

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA
E RECURSOS NATURAIS - PPGDR**

**EFEITO DA DECOMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE
Azadirachta indica A. JUSS. SOBRE A GERMINAÇÃO E
CRESCIMENTO DE *Myracrodruon urundeuva***

ALLEMÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

VIVIANE BEZERRA DA SILVA

CRATO-CE

2020

VIVIANE BEZERRA DA SILVA

**EFEITO DA DECOMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE *Azadirachta indica* A. JUSS.
SOBRE A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Myracrodruon urundeuva*
ALLEMÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Regional do Cariri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais, área de concentração em Biodiversidade, para obtenção do título de Mestra.

Profa. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva

Orientadora

Dra. Pâmela Lavor Rolim

Coorientadora

CRATO-CE

2020

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri – URCA
Bibliotecária: Ana Paula Saraiva de Sousa CRB: 3/1000

Silva, Viviane Bezerra da.
S586e Efeito da decomposição das folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. sobre a germinação e crescimento de *Myracrodruon urundeuva* Allemão/ Viviane Bezerra da Silva. – Crato – CE, 2020.
83p.; il.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais da Universidade Regional do Cariri – URCA; Área de Concentração em Biodiversidade
Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Coorientadora: Prof.^a Dra. Pâmela Lavor Rolim

1. Alelopatia, 2. Nim indiano, 3. Resíduos, 4. Terpenos;
I. Título.

CDD: 615.32

VIVIANE BEZERRA DA SILVA

**EFEITO DA DECOMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE *Azadirachta indica* A. JUSS.
SOBRE A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Myracrodruon urundeuva*
ALLEMÃO**

Dissertação apresentada e aprovada pela Banca Examinadora em 22/09/2020

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Orientadora (URCA)

Prof. Dr. João Tavares Calixto Júnior
Membro interno (URCA)

Profa. Dra. Antônia Eliene Duarte
Membro externo (URCA)

Profa. Dra. Sírléis Rodrigues Lacerda
Suplente do membro interno (URCA)

Profa. Dra. Cláudia Araújo Marco
Suplente do membro externo (UFCA)

A minha família, a minha irmã Sabrina pelo apoio, carinho e companheirismo e aos meus pais José e Luiza, que não tiveram as mesmas oportunidades que eu tive, mas fizeram o possível para que eu estivesse onde estou. Pelo exemplo de coragem, simplicidade e persistência.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela vida, pela sabedoria, por todas as minhas conquistas pessoais e profissionais, e por iluminar meu caminho me dando fé e força para seguir sempre em frente.

À Universidade Regional do Cariri – URCA pelo espaço cedido durante minha permanência nessa instituição.

Agradeço de modo especial a minha orientadora Prof^a. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva, por ter me acolhido desde o início da minha graduação quando eu ainda era estagiária da Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa. Obrigada pela orientação, apoio, direcionamento e pelas valiosas contribuições para o desenvolvimento deste trabalho. A você, todo meu respeito, admiração e gratidão.

A minha coorientadora Pâmela Lavor pelas valiosas contribuições no trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas sugestões dadas para aperfeiçoamento deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e apoio financeiro para a realização da pesquisa.

A Agência Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

Aos meus pais, José Alves da Silva e Luiza Bezerra Felix da Silva, pois tudo que consegui só foi possível graças ao amor, apoio e dedicação que vocês sempre tiveram por mim. Sempre me ensinaram a agir com respeito, simplicidade, dignidade, honestidade e amor ao próximo. Dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas a vocês.

Quero agradecer a minha irmã Sabrina Bezerra da Silva, pela amizade, apoio e carinho, e por estar sempre torcendo pelas minhas conquistas.

A todos os meus familiares por me apoiarem direta ou indiretamente, e de modo especial as minhas tias Ivonete Alves (Nêga) e Francinete Alves (Lôra), e aos meus avós maternos José Pedro André e Maria Alves Bezerra (Didi), que mesmo sem entenderem muito bem sobre a vida acadêmica sempre acreditaram em mim e apoiaram todas as minhas escolhas.

Agradeço a todos os meus amigos e em especial a Weverton Almeida por estar sempre presente com palavras de incentivo e apoio, e principalmente pela contribuição nos experimentos, sua colaboração foi essencial para a conclusão deste trabalho. Agradeço também a minha amiga Flávia Gabriela por todo o carinho, preocupação e incentivo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais pela oportunidade de realização do mestrado e a todos os professores pelos ensinamentos transmitidos e contributo para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a todos do Laboratório de Botânica Aplicada (LBA) e Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL): Marcos Aurélio, Cícero Santos, Danúbio Lopes, Pâmela Lavor, Bruno Melo, Alex Miranda, Natália Barbosa, Arycelle Alves, Aline Belém, Kyhara Soares, Graciele Sampaio, Priscilla Augusta, Luciana Cordeiro, Isabella Torquato e Ana Cleide Morais. Não tenho palavras para descrever como vocês foram importantes nessa caminhada. Obrigada a cada um de vocês por toda a contribuição na realização dos testes, pela amizade e pela convivência harmoniosa durante todo esse tempo.

Aos colegas e amigos da Pós-Graduação, em especial Adrielle Rodrigues e Graciele Sampaio, foi extremamente enriquecedor conhecer e conviver com cada um de vocês.

Aos funcionários da URCA, e em especial a Francy Brito (Cy) pelas palavras de carinho e incentivo.

Aos doutores Paulo Riceli e Edy Sousa de Brito do Laboratório de Química e Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza-CE), pelas contribuições nas análises de prospecção fitoquímica.

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais na pessoa do Professor Dr. José Galberto Martins e a toda a equipe pela ajuda e atenção.

A todos que direto ou indiretamente me doaram um pouco dos seus ensinamentos, tempo, material ou qualquer outro tipo de ajuda a minha pesquisa.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Objetivos	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. Revisão de Literatura	16
3.1. Alelopatia: histórico e definição.....	16
3.2. Metabolismo secundário: produção de aleloquímicos pelas plantas	18
3.3. Vias de liberação dos metabólitos secundários	19
3.4. <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. – Espécie doadora	22
3.5. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão – Espécie receptora.....	24
Referências	26
4. Resultados	35
4.1. Manuscrito I - Avaliação da germinação de diásporos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão (Anacardiaceae) submetidos a diferentes métodos de armazenamento.....	36
4.2. Manuscrito II - Efeito da decomposição das folhas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. sobre a germinação e crescimento de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	52
5. Considerações finais	80
ANEXOS	82
ANEXO A: Comprovante de Aceite - Artigo 1.....	82
ANEXO B: Documento de autorização para coleta de material botânico.....	83

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
'	Minutos
“	Segundos
<	Menor que
>	Maior que
±	Mais ou menos
°	Graus
a. C.	Antes de Cristo
B.O.D	Demanda de oxigênio Bioquímico - <i>Biochemical oxygen demand</i>
CE	Ceará
cm	Centrím metro (s)
d.C.	Depois de Cristo
E	Sincronia
g	Gramas (s)
HCDAL	Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima
hrs	Horas
IPA	Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária
IVE	Índice de Velocidade de Emergência
Kg	Quilograma
m/z	Massa/carga
mg	Miligramas
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro (s)
n°	Número
°C	Grau Celsius
p/p	Peso/peso
p/v	Peso/volume
PE	Pernambuco
pH	Potencial Hidrogeniônico
t/ha	Tonelada por hectare
t50	Tempo de germinação de 50% das sementes
UPLC	Ultra-Performance Liquid Chromatography
URCA	Universidade Regional do Cariri

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Possíveis vias de liberação de compostos alelopáticos para o meio ambiente.	20
Figura 2 -	Características gerais de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. - Várzea Alegre - CE, Brasil.	22
Figura 3 -	Aspectos gerais de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão - Várzea Alegre - CE, Brasil.	24
Manuscrito I		
Figura 1 -	Localização dos pontos de coleta de sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , situados no município de Várzea Alegre, Ceará, Brasil.	39
Figura 2 -	Teor de umidade das sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento.	42
Figura 3 -	Germinabilidade dos diásporos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento.	43
Figura 4 -	Índice de Velocidade de Germinação (IVG) dos diásporos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento.	44
Figura 5 -	Sincronia da germinação das sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento.	45
Manuscrito II		
Figura 1 -	Local de coleta do material botânico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. e <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão no município de Várzea Alegre - CE, Brasil.	55
Figura 2 -	Germinabilidade das sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de <i>Azadirachta indica</i> em diferentes concentrações.	61
Figura 3 -	Índice de Velocidade de Emergência – IVE das sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de <i>Azadirachta indica</i> em diferentes concentrações.	62
Figura 4 -	Comprimento dos caules das plantas jovens de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de <i>Azadirachta indica</i> em diferentes concentrações.	63
Figura 5 -	Comprimento das raízes das plantas jovens de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de <i>Azadirachta indica</i> em diferentes concentrações.	65
Figura 6 -	Ação da decomposição foliar de <i>Azadirachta indica</i> sobre o peso seco de <i>Myracrodruon urundeuva</i> .	66
Figura 7 -	Ação da decomposição foliar de <i>Azadirachta indica</i> sobre o conteúdo de clorofila de <i>Myracrodruon urundeuva</i> .	67

Figura 8 - UPLC-MS no modo iônico negativo do extrato etanólico do 68
solo utilizado para decomposição das folhas de *Azadirachta*
indica após 90 dias.

Figura 9 - UPLC-MS no modo iônico negativo do extrato etanólico do 68
solo utilizado para decomposição das folhas de *Azadirachta*
indica após 180 dias.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Análise de caracteres físico-químicos do substrato antes e depois da decomposição foliar.	61
Tabela 2 -	Ação da decomposição foliar de <i>Azadirachta indica</i> sobre a sincronia da germinação de <i>Myracrodruon urundeuva</i> .	63
Tabela 3 -	Ação da decomposição foliar de <i>Azadirachta indica</i> sobre o tempo de emergência de 50% das plântulas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> .	63
Tabela 4 -	Componentes identificados no solo de caatinga após 90 dias (T1) de decomposição foliar de <i>Azadirachta indica</i> .	68
Tabela 5 -	Componentes identificados no solo de caatinga após 180 dias (T2) de decomposição foliar de <i>Azadirachta indica</i> .	69

RESUMO

Azadirachta indica A. Juss. introduzida no Brasil na década de 80, tornou-se uma espécie amplamente conhecida e cultivada devido às suas propriedades inseticidas e herbicidas e por suas potencialidades alelopáticas, atribuídas a presença de metabólitos secundários capazes de alterar a diversidade vegetal em áreas circunvizinhas. Considerando tais aspectos e sabendo que os estudos relacionados ao potencial alelopático de *A. indica* são mais comuns em trabalhos que utilizam extratos das diversas partes da planta, sendo que os efeitos alelopáticos da decomposição do vegetal é menos relatada, com este trabalho objetivou-se avaliar o efeito da decomposição das folhas decíduas de *A. indica* sobre a germinação e crescimento inicial de *Myracrodruon urundeuva* Allemão, espécie nativa de áreas de caatinga, identificando também quais os aleloquímicos liberados no solo durante a decomposição de suas folhas. Para tanto, folhas de *A. indica* ao final da sua senescência foram coletadas e misturadas com solo em diferentes concentrações (0, 10, 20, 30 g de folhas por Kg de solo) e expostas a decomposição durante 90 e 180 dias. Posteriormente, este solo foi utilizado como substrato para os testes alelopáticos de germinação e crescimento de *M. urundeuva*. Ao final, foram avaliados por UPLC-MS-ESI-QTOF, quais os constituintes químicos que *A. indica* liberou e incorporou ao solo em ambos os períodos de decomposição. A análise fitoquímica do solo revelou a presença de diterpenos e triterpenos, tais como, margocinolide, epoxyazadiradione e salimuzzalin. Os resíduos das folhas de *A. indica* afetaram negativamente a germinabilidade, a velocidade de emergência e o índice de sincronia de germinação de *M. urundeuva*, sobretudo durante o primeiro período de decomposição. O comprimento das plantas jovens de *M. urundeuva* também foi afetado negativamente, visto que os comprimentos do caule e da raiz foram reduzidos nos dois tempos de decomposição. A decomposição foliar também influenciou de forma negativa a biomassa total de *M. urundeuva* no primeiro período de decomposição em todos os tratamentos avaliados. A quantidade de pigmentos fotossintéticos foi reduzida no primeiro período de decomposição. Os resultados observados sugerem que os produtos da decomposição da serapilheira de *A. indica* apresentam ação alelopática sobre *M. urundeuva*, tornando-se fundamental limitar o uso de *A. indica* em áreas que necessitem de restauração ecológica e em ambientes naturais preservados.

Palavras-chave: Alelopatia; Nim indiano; Resíduos; Terpenos.

