



Phytotoxicity of exotic plants on the physiological potential of seeds of native species of caatinga

Fitotoxidez de plantas exóticas sobre o potencial fisiológico de sementes de espécies nativas da caatinga

Silvana Fraga da Silva^{1*}, Halina Stéffany Lopes Costa², Jesimiel da Silva Viana³, Ana Maria Oliveira Ferreira⁴, Diego Souza Pereira⁵, Sebastião Medeiros Filho⁶

Abstract: The introduction of species is one of the major causes of biodiversity loss. Invasive exotic plants adapt, propagate and dominate, damaging both natural processes and native species. Thus, the objective was to evaluate the allelopathic effect of three exotic species in the caatinga, on the physiological quality of native forest seeds. Aqueous extracts of leaves of *Azadirachta indica*, *Prosopis juliflora* and *Cryptostegia madagascariensis* were tested to evaluate their effect on the seed germination and seedling vigor of *Piptadenia moniliformis*, *Mimosa tenuiflora* and *Mimosa caesalpiniaefolia*. Seed germination of *M. tenuiflora* was inhibited by the aqueous extracts of *P. juliflora* and *A. indica* in 100% and 42%, respectively, with a reduced GVI with the extracts of *P. juliflora* and *C. madagascariensis*. Regarding AEI, *P. juliflora* extract had positive effect on *P. moniliformis* seeds and negative on *M. tenuiflora* seeds, close to -1. A reduction in height of *P. moniliformis* was observed when the seedlings were in contact with the extracts of the invasive plants studied. For *M. tenuiflora*, the extract of *P. juliflora* prevented the formation of seedlings, and *M. caesalpiniaefolia* presented higher inhibitory effect with extracts of *P. juliflora* and *A. indica*. Therefore, *M. tenuiflora* showed to be sensitive to *P. juliflora* phytotoxicity.

Key words: Germination. Biological invasion. Allelopathic potential.

Resumo: A introdução de espécies é umas das maiores causas da perda da biodiversidade. As plantas exóticas invasoras se adaptam, propagam-se e exercem dominância, prejudicando tanto os processos naturais quanto as próprias espécies nativas. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial alelopático das espécies exóticas na caatinga, sobre a qualidade fisiológica de sementes florestais nativas. Extratos aquosos das folhas de *Azadirachta indica*, *Prosopis juliflora* e *Cryptostegia madagascariensis* foram testados para avaliar seu efeito sobre a germinação de sementes e vigor das plântulas de *Piptadenia moniliformis*, *Mimosa tenuiflora* e *Mimosa caesalpiniaefolia*. Na avaliação da germinação, as sementes de *M. tenuiflora* foram inibidas com extratos aquosos de *P. juliflora* e *A. indica* em 100% e 42%, respectivamente, com IVG reduzido com os extratos de *P. juliflora* e *C. madagascariensis*. Quanto ao RI, o extrato de *P. juliflora* teve efeito positivo nas sementes de *P. moniliformis* e negativo próximo a -1 nas sementes de *M. tenuiflora*. Nas plântulas de *P. moniliformis*, observou-se redução na altura, quando em contato com os extratos das plantas invasoras pesquisadas. Para a *M. tenuiflora*, o extrato de *P. juliflora* impediu a formação de plântulas, e as de *M. caesalpiniaefolia* apresentaram melhor efeito inibitório com extratos de *P. juliflora* e *A. indica*. Assim, a *M. tenuiflora* se mostrou sensível a fitotoxidez da *P. juliflora*.

Palavras-chave: Germinação. Invasão biológica. Potencial alelopático.

*Corresponding author

Submitted for publication on 08/03/2018 and approved 12/04/2018

¹Mestranda em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal do Ceará, DF/CCA/UFC, Lavras, Brasil. E-mail - silvana.silva1@posgrad.ufla.br;

²Mestre em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal do Ceará, DF/CCA/UFC, Fortaleza/Brasil. E-mail - ster_fany18@hotmail.com;

³Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Ceará; Bolsista de Iniciação Científica, DF/CCA/UFC, Fortaleza/Brasil. E-mail - jesimiel_95@hotmail.com;

⁴Mestranda em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal de Lavras, Lavras/Brasil. E-mail- anna_marya14@hotmail.com;

⁵Doutor em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal de Lavras, Lavras/Brasil. E-mail- diegobizi@gmail.com;

⁶Doutor, Prof^o da Universidade Federal do Ceará. Bolsista em produtividade de pesquisa do CNPq, DF/CCA/UFC, Fortaleza/Brasil. E-mail - filho@ufc.br

INTRODUCTION

Native to the caatinga areas of Northeast Brazil, the tree species *Piptadenia moniliformis* Benth (Catanduva), *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Black Jurema) and *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth (Sabiá) contribute to the balance and maintenance of the biome to which they belong. In addition, they are of fundamental importance in the regional economy, either through the generation of energy from their biomass or through the commercialization of wood and non-timber forest products (BRASIL, 2010).

Besides the native species of the caatinga, exotic or invasive species are common to occur, due to the transport between different regions, such as unintentionally introduction or as a result of human activities (THEOHARIDES; DUKES, 2007). Many of these invasive plants have survival characteristics that may, in some way, influence positively or negatively the development of native species and even the species itself (GATTI *et al.*, 2007; BRASS, 2009).

Exotic and invasive plants, such as *Azadirachta indica* A. Juss (Neem), *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. (Caatinga mesquite, Algaroba) and *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne. (Rubber vine, Viuvinha) release compounds with secondary activities which may help to explain the strong invasive potential of these species (HIERRO and CALLAWAY, 2003; GIORIA and OSBORNE, 2014). For this reason, allelopathy has received an increasing attention within the field of biological invasion (Negi *et al.*, 2016).

