially occur in any season. However, only one seedling emerged under canopies of adult trees in the field and seedling emergence was low in the greenhouse, for seeds sown either above or below litter. Presence of a thick layer of its own litter may be the main factor that prevents seedling recruitment of this alien tree in the invaded area. Seedling establishment did also not occur inside patches or in open areas. As *C. equisetifolia* is a shade intolerant plant and water stress limits its seed germination and survival (T.G. Zimmermann et al., unpublished data), shade inside vegetation patches and dry conditions in open areas may be the main ecological mechanisms that limit its invasion in the restinga. Therefore, abiotic resistance is one of the main factors thwarting invasion of *C. equisetifolia* in this ecosystem. The degree of physiological stress imposed by stressful environments limits the establishment or population growth of potential invaders, even in the absence of negative interactions with native species (Zefferman et al., 2015). Nonetheless, its seeds have the potential to remain viable for four years in the soil (T.G. Zimmermann et al., unpublished data),

thus, have the capacity to germinate whenever environmental conditions are favorable for germination (Baskin and Baskin, 2014) and colonize new habitats.

Clusia hilariana is an important species contributing to the seed rain of the restinga but, like *C. equisetifolia*, had low emergence and any seedling establishment occurred in the two vegetation types. As litter suspends the seeds in a drier environment above the soil (Schramm and Ehrenfeld, 2010), and low water potential decreased germination (Braz and de Mattos, 2010) emergence and initial establishment of this shrub are unlikely to occur under the *Casuarina* stands. Recruitment of *C. hilariana* is low (Dias et al. 2005) and occurs mainly inside the tank of soil bromeliads underneath vegetation patches (Zaluar and Scarano, 2000). In contrast, *M. obtusifolia* had the highest seedling emergence under the *Casuarina* stand below litter. This shrub was the only species that seedling survival was higher than 24 months. Its seeds present cotyledon reserve, which is a nutritional supplement for the embryo grow and seedling survival (Garwood et al., 1996), increasing the likelihood for successful plant establishment in ecosystems with multiple stressful conditions. As seed dispersal of *M. obtusifolia* occurred in the invaded area, this species are likely to re-colonize, mainly if the seeds overcome the litter and reach the soil. As shown for *M. obtusifolia*, some native shrubs can establish under *C. equisetifolia* forests by seeds (Hata et al., 2012), helping the recovery of the invaded area.

Unlike for seedling emergence, light availability is an important factor for young plants survival, mainly for shade-intolerant species, as *C. equisetifolia*. In relation to the litter, it improved young plants survival under the *Casuarina* stand, but did not influenced survival inside vegetation patches. The facilitative effect of litter is influenced by edaphic conditions and climate (Facelli and Pickett, 1991; Eckstein and Donath, 2005), and tends to be more important in stressful environments (Lortie et al., 2004). Due to higher canopy cover inside patches (2% of light; Matos, 2014) than in *Casuarina* stands (70% of light; T.G. Zimmermann et al., unpublished data), differences in soil water content inside patches with presence or absence of litter should be low. In addition, there was less accumulated litter inside patches than under the *Casuarina* stands (T.G. Zimmermann et al., unpublished data), which means that the effect of litter removal on the soil water content in the uninvaded area may have been smaller than at the invaded area.

In relation to the survival of young plants of *C. equisetifolia*, almost 50% survived in the invaded area, but all plants died in the restinga. As low light conditions prevent

survival of young plants of this alien species, factors that increase light availability, such as canopy disturbance, should increase the likelihood of early establishment and facilitate further spread of this alien tree. Large seed production (Apfelbaum, 1983), high propagule pressure and long seed longevity in the soil (T.G. Zimmermann et al., unpublished data) increase the probability of this alien species invading degraded areas close to water bodies in the restinga. Most invasive tree species are shade-intolerant and require substantial liberation of resources to establish, survive, and attain a positive rate of population increase (Hickey, 1994; Martin et al., 2009). Therefore, as with other alien trees, disturbance that causes small temporary gaps and resource fluctuation (Davis et al., 2000) could benefit regeneration and spread of *C. equisetifolia* to adjacent vegetation.

Although the CAM photosynthesis (Franco et al., 1996) maximizes water use efficiency, mortality of young plants of *Clusia hilariana* due to summer drought stress was a prominent ecological filter for this species. January and February 2015 were very dry months (0.2 and 19 mm, respectively, Fig. A.1), and may have contributed to the high mortality rate of this native shrub after one year of planting. Although *M. obtusifolia* had the highest seedling emergence under the *Casuarina* stand, native forest is the best condition for its survival. Both *Clusia hilariana* and *M. obtusifolia* have a regeneration niche restricted to inside patches. At full sunlight, these species suffered significantly higher and faster mortality due to photodestruction (Matos, 2014). As the light intensity under the *Casuarina* stand is an average of 70%, but in some regions have full sun light, photodestruction may be one of the main causes of death of both species.

While height increment of *M. obtusifolia* was null, *C. hilariana* had a height growth, except under the *Casuarina* stand without litter, which may be due the increase of evaporation because of the absence of litter (Eckstein and Donath 2005). In relation to the number of leaves, increment was null or negative for both native species. Inside patches, intense competition for light and water may restrict growth and development of the plants (Matos, 2014). Height increment of *C. equisetifolia* and *C. hilariana* in the first year was higher than in the second year. Decrease in growth may be due differences in the rainfall, whereas in 2014 the precipitation was 718 mm, between January and October in 2015 it was just 380 mm (Fig. A.1). The high relative growth rate of *C. equisetifolia* under the *Casuarina* stand may possess a competitive advantage over native plants, allowing the alien species to obtain resources quickly in comparison

to the natives that grow more slowly (Grotkopp and Rejmánek, 2007; Stricker and Stiling 2013). Thus, *Casuarina equisetifolia* can develop a mono-specific stand, which can suppress potential re-colonization of the native species in the invaded area.

5. Conclusions and management recommendations

This study has several important implications for the conservation of the Brazilian coast. Although *C. equisetifolia* is an early successional species, with many traits of successful invasive trees, such as rapid-growth, short juvenile period, small seeds and high seed production (Rejmánek and Richardson, 1996; Richardson, 2006), preserved restinga appears to be highly resistant to invasion by this species. As the tree is sensitive to both drought and shade, this resistance is mainly attributable to the scarcity of key resources in this ecosystem, especially light (patches) and water (open areas). Nevertheless, anthropogenic disturbances are providing opportunities for invasion by altering the key processes that naturally make restinga resistant to invasion. As the level of degradation increases, levels of invasion are likely to increase, opening the door to negative impacts on the regional biodiversity. Thus, one of the best ways of hampering invasion of *C. equisetifolia* in the restinga is to conserve the remaining fragments

Light conditions and soil quality under the *Casuarina* stands do not appear to create major barriers to the recruitment of native plant species. The accumulation of large amounts of litter is one of the main causes of low establishment in the invaded area, which affects successional pathways on sandy coastal plains. As removal of *C. equisetifolia* is a difficult task, because it has capacity for regrowth (Morton, 1980) and long-term seed persistence in the soil (T.G. Zimmermann et al., unpublished data), other options need to be tried to recover the invaded area. This could involve the management of these "novel ecosystems" (i.e. ecosystems that have been irreversibly altered, but which can provide ecological and social values that need to be preserved; Hobbs et al., 2014) to ensure the persistence of native plant species. A key intervention towards achieving such an aim should involve sowing seeds below litter and planting young plants of native shrubs with litter. Knowledge of the mechanisms that mediate persistence and re-colonization of native species, as detailed in this study, is crucial elements for effective management.

Acknowledgements

Funding for this project was provided by the Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). We thank, F. Silva and I.S.Matos for their field assistance and L.L. Leal for her assistance in the greenhouse. DMR acknowledges funding from the DST-NRF Centre of Excellence for Invasion Biology and the National Research Foundation of South Africa (grant 85417).