ABSTRACT

Azadirachta indica A. Juss. introduced in Brazil in the 1980s, it has become a widely known and cultivated species due to its insecticidal and herbicidal properties and its allelopathic potential, attributed to the presence of secondary metabolites capable of altering plant diversity in surrounding areas. Considering these aspects and knowing that the studies related to the allelopathic potential of *A. indica* are more common in works that use extracts from the different parts of the plant, the allelopathic effects of the decomposition of the plant is less reported, with this work the objective was to evaluate the effect of the decomposition of the deciduous leaves of *A. indica* on the germination and initial growth of *Myracrodruon urundeuva* Allemão, a species native to caatinga areas, also identifying which allelochemicals are released in the soil during the decomposition of its leaves. For this, leaves of *A. indica* at the end of their senescence were collected and mixed with soil in different concentrations (0, 10, 20, 30 g of leaves per Kg of soil) and put to be decomposed during 90 and 180 days. Subsequently, this soil was used as a substrate for the allelopathic tests of germination and growth of *M. urundeuva*. At the end, they were evaluated by UPLC-MS-ESI-QTOF, which chemical constituents that *A. indica* released and incorporated into the soil in both periods of decomposition. Phytochemical analysis of the soil revealed the presence of diterpenes and triterpenes, such as margocinolide, epoxyazadiradione and salimuzzalin. The residues of *A. indica* leaves negatively affected germinability, emergence speed and the germination synchrony index of *M. urundeuva*, especially during the first decomposition period. The length of young plants of *M. urundeuva* was also negatively affected, since the lengths of the stem and root were reduced in the two decomposition times. The leaf decomposition also negatively influenced the total biomass of *M. urundeuva* in the first period of decomposition in all evaluated treatments. The amount of photosynthetic pigments was reduced in the first period of decomposition. The observed results suggest that the decomposition products of *A. indica* litter have an allelopathic action on *M. urundeuva*, making it essential to limit the use of *A. indica* in areas that need ecological restoration and in preserved natural environments.

Keywords: Allelopathy; Indian neem; Waste; Terpenes.

1 INTRODUÇÃO

Através do metabolismo secundário, as plantas produzem substâncias químicas que, quando liberadas em quantidades suficientes no ambiente, podem interferir de modo positivo ou negativo no processo de germinação e desenvolvimento de outras espécies que se encontram ao seu redor, tal fenômeno é denominado alelopatia (ALMEIDA et al., 2008; TAIZ et al., 2017).

Os metabólitos secundários (aleloquímicos) são produzidos nos diferentes tecidos do vegetal, onde encontram-se distribuídos em concentrações distintas, o que pode variar de acordo com o ciclo de vida do vegetal e dos vários fatores ambientais aos quais a planta encontra-se exposta (GOLDFARB; PIMENTEL; PIMENTEL, 2009).

Tais aleloquímicos podem ser liberados no ambiente de forma direta ou indireta, através de processos como lixiviação, decomposição, exsudação radicular e volatilização (RIZZARDI et al., 2008; GUREVITCH; SCHEINER; FOX, 2009). Ao entrarem em contato com a espécie receptora podem interferir em diversas vias metabólicas, causando efeitos que incluem atraso ou inibição da germinação de sementes, crescimento e desenvolvimento de plantas jovens, assim como a indução de anormalidade no crescimento de plântulas (GATTI; PEREZ; LIMA, 2004).

A atividade biológica dos aleloquímicos depende mais da sua concentração e mobilidade do que da sua composição química. Logo, a proliferação excessiva de uma espécie com potencial alelopático acaba liberando e concentrando naquela área uma grande quantidade de compostos fitotóxicos (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN; INOUE, 2011). Dentro dessa dinâmica, sabe-se que as fitotoxinas produzidas por espécies introduzidas, conferem inúmeras desvantagens para as espécies nativas, assim como para culturas agrícolas (INDERJIT et al., 2008; HE et al., 2009; THORPE et al., 2009).

Azadirachta indica A. Juss., natural de Burma e das regiões áridas da Índia, é uma espécie amplamente conhecida e cultivada no Brasil, principalmente devido à pouca exigência com relação aos ambientes nos quais é inserida e à vasta utilização na produção de madeira, no reflorestamento ambiental e na ornamentação urbana (ARAÚJO, 2010). Contudo, o seu amplo cultivo tem provocado o seu estabelecimento sob condições inadequadas, podendo levar a espécie a proliferar naturalmente de forma a se tornar uma ameaça em diversos tipos vegetacionais, acarretando danos significativos sobre espécies nativas (CARPANEZZI; NEVES, 2010).

Existem relatos sobre o comportamento invasor de *A. indica*, competindo com outras espécies arbóreas em ambientes florestais, e inibindo a germinação de outras pela ação de aleloquímicos (RICKLI et al., 2011; VAITHIYANATHAN et al., 2014; GIST, 2018). Tal fenômeno é observado na Caatinga, uma floresta tropical sazonalmente seca localizada no Nordeste brasileiro, na qual foi observada a redução de espécies nativas da fauna e da flora local (LEÃO, 2011; VAITHIYANATHAN et al., 2014; INSTITUTO HÓRUS, 2019). A capacidade de alta proliferação de *A. indica* ocasiona impactos negativos nos vegetais, por meio da ação alelopática, acarretando em mudanças na estrutura e composição do ambiente, substituindo as espécies vulneráveis ou ameaçadas (CARPANEZZI; NEVES, 2010).

Em observações pessoais em campo, foi possível notar que plantas jovens de espécies de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (espécie nativa de áreas Caatinga) não ocorriam simultaneamente nas mesmas áreas colonizadas por *A. indica*, sugerindo que esta espécie, por meio dos metabólitos liberados durante sua decomposição foliar, pode afetar a germinação das sementes e o crescimento das plântulas de *M. urundeuva*, o que inviabilizaria sua sucessão ecológica.

Myracrodruon urundeuva (Anacardiaceae), conhecida popularmente como “aroeira” ou “aroeira-do-sertão” é uma espécie nativa do Brasil, amplamente distribuída nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, podendo ser encontrada em áreas de caatinga, cerrado e mata atlântica (DORNELES; RANAL; SANTANA, 2005; SILVA et al., 2017). A espécie desempenha papel socioeconômico fundamental, pelas atividades analgésica, antibacteriana, anti-inflamatória, antiulcerosa, antioxidante e cicatrizante que possui (CARLINI et al., 2010, MONTEIRO et al., 2012; MOTA et al., 2015). Sendo também amplamente utilizada na construção civil e mobiliário, devido principalmente a resistência e durabilidade de sua madeira (SOUZA et al., 2018). No entanto, uma vez que o seu uso está associado principalmente a exploração intensa e predatória a fim de atender as demandas das indústrias farmacêuticas, das feiras e comércios locais, sua sobrevivência vem sendo criticamente ameaçada ao longo dos anos, levando à espécie a constar na lista oficial da flora brasileira ameaçada de extinção, onde, atualmente, esta incluída na categoria "menos preocupante" (SCALON, SCALON FILHO; MASETTO, 2012).

Desse modo, o conhecimento das atividades alelopáticas, bem como a caracterização de grupos de metabólitos secundários presentes em *A. indica* e sua relação com a capacidade de interferir no crescimento de espécies nativas, a exemplo de *M. urundeuva*, é de grande interesse, tendo em vista à importância socioeconômica e a necessidade de preservação, manejo e restauração das populações de *M. urundeuva*. Visto também, que estudos como

esses geram importantes informações sobre os mecanismos de propagação e atributos biológicos de *A. indica*, além de fornecerem subsídios para tomada de decisões quanto ao seu manejo e controle (LEÃO et al., 2011; GIST, 2018).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito alelopático da decomposição foliar de *Azadirachta indica* sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão e identificar as substâncias fitoquímicas liberadas durante a decomposição.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a germinação e a viabilidade de diásporos de *M. urundeuva* mantidas em geladeira, sob diferentes períodos e recipientes de armazenamento.
- Avaliar o efeito das folhas de *A. indica* em diferentes concentrações e tempo de decomposição sobre a germinação e desenvolvimento de *M. urundeuva*;
- Analisar o efeito da decomposição das folhas *A. indica* no peso seco e conteúdo de clorofila de *M. urundeuva*;
- Aferir e analisar quimicamente as substâncias liberadas pelas folhas de *A. indica* durante o processo de decomposição foliar.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Alelopatia: histórico e definição

O conhecimento de que as plantas possuem a capacidade de interferir no desenvolvimento de outras através da liberação de substâncias na atmosfera ou no solo, remonta à antiguidade (ALIOTTA; MALLIK; POLLIO, 2008). Theophrastus, naturalista grego, em 300 a.C já referia em suas anotações que o solo que houvesse sido ocupado por *Cicer arietinum* L. (grão-de-bico) não se prestava ao plantio de outras espécies, em contraste com aqueles que tinham servido ao cultivo de outras plantas, sugerindo que o grão de bico liberava alguma substância capaz de exaurir as reservas do solo ao tempo em que inibia o desenvolvimento de outros vegetais (CHOU, 2006; RICE, 2012).

Plínio (1 d.C) relatou que restos de *Cicer arietinum* L. (grão-de-bico), *Hordeum vulgare* L. (cevada), *Vicia ervilia* (L.) Willd (ervilha) e *Trigonella foenum-graecum* L. (feno-grego) deixados sobre o solo entre as colheitas interferiam de maneira negativa sobre as áreas de cultivo, causando também danos às plantas vizinhas (ALMEIDA et al., 2008; RICE, 2012).

Em 1963, Lee e Monsi relataram a existência de um documento japonês escrito a cerca de 300 anos, o qual citava que a chuva ou orvalho que lavavam as folhas de *Pinus densiflora* Siebold & Zucc. (pinheiro vermelho japonês) inibia as culturas que cresciam próximo. Fato que foi comprovado pelos mesmos autores através de uma série de experimentos (LEE; MONSI, 1963; RICE, 2012).

De Candolle já em 1832, afirmava que o “cansaço das terras” e a queda na produtividade, eram ocasionados pelo acúmulo de substâncias exsudadas pelas raízes de monoculturas, durante anos seguidos, passando a afetar até mesmo o desenvolvimento das próprias espécies responsáveis pela produção de tais compostos (CHOU, 2010; RICE, 2012). No entanto, nenhuma pesquisa científica foi realizada para verificar tais observações, e sua teoria foi refutada e abandonada antes do final do século XIX (MANO, 2006).

Mais tarde, no início do século XX, Schreiner e seus colaboradores publicaram uma série de artigos em que apresentavam evidências de que a exaustão do solo por monoculturas ocorreria devido à adição de inibidores de crescimento ao solo por certas espécies cultivadas (SCHREINER; REED, 1907a, b, 1908; SCHREINER; SHOREY, 1909; SCHREINER; SULLIVAN, 1909; SCHREINER; LATHROP, 1911). Schreiner e Sullivan em 1909 retornaram os princípios de De Candolle, ao extraírem uma substância não identificada do solo fatigado pelo crescimento do feijão-caupi, e atribuíram a mesma, a forte inibição do

crescimento da própria cultura (WILLIS, 2007; RICE, 2012).

Mesmo já havendo relatos e estudos sobre a capacidade das espécies vegetais interferirem no desenvolvimento de outras, somente no ano de 1937 o pesquisador alemão Hans Molish atribuiu a tal fenômeno a denominação de alelopatia, o qual provém da união das palavras gregas *allelon* (mútuo) e *pathos* (prejuízo). No entanto, a despeito do significado etimológico da palavra, para Molish o termo envolvia a influência tanto positiva quanto negativa que uma planta desempenha sobre outra, pela produção de compostos químicos liberados no ambiente (MOLISH, 1937; RICE, 2012)

Tal definição foi ampliada por Rice em 1974, ao afirmar que a alelopatia consistia em “qualquer efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico que uma planta (incluindo microrganismo) exerce sobre outra, pela produção de compostos químicos liberados no ambiente” (RICE, 2012).

Atualmente, a Sociedade Internacional de Alelopatia define a alelopatia como sendo qualquer processo envolvendo a produção de metabólitos secundários pelas plantas, algas, bactérias e fungos, que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas (PEREIRA et al., 2017; IAS, 2019).

Na natureza, é difícil distinguir os mecanismos de alelopatia e competição, tendo em vista a complexidade biológica dos eventos e, ao fato de poderem atuar de forma simultânea no ambiente, portanto, sendo difícil identificar os efeitos individuais de cada processo (QASEM, 2017; KHANH et al., 2018). Contudo, a principal diferença entre esses eventos, é o fato de que na competição ocorre a redução ou retirada de algum fator de crescimento necessário aos organismos envolvidos (como água, luz e nutrientes), enquanto na alelopatia ocorre a adição de um fator ao meio, que são os aleloquímicos (WILLIS, 2007; ALMEIDA et al., 2008).

Inicialmente, o motivo pelo qual os organismos destinavam recursos para a produção dos compostos alelopáticos não era compreendido, sendo os mesmos em algumas ocasiões considerados resíduos sem função (PINTO et al., 2018). Contudo, a partir de avanços das pesquisas na área de Química de Produtos Naturais, diferenças qualitativas e quantitativas entre esses compostos se tornaram evidentes e puderam explicar a função deles em processos ecológicos naturais (SIQUEIRA et al., 1991). Sabe-se ainda, que é atribuída a esses compostos função de defesa e/ou proteção do vegetal, visto que eles atuam contra a ação de vírus, insetos, microrganismos e outros patógenos, seja inibindo ou estimulando a ação destes, além de influenciarem no crescimento de plantas (WALLER, 1999).