A. indica is a species native to India (Carneiro, 2008) that has an active compound, *azadirachtin*, that can be found throughout the plant. According to Costa *et al.* (2016), this compound has insecticidal and herbicidal properties, with variation in its allelopathic effect according to the concentration analyzed, once it has showed negative effects on germination and development of lettuce (*Lactuca sativa*), soybean (*Glycine max*), maize (*Zea mays*) and bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings (RICKLI *et al.*, 2011).

Of Andean origin, *P. juliflora* is well-adapted to hot and arid climates, facilitating its adaptation to Brazilian semiarid regions and other countries with similar climates, such as Australia (Almeida *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2014). In Brazil, considered one of the worst invasive plants, its biological invasion is currently considered one of the main causes of biodiversity loss (Santos; Diodato, 2016) and the impacts of this process, according to Andrade *et al.* (2010), are likely to get worse.

INTRODUÇÃO

Nativas das áreas de caatinga do Nordeste brasileiro, as espécies *Piptadenia moniliformis* Benth (Catanduva), *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Jurema-preta) e *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth (Sabiá) contribuem para o equilíbrio e a manutenção do bioma ao qual pertencem, além de exercerem importância fundamental na economia regional, seja pela geração de energia a partir de sua biomassa ou pela comercialização de produtos florestais madeireiros e não-madeireiros (BRASIL, 2010).

Além das espécies nativas da caatinga, é comum a ocorrência de espécies exóticas ou invasoras devido ao transporte entre as diferentes regiões, bem como a introdução de forma acidental ou como resultado das atividades do homem (THEOHARIDES; DUKES, 2007). Muitas dessas plantas invasoras possuem características de sobrevivência que de algum modo podem influenciar de forma positiva ou negativa no desenvolvimento das espécies nativas e até mesmo da própria espécie (GATTI *et al.*, 2007; BRASS, 2009).

Plantas exóticas e invasoras, como *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. (Algaroba) e *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne. (Viuvinha), liberam compostos com atividades secundárias, podendo, assim, explicar o potencial invasor dessas espécies, capazes de formar grandes populações em áreas invadidas (HIERRO; CALLAWAY, 2003; GIORIA; OSBORNE, 2014). Por essa razão, a alelopatia tem recebido cada vez mais atenção dentro dos estudos de invasão biológica (NEGI *et al.*, 2016).

A *A. indica* é uma espécie originária da Índia (CARNEIRO, 2008) que possui um composto ativo, *azadiractina*, encontrado em toda planta (MARTINEZ, 2002). Segundo estudo realizado por Costa *et al.* (2016), esse composto apresenta propriedades inseticida e herbicida, com variação do efeito alelopático de acordo com a concentração analisada, uma vez que apresentou efeito negativo sobre a germinação e no desenvolvimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa*), soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) (RICKLI *et al.*, 2011).

De origem andina, a *P. juliflora* possui resistência ao clima quente e seco, motivo que facilitou sua adaptação à região do semiárido brasileiro e outros países com climas semelhantes, exemplo da Austrália (ALMEIDA *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2014). No Brasil, considerada uma das principais plantas invasoras, sua invasão biológica constitui uma das principais causas de perda de biodiversidade atualmente (SANTOS; DIODATO, 2016), e os impactos desse processo, segundo Andrade *et al.* (2010), tendem a se agravar.

Native to Madagascar Islands, *C. madagascariensis* is known to cause unfavorable modifications to the environment, hindering the development of the native species present in the ecosystems, provoking loss in the biodiversity and ecological processes (KLACKENBERG, 2001; MARCHANTE *et al.*, 2008; RASCHER *et al.*, 2011). According to Araújo *et al.* (2017), this invasive plant may also be related to the release of allelopathic compounds that increase the invasion success, reducing the diversity of native species and, thus, the competition for resources.

The success of invasive exotic species may be associated with allelopathy, since the plants of the invaded area did not co-evolve with the invader, being easily affected by compounds released by these species (CALLAWAY; RIDENOUR, 2004). Therefore, allelopathic compounds released by exotic species may negatively affect native species, inhibiting their germination and growth (HIERRO; CALLAWAY, 2003). According to the authors, studies related to the invasive potential of exotic species need knowledge about possible allelopathic activity, generating information that may be related to native species.

Thus, the objective of the current study was to evaluate possible allelopathic effects of exotic species on the physiological quality of seeds and seedlings of plants native to the caatinga.

MATERIAL AND METHODS

In order to conduct the experiment, fresh leaves of the exotic plant species *Azadirachta indica*, *Prosopis juliflora* and *Cryptostegia madagascariensis* were collected at the Curu Valley Experimental Farm (FEVC) of the Federal University of Ceará (UFC), located in the municipality of Pentecoste - CE, which the geographic coordinates are: latitude 3°49'25 "S, longitude 39°20'20" W and altitude of 50 m. The climate is hot and humid, with annual mean temperatures of 26.8 °C, relative humidity of 73% and annual rainfall of 723.3 mm, with higher rainfall concentration in the months of March and April (NAGAO *et al.* 2005; SILVA *et al.*, 2014).

The collected leaves were washed in running water, then dried in a forced-air oven at 60 °C for 72 h. For each species, 200 g of leaves were used in one liter of distilled water in a capped and wrapped with aluminum foil beaker (to avoid photodegradation), remaining at rest for 24 h in BOD chambers at 25 ° C (FRANCE *et al.*, 2008). After this period, the extracts were filtered through a 2 mm mesh, forming the aqueous extracts (20%).

The seeds of *Piptadenia moniliformis*, *Mimosa tenuiflora* and *Mimosa caesalpiniaefolia*, used in the evaluation of the phytotoxicity of exotic species, were also collected in the FEVC of the UFC during the years 2015 and 2016, stored in a cold chamber at 18 ° C and relative humidity to 45%, for the execution of the experiment in 2017.

Originária das Ilhas de Madagascar, a *C. madagascariensis* é conhecida por causar modificações desfavoráveis ao meio ambiente, dificultando o desenvolvimento das espécies nativas presente nos ecossistemas, levando a perda de biodiversidade e de processos ecológicos (KLACKENBERG, 2001; MARCHANTE *et al.*, 2008; RASCHER *et al.*, 2011). Segundo Araújo *et al.* (2017), essa invasora também pode estar relacionada com a liberação de compostos alelopáticos que aumentam o sucesso da sua invasão, reduzindo a diversidade de espécies nativas e, assim, a competição por recursos.