References

- Apfelbaum SI, Ludwig JP, Ludwig C (1983) Ecological problems associated with disruption of dune vegetation dynamics by *Casuarina equisetifolia* L. at Sand Island, Midway Atoll. *Atoll Research Bulletin* 261: 1-19
- Araújo DSD (1992) Vegetation types of sandy coastal plains of tropical Brazil: a first approximation. In: Seeliger U (ed) *Coastal plant communities of Latin America*. Academic Press, San Diego, pp 337-347
- Araújo DSD, Pereira MCA (2002) *Sandy Coastal Vegetation*. International Commission on Tropical Biology and Natural Resources. Eolss Publishers, Oxford
- Araújo DSD, Sá CFC, Fontella-Pereira J, Garcia DS, Ferreira MV, Paixão RJ, Schneider SM, Fonseca-Krueel VS (2009) Área de proteção ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia* 60:67-96
- Bais HP, Vepachedu R, Gilroy S, Callaway RM, Vivanco JM (2003) Allelopathy and Exotic Plant Invasion: From Molecules and Genes to Species Interactions. *Science* 301:1377-1380
- Barbière EB (1984) Cabo Frio e Iguaba Grande, dois microclimas distintos a um curto intervalo espacial. In: Lacerda LD, Araújo DSD, Cerqueira R, Turcq B (eds). *Restingas: origem, estrutura, processos*. CEUFF, Niterói, pp 3-13
- Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF (1999) Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa
- Baskin CC, Baskin JM (2014) *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*, 2nd. Elsevier, San Diego
- Benevides CR, Haddad IVN, Barreira NP, Rodarte ATA, Galetto L, Santiago-Fernandes LDR, Lima HA (2013) *Maytenus obtusifolia* Mart. (Celastraceae): a tropical woody species in a transitional evolutionary stage of the gynodioecy–dioecy pathway. *Plant Syst Evol* 299:1693-1707
- Bittrich V, Trad RJ, Cabral FN, Nascimento-Jr JE, Souza VC (2015) *Clusiaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB6836>. Accessed 28 August 2015
- Braz MIG, de Mattos EA (2010) Seed dispersal phenology and germination characteristics of a drought-prone vegetation in southeastern Brazil. *Biotropica* 42:327–335
- Callaway RM, Walker LR (1997) Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* 78:1958–1965

- Cavalcante A, Braz MIG, de Mattos EA (2010) Germination biology and seedling growth of *Clusia hilariana* Schldl., a dominant CAM-tree of drought-prone sandy coastal plains. *Ecol Res* 25:781-787
- Cavalin PO, de Mattos EA (2007) Spatio-temporal variation of photosynthetic pigments in CAM tree *Clusia hilariana* Schlechtendal associated with dry spells during rainy season in south-eastern Brazil. *Trees* 21:671–675
- Colautti RI, Grigorovich IA, MacIsaac HJ (2006) Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biol Invasions* 8:1023-1037
- Correia, CMB, Dias ATC, Scarano FR (2010) Plant-plant associations and population structure of four woody plant species in a patchy coastal vegetation of Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 33: 607-613
- Coutts SR, van Klinken RD, Yokomizo H, Buckley YM (2011) What are the key drives of spread in invasive plants: dispersal, demography or landscape: and can we use this knowledge to aid management? *Biol Invasions* 13:1649-1661
- Davis MA, Grime JP, Thompson K (2000) Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *J Ecol* 88:528-534
- de la Penã E, Bonte D, Roiloa S, Rodríguez-Echeverría S, Freitas H (2010) Plant-soil feedback as mechanism of invasion by *Carpobrotus edulis*. *Biol Invasions*. 12:3637–3648
- Dechoum MS, Zenni RD, Castellani TT, Zalba SM, Rejmánek M (2015) Invasions across secondary forest successional stages: effects of local plant community, soil, litter, and herbivory on *Hovenia dulcis* seed germination and seedling establishment. *Plant Ecol* 216:823-833
- Dias ATC, de Mattos EA, Vieira SA, Azeredo JV, Scarano FR (2006) Aboveground biomass stock of native woodland on a Brazilian sandy coastal plains: Estimates based on the dominant tree species. *Forest Ecol Manag* 226:364-367
- Dias ATC, Zaluar HLT, Ganade G, Scarano FR (2005) Canopy composition influencing plant patch dynamics in a Brazilian sandy coastal plain. *J Trop Ecol* 21:343-347.
- Eckstein RL, Donath TW (2005) Interactions between litter and water availability affect seedling emergence in four familial pairs of floodplains species. *J Ecol* 93:807–816
- Emer C, Fonseca CR (2011) Araucaria Forest conservation: mechanisms providing resistance to invasion by exotic timber tress. *Biol Invasions* 13:189–202 DOI 10.1007/s10530-010-9801-0
- Engelbrecht BMJ, Dalling JW, Pearson TRH, Wolf RL, Galvez DA, Koehler T, Tyree MT, Kursar TA (2006) Short dry spells in the wet season increase mortality of tropical pioneer seedlings. *Oecologia* 148:258- 269
- Ens E, French K (2008) Exotic woody invader limits the recruitment of three indigenous plant species. *Biol Conserv* 141: 590-595
- Facelli JM, Pickett STA (1991) Plant litter: its dynamics and effects on plant community structure. *Bot Rev* 57:1–32
- Faria APG, Matallana G, Wendt T, Scarano FR (2006) Low fruit set in the abundant dioecious tree *Clusia hilariana* (Clusiaceae) in a Brazilian restinga. *Flora* 201:606-611
- Franco AC, Haag-Kerwer A, Herzog B, Grams T, Ball E, de Mattos EA, Scarano FR, Barreto SMB, Garcia MA, Mantovani A, Lutge U (1996) The effect of light levels on daily patterns of chlorophyll fluorescence and organic acid accumulation in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees* 10:359-365

- Fuentes-Ramírez A, Pauchard A, Cavieres LA, García RA (2011) Survival and growth of *Acacia dealbata* vs. native trees across an invasion front in south-central Chile. *Forest Ecol Manage* 261:1003-1009
- Funk JL (2013) The physiology of invasive plants in low-resource environments. *Conserv Physiol* 1: doi:10.1093/conphys/cot026
- Garwood NC (1996) Functional morphology of tropical tree seedlings. In: Swaine MD (ed) *The ecology of tropical forest tree seedlings man and the biosphere*. Parthenon Publishing Group, New York, pp 59-129
- Gomes VSM (2006) *Variação espacial e dieta de aves terrestres na Restinga de Jurubatiba, RJ*. PhD Thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Gómez-Aparicio L, Valladares F, Zamora R, Quero JL (2005) Response of tree seedlings to the abiotic heterogeneity generated by nurse shrubs: an experimental approach at different scales. *Ecography* 28:757–768
- Grotkopp E, Rejmánek M (2007) High seedling relative growth rate and specific leaf area are traits of invasive species: phylogenetically independent contrasts of woody angiosperms. *Am J Bot* 94:526-532
- Guerrero PC, Bustamante RO (2007) Can Native Tree Species Regenerate in *Pinus radiata* Plantations in Chile? Evidence from Field and Laboratory Experiments. *Forest Ecol Manag* 253:97-102
- Hastwell GT, Facelli JM (2003) Differing effects of shade-induced facilitation on growth and survival during the establishment of a chenopod shrub. *J Ecol* 91(6):941-950
- Hata K, Kato H, Kachi N (2009) Community structure of saplings of native woody species under forests dominated by alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, in Chichijima Island. *Ogasawara Research* 34:33-50
- Hata K, Kato H, Kachi N (2010a) Litter of an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, inhibits seed germination and initial growth of a native tree on the Ogasawara Islands (subtropical oceanic islands). *J For Res* 15:384-390
- Hata K, Kato H, Kachi N (2010b) Litterfall in forests dominated by an alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, on Chichijima Island. *Ogasawara Research* 35:1-14
- Hata K, Kato H, Kachi N (2012) Seedlings of a native shrub can establish under forests dominated by an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, on subtropical oceanic islands. *J For Res* 17:208-212
- Hickey JE (1994) A floristic comparison of vascular species in Tasmanian old growth mixed forest with regeneration resulting from logging and wildfire. *Aust J Bot* 42:383-404
- Hobbs RJ, Higgs ES, Hall CM et al (2014). Managing the whole landscape: historical, hybrid and novel ecosystems. *Frontiers Ecol Environ* 12:557-564
- Holmes PM, Richardson DM (1999) Protocols for restoration based on recruitment dynamics, community structure and ecosystem function: Perspectives from South African fynbos. *Restor Ecol* 7:215-230
- Hovstad KA, Ohlson M (2008) Physical and chemical effects of litter on plant establishment in semi-natural grasslands. *Plant Ecol* 196:251-260
- Inderjit, Seastedt TR, Callaway RM, Pollock JL, Kaur J (2008) Allelopathy and plant invasions: traditional, congeneric, and bio-geographical approaches. *Biol Invasions* 10:875-890
- Inderjit, Evans H, Crocoll C et al (2011) Volatile chemicals from leaf litter are associated with invasiveness of a Neotropical weed in Asia. *Ecology* 92:316–324