3.2 Metabolismo secundário: produção de aleloquímicos pelas plantas

Em resposta a determinadas pressões do ambiente, as plantas desenvolveram ao longo da evolução, mecanismos de defesa contra a ação de patógenos, herbívoros, fitófagos e fatores ambientais de estresse, bem como mecanismos sinalizadores para atrair polinizadores e dispersores (WINK, 2003). Alguns desses mecanismos resultam da ação de compostos orgânicos advindos das rotas do metabolismo básico dos vegetais (biossíntese de carboidratos simples, proteínas, lipídeos; e das reações catabólicas, como a respiração), chamados de metabólitos secundários (SANTOS, 2003; AIRES, 2007).

O termo secundário foi atribuído a esses compostos para denotar função secundária que exerciam no organismo produtor, no entanto, atualmente reconhece-se a atividade biológica essencial dessas moléculas, sendo cruciais para a sobrevivência e aptidão da planta (AIRES, 2007). Os metabólitos secundários agem diretamente nos mecanismos que auxiliam os seus produtores no estabelecimento destes no ecossistema (RICE, 2012). São reconhecidas diversas funções dos metabólitos secundários, tais como: suporte estrutural fornecido pela lignina, atração de polinizadores e dispersores, proteção contra a radiação ultravioleta, herbivoria e agentes patogênicos, além de atuarem em fenômenos alelopáticos (LAMBERS; CHAPIN; PONS, 2008).

Os compostos químicos que possuem atividade alelopática e que na sua maioria são produtos do metabolismo secundário dos vegetais, são chamados de aleloquímicos ou fitotoxinas (CHENG, F.; CHENG, Z., 2015). Esses compostos podem ser metabólitos diretos, subprodutos de outros processos metabólicos ou provenientes da decomposição de compostos ou biomassa (GOETZE; THOMÉ, 2004).

Os metabólitos secundários podem atuar como aleloquímicos, no entanto, os termos não devem ser utilizados como sinônimos (SÁNCHEZ-MOREIRAS; REIGOSA, 2018), tendo em vista que um composto químico pode apresentar diversas funções no ambiente, inclusive o de aleloquímico, o qual irá depender do organismo e das condições ambientais que o afeta (INDERJIT; MALLIK, 2002). Portanto, um mesmo composto, pode às vezes atuar como um aleloquímico, e em outras ocasiões pode apresentar outras funções no ambiente (INDERJIT; DUKE, 2003).

Os aleloquímicos podem ser produzidos em qualquer parte ou tecido do vegetal, incluindo sementes, caules, rizomas, raízes, frutos, flores e folhas, e são biossintetizados em várias organelas celulares, no entanto, são estocadas em estruturas especializadas (ductos,

vacúolos, parede celular e superfícies cerosas), a fim de proteger os processos metabólicos da planta de seus efeitos tóxicos (RICE, 2012; IQBAL et al, 2019). A produção de aleloquímicos pode variar em quantidade e qualidade de espécie para espécie e, numa mesma espécie, de acordo com a parte da planta e o seu estágio de desenvolvimento (LEBEDEV; KRUTOVSKY; SHESTIBRATOV, 2019).

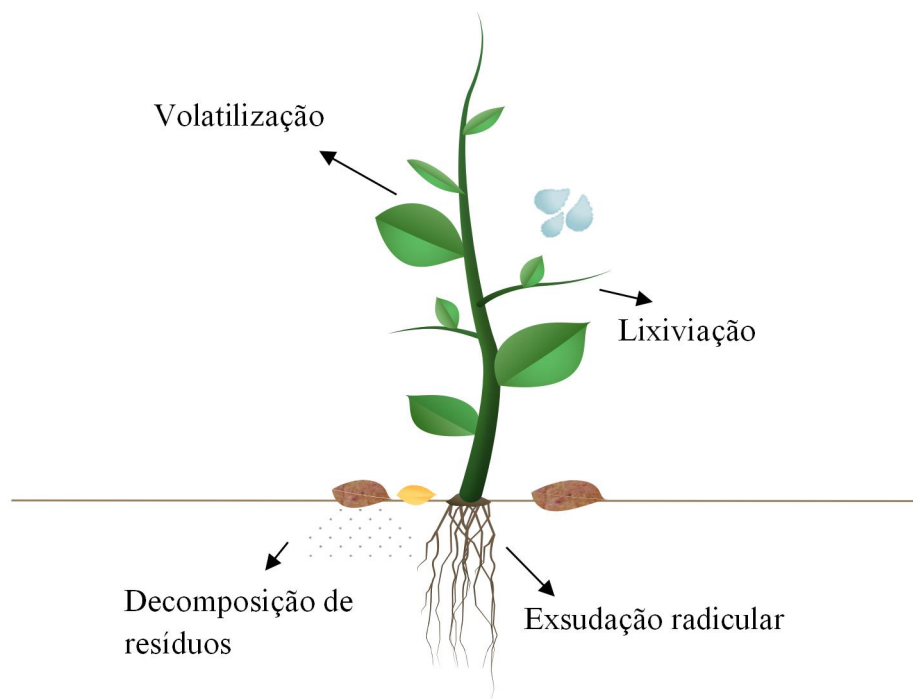
A produção e concentração dos aleloquímicos podem ser determinadas ainda pelas características genéticas das espécies que os produzem e pelas condições ambientais em que as plantas são encontradas, uma vez que muitos desses compostos têm suas sínteses desencadeadas por eventuais variabilidades a que as plantas estão expostas (FERREIRA; AQUILA, 2000). Fatores relacionados ao estresse abiótico, como temperatura, intensidade luminosa, disponibilidade de água e nutrientes, composição, textura e atividade microbiana do solo, podem afetar diretamente a taxa de produção dos aleloquímicos, bem como sua atividade biológica no ambiente (AKULA; RAVISHANKAR, 2011; ISAH, 2019).

São conhecidos cerca de 10.000 metabólitos secundários com ação alelopática, o que é considerado uma pequena parcela da quantidade eventualmente existente na natureza (PIRES; OLIVEIRA, 2011). Embora pouco se conheça sobre o modo como esses compostos são formados nas células, é provável que eles sejam sintetizados a partir de precursores provenientes do metabolismo primário, a partir da rota do acetato, chiquimato, mevalonato e na via do metileritritol fosfato (TAIZ et al., 2017).

3.3 Vias de liberação dos metabólitos secundários

Os metabólitos secundários, incluindo os aleloquímicos, podem ser liberados para o ambiente a partir dos diversos tecidos do vegetal, como folhas, caules, raízes, flores, sementes, rizomas e pólen (RICE, 2012; TAIZ et al., 2017). Uma série de mecanismos está relacionada à liberação dos compostos secundários no ambiente, dentre eles, a volatilização, lixiviação, exsudação de raízes e decomposição de resíduos de plantas (Figura 1) (ZHANG; FU, 2009; CHENG, F.; CHENG, Z., 2015).

Figura 1 - Possíveis vias de liberação de compostos alelopáticos para o meio ambiente.



Fonte: Adaptado de Albuquerque et al. (2011).

Após a liberação dos metabólitos secundários, o solo é o principal veículo que medeia o contato entre os aleloquímicos e a planta-alvo (CHOMEL et al., 2016). Até mesmo compostos altamente voláteis, como os terpenóides, que perdem sua eficácia em ambientes de elevadas temperaturas podem ser eficazes no solo (TREZZI et al., 2016). Segundo Vilhena et al. (2014), determinados compostos voláteis que são liberados pelas raízes têm seus efeitos ampliados no solo por serem menos suscetíveis à volatilização.

O processo de volatilização ocorre comumente em plantas aromáticas pela liberação de substâncias voláteis (SOUZA-FILHO; ALVES, 2002). Esses compostos são volatilizados pelos diversos tecidos do vegetal e posteriormente absorvidos por outras plantas (LI et al., 2013; TREZZI et al., 2016). Nesse grupo de substâncias estão os terpenóides, que são adsorvidos ao solo permanecendo em estado ativo até atingirem o sítio de inibição dentro das plantas (SOUZA-FILHO; ALVES, 2002). Vale salientar que a liberação desses compostos voláteis pode interferir diretamente na composição florística do local onde essas espécies se encontram (CORSATO et al., 2016).

A lixiviação dos compostos alelopáticos no ambiente ocorre principalmente devido à ação da chuva, orvalho e/ou neblina, que atuam carreando as substâncias químicas de partes aéreas da planta, das raízes ou, mesmo, dos resíduos vegetais que estão em processo de decomposição, até o solo (CORSATO et al., 2016). A qualidade e quantidade das substâncias

lixiviadas dependem de fatores externos e internos, os quais incluem, umidade, temperatura, intensidade da chuva, distúrbios fisiológicos e estado nutricional do vegetal (REIGOSA; SÁNCHEZ-MOREIRAS; GONZÁLEZ, 1999; RICE, 2012).

Os exsudatos radiculares contêm numerosos metabólitos secundários biologicamente ativos de baixo peso molecular, os quais são facilmente degradados e usados como fontes de carbono pela maioria dos organismos decompositores; assim como podem incluir constituintes da raiz de alta massa molecular a exemplo de mucilagem (polissacarídeos) e proteínas (BERTIN; YANG; WESTON, 2003; WALKER et al., 2003), esses compostos são sintetizados pelas plantas e liberados no solo pelas raízes (WESTON; MATHESIUS, 2014; CHOMEL et al., 2016).

Os metabólitos secundários liberados pelo processo de exsudação das raízes podem atuar nas interações entre plantas e na dinâmica microbiana do solo na rizosfera (LÜTTGE et al., 2010). Deste modo, as raízes das plantas vivas podem repelir ou atrair microrganismos, estimular relações simbióticas, alterar as propriedades texturais do solo e inibir ou estimular o crescimento de espécies adjacentes (WATT; WESTON, 2009; WEIDENHAMER; BOES; WILCOX, 2009).

A liberação de substâncias alelopáticas pode ocorrer também através do processo de decomposição de partes aéreas ou subterrâneas depositadas sobre o solo, onde a perda da integridade de membranas celulares permite a liberação de um grande número desses constituintes químicos (CHOMEL et al., 2016). Nesse processo está envolvida a participação de microrganismos presentes no solo, os quais atuam sobre os polímeros presentes nos tecidos vegetais, promovendo a liberação de compostos alelopáticos (SOUZA-FILHO; ALVES, 2002).

As substâncias alelopáticas podem permanecer nos tecidos dos vegetais mesmo após a sua morte, onde podem ser liberadas por volatilização, se forem produtos voláteis, ou por lixiviação através da chuva, se forem solúveis na água; e ao atingirem o solo podem influenciar no crescimento e atividade dos microrganismos e vegetais presentes no ambiente (ALMEIDA, 1991; RICE, 2012). Assim, pode-se afirmar que a sucessão da vegetação de uma determinada área pode ser condicionada à preexistência de espécies e às substâncias liberadas por elas no ambiente, bem como, seu tempo de permanência no local (TEXEIRA et al., 2004; BRASS, 2009).

3.4 *Azadirachta indica* A. Juss. – Espécie doadora

Azadirachta indica conhecida popularmente como “nim” ou “nim indiano”, pertencente à Família Meliaceae é uma árvore nativa da Índia (MOURÃO et al., 2004). Foi introduzida no Brasil na década de 1980, onde atualmente mantém uma ampla distribuição, sendo encontrada em todas as regiões do país (BRASIL, 2001). Apresenta um crescimento rápido, chegando a atingir 25 metros de altura com copa bastante densa (SCHMUTTERER, 1990; MARTINEZ, 2002).

Morfologicamente, *A. indica* possui folhas compostas e imparipinadas, e geralmente aglomeradas na extremidade dos ramos simples (MARTINEZ, 2002). Possui flores pequenas e de coloração branca (Figura 2A), as quais encontram-se reunidas em inflorescência densa (BRASIL, 2001). Seus frutos são macios e possuem a forma elíptica e, quando maduros, apresentam polpa amarelada e um tegumento flexível, contendo no seu interior uma semente de coloração marrom (Figura 2B) (LOPES, 1993).

Figura 2 – Características gerais de *Azadirachta indica* A. Juss. -Várzea Alegre - CE, Brasil. (A) Flores e inflorescência; (B) Frutos.



Fonte: Arquivo Pessoal.

Azadirachta indica é conhecida pelo seu múltiplo potencial de utilização, sendo empregada no controle de pragas agrícolas, na indústria de cosméticos, na produção de madeiras, fertilizantes, adubo, no reflorestamento, na ornamentação urbana e na produção de biomassa em propriedades rurais (MARTINEZ, 2002; NDE; BOLDOR; ASTET, 2015; SILVA et al., 2015; MURTHY et al., 2017; SHAH et al., 2019).

Através da investigação fitoquímica dos compostos de *A. indica*, foram isoladas mais de 400 substâncias, incluindo alguns dos seus principais componentes biologicamente ativos, dentre eles, azadiractina, meliantriol, limoneno, odoratone e outros triterpenóides, que podem ser extraídos das diferentes partes da planta (SIDIQI et al., 2003; QUINTELA; PINHEIRO, 2004; TORETI et al., 2013; MALES; TIHANAVILOVICA; CUKOVIC-BAGIC, 2020). Dentre os compostos ativos, a azadiractina é considerado o mais potente, encontrado principalmente nas sementes, o composto tem demonstrado grande eficácia no combate de diversas doenças e pragas que atacam plantas e animais (NADEKAR et al., 2018).