O sucesso de espécies exóticas invasoras pode estar associado à alelopatia, já que as plantas da área invadida não co-evoluíram com a invasora, sendo facilmente afetadas por compostos liberados por essas espécies (CALLAWAY; RIDENOUR, 2004). Portanto, os compostos alelopáticos liberados por espécies exóticas podem afetar negativamente as espécies nativas, inibindo a sua germinação e o seu crescimento (HIERRO; CALLAWAY, 2003). Ainda segundo os autores, estudos relacionados ao potencial invasor de espécies exóticas carecem do conhecimento acerca de possível atividade alelopática, gerando informações que possam ser relacionadas às espécies nativas.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar possíveis efeitos alelopáticos de espécies exóticas sobre a qualidade fisiológica de sementes de plantas nativas da caatinga.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a condução do experimento foram coletadas folhas frescas das espécies de plantas exóticas *Azadirachta indica*, *Prosopis juliflora* e *Cryptostegia madagascariensis*, na Fazenda Experimental Vale do Curu (FEVC) da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada no município de Pentecoste – CE, cujas coordenadas geográficas são: latitude 3°49'25" S, longitude 39°20'20" W e altitude de 50 m. O clima é quente e úmido, com médias anuais de temperatura de 26,8 °C, umidade relativa de 73% e precipitação pluviométrica anual de 723,3 mm, com maior concentração das chuvas nos meses de março e abril (NAGAO *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2014;).

As folhas coletadas foram lavadas em água corrente, em seguida secas em estufa de circulação forçada de ar à 60 °C por 72 h. Utilizou-se 200 g de folhas para cada espécie, em um litro de água destilada, em béquer prontamente tampado e envolto com papel alumínio (evitando a fotodegradação), permanecendo em repouso por 24 h em câmaras do tipo B.O.D à 25 °C (FRANÇA *et al.*, 2008). Após esse período, filtraram-se os extratos em peneira com malha de 2 mm, constituindo os extratos aquosos (20%).

As sementes de *Piptadenia moniliformis*, *Mimosa tenuiflora* e *Mimosa caesalpiniaefolia*, empregadas na avaliação da fitotoxicidade das espécies exóticas, foram coletadas, também, na FEVC da UFC, durante os anos de 2015 e 2016, armazenadas em câmara fria a 18 °C e umidade relativa a 45%, para a execução do experimento em 2017.

The experiment was conducted in a completely randomized design (DIC) in a factorial scheme (4 x 3), with 4 replicates. The factors corresponded to the extracts obtained from the 4 exotic species and seeds of the 3 native forest species. The plot consisted of 25 seeds.

In order to perform the tests, seeds of the native forest species were submitted to pre-germinative treatments to overcome the integumentary dormancy, according to the methods described below: *P. moniliformis* - seeds immersed in a double boiler at 80 °C for 4 minutes (AZEREDO *et al.*, 2010); *M. tenuiflora* - seeds immersed in a double boiler at 100 °C for 1 minute (FARIAS *et al.*, 2013); and *M. caesalpiniaefolia* - seeds immersed in a double boiler at 100 °C for 4 seconds (PASSOS *et al.*, 2007).

To evaluate the allelopathic effect of the extracts, seeds were placed in petri dishes, with two layers of germitest paper and moistened with the extracts of the species (20%), evaluated in the ratio of 2.5 times the weight of the paper. A control treatment using distilled water in the same ratio was also used. The petri dishes were conditioned in germinator at 25 °C, constant light for 10 days, and the following evaluations were performed:

Percentage of germination (PG): by the first germination count (PCG) of normal seedlings on the fifth day and the final count (G) obtained on the tenth day after the start of the test. Normal seedlings were considered those that had all their essential structures well developed, completed, proportionate and healthy, according to criteria established in Brasil (2009).

Germination velocity index (GVI): obtained according to the formula described by Maguire (1962), summing the number of seeds germinated each day, and dividing by the number of days since the beginning of the test.

Allopathic effect index (AEI): obtained according to the methodology proposed by Gao *et al.* (C), where $RI = 1 - C/T$ ($T \geq C$) or $RI = T/C - 1$ ($T < C$), and C = germination rate index of the control; T = rate of germination of the treatment.

Seedling length: 10 seedlings were randomly selected per replication and, with the aid of a millimeter graduated ruler, the length was measured from the root end to the end of the aerial part. The results were expressed in cm per seedling.

In order to meet the assumptions of the analysis of variance (ANOVA), the data of GVI, first and final germination count were submitted to transformation (\sqrt{x}), for the other variables there was no need of data transformation. For the significant effects by the F-test, the averages were compared by the Tukey test at 5% probability. The software SISVAR (FERREIRA, 2011) was used for the statistical analysis.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (4 x 3), com 4 repetições. Os fatores corresponderam aos extratos obtidos das 4 espécies exóticas e sementes das 3 espécies florestais nativas. A parcela foi composta por 25 sementes.

Para realização dos testes, as sementes das espécies florestais nativas foram submetidas a tratamentos pré-germinativos para superação da dormência tegumentar, conforme métodos descritos a seguir: *P. moniliformis* - sementes imersas em banho-maria a 80 °C por 4 minutos (AZEREDO *et al.*, 2010); *M. tenuiflora* - sementes imersas em banho-maria a 100 °C por 1 minuto (FARIAS *et al.*, 2013); e *M. caesalpiniaefolia* - sementes imersas em banho-maria a 100 °C por 4 segundos (PASSOS *et al.*, 2007).