- Jensen K, Gutekunst K (2003) Effects of litter on establishment of grassland plant species: the role of seed size and successional status. *Basic Appl Ecol* 4:579-587
- Levine JM, Adler PB, Yelenik SG (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecol Lett* 10:975-989
- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn T (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends Ecol Evol* 20:223-228
- Lombardi J, Groppo M, Biral L (2015) *Celastraceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB6766>. Accessed 28 August 2015
- Lonsdale WM (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80:1522-1536.
- Lortie CJ, Brooker RW, Kikvidze Z, Callaway RM (2004) The value of stress and limitation in an imperfect world: A reply to Korner. *J Veg Sci* 15:577-580
- Loydi A, Donath TW, Eckstein RL, Otte A (2015) Non-native species litter reduces germination and growth of resident forbs and grasses: allelopathic, osmotic or mechanical effects? *Biol Invasions* 17:581–595
- Martin P, Canham C, Marks P (2009) Why forests appear resistant to exotic plant invasions: intentional introductions, stand dynamics and the role of shade tolerance. *Frontiers Ecology and Environment* 7:142-149
- Matos IS (2014) Crescimento, Sobrevivência e Plasticidade Fenotípica de Plântulas de Espécies de Restinga sob Gradientes Experimentais de Intensidade de Luz e de Disponibilidade Hídrica. Dissertation, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro
- McAlpine KG, Jesson LK (2008) Linking seed dispersal, germination and seedling recruitment in the invasive species *Berberis darwinii* (Darwin's barberry). *Plant Ecol* 197:119-129
- Morton JF (1980) The Australian pine or beefwood (*Casuarina equisetifolia* L.) an invasive “weed” tree in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93:87-95
- Nakahira Y, Ohira T (2005) Study on the allelopathy of *Casuarina glauca* and *C. equisetifolia*. *Kyushu J For Res* 58:159-161
- Novoa A, González L, Moravcová L, Pyšek P (2012) Effects of soil characteristics, allelopathy and frugivory on establishment of the invasive plant *Carpobrotus edulis* and a cooccurring native, *Malcolmia littorea*. *PLoS ONE* 7(12):e53166
- Parrotta, JA (1993) *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. and G. Forst. SO-ITF-SM-46. International Institute of Tropical Forestry, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Puerto Rico
- Parrotta JA (1995) Influence of overstory composition on understory colonization by native species in plantations on a degraded tropical site. *J Veg Sci* 6:627–636
- Parrotta, J.A (1999) Productivity, nutrient cycling and succession in single- and mixed-species plantations of *Casuarina equisetifolia*, *Eucalyptus robusta* and *Leucaena leucocephala* in Puerto Rico. *Forest Ecol Manag* 90:45–77
- Potgieter LJ, Richardson DM, Wilson JR (2014) *Casuarina*: Biogeography and ecology of an important tree genus in a changing world. *Biol Invasions* 16:609-633
- Pugnaire FI, Armas C, Valladares F (2004) Soil as a mediator in plant-plant interactions in a semi-arid community. *J Veg Sci* 15:85-92

- R Core Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available via <http://www.R-project.org/>
- Reinert F, Roberts A, Wilson JM, de Ribas L, Cardinot G, Griffiths H (1997) Gradation in nutrient composition and photosynthetic pathways across the restinga vegetation of Brazil. *Bot Acta* 110:135-142
- Rejmánek M, Richardson D (1996) What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 77:1655-1661
- Rejmánek M, Richardson DM (2013) Trees and shrubs as invasive alien species - 2013 update of the global database. *Divers Distrib* 19:1093-1094
- Rentería JL (2007) Plan de manejo para la erradicación de *Casuarina equisetifolia* L. (Casuarinaceae), especie invasora de limitada distribución en la isla Santa Cruz, Galápagos. Estación Científica Charles Darwin, Galápagos, Ecuador
- Richardson DM (2006) *Pinus*: a model group for unlocking the secrets of alien plant invasions? *Preslia* 78:375-388
- Rocha CFD, Van Sluys M, Alves MS, Jamel CE (2007) The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. *Braz J of Biol* 67(2):263-273
- Rouget M, Robertson MP, Wilson JRU, Hui C, Essl F, Renteria, JL, Richardson DM (2016) Invasion debt - quantifying future biological invasions. *Divers Distrib* 22:445–456
- Rotundo JL, Aguiar MR (2005) Litter effects on plant regeneration in arid lands: a complex balance between seed retention, longevity and soil–seed-contact. *J Ecol* 93:829-838
- Scarano FR (2002) Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Ann Bot* 90:517-524
- Scarano FR (2009) Plant communities at the periphery of the Atlantic rain forest: Rare-species bias and its risks for conservation. *Biol Conserv* 142:1201–1208
- Schramm JW, Ehrenfeld JG (2010) Leaf litter and understory canopy shade limit the establishment, growth and reproduction of *Microstegium vimineum*. *Biol Invasions* 12:3195-3204
- Stricker KB, Stiling P (2013) Seedlings of the introduced invasive shrub *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) outperform those of its native and introduced non-invasive congeners in Florida. *Biol Invasions* 15:1973-1987 DOI 10.1007/s10530-013-0425-z
- Xiong S, Nilsson C (1999) The effects of plant litter on vegetation: a meta-analysis. *J Ecol* 87:984–994
- Wardle DA, Nicholson KS, Rahman A (1996) Use of a comparative approach to identify allelopathic potential and relationship between allelopathy bioassays and “competition” experiments for ten grassland and plant species. *J Chem Ecol* 22:933–94
- Warren RJ, Bahn V, Bradford MA (2012) The interaction between propagule pressure, habitat suitability and density-dependent reproduction in species invasion. *Oikos* 121:874-881
- Warren RJ, Bahn V, Bradford MA (2013) Decoupling litter barrier and soil moisture influences on the establishment of an invasive grass. *Plant Soil* 367:339-346
- West NM, Matlaga DP, Davis AS (2014) Quantifying targets to manage invasion risk: light gradients dominate the early regeneration niche of naturalized and pre-commercial *Miscanthus* populations *Biol Invasions* 16:1991–2001

- Whistler WA, Elevitch CR (2006) *Casuarina equisetifolia* (reach she-oak) and *C. cunninghamiana* (river she-oak). In: Elevitch, C.R. (ed.). Species profiles for Pacific Island agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii. 16p.
- Xiong SJ, Nilsson C (1999) The effects of plant litter on vegetation: a meta-analysis. *J Ecol* 87:984–994
- Zaluar HLT, Scarano FR (2000) Facilitação em restingas de moitas: um século de buscas por espécies focais. In: Esteves FA, Lacerda LD (eds) *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. NUPEM-UFRJ, Rio de Janeiro, pp 3–23
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*, 4 th edn. Prentice Hall, New Jersey
- Zefferman E, Stevens JT, Charles GK, Dunbar-Irwin M, Emam T, Fick S, Morales SV, Wolf KM, Young DJN, Young TP (2015) Plant communities in harsh sites are less invaded: a summary of observations and proposed explanations. *AoB PLANTS* 7:plv056
- Zenni RD, Ziller, SR (2011) An overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasil Bot* 34:431-446

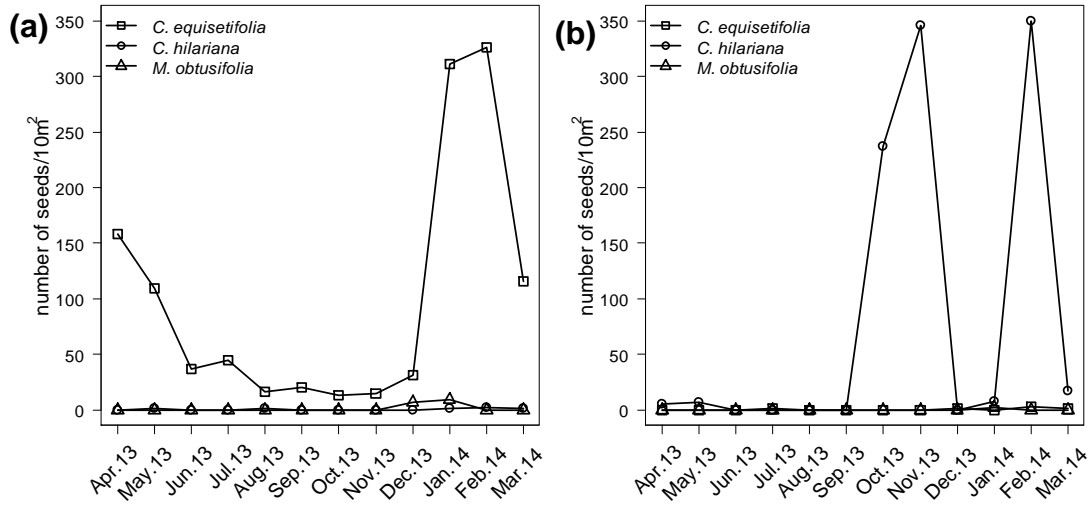


Fig. 1. Mean total number of seeds dispersed over one year (April 2013 until March 2014) of *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* under the *Casuarina* stand (a) and vegetation patches (b), in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil).