Aliado ao rápido crescimento em campo, *A. indica* ganhou um grande apelo comercial no Brasil, principalmente devido a sua vasta utilização e a pouca exigência com relação ao ambiente inserido (SILVA, 2017). Em consequência, o plantio da espécie vem crescendo rapidamente no país, passando a ser cultivada em vários estados sem o devido embasamento técnico, levando consequentemente ao seu estabelecimento sob condições inadequadas de cultivo (NEVES; CARPANEZZI, 2008; MORO; WESTERKAMP; MARTINS, 2013).

Atualmente, *A. indica* é invasora de diversos ecossistemas, a exemplo de cerrados, ecossistemas florestais, campos, bem como, áreas degradadas, pastagens e áreas agrícolas, e possui também grande potencial de invasão e de impacto sobre ecossistemas naturais da caatinga (INSTITUTO HÓRUS, 2019). Sendo considerada segundo Leão et al. (2011) uma ameaça à diversidade biológica na Bacia do Rio Xingu, onde já é possível observar processos de invasão em florestas ciliares.

Azadirachta indica possui a capacidade de alterar a estrutura de ecossistemas abertos, causando perdas significativas de espécies, seja pela densidade populacional ou pelo sombreamento (SCHWARZ; ALBUQUERQUE; SILVA, 2018). Podendo também exercer dominância ao longo do tempo, mesmo em áreas florestais, através da liberação de fitoquímicos no ambiente, inibindo a germinação e desenvolvimento de espécies nativas (alelopatia) (LEÃO et al., 2011; GIST, 2018; SILVA et al., 2018).

3.5 *Myracrodruon urundeuva* Allemão – Espécie receptora

Myracrodruon urundeuva Allemão pertencente à Família Anacardiaceae, é uma planta nativa do Brasil, conhecida popularmente como “aroeira”, “aroeira-preta” ou “aroeira-do-sertão” (RODRIGUEZ et al., 2017). Apresenta ampla distribuição nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, sendo encontrada em áreas de caatinga, cerrado e Mata Atlântica (SANTIN, 1989; DORNELES; RANAL; SANTANA, 2005).

Pode chegar a atingir até 35 metros de altura nas florestas pluviais, e 20 metros de altura em áreas de caatinga, cerrado e em zonas de transição cerrado-floresta estacional (LORENZI, 1992) (Figura 3A). Morfologicamente, *M. urundeuva* possui folhas alternas, imparipinadas, com cinco a sete pares de folíolos, ovalado-obtusos, pubescentes em ambas as faces (SANTOS; BORBA; QUEIROZ, 2008). Suas flores são dispostas em panículas, purpúreas com pelos brancacentos e suas sementes estão contidas dentro de frutos drupáceos, pequeninos, globoso-ovais com exocarpo fortemente lignificado e envoltório membranáceo liso (Figura 3 B, C e D) (QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002; SILVA; RODRIGUES; AGUIAR, 2002; GUERRA et al., 2009).

Figura 3 - Aspectos gerais de *Myracrodruon urundeuva* Allemão - Várzea Alegre - CE, Brasil. (A) Indivíduos no período de frutificação; (B) Ramo com frutos maduros; (C e D) Sementes.



Fonte: Arquivo Pessoal.

Na medicina popular, *M. urundeuva* é utilizada no combate às inflamações na pele, gengiva, garganta, vagina e colo do útero, o que contribuiu nas investigações e descobertas sobre a sua composição de quantidades significativas de compostos químicos responsáveis pela sua eficácia como medicamento natural (VIANNA et al., 2002; MAGALHÃES et al., 2019). Possuindo altas concentrações de compostos fenólicos, em especial os taninos com utilizações terapêuticas e as chalconas diméricas, responsáveis pela ação anti-inflamatória e analgésica (MONTEIRO et al., 2012).

Em termos econômicos, *M. urundeuva* é considerada a espécie produtora de madeira de maior resistência da flora brasileira (ANDREACCI; MELO JÚNIOR, 2011). Em função da sua durabilidade, a árvore é amplamente utilizada na forma de madeira serrada, indicada na construção civil, na produção de caibros, vigas, ripas, assim como na produção de móveis. Sua madeira também é bastante utilizada na construção de cercas no interior do Brasil, em currais como batente, mourão e estacas (LORENZI, 1992; PAULA; ALVES, 2007)

Segundo Scalon, Scalon Filho e Maseto (2012), em decorrência dos seus múltiplos usos, *M. urundeuva* vem enfrentando um processo de exploração intensa e predatória, que ao longo de décadas reduziu drasticamente o número de indivíduos, levando à espécie à lista oficial da flora brasileira ameaçada de extinção (IBAMA, 2008), onde, atualmente, encontra-se classificada na categoria “menos preocupante” (BRASIL, 2019). Além disso, a exploração seletiva para utilização na indústria madeireira, implicou na redução brusca nos indivíduos de grande porte (BRANDÃO, 2000). Aliado ao uso extensivo da madeira, a espécie é ameaçada pelas técnicas agressivas de coleta de cascas a fim de atender as demandas das indústrias farmacêuticas, assim como para o comércio, feiras e mercados locais (OLIVEIRA et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2008; MELO; AMORIM; ALBUQUERQUE, 2009).

Myracrodruon urundeuva é bastante utilizada em projetos de arborização urbana, no reflorestamento e na recomposição de áreas desmatadas (SCALON; SCALON FILHO; MASETTO, 2012). Deste modo, estudos ecológicos, principalmente sobre a germinação de sementes, são essenciais para que possam gerar informações que venham subsidiar programas de preservação, manejo e restauração de suas populações (DINIZ et al., 2015).

REFERÊNCIAS

- AIRES, S. S. **Potencial alelopático de espécies nativas do Cerrado na germinação e desenvolvimento inicial de invasoras**. Orientador: Fabian Borghetti. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- ALBUQUERQUE, M. B. *et al.* Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.30, n. 4, p. 379-395, 2011.
- ALBUQUERQUE, U. P. *et al.* How ethnobotany can aid biodiversity conservation: reflections on investigations in the semi-arid region of NE Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 18, n. 1, p. 127-150, 2008.
- ALIOTTA, G.; MALLIK, A. U.; POLLIO A. Historical examples of allelopathy and ethnobotany from the Mediterranean region. *In*: ZENG, R. S.; MALLIK A.U.; LUO, S.M. **Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry**. New York: Springer, 2008. p. 11-24.
- ALMEIDA, F. S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 221-236, 1991.
- ALMEIDA, G. D. *et al.* Estresse oxidativo em Células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.
- ANDREACCI, F.; MELO JÚNIOR, J. C. F. Madeiras históricas do barroco mineiro: interfaces entre o patrimônio cultural material e a anatomia da madeira. **Rodriguésia**, v. 62, n. 2, p. 241-251, 2011.
- ARAÚJO, M. S. **Manejo de espécies florestais para produção de madeira, forragem e restauração de áreas degradadas**. 5 ed. Caicó: EMPARN, 2010. 60 p.
- BERTIN, C.; YANG, X.; WESTON, L. A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 67-83, 2003.
- BRANDÃO, M. Caatinga. *In*: MENDONÇA, M. P.; LINS, L. V. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte, MG: Fundação Biodiversitas e Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte, 2000. p.75-85.
- BRASIL - Centro Nacional de conservação da flora. Lista Vermelha. **Myracrodruon urundeuva** Allemão. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Myracrodruon%20urundeuva>. Acesso: 15 de abr. de 2019.
- BRASIL. Cultivo e Usos do Nim. (*Azadirachta indica* A. Juss): Boletim Agropecuário. **UFLA**, v. 1, n. 68, p. 1-14, 2001.
- 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.

- CARLINI, E. A. *et al.* Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 140-146, 2010.
- CARPANEZZI, A. A.; NEVES, E. J. M. **Balço dos aspectos técnicos do cultivo do nim no Brasil**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2010. 26 p.
- CHENG, F.; CHENG, Z. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. **Frontiers in plant science**, v. 6, n. 1020, p. 1-16, 2015.
- CHOMEL, M. *et al.* Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. **Journal of Ecology**, v. 104, n. 6, p. 1527-1541, 2016.
- CHOU, C. H. Introduction to allelopathy. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N; GONZÁLEZ, L. **Allelopathy: a physiological process with ecological implications**. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2006. p. 1-9.
- CHOU, C. H. Role of allelopathy in sustainable agriculture: Use of allelochemicals as naturally occurring bio-agrochemicals. **Allelopathy Journal**, v. 25, n. 1. p. 3-16, 2010.
- CORSATO, J. M. *et al.* Estresse oxidativo mediado por aleloquímicos e suas implicações na germinação e crescimento inicial de plantas. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 5, n. especial, p. 136-150, 2016.
- DE CANDOLLE, M. A. P. Tome III. In: DE CANDOLLE, M. A. P. **Physiologie Vegetale**. Paris: Bechet Jeune, Lib, Fac. Med., 1832, p. 1474-1475.
- DINIZ, R. Q. *et al.* germinativo de sementes de Aroeira *Myracrodruon urundeuva* Fr. coletadas de população no cariri paraibano. **Revista Verde**, v. 10, n. 1, p. 154 - 159, 2015.
- DORNELES, M. C.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 2, p. 399-408, 2005.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, edição especial, p. 175-204, 2000.
- GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esmeranzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.
- GIST – The Global Invasive Species Team. *Azadirachta indica*. Disponível em: <https://www.invasive.org/index.cfm>. Acesso em: 12 de set. 2018.
- GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 43-50, 2004.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 1, p. 23-28, 2009.

GUERRA, C. R. S. B. *et al.* Estratégias de seleção dentro de progênes em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Scientia Forestalis (IPEF)**, v. 37, p. 79-87, 2009.

GUREVITCH, J.; SCHEINER, S. M.; FOX, G. A. **Ecologia vegetal**. 2 ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2009. 592 p.

HE, W. M. *et al.* Novel weapons and invasion: biogeographic differences in the competitive effects of *Centaurea maculosa* and its root exudates (\pm)- catechin. **Oecologia**, v. 159, n. 4, p. 803-815, 2009.

IAS - International Allelopathy Society. **What is Allelopathy?**. Disponível em: <http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>. Acesso em: 04 de jan. 2019.

IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçada de extinção. **Instrução Normativa** n. 6, 23 de Setembro de 2008.

INDERJIT. *et al.* Phytotoxic effects of (\pm) catechin in vitro, in soil, and in the field. **PLoS One**, v. 3, n. 7, p. 1-11, 2008.

INDERJIT; DUKE S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, n. 4, p. 529–539, 2003.

INDERJIT; MALLIK, A. U. **Chemical ecology of plants: allelopathy in aquatic and terrestrial ecosystems**. 1 ed. Boston: Birkhäuser, 2002. 272 p.

INSTITUTO HÓRUS – Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental/The Nature Conservancy. **Base de Dados sobre Espécies Exóticas Invasoras em I3N-Brasil**. Disponível em: <http://bd.institutohorus.org.br/www/> Acesso em: 16 de abr. 2019.

IQBAL A. *et al.* Plants are the possible source of allelochemicals that can be useful in promoting sustainable agriculture. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 28, n. 2 A, p. 1052-1061, 2019.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, n. 39, p. 1-25, 2019.

KHANH, T. D. *et al.* Allelopathic responses of rice seedlings under some different stresses. **Plants**, v. 7, n. 2, p. 1-18, 2018.

LAMBERS H.; CHAPIN F. S.; PONS T. L. Ecological Biochemistry: Allelopathy and Defense Against Herbivores. *In*: LAMBERS H.; CHAPIN F. S.; PONS T. L. **Plant Physiological Ecology**. New York: Springer, 2008. p. 445-477.

LEÃO, T. C. C. *et al.* **Espécies exóticas invasoras no Nordeste do Brasil**: contextualização, manejo e políticas públicas. Centro de Pesquisas Ambientais do Nordeste e Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental. 1 ed. Recife: Capan, 2011. 99 p.

LEBEDEV, V. G.; KRUTOVSKY, K. V.; SHESTIBRATOV, K. A. ... Fell Upas Sits, the Hydra-Tree of Death†, or the Phytotoxicity of Trees. **Molecules**, v. 24, n. 1636, p. 1-58, 2019.

LEE, I. K.; MONSI, M. Ecological studies on *Pinus densiflora* forest 1. Effects of plant substances on the floristic composition of the undergrowth. **Bot. Magazine**, v. 76, p. 400-413, 1963.

LI, X. J. *et al.* Mobility and microbial activity of allelochemicals in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 21, p. 5072– 5079, 2013.

LOPES, B. R. J. **Manual de Sistemática Botânica**. Manágua: UMA/CENIDA. 1993, 180 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1 ed. São Paulo: Plantarum, 1992. 368 p.

LÜTTGE, U. *et al.* Rhizosphere signals for plant–microbe interactions: implications for field-grown plants. *In*: MATHESIUS, U.; WATT, M. **Progress in Botany 72**. Berlin: Springer, 2010. p. 125-161.

MAGALHÃES, K., *et al.* Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of ethnopharmacology**, v. 237, p. 314-353, 2019.

MALES, Z.; TIHANAVILOVIC; CUKOVIC-BAGIC, I. Neem (*Azadirachta indica* A. juss.) - botanical description, chemical composition and activity. **Farm Glas**, v. 71, n.1, p. 35-42, 2020.

MANO, A. R. O. **Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho**. Orientador: Sebastião Medeiros Filho. 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MARTINEZ, S. S. **O Nim: *Azadirachta indica*- natureza, usos múltiplos, produção**. 2 ed. Londrina: IAPAR, 2002. 142 p.