Para avaliação do efeito alelopático dos extratos, as sementes foram colocadas em placas de petri, forradas com duas camadas de papel germitest e umedecidas com os extratos das espécies (20%) avaliadas na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Utilizou-se, também, um tratamento controle empregando água destilada na mesma proporção. As placas foram acondicionadas em germinador a 25 °C, luz constante por 10 dias, sendo realizadas as seguintes avaliações:

Porcentagem de germinação (PG): obtida a primeira contagem de germinação (PCG) de plântulas normais no quinto dia e a contagem final (G) no décimo dia após o início do teste. Foram consideradas plântulas normais aquelas que estavam com todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas, proporcionais e sadias conforme critérios estabelecidos em Brasil (2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG): obtido conforme fórmula descrita por Maguire (1962), realizando a somatória do número de sementes germinadas em cada dia, dividido pelo número de dias das suas germinações desde o início do teste.

Índice de efeito alopatóico (RI): obtido conforme metodologia proposta por Gao *et al.* (2009), sendo $RI = 1 - C/T$ ($T > C$) ou $RI = T/C - 1$ ($T < C$), em que: C = índice de velocidade de germinação do controle; T = índice de velocidade de germinação do tratamento.

Comprimento das plântulas: foram selecionados ao acaso 10 plântulas por repetição e, com auxílio de uma régua graduada em milímetro, foi mensurado, da extremidade da raiz até a extremidade da parte aérea, o comprimento. Os resultados foram expressos em cm por plântula.

Para atender os pressupostos da análise de variância (ANOVA), os dados de IVG, primeira e contagem final de germinação foram submetidos a transformação (\sqrt{x}), para as demais variáveis não houve necessidade. Para os efeitos significativos pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se para a análise estatística os dados do programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

According to Table 1, there was a significant interaction ($p \leq 0.01$) among the studied factors, indicating that the different aqueous extracts extracted from leaves of the four invasive species had a significant influence on the physiological quality of the seeds of the three native species (Table 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Tabela 1, houve interação significativa ($p \leq 0,01$) entre os fatores estudados, indicando que os diferentes extratos aquosos extraídos de folhas de quatro espécies invasoras influenciaram significativamente na qualidade fisiológica das sementes de três espécies nativas (Tabela 1).

Table 1 - Mean squares, coefficients of variation and F-test significance for the first germination count (GPC), germination (G), germination velocity index (GVI), and seedling length (C)

Tabela 1 - Quadrados médios, coeficientes de variação e significância do teste F referentes a primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e comprimento da plântula (C)

FV	GL	Mean Square			
		PCG	G	IVG	C
Ex	2	34.63**	27.32**	10.04**	129**
Es	3	67.48**	49.27**	40.17**	82.4**
Ex x Es	6	27.46**	15.13**	9.58**	40.9**
CV%	-	35.86	17.72	16.04	9.27

**Significant at 1% probability. Ex: extracts; Es: species.

**Significância ao 1% de probabilidade. Ex: extratos; Es: espécies.

In the evaluation of the first germination count, it was observed that the aqueous extracts of *P. juliflora* retarded the germination of the seeds of *M. tenuiflora* and *M. caesalpiniaefolia*, in a similar way, and seeds of *P. moniliformis* had their germination delayed by the aqueous extracts of *A. indica* and *C. madagascariensis* (Table 2).

Na avaliação da primeira contagem de germinação, observou-se que os extratos aquosos de *P. juliflora* retardaram a germinação das sementes de *M. tenuiflora* e *M. caesalpiniaefolia*, de forma semelhante, e sementes de *P. moniliformis* tiveram sua germinação retardada pelos extratos aquosos de *A. indica* e *C. madagascariensis* (Tabela 2).

Table 2 - Effect of aqueous extracts of leaves of *P. juliflora*, *A. indica* and *C. madagascariensis* on the first germination count and final seed germination count of *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* and *M. caesalpiniaefolia*

Tabela 2 - Efeito dos extratos aquosos de folhas de *P. juliflora*, *A. indica* e *C. madagascariensis* na primeira contagem de germinação e contagem final de germinação de sementes *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* e *M. caesalpiniaefolia*

	Extracts			
	Controle	<i>P. juliflora</i>	<i>A. indica</i>	<i>C. madagascariensis</i>
First germination count (%)				
<i>P. moniliformis</i>	4 Cb	17 Aa	0 Bb	0 Bb
<i>M. tenuiflora</i>	70 Aa	0 Bd	44 Ab	28 Ac
<i>M. caesalpiniaefolia</i>	26 Ba	0 Bb	8 Ab	0 Bb
Final Germination Count (%)				
<i>P. moniliformis</i>	74 Aa	80 Aa	77 Aa	68 Aa
<i>M. tenuiflora</i>	70 Aa	0 Bc	40 Bb	62 Aab
<i>M. caesalpiniaefolia</i>	50 Ba	20 Ba	24 Ba	25 Ba

Same upper case letters in the column and lower case in the row indicate no statistical difference (Tukey test, 5% probability).

Letras iguais maiúsculas na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Slowing the germination evaluated in the first count, the aqueous extract of *P. juliflora* caused a deleterious effect on the germination of *M. tenuiflora* seeds, given the complete inhibition of seed germination, whereas seeds of *P. moniliformis* are characterized as tolerant to the allelopathic effects caused by invasive species whose averages of germination do not differ from the control mean (Table 2).

Regardless of the aqueous extract used, there was a reduced germination on seeds of *M. caesalpiniaefolia*, but the extracts were not able to completely inhibit the formation of normal seedlings of this species, suggesting a possible resistance to the deleterious effects caused by allelopathy of invasive species.

Azadirachtin is the main allelopathic substance found in *A. indica*, present on leaves, as well as on fruits and seeds. Different studies have proven the inhibitory effects on physiological quality of other species of cultivated plants. França *et al.* (2008) found that the aqueous extract of *A. indica* was allelopathic in seeds of *Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Lactuca sativa* L., and *Bidens pilosa* (L.) Willd. These changes in the process of seed germination are interconnected to the water flow into the cells, which may carry with it some allelopathic substances that prevent or delay the division or cell growth, resulting in delayed germination (GOMES *et al.*, 2017).