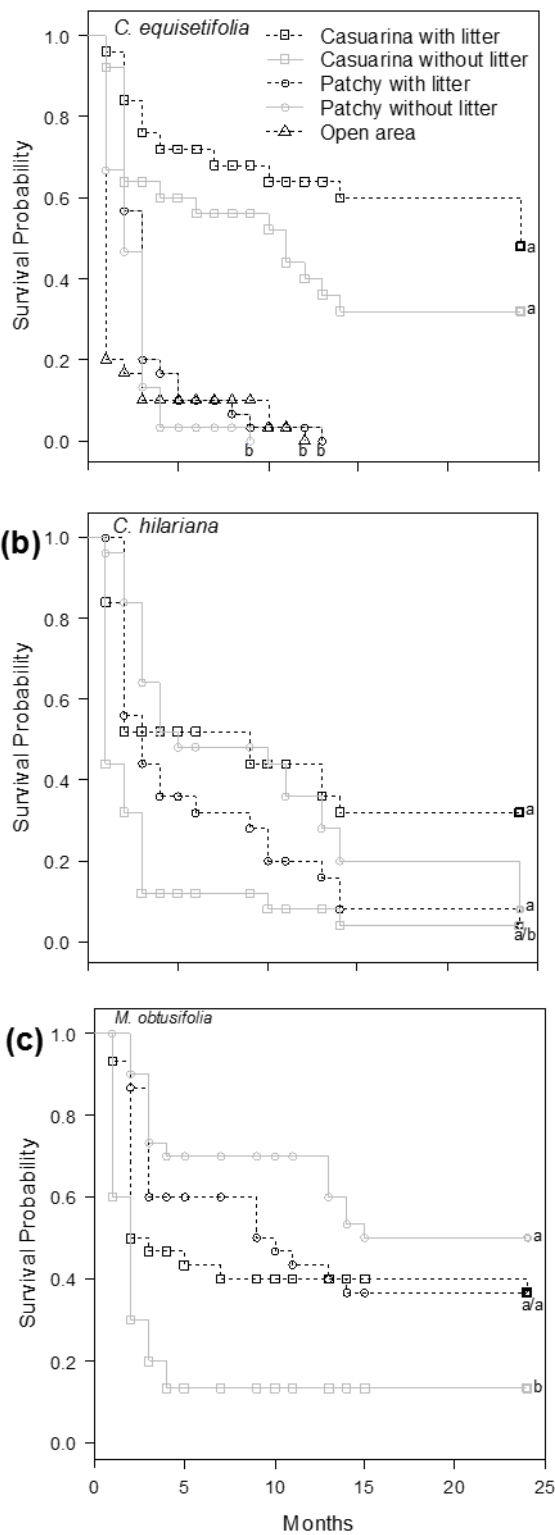


Fig. 2. Survival probability for young plants of *Casuarina equisetifolia* (a), *Clusia hilariana* (b) and *Maytenus obtusifolia* (c) transplanted to *Casuarina* stand with litter and without litter, vegetation patches with litter and without litter and open area (*C. equisetifolia*) in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil). Monthly evaluations during 24 months, between January 2014 until December 2015. Survival analysis was performed with the Kaplan-Meier product limit method. The letter codes indicate homogeneous groups (Log-rank test, $p < 0.05$).

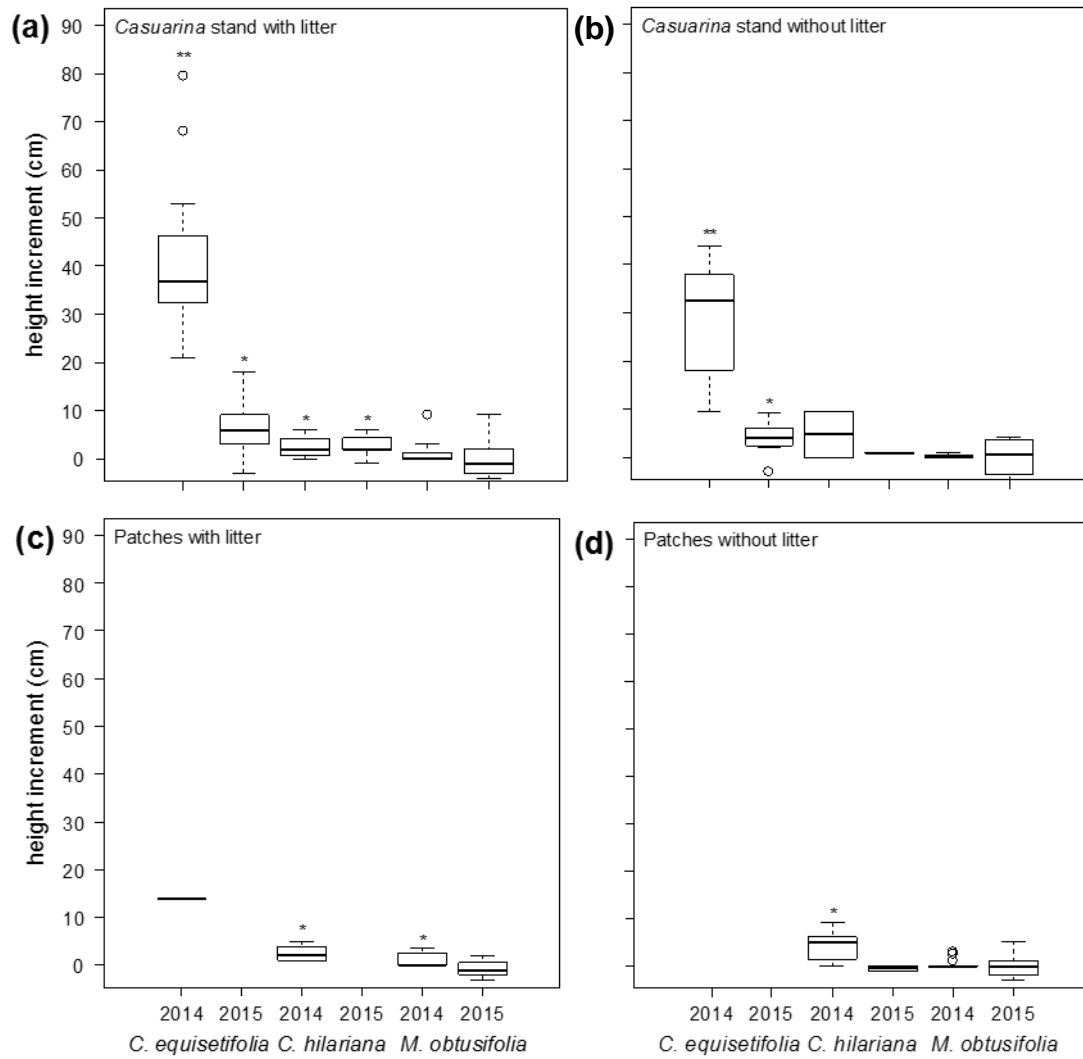


Fig. 3. Height increment for young plants of *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* transplanted to *Casuarina* stand with litter (a) and without litter (b) and vegetation patches with litter (c) and without litter (d) in the first (2014) and second (2015) year after planting in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil). Asterisk means significant differences between time: * p < 0.05; ** p < 0.001 (t-test).