MELO, J. G.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Native medicinal plants commercialized in Brazil – priorities for conservation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 156, n. 1-4, p. 567-580, 2009.

MOLISH, H. **Der Einfluss einer Pflanze auf die Andere -Allelopathie**. 1 ed. Jena: Gustav Fischer, 1937. 106 p.

MONTEIRO, M. J. *et al.* Valuation of the Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) perspectives on conservation. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 1, p. 125-132, 2012.

MORO, F. M.; WESTERKAMP, C.; MARTINS, F. R. Naturalization and potential impact of the exotic tree *Azadirachta indica* A. Juss. in Northeastern Brazil. **Check List**, v. 9, n. 1, p. 153-156, 2013.

- MOTA, B. C. *et al.* Comparative studies between the chemical constituents and biological properties of the extracts from the leaves and barks of *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 6, p. 159-68, 2015
- MOURÃO, S. A. *et al.* Seletividade de extratos de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* (Denmark & Mina) (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 613-617, 2004.
- MURTHY, K. S. R. *et al.* Ethnobotany of the Neem Tree (*Azadirachta Indica* A. Juss): A Review. In: PULLAIAH, T; KRISHNAMURTHY, K. V.; BAHADUR, B. **Ethnobotany of India, Volume 5: The Indo-Gangetic Region and Central India**. Canada: Apple Academic Press, 2017. p. 573-599.
- NADEKAR, S. K. *et al.* Relative efficacy of some newer pesticides against *Ferrisia virgata*, cockerell infesting mango. **Pestology**, v. 42, n. 3, p. 13-17, 2018.
- NDE, D. B.; BOLDOR, D.; ASTETE, C. Optimization of microwave assisted extraction parameters of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oil using the Doehlert's experimental design. **Industrial crops and products**, v. 65, p. 233-240, 2015.
- NEVES, E. J. M.; CARPANEZZI, A. A. **O Cultivo do Nim para Produção de Frutos no Brasil**: (Embrapa Florestas Circular Técnica; 162). Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 8 p.
- OLIVEIRA JUNIOR, R. S; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. 1 ed. Curitiba, PR: Omnipax, 2011. 348 p.
- OLIVEIRA, R. L. C. *et al.* Conservation priorities and population structure of woody medicinal plants in an area of Caatinga vegetation (Pernambuco State, NE Brazil). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 132, n. 1-3, p. 189-206, 2007.
- PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. **897 Madeiras nativas do Brasil**. 1 ed. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2007. 438 p.
- PEREIRA, L. A. R.; PINA, G. O.; SILVEIRA, C. E. S.; GOMES, S. M.; TOLEDO, J. L.; BORGHETTI, F. Effects of *Eugenia dysenterica* L. extracts on roots and gravitropism of *Sesamum indicum* L. and *Raphanus sativus* L. L. **Allelopathy J**, v. 42, n. 1, p. 3-20, 2017.
- PINTO, E. N. F. *et al.* Allelopathic effects of aqueous extract of leaves and roots of *Luetzelburgia auriculata* (Allemo) Ducke on seeds germination and initial growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, p. 635-643, 2018.
- PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e Manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 95-123.
- QASEM, J. R. A new technology separating allelopathy from competition in pot experiments. **International Journal of Agricultural Science and Food Technology**, v. 3, n. 1, p. 19-25, 2017.

- QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos Taninos da Aroeira-Preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.
- QUINTELA, E. D.; PINHEIRO, P. V. Efeitos de extratos botânicos sobre a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.): Comunicado Técnico 92. **Embrapa**, v. 1, p. 1-6, 2004.
- REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.577-608, 1999.
- RICE, E. L. **Allelopathy**. 1 ed. London: Academic press, 1974. 353 p.
- RICE, E. L. **Allelopathy**. 2 ed. Orlando, FL: Academic press, 2012. 422 p.
- RICKLI, H. C. *et al.* Efeito alelopático de extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. em alface, soja, milho, feijão e picão-preto. **Semina: ciências agrárias**, v. 32, n. 2, p. 473-483, 2011.
- RIZZARDI, A. *et al.* Potencial alelopático de extratos aquosos de genótipos de Canola sobre *Bidens pilosa*. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 717-724, 2008.
- RODRIGUEZ, S. C. *et al.* *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (aroeira tree) population dynamics, diameter growth rate and its potential for sustainable management in successional tropical dry forests of Brazil. **Revista Árvore**, v. 41, n. 3, 2017.
- SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M.; REIGOSA, M. J. **Advances in Plant Ecophysiology Techniques**. 1 ed. Vigo: Springer, 2018. 491 p.
- SANTIN, D. A. **Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e revalidação do gênero *Myracrodruon* Fr. Allem. (Anacardiaceae)**. Orientador: Hermógenes de Freitas Leitão Filho. 1989. 178 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 1989.
- SANTOS, C. C.; BORBA, E. L.; QUEIROZ, L. P. A família Anacardiaceae no semi-árido do estado da Bahia, Brasil. *Sitientibus*. **Série Ciências Biológicas**, v. 8, p. 189-219, 2008.
- SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. *In*: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC, 2003. p.403-434.
- SCALON, S. P. Q.; SCALON FILHO, H.; MASETTO, T. E. Aspectos da germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de aroeira. **Cerne**, v. 18, n. 4, p. 533-539, 2012.
- SCHMUTTERER, H. Properties and potencial of natural pesticides from to nim tree *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v. 358, p. 271-297, 1990.
- SCHREINER, O.; LATHROP, E. C. Examination of soils for organic constituents. U. S. **Department of Agriculture, Bureau of Soils Bulletin**. v. 80, p. 1-33, 1911.

- SCHREINER, O.; REED, H. S. Certain organic constituents of soil in relation to soil fertility. U. S. **Department of Agriculture, Bureau of Soils Bulletin**, v. 47, p. 1-52, 1907a.
- SCHREINER, O.; REED, H. S. The production of deleterious excretions by roots. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 34, p. 279-303, 1907b.
- SCHREINER, O.; REED, H. S. The toxic action of certain organic plant constituents. **Botanical Gazette**, v. 45, n. 2, p. 73-102, 1908.
- SCHREINER, O.; SHOREY, E. D. The isolation of harmful organic substances from soils. U. S. **Department of Agriculture, Bureau of Soils Bulletin**, v. 53, p. 1-33, 1909.
- SCHREINER, O.; SULLIVAN, M. X. Soil fatigue caused by organic compounds. **Journal of Biological Chemistry**, v. 6, p. 39-50, 1909.
- SCHWARZ, M. L.; ALBUQUERQUE, M. A. M.; SILVA, J. I. S. À sombra das cajazeiras ou das exóticas? As imagens como instrumento de pesquisa e ensino. **Revista OKARA: Geografia em debate**, v. 12, n. 1, p. 139-160, 2018.
- SHAH, F. M. *et al.* Field evaluation of synthetic and neem-derived alternative insecticides in developing action thresholds against cauliflower pests. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.
- SIDIQUI, B. S. *et al.* Tetracyclic triterpenoids from the leaves of *Azadirachta indica* and their insecticidal activities. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 51, n. 4, p. 415-417, 2003.
- SILVA, L. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, v. 26, n. 2, p. 691-697, 2002.
- SILVA, M. G. **Crescimento, produção e distribuição de biomassa de espécies florestais em resposta ao método de cultivo**. Orientador: Gualter Guenther Costa da Silva. 2017. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2017.
- SILVA, G. Z. *et al.* Morphoanatomy of *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. seedlings submitted to different levels of water in the soil. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 5, 2017.
- SILVA, P. S. L. *et al.* Effects of ground cover from branches of arboreal species on weed growth and maize yield. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 809-817, 2015.
- SILVA, S. F. *et al.* Phytotoxicity of exotic plants on the physiological potential of seeds of native species of caatinga. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 12, n. 2, p. 134-144, 2018.
- SIQUEIRA, J. O. *et al.* Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 10, n. 1, p. 63-121, 1991.

- SOUZA, D. C. L. *et al.* Development of microsatellite markers for *Myracrodruon urundeuva* (FF & MF Allemão), a highly endangered species from tropical forest based on next-generation sequencing. **Molecular biology reports**, v. 45, n. 1, p. 71-75, 2018.
- SOUZA-FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazonia Oriental, 2002. 260 p.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 820 p.
- TEXEIRA, C. M.; ARAUJO, J. B. S.; CARVALHO, G. J. Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de Picão-Preto (*Bidens pilosa* L.). **Ciência Agrotecnica**, v. 28, n. 3, p. 691-695, 2004.
- THORPE, A. S. *et al.* Root exudate is allelopathic in invaded community but not in native community: field evidence for the novel weapons hypothesis. **Journal of Ecology**, v. 97, n. 4, p. 641-645, 2009.
- TORETI, V. C. *et al.* Recent progress of própolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, s.n., p. 1-13, 2013.
- TREZZI, M. M. *et al.* Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. **Journal of Plant Interactions**, v. 11, n. 1, p. 53-60, 2016.
- VAITHIYANATHAN, T. *et al.* Allelopathic effect of *Azadirachta indica* L. on the germination of *Abelmoschus esculentus* L. **International Letters of Natural Sciences**, v. 10, p. 13-22, 2014.
- VIANNA, V. M. *et al.* manejo de la regeneracion natural de especies arboreas nativas para la formacion de sistemas silvopastoriles em las zonas de bosques secos del sureste de Brasil. **Agroforesteria em las Americas**, v. 9, n. 33-34, p. 48-52, 2002.
- VILHENA, K. S. *et al.* Chemical investigation of *Cyperus distans* L. and inhibitory activity of scabequinone in seed germination and seedling growth bioassays. **Natural Product research**, v. 28, n. 23, p. 2128-2133, 2014.
- WALKER, T. S. *et al.* Root exudation and rhizosphere biology. **Plant physiology**, v. 132, n. 1, p. 44-51, 2003.
- WALLER, G. R. Introduction. *In*: MACIAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINÍLLO, J. M. G.; CUTLER, H. G. **Recent advances in allelopathy**. Cádiz: Servicio de Publicaciones, Universidad de Cádiz, 1999. p. 36-51.
- WATT, M.; WESTON, L. A. Specialised root adaptations display cell-specific developmental and physiological diversity. **Plant and Soil**, v. 322, n. 1-2, p. 39-47, 2009.
- WEIDENHAMER, J. D.; BOES, P. D.; WILCOX, D. S. Solid-phase root zone extraction (SPRE): a new methodology for measurement of allelochemical dynamics in soil. **Plant Soil**, v. 322, n. 1-2, p. 177-186, 2009.

WESTON, L. A.; MATHESIUS, U. Root exudation: The role of secondary metabolites, their localisation in roots and transport into the rhizosphere. *In*: MORTE, A.; VARMA, A. **Root Engineering**: London: Basic and Applied Concepts, 2014. p. 221-247.

WILLIS, R. J. **The history of allelopathy**. 1 ed. New York: Springer Science & Business Media, 2007. 321 p.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 3-19, 2003.

ZHANG, C.; FU, S. Allelopathic effects of eucalyptus and the establishment of mixed stands of eucalyptus and native species. **Forest Ecology and Management**, v. 258, n. 7, p. 1391-1396, 2009.

4 RESULTADOS

Os resultados da pesquisa serão apresentados em dois manuscritos, os quais foram distribuídos em duas subseções denominadas “Resultado 1” e “Resultado 2”. No resultado 1 constam as análises de germinação e viabilidade dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão mantidas sob diferentes períodos e recipientes de armazenamento. Enquanto no resultado 2 são apresentados os efeitos alelopáticos da decomposição das folhas decíduas de *A. indica* sobre a germinação e crescimento inicial de *M. urundeuva*.

Os dados obtidos são disponibilizados em dois manuscritos intitulados:

1. Avaliação da germinação de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) submetidos a diferentes métodos de armazenamento (Artigo 1), que se encontra aceito para publicação no periódico Journal of Agricultural Science (Anexo A), cujo Qualis CAPES é B1 na área de avaliação em Biodiversidade.

2. Efeito da decomposição das folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. sobre a germinação e crescimento de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Artigo 2), a ser submetido ao periódico Plant Physiology and Biochemistry, com Qualis CAPES A2 na área de avaliação em Biodiversidade.