Identifying these inhibitory effects is important in studies with forest species, since these plants are targets of economic and biological interests. Invasive species may inhibit natural regeneration and the development of other plants. Thus, allelopathy studies are important to analyze whether invasive species interfere in the environment in which they are inserted, such as *A. indica*, which has been implanted in several regions of Brazil, especially in regions with hot and dry climate, such as the semi-arid northeastern.

Accordingly, there is the example of *M. tenuiflora*, which is widely distributed in the Caatinga, a predominant biome in the semiarid northeast region of Brazil (BRASIL, 2016). From the results obtained in the present study, it was possible to infer that the invasion and dissemination of the *P. juliflora* species represents a risk to the natural populations of *M. tenuiflora*, due to the intense inhibitory effect on seed germination.

The aqueous extracts from *A. indica* and *C. madagascariensis* affected the Germination Velocity Index (GVI) of the seeds of *M. caesalpiniaefolia* (Figure 1). It is also observed that *P. juliflora* had allelopathic action on the species *M. tenuiflora* and *M. caesalpiniaefolia*. The GVI test, according to Wardle *et al.* (1991), is the most sensitive indicator of allelopathic potential.

Retardando a germinação avaliada na primeira contagem, o extrato aquoso de *P. juliflora* causou efeito deletério sobre a germinação de sementes de *M. tenuiflora*, dada a completa inibição da germinação das sementes, enquanto sementes de *P. moniliformis* caracterizam-se como tolerantes aos efeitos alelopáticos causados pelas espécies invasoras, cujas médias de germinação não diferem da média do controle (Tabela 2).

Independente do extrato aquoso utilizado houve redução da germinação das sementes de *M. caesalpiniaefolia*, porém os extratos não foram capazes de inibir completamente a formação de plântulas normais dessa espécie, evidenciando uma possível resistência à ação deletéria causada pela alelopatia das espécies invasoras.

A azadiractina é a principal substância alelopática encontrada na *A. indica*, presente nas folhas, assim como também nos frutos e sementes. Diferentes estudos vêm comprovando os efeitos inibitórios sobre qualidade fisiológica de outras espécies vegetais de plantas cultivadas. França *et al.* (2008) verificaram que o extrato aquoso de *A. indica* foi alelopático em sementes de *Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* (L.) Willd. Essas alterações no processo de germinação da semente estão interligadas ao fluxo de água para o interior das células, que pode levar consigo algumas substâncias alelopáticas que impedem ou retardam a divisão ou crescimento das células, resultando em atraso na germinação (GOMES *et al.*, 2017).

Identificar esses efeitos inibitórios é importante em estudos com espécies florestais, uma vez que essas plantas são alvos de interesses econômicos e biológicos. Espécies invasoras podem inibir a regeneração natural e o desenvolvimento de outras plantas. Assim, estudos de alelopatia são importantes para analisar se as espécies invasoras interferem no ambiente em que estão sendo inseridas, como a *A. indica*, que vem sendo implantada em várias regiões do Brasil, principalmente em regiões de clima quente e seco, como o semiárido nordestino.

Nesse sentido, têm-se o exemplo da espécie *M. tenuiflora*, que se encontra amplamente distribuída no bioma caatinga, predominante no semiárido nordestino (BRASIL, 2016). Pelos resultados obtidos no presente estudo, foi possível inferir que a invasão e disseminação da espécie *P. juliflora* representa um risco às populações naturais de *M. tenuiflora*, devido intenso efeito inibitório sobre germinação das sementes.

Os extratos aquosos das invasoras *A. indica* e *C. madagascariensis* afetaram o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de *M. caesalpiniaefolia* (Figura 1). Observa-se também que *P. juliflora* teve ação alelopática nas espécies *M. tenuiflora* e *M. caesalpiniaefolia*. Sendo esse teste, segundo Wardle *et al.* (1991), o indicador mais sensível do potencial alelopático.

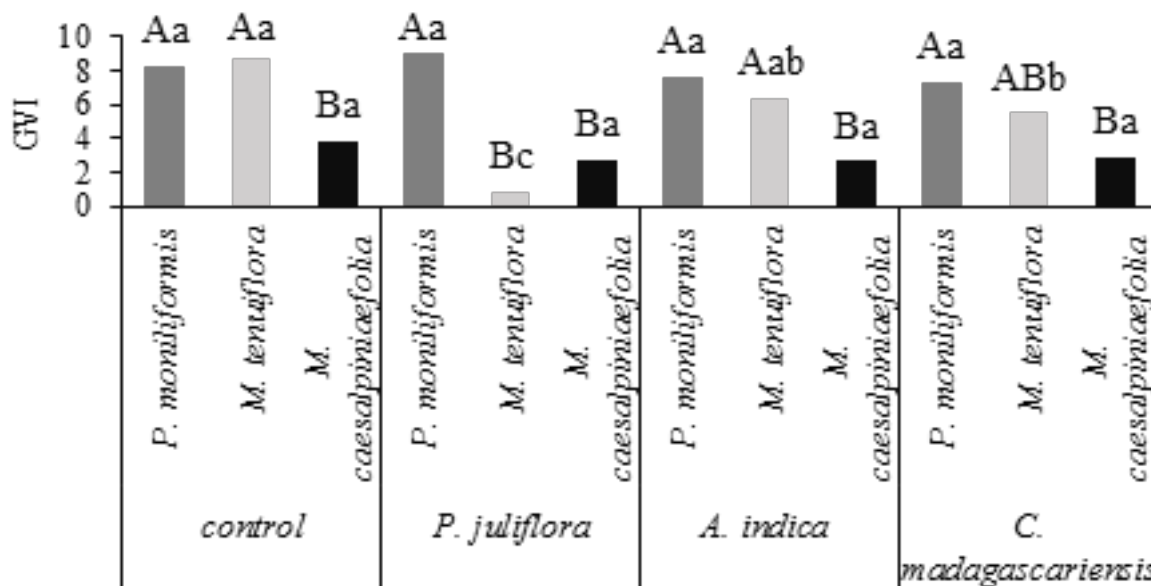


Figure 1 - Germination Velocity Index (GVI) for *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* and *M. caesalpiniaefolia* seeds with extracts of *P. juliflora*, *A. indica* and *C. madagascariensis*.