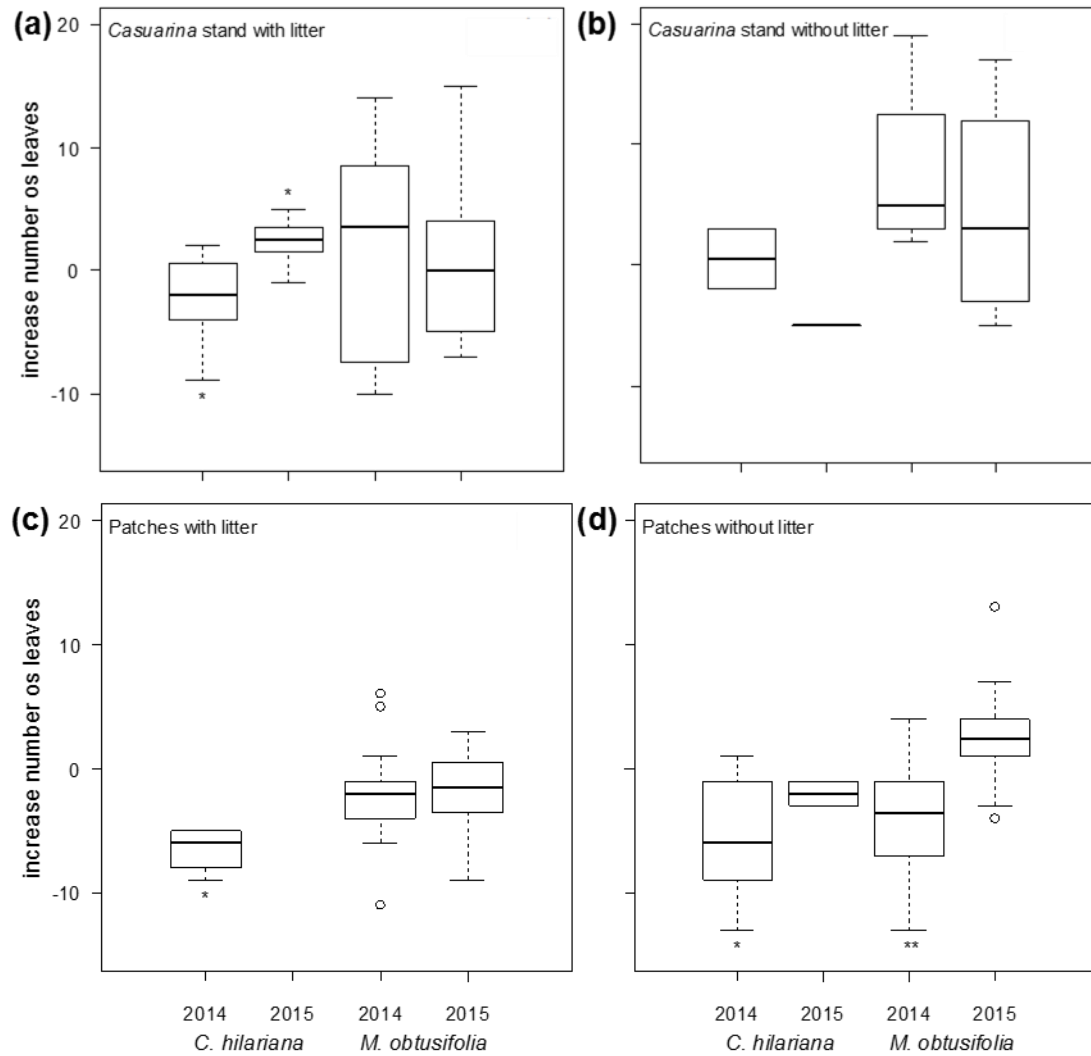


Fig. 4. Increase number of leaves for young plants of *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* transplanted to *Casuarina* stand with litter (a) and without litter (b) and vegetation patches with litter (c) and without litter (d) in the first (2014) and second (2015) year after planting in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil). Asterisk means significant differences between time: * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ (t-test).

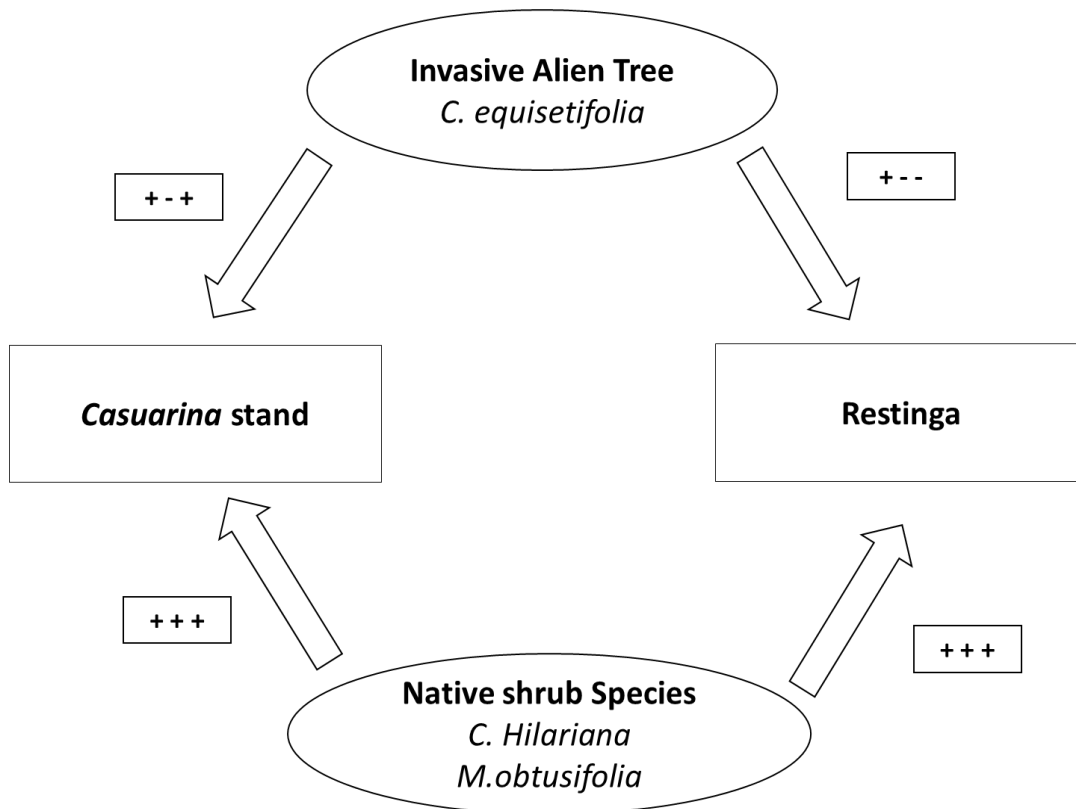


Fig. 5. Interaction model among *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* under the *Casuarina* stand and restinga (inside vegetation patches). Positive or negative signs (+, -) indicate possible outcomes for seed dispersal, seedling emergence and young plants survival of the species in each vegetation.

Table 1 Mean total (\pm standard deviation) number of seeds dispersed of *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* over one year (May 2013 until April 2014), under the *Casuarina* stand and vegetation patches in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil).

Species	seeds m ⁻² year ⁻¹			<i>U</i>	<i>p</i>
	<i>Casuarina</i> stand	Patches			
<i>C. equisetifolia</i>	199.50 \pm 225.06 a	1.0 \pm 1.81 b		< 0.001	< 0.001
<i>C. hilariana</i>	1.0 \pm 1.35 b	161.67 \pm 283.10 a		35	0.03
<i>M. obtusifolia</i>	2.67 \pm 6.28 a	0.33 \pm 1.15 a		65	0.71

Table 2 Emergence, establishment and recruitment proportion (average \pm S.D.) of *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* seedlings under *Casuarina* stand and inside vegetation patches, 12 months after sowing, in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil).

	<i>C. equisetifolia</i>	<i>C. hilariana</i>	<i>M. obtusifolia</i>
P(Em): seedling emergence probability			
<i>Casuarina</i> stand above litter	0.003 \pm 0.008	0.00 \pm 0.00	0.007 \pm 0.010
<i>Casuarina</i> stand below litter	0.00 \pm 0.00	0.10 \pm 0.09	0.39 \pm 0.26
<i>Casuarina</i> stand without litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01
Patchy above litter	0.00 \pm 0.00	0.03 \pm 0.07	0.11 \pm 0.17
Patchy below litter	0.00 \pm 0.00	0.02 \pm 0.03	0.16 \pm 0.19
Patchy without litter	0.003 \pm 0.008	0.00 \pm 0.00	0.17 \pm 0.24
P(Es): seedling establishment probability			
<i>Casuarina</i> stand above litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
<i>Casuarina</i> stand below litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.37 \pm 0.16
<i>Casuarina</i> stand without litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.67 \pm 0.01
Patchy above litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.31 \pm 0.13
Patchy below litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.20 \pm 0.04
Patchy without litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.35 \pm 0.18
P(R): Recruitment probability = P(G) x P(E)			
<i>Casuarina</i> stand above litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00
<i>Casuarina</i> stand below litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.19 \pm 0.16
<i>Casuarina</i> stand without litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01
Patchy above litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.11 \pm 0.13
Patchy below litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.06 \pm 0.04
Patchy without litter	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.16 \pm 0.18

Table 3 Statistics for fixed effects of generalized linear mixed model for seedling emergence and establishment in relation to vegetation types (*Casuarina* stand and vegetation patches) and seed sowing position (above-litter, below-litter and without-litter) in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil).