4.1 Resultado 1

Avaliação da germinação de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) submetidos a diferentes métodos de armazenamento

Viviane Bezerra da Silva^{1,*}, José Weverton Almeida Bezerra², Marcos Aurélio Figueiredo dos Santos³, Pâmela Lavor Rolim¹ & Maria Arlene Pessoa da Silva^{1,3}

¹ Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais, Universidade Regional do Cariri-URCA, Crato, Ceará, CEP 63.105-000, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

³ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, CEP 63.105-000, Brasil

*Correspondente: Viviane Bezerra da Silva, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brasil. Tel: (55) 88 988479442. E-mail: viviane_silvabezerra@hotmail.com

Resumo

O objetivo com esta pesquisa foi avaliar a germinação e viabilidade dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão mantidas em geladeira, sob diferentes períodos e recipientes de armazenamento. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com tratamentos sob arranjo fatorial 4 x 5, correspondendo, respectivamente aos quatro recipientes de armazenamento em geladeira (saco de papel, saco plástico, pote de vidro e garrafa plástica) e aos cinco períodos de acondicionamento (0, 90, 180, 270 e 360 dias), o qual inclui também as sementes recém-colhidas. Para cada período e recipiente de armazenamento, foram avaliadas as seguintes variáveis: teor de umidade, germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e a sincronia da germinação das sementes. Os testes de germinação foram conduzidos em placas de Petri em câmara de germinação do tipo B.O.D., em quadruplicatas de 50 sementes cada, e avaliados durante 10 dias, para cada período de armazenamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Os resultados evidenciaram que o teor de umidade das sementes não apresentou variação em nenhum dos

tratamentos analisados. Observou-se que a porcentagem de germinação dos diásporos de *M. urundeuva* se manteve acima de 80% em todos os tempos e recipientes de armazenamento, sofrendo uma redução a partir dos 270 dias, em sementes armazenadas em saco plástico, pote de vidro e garrafa plástica. Verificou-se que, em todos os recipientes utilizados para acondicionamento, o IVG e a sincronia da germinação foram afetados em todos os tempos de armazenamento, quando comparado as sementes recém-colhidas. A melhor condição para conservação de sementes de *M. urundeuva* se deu com o acondicionamento em sacos de papel, por 360 dias, sem a perda da viabilidade.

Palavras-chave: Aroeira, acondicionamento, conservação, sementes, viabilidade.

1. Introdução

Myracrodruon urundeuva Allemão é uma árvore nativa do Brasil e amplamente distribuída nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste (Carmello-Guerreiro & Paoli, 1999). Conhecida popularmente como “aroeira” ou “aroeira do Sertão”, a espécie possui grande valor econômico, principalmente devido à durabilidade de sua madeira, empregada sobretudo na construção civil (Rizzini, 1995; Lorenzi, 2008; Nunes, Fagundes, Almeida & Veloso, 2008). A árvore é utilizada também na arborização urbana, na indústria de curtimento de couro, para a construção de cercas, na apicultura e como planta medicinal devido as suas atividades analgésica, antibacteriana, anti-inflamatória, antiulcerosa e antioxidante (Viana et al., 2003; Monteiro, Albuquerque, Freitas Lins-Neto, Araújo & Amorim, 2006; Souza et al., 2007; Albuquerque & Oliveira, 2007; Guedes et al. 2011; Lucena et al. 2011; Trentin et al., 2013; Mota et al., 2015).

Devido aos seus múltiplos usos, *M. urundeuva* vem enfrentando um processo de exploração intensa e predatória, que ao longo de décadas vem contribuindo para uma redução drástica na quantidade de indivíduos, levando à espécie a constar na lista oficial da flora brasileira ameaçada de extinção, onde, atualmente, é classificada na categoria "menos preocupante" (MMA, 2008, Scalon, Scalon Filho & Masetto, 2012). Além do uso extensivo da madeira, a espécie é ameaçada pelas técnicas agressivas de coleta de cascas a fim de atender as demandas das indústrias farmacêuticas, do comércio, das feiras e mercados locais (Bertoni & Dickfeldt, 2007; Oliveira, Lins, Araújo & Albuquerque, 2007; Albuquerque et al., 2008; Melo, Amorim & Albuquerque, 2009).

Myracrodruon urundeuva foi considerada no “Relatório Brasileiro sobre Recursos Genéticos Florestais” em 2012 (FAO, 2012), como uma espécie arbórea prioritária para conservação genética e para iniciativas de pesquisa no Brasil, devido ao seu alto valor

econômico. Tida como uma espécie que necessita de estratégias de conservação adequadas, torna-se imprescindível a realização de estudos com ênfase na biologia reprodutiva, métodos de propagação, estrutura genética, além da definição de métodos tecnológicos e estratégias que contribuam para sua propagação através da produção de mudas de qualidade, conhecimentos estes, que poderão subsidiar trabalhos de recuperação de áreas degradadas (Kageyama, Cunha, Barreto, Camargo & Sebbenn, 2003; Cunha, Andrade, Bruno, Silva & Souza, 2005; Santos, 2016).

Para a manutenção da diversidade vegetacional e regeneração de florestas, a germinação é considerada um processo ecofisiológico fundamental (Bewley, Bradford, Hilhorst & Nonogaki, 2013), e o conhecimento sobre esse campo é indispensável para a realização de trabalhos de recuperação de áreas. Além de avaliar o potencial germinativo das sementes, estudos de análise dos processos de germinação, podem evitar prejuízos decorrentes da baixa germinação ou da germinação desuniforme, atuando como indicadores de falhas na produção de mudas (Luiz, 1999; Figliolia, 2015).

O conhecimento dos métodos para avaliação do potencial fisiológico das sementes, auxiliam pesquisadores, principalmente os que trabalham com espécies ameaçadas de extinção, no que se diz respeito às instruções para realizar os testes de análises de sementes, os tratamentos utilizados para promover a germinação, métodos de armazenamento de sementes e na otimização da produção de mudas (Brasil, 2009; Figliolia, 2015)

Para promover a germinação, faz-se necessário o conhecimento de diversos fatores relacionados a tal fenômeno, a exemplo do vigor das sementes, dos métodos para manter a qualidade das mesmas durante o armazenamento, entre outros, aspectos fundamentais a serem considerados no processo produtivo (Oliveira, Carvalho, Vieira & Von Pinho, 1999; Araujo, 2016). Desse modo, informações sobre o comportamento das sementes diante das diversas condições a que elas são submetidas durante o seu armazenamento, podem auxiliar na tomada de decisões sobre a escolha do melhor armazenamento, a fim de preservar a sua viabilidade e vigor, em função da sua finalidade (Zucareli, et al., 2015). De acordo com Moraes et al. (2009) estudos sobre o armazenamento de sementes têm sido considerada uma das linhas de pesquisa mais importantes para conservação de muitas espécies.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a germinação e a viabilidade de diásporos de *M. urundeuva* mantidas em geladeira, sob diferentes períodos e recipientes de armazenamento. Tendo em vista que o conhecimento de métodos tecnológicos básicos de propagação e conservação de sementes de espécies florestais é necessário no

estabelecimento de protocolos para a produção de mudas, visando principalmente a recuperação de áreas degradadas.

2. Material e métodos

Foram utilizadas sementes de 10 indivíduos de *M. urundeuva* (Figura 1), coletadas em uma área de caatinga no município de Várzea Alegre - Ceará, Brasil, na segunda semana de outubro de 2018, sob coordenadas 6° 52' 8,926'' S e 39° 25' 36,052'' W. As sementes foram coletadas com o auxílio de uma tesoura de poda alta, e acondicionadas em sacos de papel para transporte ao Laboratório de Botânica Aplicada – LBA da Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, Brasil. O material testemunho de *M. urundeuva* foi depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) da Universidade Regional do Cariri - URCA sob Voucher nº 14.198.

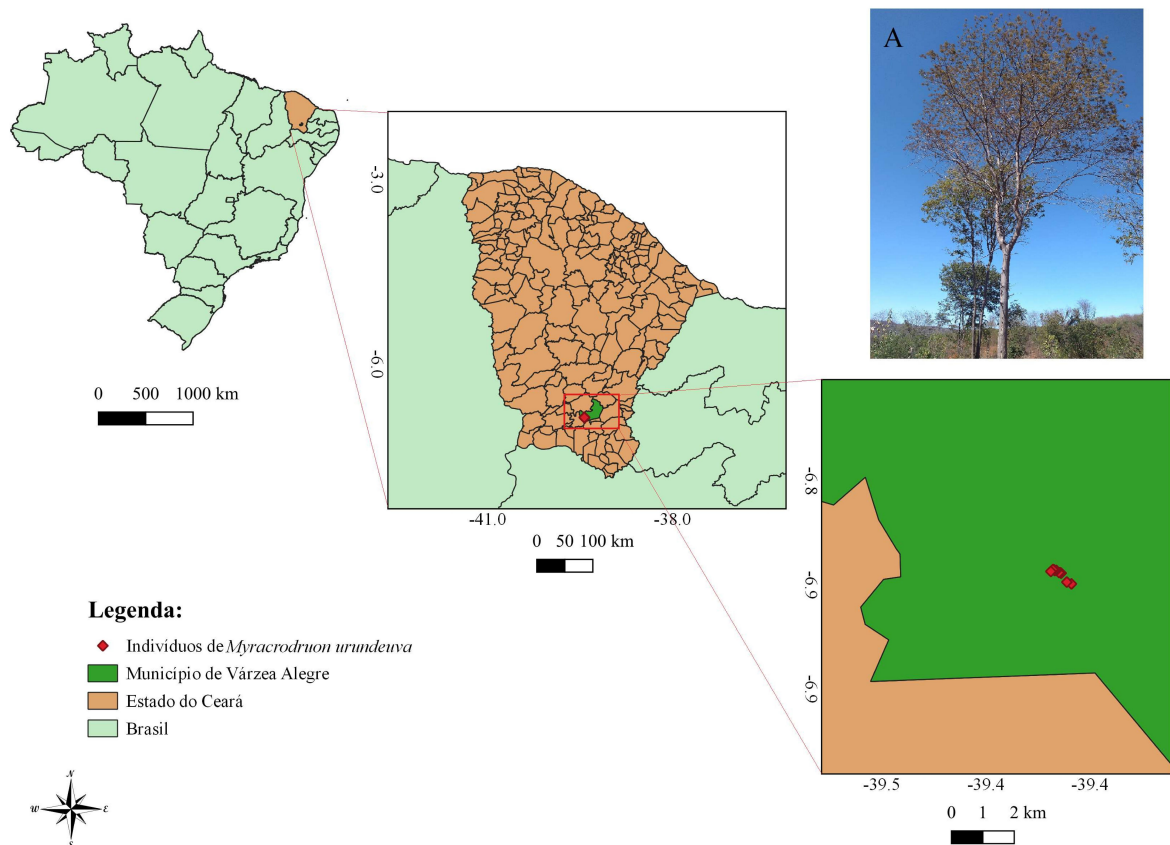


Figura 1. Localização dos pontos de coleta de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, situados no município de Várzea Alegre, Ceará, Brasil. (A): Detalhes para os indivíduos no período de frutificação.

No laboratório as sementes dos diferentes indivíduos permaneceram à sombra por um período de 72 horas para secagem natural (25 °C), a fim de reduzir seu teor de água. Após esse período foi realizada a primeira avaliação, utilizando sementes recém-colhidas, as quais não foram submetidas a armazenamento, sendo estas utilizadas como testemunha.

As sementes restantes foram separadas e armazenadas em geladeira ($6 \pm 2^\circ\text{C}$) em embalagens de diferentes permeabilidades: sacos de papel, sacos plásticos, garrafas plásticas e em recipientes de vidro vedados com tampa emborrachada.

O conteúdo de umidade das amostras foi determinado pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas, utilizando-se quatro repetições de 50 sementes. Os resultados, expressos em porcentagem, foram calculados com base no peso das sementes avaliado antes e depois desse período (Brasil, 2009).

Os testes de germinação foram realizados nos períodos de 0, 90, 180, 270 e 360 dias de armazenamento nos diferentes recipientes. Foram avaliados: o teor de umidade das sementes, a porcentagem de germinação (%), o Índice de velocidade de germinação (IVG) e a sincronia da germinação, para cada período de armazenamento, incluindo o experimento realizado com as sementes recém-colhidas.

Os testes de germinação foram conduzidos em placas de Petri devidamente esterilizadas, tendo por substrato duas folhas de papel *germitest*, umedecidas com 3 mL de água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco) (Brasil, 2009). Após a distribuição das sementes de *M. urundeuva* nas placas, estas foram seladas com papel filme e acondicionadas em câmara de germinação do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) (Virgens, Castro, Fernandez & Pelacani, 2012; Brasil, 2013).

Os testes de germinação foram realizados em quadruplicatas contendo 50 sementes por repetição, totalizando 200 sementes por tratamento (cada recipiente de armazenamento). Para tanto, as sementes foram previamente desinfetadas por imersão em hipoclorito de sódio (2%) por 15 minutos, sendo, em seguida, lavadas em água destilada por três vezes durante 5 minutos (Souza et al., 2014).

A avaliação da germinação foi realizada diariamente a partir do primeiro dia depois da semeadura, até que todas as sementes germinassem ou ficassem deterioradas (Brasil, 2009). Foram consideradas germinadas as sementes que emitiram radícula, e a partir desse registro foram determinadas a porcentagem de germinação (%), o índice de velocidade de germinação (IVG) e a sincronia da germinação.

A porcentagem de Germinação (%) foi determinada ao final de 10 dias de experimento. Os valores de porcentagem foram obtidos utilizando a fórmula proposta por Brito e Santos (2012):

$$G = (N/A) * 100 \quad (1)$$

Onde: N - refere-se ao número total de sementes germinadas ao final do experimento

A - refere-se ao número total de sementes semeadas.

O Índice de velocidade de germinação - IVG foi determinado a partir do registro do número de sementes germinadas diariamente, calculado segundo a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = E1 / N1 + E2 / N2 + \dots + En / Nn, \quad (2)$$

Onde: E1, E2 e En se referem ao número de plântulas computadas na primeira, segunda e última contagem, e N1, N2 e Nn se refere ao número de dias de semeadura na primeira, segunda e última contagem.