Same upper case letters do not differ between species and lowercase letters do not differ between the extracts, by the Tukey test at 5% probability.

Figura 1 - Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* e *M. caesalpiniaefolia* sob extratos aquosos de folhas de *P. juliflora*, *A. indica* e *C. madagascariensis*.

Letras iguais maiúsculas não diferem entre as espécies e minúsculas não diferem entre os extratos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Araújo *et al.* (2017), studying the allelopathic effects of *C. madagascariensis* on seeds of *Lactuca sativa* L., *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke, *Mimosa caesalpinifolia* (Benth.) and *Libidibia ferrea* (Mart.) LP Queiroz, concluded that only the seeds of *L. sativa* had inhibitory effects by the invasive species, once it is a species with greater sensitivity. This result was different from that found in the present work because the seeds of *M. caesalpinifolia* were the most affected in the presence of the aqueous extract of *C. madagascariensis*.

Pisula and Meiners (2010) and Jandová *et al.* (2015) observed that allelopathic compounds do not always interfere significantly in all the analyzed variables. However, changes may occur depending on the species, origin and the extract concentration.

P. juliflora promoted high phytotoxicity on the physiological potential of *M. tenuiflora* seeds and favored the germination of *P. moniliformis* seeds in relation to the control treatment (Table 2). This stimulus can also be observed by the result of the allelopathic effect index, being the only aqueous extract that determined a positive effect in one of the studied species (Figure 2).

In general, plants produce secondary metabolites which can vary in quality and quantity among plant species, even from the same place of occurrence or from one crop cycle to another (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Araújo *et al.* (2017), estudando os efeitos alelopáticos de *C. madagascariensis* em sementes de *Lactuca sativa* L., *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke, *Mimosa caesalpinifolia* (Benth.) e *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz, concluíram que apenas as sementes de *L. sativa* sofreram efeitos inibitórios da espécie invasora por ser uma espécie com maior sensibilidade. Resultado diferente do encontrado no presente trabalho, pois as sementes de *M. caesalpinifolia* foram as mais afetadas na presença do extrato aquoso de *C. madagascariensis*.

Pisula e Meiners (2010) e Jandová *et al.* (2015) observaram que nem sempre os compostos alelopáticos interferem significativamente em todas as variáveis analisadas, no entanto, é possível ocorrer mudanças conforme a espécie, a origem e a concentração do extrato.

A. P. juliflora promoveu alta fitotoxicidade sobre o potencial fisiológico das sementes de *M. tenuiflora* e favoreceu a germinação das sementes de *P. moniliformis* em relação ao controle (Tabela 2). Esse estímulo também pode ser observado pelo resultado do índice de efeito alelopático, sendo o único extrato aquoso que determinou efeito positivo em uma das espécies estudadas (Figura 2).

Em regra, as plantas produzem metabólitos secundários, que podem variar em qualidade e quantidade entre as espécies vegetais, mesmo de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro (FERREIRA; AQUILA, 2000).

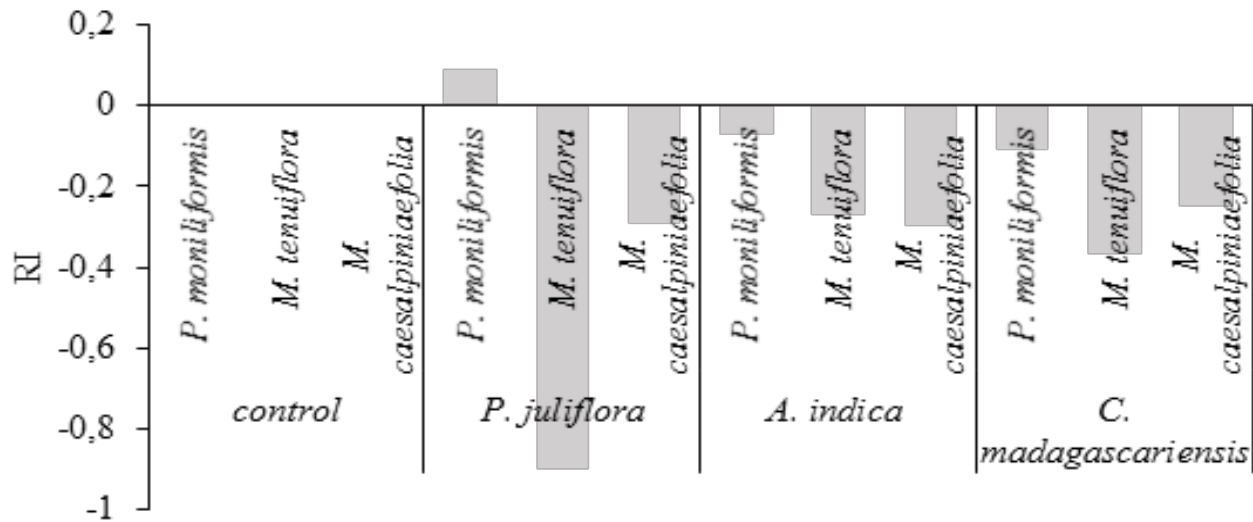


Figure 2 - Allelopathy index (AEI) for the aqueous leaf extracts of *P. juliflora*, *A. indica* and *C. madagascariensis*.
 Figura 2 - Índice de alelopatia (RI) do extrato aquoso de folhas de *P. juliflora*, *A. indica* e *C. madagascariensis*.