Variable	Estimate	SE	Z value	p
<i>Casuarina equisetifolia</i> (emergence)				
Intercept	-6.39	1.23	-5.216	<0.001
Vegetation patches	1.67 e ⁻¹²	1.42	0.000	1.000
Below-litter	-2.00 e ⁺¹	1.34 e ⁺⁴	-0.001	0.999
Without-litter	4.84 e ⁻¹⁵	1.42	0.000	1.000
<i>Clusia hilariana</i> (emergence)				
Intercept	-4.24	0.56	-7.514	<0.001
Vegetation patches	-2.78	1.64	-1.700	0.089
Below-litter	1.44	0.39	3.722	<0.001
Without-litter	-20.87	6722.16	-0.003	0.997
<i>Maytenus obtusifolia</i> (emergence)				
Intercept	-5.57	0.90	-6.192	<0.001
Vegetation patches	2.27	1.37	1.658	0.097
Below-litter	4.91	0.73	6.736	<0.001
Without-litter	0.41	0.92	0.447	0.655
Vegetation patches X below-litter	-4.37	0.77	-5.639	<0.001
Vegetation patches X without-litter	0.19	0.96	0.196	0.844
<i>Maytenus obtusifolia</i> (establishment)				
Intercept	0.21	0.62	0.335	0.737
Vegetation patches	-1.05	0.63	-1.655	0.098
Below-litter	-0.39	0.53	-0.751	0.453
Without-litter	0.92	0.54	1.72	0.085

Table 4 Effect of soil and litter layer on emergence percentage and emergence rate (mean \pm standard deviation) of *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* in a greenhouse experiment. Mean (n=3) of moisture content for each treatment.

Species	Soil/Litter	% Emergence	F	p	Emergence rate (10 ⁻²)	F	p	Moisture content	F	p
Soil										
<i>C. equisetifolia</i>	<i>Casuarina</i>	45.20 \pm 3.35 a	7.92	0.35	4.36 \pm 0.62 b	43.00	<0.001	4.65 \pm 2.09 b	143.78	<0.001
	Sterilized <i>Casuarina</i>	48.40 \pm 10.81 a			4.73 \pm 0.26 b			4.18 \pm 1.72 b		
	Patches	54.00 \pm 9.38 a			6.60 \pm 0.22 a			7.15 \pm 2.57 a		
<i>C. hilariana</i>	<i>Casuarina</i>	80.00 \pm 5.22 a	1.40	0.28	7.97 \pm 1.28 a	0.51	0.61	4.92 \pm 2.41 b	74.04	<0.001
	Sterilized <i>Casuarina</i>	72.80 \pm 9.55 a			7.18 \pm 1.03 a			4.58 \pm 2.24 b		
	Patches	78.00 \pm 7.42 a			7.70 \pm 1.40 a			9.23 \pm 2.81 a		
<i>M. obtusifolia</i>	<i>Casuarina</i>	50.00 \pm 7.86 a	2.89	0.09	2.70 \pm 0.16 b	8.45	0.005	3.68 \pm 1.94 b	94.25	<0.001
	Sterilized <i>Casuarina</i>	52.22 \pm 6.33 a			2.85 \pm 0.32 b			3.10 \pm 1.63 b		
	Patches	61.11 \pm 8.78 a			3.87 \pm 0.77 a			7.81 \pm 2.46 a		
Litter										
<i>C. equisetifolia</i>	Control	49.60 \pm 8.76 a	103.36	<0.001	5.66 \pm 0.69 a	110.95	<0.001	33.96 \pm 9.03 b	89.48	<0.01
	Below litter	8.80 \pm 5.22 b			2.01 \pm 0.90 b			56.59 \pm 2.91 a		
	Below plastic fibers	0.80 \pm 1.79 c			0.02 \pm 0.04 c			53.40 \pm 4.22 a		
	Above litter	0.00 \pm 0.00 d			0.00 \pm 0.00 c					
<i>C. hilariana</i>	Control	75.20 \pm 10.35 a	109.68	<0.001	6.68 \pm 0.28 a	767.99	<0.001	35.85 \pm 3.43 b	578.64	<0.01
	Below litter	76.80 \pm 9.55 a			2.61 \pm 0.27 b			57.95 \pm 2.85 a		
	Below plastic fibers	77.60 \pm 8.29 a			2.81 \pm 0.21 b			55.22 \pm 2.30 a		
	Above litter	0.00 \pm 0.00 b			0.00 \pm 0.00 c					
<i>M. obtusifolia</i>	Control	62.40 \pm 8.29 a	89.42	<0.001	3.60 \pm 0.36 a	236.48	<0.001	22.51 \pm 3.85 b	58.54	<0.001
	Below litter	55.20 \pm 6.57 a			2.20 \pm 0.22 b			41.02 \pm 5.97 a		
	Below plastic fibers	50.40 \pm 8.29 a			2.10 \pm 0.09 b			40.74 \pm 5.58 a		
	Above litter	0.00 \pm 0.00 b			0.00 \pm 0.00 c					

Appendix A. Supplementary material: Zimmermann TG, Andrade ACS, Richardson DM. Seed dispersal and regeneration of invasive alien and native woody species in invaded and uninvaded areas on sandy coastal plains. *Forest Ecology and Management*.

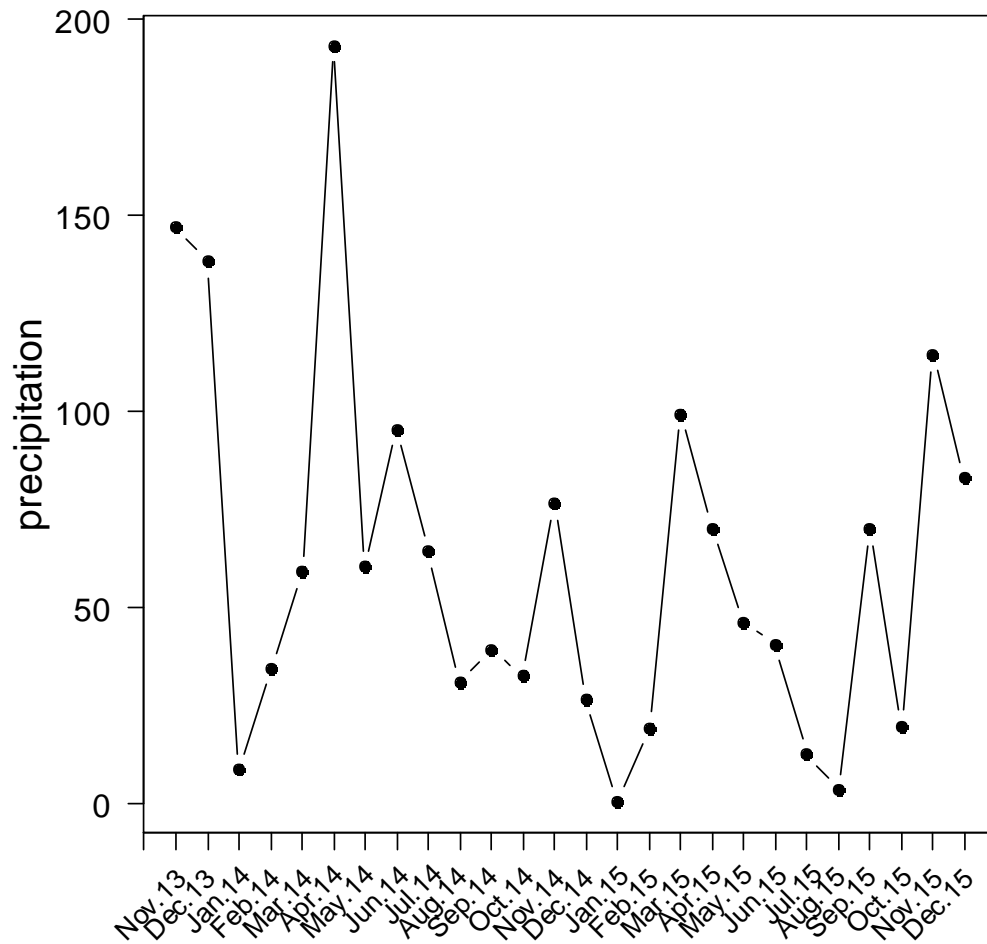


Fig. A.1. Monthly precipitation from November 2013 until December 2015 in Arraial do Cabo, state of Rio de Janeiro, Brazil. Source: INMET (Instituto Nacional de Meteorologia).