Para avaliar a sincronia da germinação das sementes, foi empregado o Índice de Sincronia (E) adaptado de Primack (1980) por Ranal e Santana (2006). O índice indica que quando a sincronia é igual a 1, a germinação das sementes ocorre ao mesmo tempo, enquanto a sincronia próxima de 0 indica que pelo menos duas sementes completaram o processo de germinação em momentos diferentes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, em delineamento inteiramente ao acaso, no esquema fatorial de dois fatores, sendo: 5 x 4 (período de armazenamento e tipo de recipiente armazenado, respectivamente), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

O teor de umidade das sementes de *M. urundeuva* não apresentou variação em nenhum dos tratamentos analisados (Figura 2), não mostrando diferença estatisticamente significativa. De uma maneira geral, os resultados apresentaram-se uniformes, durante o armazenamento, tal fato demonstra que os recipientes foram eficientes em proteger as sementes dos fatores físicos do ambiente, assegurando, por exemplo, menor probabilidade de deterioração em função da elevação do teor de umidade.

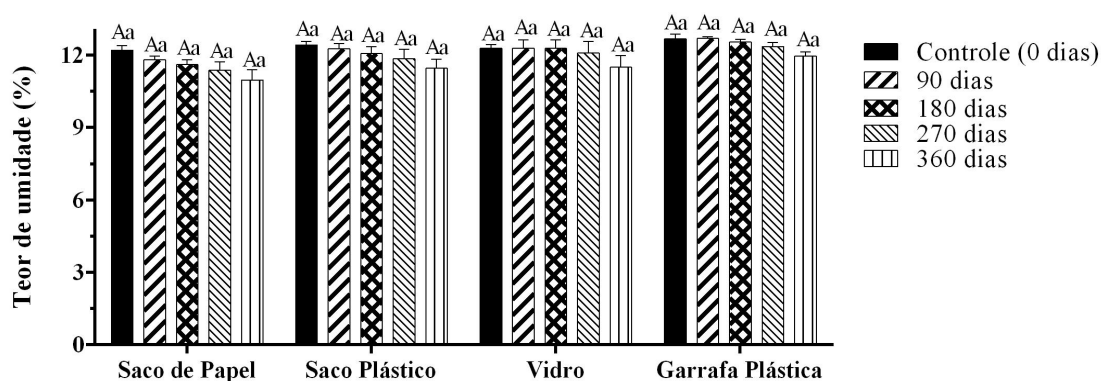


Figura 2. Teor de umidade das sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento. Letras maiúsculas comparam os períodos de acondicionamento dentro de cada método de armazenamento. Letras minúsculas comparam os tempos iguais de armazenamento entre os diferentes recipientes. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Teófilo et al. (2004), observaram em pesquisa anterior que os diásporos de aroeira acondicionados em câmara fria ($8 \pm 2^\circ\text{C}$), mantidos em saco de papel e garrafa plástica, mantiveram o teor de umidade constante ao longo do tempo de armazenamento, fato que também foi observado neste trabalho, com diásporos armazenados em geladeira ($6 \pm 2^\circ\text{C}$) (Figura 2). Teófilo et al. (2004) observaram ainda, que as sementes mantidas em ambiente natural, apresentaram comportamento oscilatório do teor de umidade ao longo do tempo, em ambos os recipientes de armazenamento. Os autores supracitados sugerem que a troca de vapor de água entre sementes e o meio externo pode influenciar diretamente o teor de umidade dos diásporos de dispersão. Eles relatam, que isso se deva ao fato de o equilíbrio higroscópico da semente variar de acordo com a umidade relativa do ambiente no qual se encontram, portanto, em ambientes controlados, onde essa variação de umidade é relativamente baixa, a umidade das sementes mantém-se, também, estável (Teófilo et al. 2004).

Segundo Fowler (2000) em sementes ortodoxas (suportam longos períodos de armazenamento), como é o caso da *M. urundeuva*, o teor de umidade é um dos fatores mais importantes para a manutenção da viabilidade ao longo do tempo. A diminuição no teor de umidade dessas sementes pode causar decréscimo na atividade metabólica, o que prolonga a sua viabilidade (Fowler, 2000). Essa diminuição no processo respiratório e no metabolismo enzimático leva a um menor consumo das reservas das sementes, antes da sua germinação,

sendo tal processo essencial, uma vez que tais reservas serão translocadas para o desenvolvimento inicial da plântula (Barboza, Silva, Melo, Gonçalves & Viana, 2018).

As médias de porcentagem de germinação dos diásporos de *M. urundeuva* mantiveram-se acima de 80% em todos os tempos avaliados (Figura 3). Barboza (2014) observou que os diásporos mantidos em geladeira, conservaram o potencial de emergência por 12 meses, atingindo o valor máximo de germinação de 75% no 10º mês de armazenamento, resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho. Vieira et al. (2011) verificaram porcentagem abaixo de 60%, após acondicionamento em geladeira por três meses, sendo que nas avaliações iniciais realizadas com sementes de *M. urundeuva* recém colhidas foram obtidos porcentagem de 67% de germinação, diferindo da porcentagem inicial obtidos no presente estudo, a qual foi observado média de 99,6% ($\pm 0,26$) de germinação.

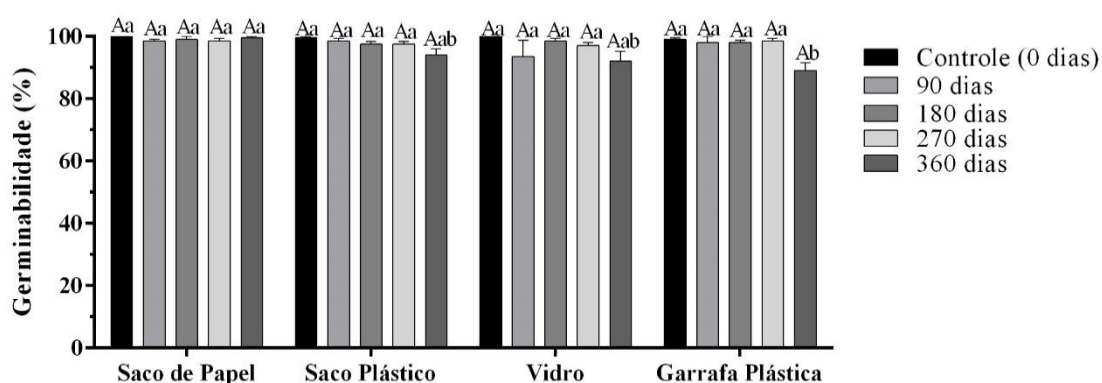


Figura 3. Germinabilidade dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento. Letras maiúsculas comparam os períodos de acondicionamento dentro de cada método de armazenamento. Letras minúsculas comparam os tempos iguais de armazenamento entre os diferentes recipientes. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Verificou-se que não houve diferença estatística ao se comparar isoladamente os períodos de armazenamento dentro de cada método (Figura 3). No entanto, ao comparar os tempos iguais de armazenamento, nota-se que aos 360 dias as sementes armazenadas em saco plástico ($94,0 \pm 2,16ab$), pote de vidro ($92,0 \pm 3,26ab$) e garrafa plástica ($89,0 \pm 2,64b$) apresentaram menores valores de germinabilidade. Enquanto as sementes mantidas em saco de papel, conservaram o potencial de emergência durante os 360 dias ($99,0 \pm 0,5a$).

O tipo de recipiente a ser utilizado para armazenamento de sementes será determinante na taxa de deterioração, e conseqüentemente, na maturação da qualidade fisiológica das sementes (Antonello et al., 2009). Considerando que um dos objetivos básicos do

armazenamento é manter o percentual de germinação ao final do período avaliado o mais próximo ao do inicial, o acondicionamento das sementes em sacos de papel foi o tratamento que mais se aproximou do desejado (Figura 3). Esses resultados assemelham-se aos de Oliveira-Bento et al. (2013), que ao analisar a germinação de sementes de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton, classificadas como ortodoxas, assim como as de *M. urundeuva* observaram que dentre os tipos de armazenamento utilizados, o saco de papel foi o que apresentou maior porcentagem de germinação.

Quanto ao Índice de Velocidade de Germinação (IVG) (Figura 4), as sementes recém-colhidas apresentaram maior índice ($44,67 \pm 0,64Aa$), com redução em função da presença e do aumento do período de armazenamento. Verifica-se, na figura 4, que ao analisar isoladamente o IVG das sementes em cada método de armazenamento, houve decréscimo em todos. Quanto ao fator “período de armazenagem”, observa-se que o IVG das sementes tende a decrescer significativamente a partir de 90 dias nos diásporos mantidos em saco plástico ($32,43 \pm 0,58b$), pote de vidro ($27,52 \pm 0,85c$) e garrafa plástica ($26,60 \pm 0,42c$). Para o método de acondicionamento em saco de papel, os valores de IVG mostram-se elevados em todos os tempos, quando comparados aos mesmos períodos dos demais métodos.

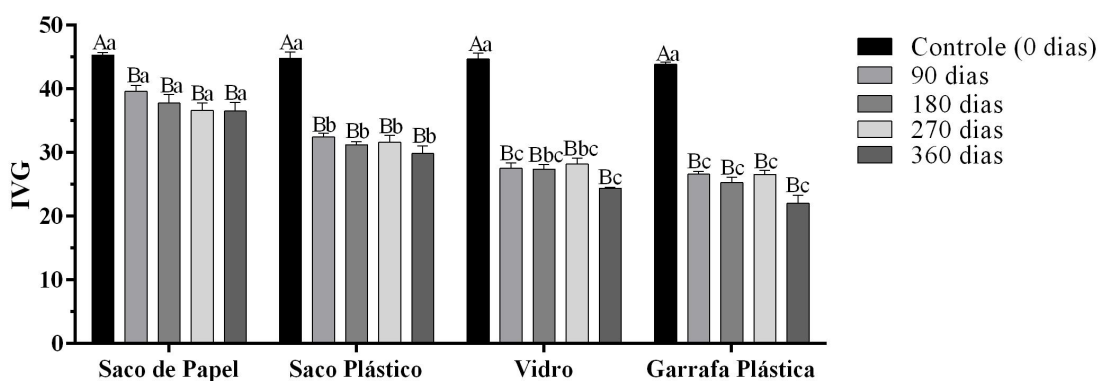


Figura 4. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento. Letras maiúsculas comparam os períodos de acondicionamento dentro de cada método de armazenamento. Letras minúsculas comparam os tempos iguais de armazenamento entre os diferentes recipientes. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Segundo Guedes et al. (2012), armazenamento e refrigeração são importantes para minimizar a redução do índice de emergência de plântulas de *M. urundeuva*. Em seus estudos,

os autores observaram que, no ambiente da geladeira, houve maior conservação dos diásporos quando acondicionados em embalagens de papel por 240 dias, resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho.

As sementes de *M. urundeuva* são oleaginosas, fato que contribui para a perda de viabilidade e redução da velocidade de germinação. Esta perda de vigor, pode decorrer da baixa estabilidade química dos lipídios, uma vez que a elevação da temperatura em consequência do processo respiratório, já é suficiente para a decomposição dos mesmos e elevação da taxa de deterioração (Marcos Filho, 2005).

Ao analisar separadamente cada tipo de armazenamento, foi possível observar redução na sincronia da germinação das sementes de *M. urundeuva* em todos os períodos de armazenamento (Figura 5).

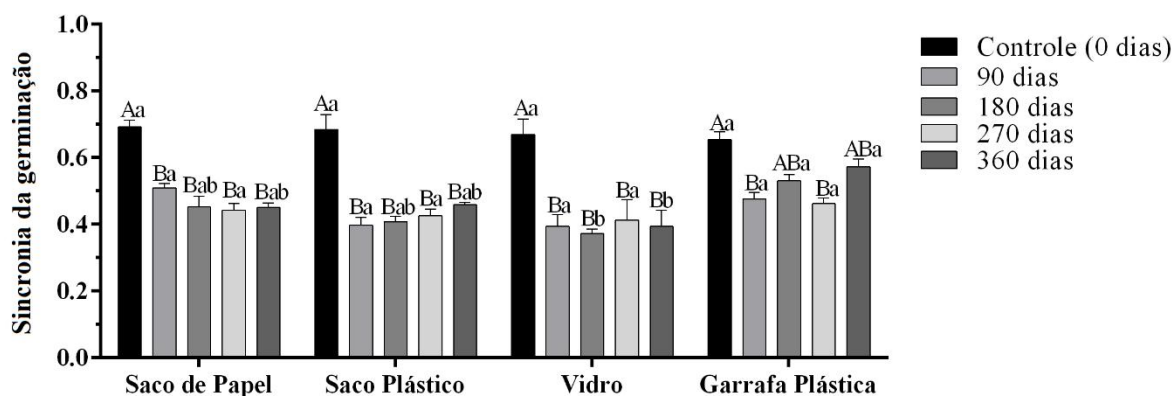


Figura 5. Sincronia da germinação das sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes períodos e recipientes de armazenamento. Letras maiúsculas comparam os períodos de acondicionamento dentro de cada método de armazenamento. Letras minúsculas comparam os tempos iguais de armazenamento entre os diferentes recipientes. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Quanto aos períodos de armazenamento, foi possível observar que os diásporos armazenados por 90 e 270 dias não apresentaram diferença estatística ao comparar os mesmos períodos de acondicionamento entre os diferentes recipientes (Figura 5). Já nas sementes armazenadas durante 180 e 360 dias, foi observado diminuição no índice de sincronia nos diferentes recipientes de acondicionamento, quando comparado os mesmos períodos de armazenamento.