Seedling length is the variable that best expresses the effect of the allelochemical compounds, since they are sensitive to toxicity and are in direct contact with the extracts (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). According to Table 3, the *P. moniliformis* seedlings had their growth drastically compromised, especially when in contact to aqueous extract of *C. madagascariensis*. Regarding *M. tenuiflora*, its growth was completely inhibited in the presence of the *P. juliflora* extract.

O comprimento das plântulas é a variável que melhor expressa o efeito dos compostos aleloquímicos, pois são sensíveis a toxicidade e ficam em contato direto com os extratos (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Conforme Tabela 3, as plântulas de *P. moniliformis* tiveram o crescimento drasticamente comprometido, principalmente quando em contato com extrato aquoso de *C. madagascariensis*. Quanto à *M. tenuiflora*, teve seu crescimento completamente inibido na presença do extrato de *P. juliflora*.

Table 3 - Seedlings length from seeds of *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* and *M. caesalpiniaefolia* moistened with aqueous extracts of exotic plants

Tabela 3 - Comprimento das plântulas das sementes de *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* e *M. caesalpiniaefolia* umedecidas com extratos aquosos de plantas exóticas.

	Extracts			
	Controle	<i>P. juliflora</i>	<i>A. indica</i>	<i>C. madagascariensis</i>
	Seedlings length (cm per seedling)			
<i>P. moniliformis</i>	6.77 Aa	4.13 Ab	4.08 ABb	3.30 Ac
<i>M. tenuiflora</i>	4.26 Ba	0 Cb	4.09 Ba	3.70 Aa
<i>M. caesalpiniaefolia</i>	4.78 Ba	3.18 Bc	4.70 Aa	3.91 Ab

Same upper case letters in the column and lower case in the row do not differ by Tukey test at 5% probability.
 Letras iguais maiúsculas na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

The extracts of *C. madagascariensis* and *P. juliflora* presented toxicity only on the growth of *M. caesalpiniaefolia* seedlings, an effect not observed in the germination test (Table 2). A similar result was found by Araújo *et al.* (2017), which showed that the extracts of *C. madagascariensis* did not affect the percentage and speed of germination of this species, but negatively affected the growth of the seedlings. *P. juliflora* is an allelopathic plant considered drastic due to the presence of secondary compounds such as alkaloids, steroids, triterpenes, saponins and flavonoids (MATOS, 1997; SOUZA; SILVA, 2006; GETACHEW *et al.*, 2012). The inhibition caused by these allelochemicals is complex and may involve the interaction of different classes of chemicals products and mixtures of different compounds, sometimes with a greater allelopathic effect than the isolated compounds (FERGUSON *et al.*, 2013).

CONCLUSIONS

The aqueous extract of *P. juliflora* negatively affects the physiological potential of *M. tenuiflora* seeds;

The seeds of *P. moniliformis* and *M. caesalpiniaefolia* are sensitive to the phytotoxic effects caused by the aqueous extracts of the invasive species.

Os extratos de *C. madagascariensis* e *P. juliflora* apresentaram toxicidade apenas no crescimento das plântulas de *M. caesalpiniaefolia*, efeito não observado no teste de germinação (Tabela 2). Resultado semelhante foi encontrado por Araújo *et al.* (2017), os quais mostraram que os extratos de *C. madagascariensis* não afetaram a porcentagem e velocidade de germinação dessa espécie, porém, afetaram negativamente o crescimento das plântulas. *A. P. juliflora* é uma planta alelopática considerada drástica pela presença de compostos secundários como alcaloides, esteroides, triterpenos, saponinas e flavonoides (MATOS, 1997; SOUZA; SILVA, 2006; GETACHEW *et al.*, 2012). A inibição por parte desses aleloquímicos é complexa e pode envolver a interação de diferentes classes de produtos químicos e com misturas de compostos diferentes, por vezes, com um efeito alelopático maior do que os compostos isoladamente (FERGUSON *et al.*, 2013).

CONCLUSÕES

O extrato aquoso de *P. juliflora* afeta negativamente o potencial fisiológico de sementes de *M. tenuiflora*;

As sementes de *P. moniliformis* e *M. caesalpiniaefolia* são sensíveis aos efeitos fitotóxicos provocados pelos os extratos aquosos das espécies invasoras.

LITERATURA CIENTÍFICA CITADA

AZEREDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V.; MORO, F. V. Superação de dormência de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2 p. 49-58, 2010.

ALMEIDA, W. R.; LOPES, A.V.; TABARELLI, M.; LEAL, I. R. The alien flora of Brazilian Caatinga: deliberate introductions expand the contingent of potential invaders. **Biological Invasions: Invasion**, v. 17, n. 1, p. 51–56, 2014.

ANDRADE, L. A.; FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, F. X. Impactos da invasão de *Prosopis juliflora* (sw.) DC. (Fabaceae) sobre o estrato arbustivo-arbóreo em áreas de Caatinga no Estado da Paraíba, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 249-255, 2010.

ARAÚJO, H. T. N.; BRITO, S. F.; PINHEIRO, C. L.; FILHO, S. M. A alelopatia aumenta o potencial invasor de *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne.?. **Enciclopédia Biosfera**, v. 14, n. 25, p. 1-12, 2017.

BRASIL. **Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395 p.

BRASIL. **Ministério de Meio Ambiente**. Serviço uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga/ Maria Auxiliadora Gariglio [et al.], organizadores. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. 368p.

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente**. Ceará: inventário florestal nacional: principais resultados/ Ministério do Meio Ambiente. Serviço Florestal Brasileiro. - Brasília: MMA, 2016.

BRASS, F. E. B. Análise de atividade alelopática de extrato aquoso de falsa murta sobre a germinação de picão-preto e caruru. **Enciclopédia Biosfera**, v. 5, n. 8, p. 1-19, 2009.

CALLAWAY, R. M.; RIDENOUR, W. M. Novel weapons: a biochemically based hypothesis for invasive success and the evolution of increased competitive ability. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 2, n. 8, p. 436-433, 2004.

CARNEIRO, S.M.T.P.G. **Efeito do Nim (*Azadirachta indica*) sobre o oídio e antracnose**. Informe de Pesquisa-Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina-PR, n. 155. 2008. 16p.