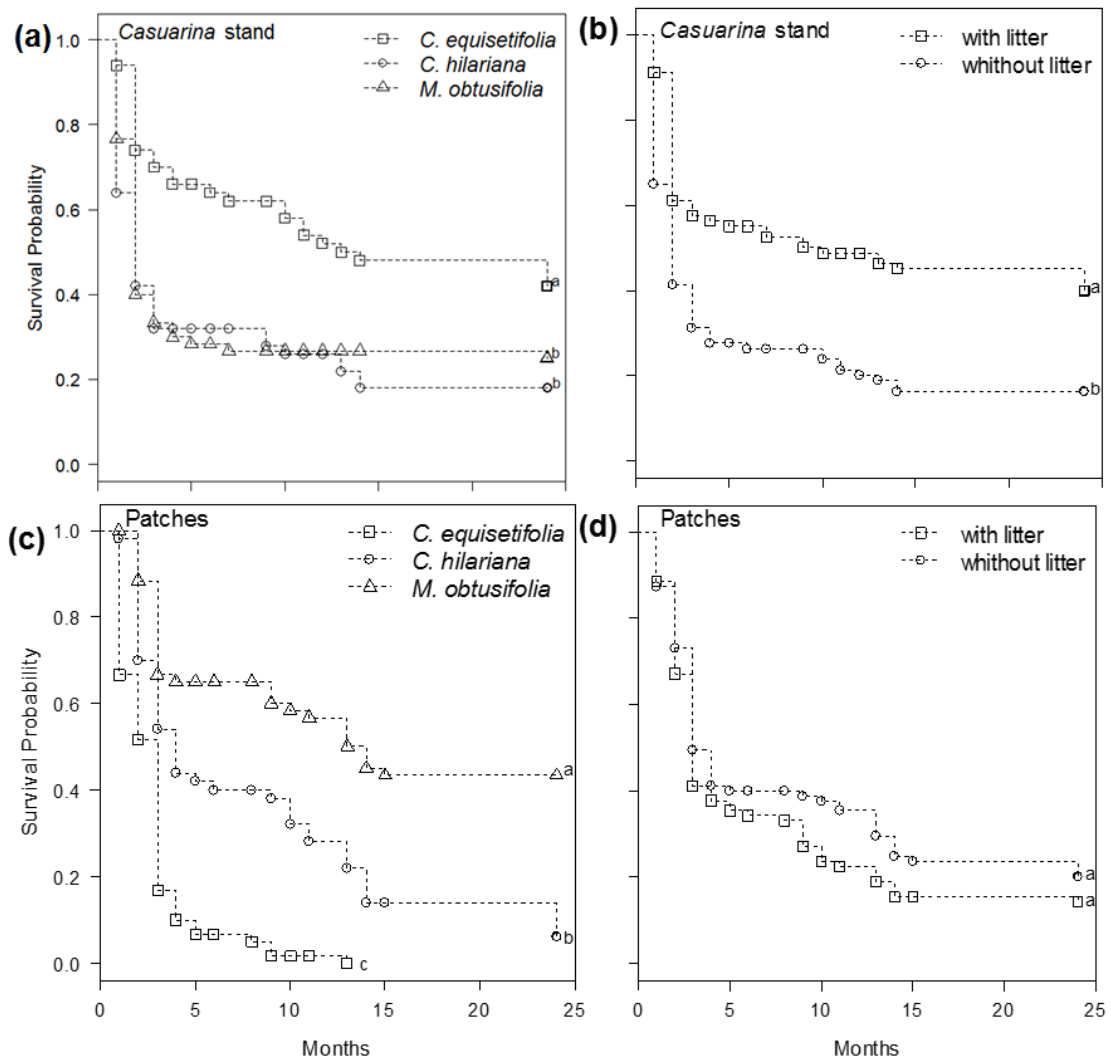


Fig. A.2. Survival probability for young plants of *Casuarina equisetifolia*, *Clusia hilariana* and *Maytenus obtusifolia* transplanted to *Casuarina* stand (a) and vegetation patches (c), with presence and absence of litter layer (b, d) in the restinga of the Costa do Sol State Park (Brazil). Monthly evaluations during 24 months, between January 2014 until December 2015. Survival analysis was performed with the Kaplan-Meier product limit method. The letter codes indicate homogeneous groups (Log-rank test, $p < 0.05$).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Casuarina equisetifolia apresenta sementes pequenas, produzidas em alta quantidade, dispersão pelo vento, alta longevidade das sementes no solo, capacidade de germinar em ampla faixa de temperatura e luminosidade (Figura 1), alta taxa relativa de crescimento e grande eficiência em alocar estruturas para a absorção de água (baixa razão caule:raiz), além de alta integração fenotípica. De acordo com Grime (1977), existem três estratégias para que as plantas possam ocupar diferentes ambientes: competição (C), tolerância ao estresse (S) ou ruderal (R). Conforme essa classificação, *Casuarina equisetifolia* apresenta atributos típicos de plantas ruderais, sendo capaz de ocupar ambientes com maior grau de distúrbio (Grime 1977). Contudo, essa espécie apresenta certa tolerância ao estresse salino (Tani & Sasakawa 2003), assim, não pode ser classificada como uma planta ruderal típica. Como essa planta exótica não tolera condições de estresse hídrico e baixa luminosidade (Figuras 1 e 2), *C. equisetifolia* dificilmente irá invadir habitats que apresentem baixa disponibilidade hídrica (áreas abertas) e alto sombreamento (moita de vegetação), que são as principais condições encontradas na restinga arbustiva aberta. Já na área com domínio dessa espécie, o solo não é um fator que afeta o seu estabelecimento, sendo a serapilheira e a liberação de compostos aleloquímicos os principais fatores que inibem o recrutamento dessa planta exótica (Figura 1), o que pode limitar o crescimento da sua população. Na fase de planta jovem, a serapilheira auxilia a sobrevivência e o crescimento de *C. equisetifolia*, principalmente devido a retenção de umidade.

As espécies ruderais apresentam atributos que permitem o rápido estabelecimento durante os períodos em que ocorre aumento da disponibilidade de recursos, o que geralmente ocorre após um evento de distúrbio na comunidade (Davis *et al.* 2000). A estratégia ruderal, associada a tolerância a salinidade e a capacidade de realizar associações simbióticas, que aumentam a fixação de nitrogênio, permite *C. equisetifolia* invadir áreas abertas, que apresentem algum tipo de distúrbio, nas planícies arenosas próximas a corpos d'água. Assim, pode-se abrir janelas de oportunidade para a invasão dessa planta exótica na restinga, tornando-se necessário o monitoramento das populações naturalizadas dessa espécie nesse ecossistema. Desse modo, *C. equisetifolia* pode ser classificada na restinga como uma espécie ruderal dominante (*sensu* Durigan *et al.* 2013), pois essa planta não consegue se estabelecer no interior das moitas de

vegetação e na área aberta, mas consegue invadir locais que tenham ocorrido algum tipo de distúrbio e que sejam próximos a fonte de água.