- COSTA, E. M.; TORRES, S. B.; FERREIRA, R. R.; SILVA, F. G.; ARAUJO, E.L. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. **Revista Ciências Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 401-406, 2016.
- ENDRESS, M.E.; BRUYNS, P.V. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review**, v. 66, p. 1-56, 2000.
- FARIAS, R. M.; FREITAS, R. M. O.; NOGUEIRA, W.; DOMBROSKI, J. L. D. Superação de dormência em sementes de jurema-branca (*Piptadenia stipulacea*). **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 56, n. 2, p. 160-165, 2013.
- FERGUSON, J. J.; RATHINASABAPATHI, B.; CHASE, C. A. Allelopathy: how plants suppress other plants. 2013. 5 p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 12 (Edição Especial), p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. 2ª ed. Porto Alegre. Ed. Artmed. 323p. 2004
- FRANÇA, A. C.; SOUZA, I. F.; SANTOS, C. C.; OLIVEIRA, E. Q.; MARTINOTTO, C. Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1374-1379, 2008.
- GAO, X.; LI, M.; GAO, Z.; LI, C.; SUN, Z. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata* on the germination and growth of wheat, sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. **Weed Biology and Management**, v. 9, p. 243-249, 2009.
- GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G.A.; FERREIRA, A. G. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 174-176, 2007.
- GIORIA, M.; OSBORNE, B. A. Resource competition in plant invasions: emerging patterns and research needs. **Functional Plant Ecology**, v. 5, p. 1-21, 2014.
- GOMES, M. M.; BERTONCELLI, D. J.; ALVES, G. A. C.; FREIRIA, G. H.; FURLAN, F. F., F. F.; GOMES, G. R.; FAVORETTO, V. R.; NETO, H. F. I.; OMURA, M. S.; SOUZA, J. R. P. Allelopathic Potential of the Aqueous Extract of *Raphanus sativus* L. on the Germination of Beans and Corn Seeds. **Open Access Library Journal**, v. 4, n. 5, p. 1-10, 2017.
- HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R. M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 29-39, 2003.
- JANDOVÁ, K.; DOSTÁL, P.; CAJTHAML, T. Searching for *Heracleum mantegazzianum* allelopathy in vitro and in a garden experiment. **Biological Invasions**, v. 17, n. 4, p. 987-1003, 2015.
- KLACKENBERG, J. Revision of the genus *Cryptostegia* R. Br. (Apocynaceae, Periplocoideae). *Adansonia* sér, v. 23, n. 2, p. 205-218, 2001.
- MARCHANTE, E.; KJØLLER, A.; STRUWE, S.; FREITAS H. Short and long-term impacts of *Acacia longifolia* invasion on the belowground processes of a Mediterranean coastal dune ecosystem. **Applied Soil Ecology**, v. 40, n. 2, p. 210-217, 2008.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- MATOS, F. J. A. Introdução a fitoquímica experimental. 2th ed., Edições: UFC - Fortaleza, 1997.
- NAGAO, E. O.; INNECCO, R. MATTOS, S. H.; MARCO, C. A. Influência do período de secagem nas estações secas e chuvosas no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br., nas condições do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 1, p. 53-59, 2005.
- NASCIMENTO, C. E. S.; TABARELLI, M.; SILVA, C. A.; LEAL I. R.; SOUZA, T. W.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. The introduced tree *Prosopis juliflora* is a serious threat to native species of the Brazilian Caatinga vegetation. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 108-113, 2014.
- NEGI, A.; BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. Allelopathic effect of leaves of invasive tree *Broussonetia papyrifera* against some crop plants. **Annals of Plant Sciences**, v. 5, n. 1, p. 1261-1264, 2016.
- PASSOS, M. A.; TAVARES, K. M. P.; ALVES, A. R. Germinação de sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 51-56, 2007.

- PISULA, N. L.; MEINERS, S. J. Relative allelopathic potential of invasive plant species in a young disturbed woodland. **Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 137, n. 1, p. 81–87, 2010.
- RASCHER, K. G.; GROBE-STOLTENBERG, A.; MÁGUAS, C.; WERNER, C. Understory invasion by *Acacia longifolia* alters the water balance and carbon gain of a Mediterranean pine forest. **Ecosystems**, v. 14, p. 904–919, 2011.
- RICKLI, H. C.; FORTES, A. M. T.; SILVA, P. S. S.; PILATTI, D. M.; HUTT, D. R. Allelopathic effect of aqueous extract of *Azadirachta Indica* A. Juss. on lettuce, soybeans, maize, beans and *Bidens pilosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2 p. 473-484, 2011.
- GETACHEW, S.; DEMISSEW, S.; WOLDEMARIAM, T. Allelopathic effects of the invasive *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. on selected native plant species in Middle Awash, Southern Afar Rift of Ethiopia. **Management of Biological Invasions**, v. 3, n. 2, p. 105-114, 2012.
- SANTOS, J. P.; DIODATO, M. A. Análise da invasão de *Prosopis juliflora* (SW). D.C. na caatinga, município de Fernando Pedroza, Rio Grande do Norte. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 12, n. 1, p. 01-09, 2016.
- SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; FREITAS, C. A. S.; AMORIM, A. V.; CARVALHO, L. C. C.; FILHO, J. V. P. Coeficientes de sensibilidade ao déficit hídrico para a cultura do girassol nas condições do semiárido Cearense. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 8, n. 1, p. 38-51, 2014.
- SOUZA, M. F. V.; SILVA, D. A. Extração, isolamento e reação de caracterização de constituintes químicos. In: Almeida, R. N. Psicofarmacologia, fundamentos práticos. 1 ed., cap 6. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006.
- THEOHARIDES, K. A.; DUKES, J. S. Plant invasion across space and time: factors affecting nonindigenous species success during fourstages of invasion. **New Phytologist**, v. 176, n. 2, p. 256-273, 2007.