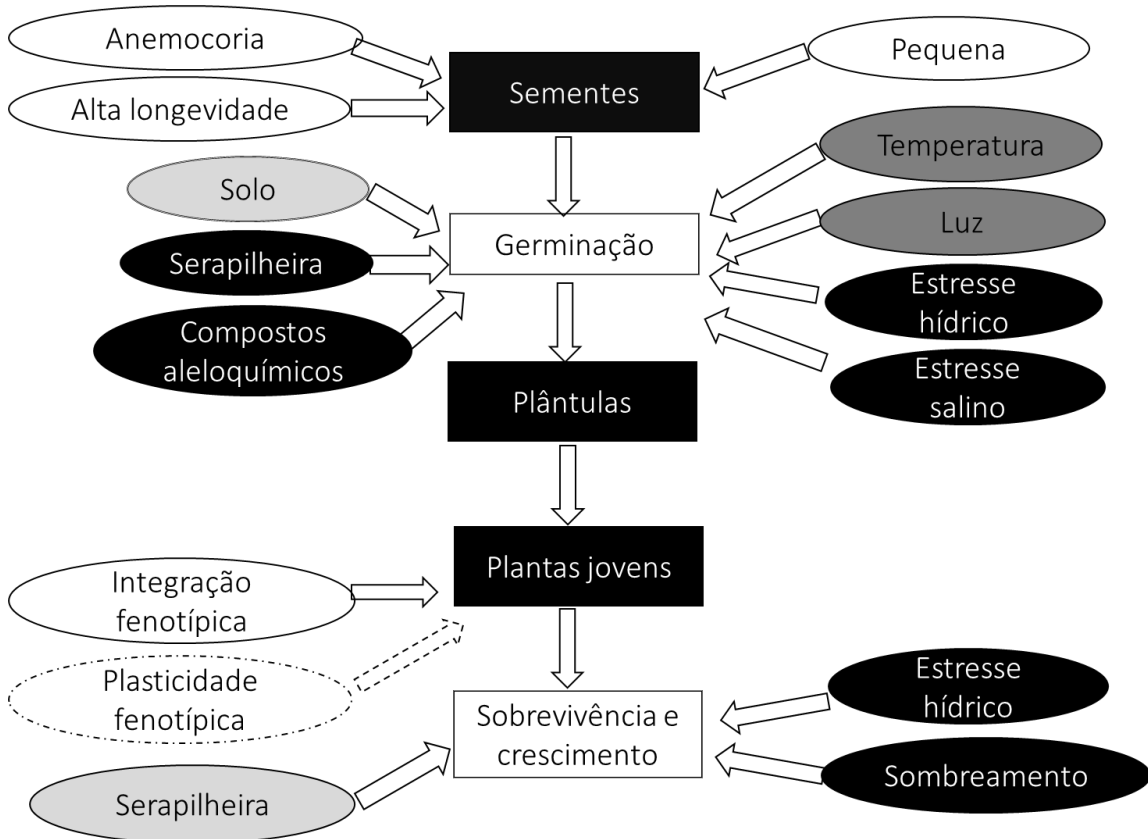


Figura 1. Característica e atributos funcionais das sementes e das plantas jovens e fatores ambientais e bióticos que afetam a germinação, sobrevivência e crescimento de *Casuarina equisetifolia*. Característica e atributos que favorecem (círculo branco fechado) ou que tem pouca influência (círculo branco pontilhado) no potencial de invasão da espécie. Fatores que afetam positivamente (círculo cinza claro), que limitam em menor intensidade (círculo cinza escuro) ou maior intensidade (círculo preto) a capacidade da espécie em superar as barreiras reprodutiva e de sobrevivência. Caixas pretas: fase do ciclo de vida (semente, plântulas e plantas jovens); caixas brancas: processo para a próxima fase (germinação, sobrevivência e crescimento)

Em relação a regeneração natural nos locais com domínio dessa espécie, ocorre a chegada de propágulos das espécies nativas, contudo, não ocorre o recrutamento. Acredita-se que o baixo número de espécies na área com domínio de *C. equisetifolia* não seja devido a qualidade do solo, mas que o principal fator limitante ao estabelecimento seja o grande o acúmulo de serapilheira. A serapilheira dessa planta exótica atua como uma barreira física e, além disso, libera compostos químicos (serapilheira fresca), o que limita a emergência e o crescimento das plântulas (Figura 2). A lixiviação das folhas também apresenta efeito alelopático, já a exsudação das raízes

libera uma menor quantidade de metabólitos secundários. A semeadura de sementes e o plantio de mudas com baixa quantidade de serapilheira (degradada), para ajudar na retenção da umidade do solo, é uma alternativa para tentar aumentar a riqueza de espécies nos locais com domínio dessa planta exótica, já que a sua erradicação é um processo difícil, pois apresenta capacidade de rebrota (Morton 1980) e alta longevidade das sementes no solo.

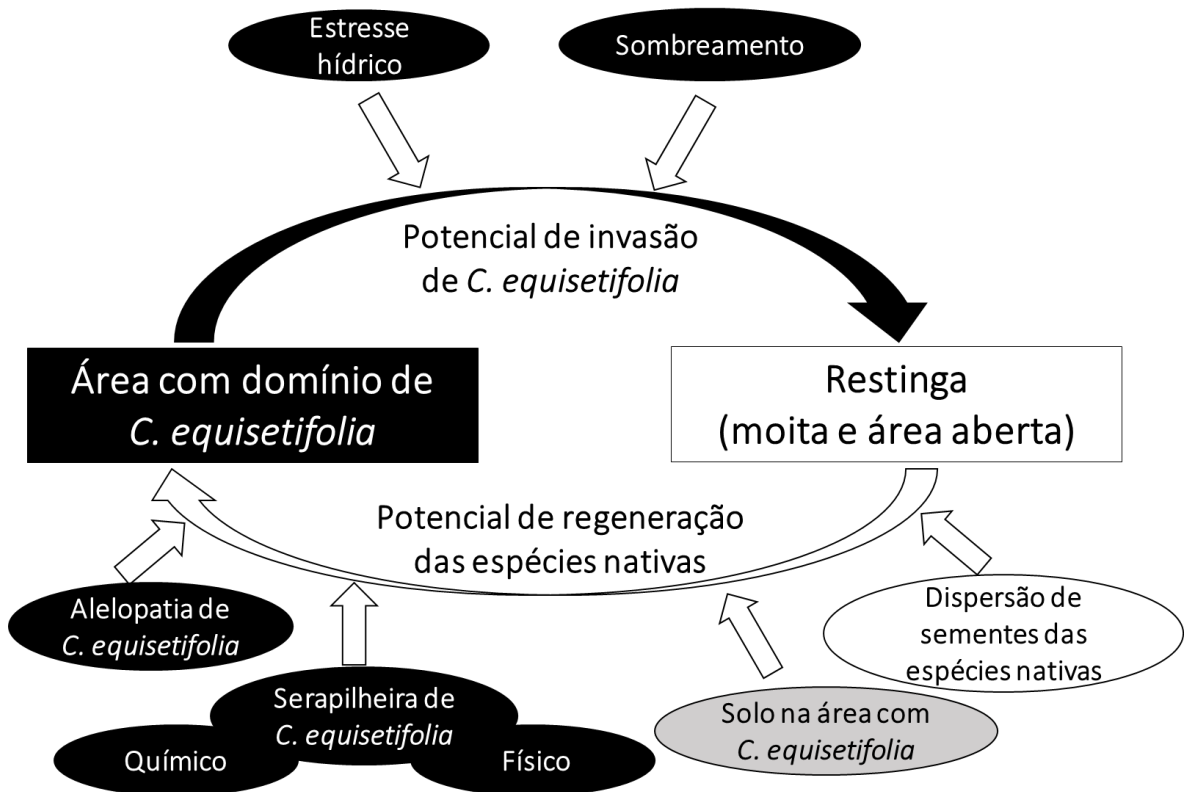


Figura 2. Fatores que influenciam o potencial de invasão de *Casuarina equisetifolia* na restinga e o potencial de regeneração das espécies nativas em área com domínio dessa planta exótica. Fatores que afetam positivamente (círculo branco), que não limitam (círculo cinza) e que afetam negativamente (círculo preto) o recrutamento.

Portanto, nas restingas, *C. equisetifolia* tem a capacidade de invadir principalmente locais com algum tipo de distúrbio que tenha ocasionado um aumento da luminosidade e da disponibilidade hídrica. A conservação desse ecossistema é fundamental para evitar a invasão por essa espécie nas áreas costeiras do Brasil. Após o seu estabelecimento, essa planta exótica causa alterações negativas no ambiente, principalmente devido a densa camada de serapilheira sobre o solo e pela produção de

substâncias aleloquímicas, que limitam o processo de regeneração natural das espécies nativas. Assim, a estratégia ruderal, que favorece o estabelecimento da espécie no novo ecossistema quando ocorre um aumento da disponibilidade de recursos após um evento de distúrbio (teoria da flutuação de recursos, Davis *et al.* 2000), associada a diminuição da competição com as espécies nativas pela liberação de compostos alelopáticos (Callaway & Aschehoug 2000) e pelo grande acúmulo de serapilheira (Figura 2), estão entre os mecanismos que explicam o processo de invasão de *C. equisetifolia*.

Referências Bibliográficas

- Callaway, R.M.; Ridenour, W.M. 2004. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2: 436-443.
- Davis, M.A.; Grime, J.P.; Thompson, K. 2000. Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of Ecology* 88:528-534.
- Durigan, G.; Ivanauskas N.M.; Zakia, M.J.B.; de Abreu R.C.R. 2013. Control of Invasive Plants: Ecological and Socioeconomic Criteria for the Decision Making Process. *Natureza & Conservação* 11(1):23-30.
- Grime, J.P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist* 111(982): 1169–1194.
- Morton, J.F. 1980. The Australian pine or beefwood (*Casuarina equisetifolia* L.) an invasive “weed” tree in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93: 87-95.
- Tani C.; Sasakawa H. 2003. Salt tolerance of *Casuarina equisetifolia* and *Frankia* Ceq1 strain isolated from the root nodules of *C. equisetifolia*. *Soil Science & Plant Nutrition* 49:215-222.