O armazenamento das sementes de *M. urundeuva* tornou o processo de germinação mais lento do que o registrado nas sementes recém-colhidas (Figura 4) e mais assíncrono (Figura 5) no decorrer do período de armazenamento. Embora o armazenamento tenha

promovido uma germinação mais lenta e menos sincronizada, nos diferentes métodos de acondicionamento, a porcentagem de germinação se manteve elevada e próxima aos valores dos diásporos recém coletados (Figura 3).

Considerando estudos anteriores nos quais diásporos de *M. urundeuva* armazenados em ambientes naturais (não controlados) tiveram seu percentual de emergência reduzido drasticamente (Teófilo et al., 2004; Guedes, 2012; Barboza, 2014), o armazenamento das sementes em ambientes sob condições controladas e em recipientes adequados se torna uma estratégia para minimizar o processo de deterioração (Pirola, 2013) propiciando consequentemente maiores condições de germinabilidade.

6. Conclusões

As médias de porcentagem de germinação dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva* mantiveram-se acima de 80% em todos os tempos avaliados. Dentre as condições de armazenamento analisadas, o recipiente de papel foi o mais adequado para a conservação dos diásporos, por 360 dias, sem a perda da viabilidade. Para a conservação *ex situ* de sementes de *M. urundeuva*, recomenda-se o acondicionamento dos seus diásporos em sacos de papel armazenados em geladeira, por um período de até 360 dias.

Agradecimentos

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), a agência Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio e financiamento.

Referências

- Albuquerque, U. P. & Oliveira R. F. (2007). “Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants?” *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 156–170. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.025>
- Albuquerque, U. P., Araújo, T. A. S., Ramos, M. A., Nascimento, V. T., Lucena, R. F. P., Monteiro, J. M., Alencar, N. L., & Araújo, E. L. (2008). How ethnobotany can aid biodiversity conservation: reflections on investigations in the semi-arid region of NE Brazil. *Biodiversity and Conservation*, 18(1), 127-150. <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-008-9463-8>

- Antonello, L. M., Muniz, M. B., Brand, S. C., Vidal, M. D., Garcia, D., Ribeiro, L., & Santos, V. (2009). Qualidade de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens. *Ciência Rural*, 39(7), 2191-2194. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-8478200900500015>
- Araujo, P. V. L. (2016). *Influência da condição de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de soja* (Trabalho de conclusão de curso). Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil.
- Barboza, V. R. S. (2014). *Avaliação do potencial fisiológico de diásporos de aroeira do sertão (Myracrodruon urundeuva Allemão) e baraúna (Schinopsis brasiliensis Engler) durante o armazenamento* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Terra Talhada, PE, Brasil.
- Barboza, V. R. S., Silva, M. A. D., Melo, L. D. F. A., Gonçalves, E. P., & Viana, J. S. (2018). Avaliação do potencial fisiológico dos diásporos armazenados em *Myracrodruon urundeuva*. *Journal of Agricultural Science*, 10(9), 125-132. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v10n9p125>
- Bertoni, J. E. A., & Dickfeldt, E. P. (2007). Plantio de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (aroeira) em área alterada de floresta: desenvolvimento das mudas e restauração florestal. Planting of *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (aroeira) in altered area of forest: seedling development and forest restoration. *Revista do Instituto Florestal*, 19(1), 31-38.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, K. H. W. M., & Nonogaki, H. (2013). *Seeds: Physiology of development germination and dormancy*. (3rd ed.). New York: Springer. p. 392.
- Brasil. (2009). Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. (1rd ed.): Brasília: Mapa/ACS. p. 399.
- Brasil. (2013). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instruções para análise de sementes florestais*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS. p. 97.
- Brito, I. C. A., & Santos, D. R. (2012). Alelopatia de espécies arbóreas da caatinga na germinação e vigor de sementes de feijão macaçar. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 7 (1), 129-140.
- Carmello-Guerreiro, S. M., & Paoli, A. A. S. (2000). Estrutura do pericarpo e da semente de *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae) com notas taxonômicas. *Brazilian Journal of Botany*, 23 (1), 87-96. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-84042000000100010>

- Cunha A. O., Andrade L. A., Bruno R. L. A., Silva J. A. L., & Souza V. C. (2005). Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex D.C.) Standl. *Revista Árvore*, 29(4), 507-516. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622005000400002>
- FAO. (2012). *The state of the world forest genetic resources: country report, Brazil*. Brazilian Report on Forest Genetic Resources. Brasília: First National Report. p. 118.
- Figliolia, M. B. (2015). Teste de germinação. In: F. C. M. Piña-Rodrigues, M. B. Figliolia, & A. Silva. *Sementes Florestais Tropicais: da ecologia à produção* (pp. 325-343). Londrina: ABRATES.
- Fowler, J. A. P. (2000). Superação de dormência e armazenamento de sementes de espécies florestais. In A. P. M. Galvão (Ed.), *Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: Um guia para ações municipais e regionais* (pp. 77-99). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia.
- Guedes, R. S., Alves, E. U., Bruno, R. L. A., Gonçalves, E. P., Costa, E. G., & Medeiros, M. S. (2012). Armazenamento de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes embalagens e ambientes. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14(1), 68-75. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000100010>
- Guedes, R. S., Alves, E. U., Gonçalves, E. P., Colares, P. N. Q., Medeiros, M. S. D., & Viana, J. S. (2011). Germination and vigor of *Myracrodruon urundeuva* Allemão seeds in different substrates and temperatures. *Revista árvore*, 35(5), 975-982. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622011000600003>
- Kageyama, P. Y., Cunha, G. C., Barreto, K. D., Camargo, F. R. A., & Sebbenn, A. M. (2003). Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). *Scientia Florestalis*, 2(64), 108-119.
- Lorenzi, H. (2008). *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. (5rd ed.). Nova Odessa: Instituto Plantarum. p. 384.
- Lucena, R. F. P., Farias, D. C., Carvalho, T. K. N., Lucena, C. M., Neto, C. F. A. V., & Albuquerque, U. P. (2011). Uso e conhecimento da aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) por comunidades tradicionais no Semiárido brasileiro. *Sitientibus série Ciências biológicas*, 11(2), 255-264. <http://dx.doi.org/10.13102/scb109>
- Luiz, V. (1999). *Estudo dos parâmetros ecofisiológicos para avaliação da qualidade de sementes de aveia branca (Avena sativa L.) produzidas na região sul do Brasil* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2), 176-177.
- Marcos Filho, J. (2005). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ, p. 495.
- Melo, J. G., Amorim, E. L. C., & Albuquerque, U. P. (2009). Native medicinal plants commercialized in Brazil – priorities for conservation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 156, 567-580. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-008-0506-0>
- MMA (Ministério do Meio Ambiente). 2008. *Instrução Normativa N° 06, de 23 de setembro de 2008*. [Online] Available: https://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092008034949.pdf
- Monteiro, J. M., Albuquerque, U. P., Freitas Lins-Neto, E. M., Araújo, E. L., & Amorim, E. L. C. (2006). Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1-2), 173-186. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.016>
- Morais, O. M., Oliveira, R. H., Oliveira, S. L., Santos, V. B., & Silva, J. C. G. (2009). Armazenamento de sementes de *Annona squamosa* L. *Biotemas*, 22(4), 33-44. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2009v22n4p33>
- Mota, B. C. F., Royo, V. A. R., Fonseca, J. M. S., Santos, A. C., Júnior, A., Menezes, E. V., ... & Laurentiz, R. (2015). Comparative studies between the chemical constituents and biological properties of the extracts from the leaves and barks of *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. *J Med Plants Res*, 9(6), 159-68. <https://doi.org/10.5897/JMPR>
- Nunes, Y. R. F., Fagundes, M., Almeida, H. S., & Veloso, M. D. D. M. (2008). Aspectos ecológicos da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão-Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. *Revista Árvore*, 32(2), 233-243. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622008000200006>
- Oliveira, J. A., Carvalho, M. D., Vieira, M. G. G. C., & Von Pinho, E. V. R. (1999). Comportamento de sementes de milho colhidas por diferentes métodos, sob condições de armazém convencional. *Ciência e Agrotecnologia*, 23(2), 289-302.
- Oliveira, R. L. C., Lins, E. M. F., Araújo, E. L., & Albuquerque, U. P. (2007). Conservation priorities and population structure of woody medicinal plants in an area of Caatinga vegetation (Pernambuco State, NE Brazil). *Environmental Monitoring and Assessment*, 132 (1-3), 189-206. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9528-7>

- Oliveira-Bento, S. R. S., Torres, S. B., Oliveira, F. N., Paiva, E. P., & Bento, D. A. V. (2013). Biometria de frutos e sementes e germinação de *Calotropis procera* Aiton W.T. Aiton (Apocynaceae). *Bioscience Journal*, 29(5), 1194-1205.
- Pirola, K. (2013). Caracterização fisiológica e conservação de sementes de oito fruteiras nativas do bioma floresta com araucária. (Dissertação de Mestrado). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, Brasil.
- Primack, R. B. (1980). Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. *Journal of Ecology*, 68, 849-862. <https://doi.org/10.2307/2259460>
- Ranal, M. A., & Santana, D. G. (2006). How and why to measure the germination process? *Blazilian Journal of Botany*, 29, 1-11. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>
- Rizzini, C. T. (1995). *Árvores e Madeiras Úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira*. (2nd ed.). São Paulo: Edgard Blucher. p. 296.
- Santos, A. P. (2016). *Protocolo de germinação e determinação de tamanho de amostra para teste de germinação de Myracrodruon urundeuva Fr. Allemão* (Trabalho de conclusão de curso). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, Brasil.
- Scalon, S. D. P., Scalon Filho, H., & Masetto, T. E. (2012). Aspectos da germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de aroeira. *Cerne*, 18(4), 533-539. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-77602012000400002>
- Souza, A. V., Santos, M. C., Souza, M. D., & Laranjeira, L. R. (2014). *Protocolos de assepsia para o estabelecimento in vitro de espécies medicinais nativas da Caatinga*. Embrapa Semiárido-Comunicado Técnico (INFOTECA-E). Petrolina: Embrapa Semiárido. p. 6.
- Souza, S. M. C., Aquino, L. C. M., Junior, A. M., Bandeira, M. A. M., Nobre, M. E. P., & Viana, G. S. B. (2007). Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents. *Phytotherapy Research*, 21(3), 220-225. <https://doi.org/10.1002/ptr.2011>
- Teófilo, E. M., Silva, S. O., Bezerra, A. M. E., Medeiros Filho, S., & Silva, F. D. B. (2004). Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. *Revista Ciência Agronômica*, 35(2), 371-376.
- Trentin, D. S., Silva, D. B., Amaral, M. W., Zimmer, K. R., Silva, M. V., Lopes, N. P., ... & Macedo, A. J. (2013). Tannins possessing bacteriostatic effect impair *Pseudomonas aeruginosa* adhesion and biofilm formation. *PloS one*, 8(6), e66257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066257>

- Viana, G. S. B., Bandeira, M. A. M., & Matos, F. J. A. (2003). Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão. *Phytomedicine*, 10(2-3), 189-195. <https://doi.org/10.1078/094471103321659924>
- Vieira, G. C., Barreto, A. M. R., Barberena, I. M., & Morais, O. M. (2011). Avaliação de técnicas de armazenamento de sementes de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) de baixo custo. *Enciclopédia Biosfera*, 7(13), 112-119.
- Virgens, I. O., Castro, R. D., Fernandez, L. G., & Pelacani, C. R. (2012). Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a fatores abióticos. *Ciência Florestal*, 22(4), 681-692. <http://dx.doi.org/10.5902/198050987550>
- Zucareli, C., Brzezinski, C. R., Abati, J., Werner, F., Ramos Júnior, E. U., & Nakagawa, J. (2015). Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. *Agriambi*, 19(8), 803–809. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n8p803-809>

4.2 Resultado 2

EFEITO DA DECOMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE *Azadirachta indica* A. JUSS. SOBRE A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Myracrodruon urundeuva* ALLEMÃO

RESUMO

Azadirachta indica é uma espécie conhecida por suas propriedades inseticidas e herbicidas e por suas potencialidades alelopáticas, atribuídas à presença de aleloquímicos capazes de alterar a diversidade vegetal em áreas circunvizinhas. Considerando tais aspectos, com este trabalho objetivou-se avaliar se as folhas decompostas de *A. indica* podem afetar a germinação e crescimento de *Myracrodruon urundeuva*, espécie nativa de áreas de caatinga (Nordeste do Brasil), identificando ainda, quais os aleloquímicos liberados no solo durante a decomposição das folhas. Para tanto, folhas de *A. indica* foram coletadas ao final da senescência e misturadas com solo em diferentes concentrações (0, 10, 20, 30 g/Kg) e postas para serem decompostas durante 90 e 180 dias. Posteriormente, o solo contendo o material decomposto foi utilizado como substrato para a condução dos experimentos de germinação e crescimento de *M. urundeuva*. E por fim, o solo de ambos os períodos de decomposição foram analisados por UPLC-MS-ESI-QTOF, para a identificação dos compostos liberados e incorporados ao solo. Através desta análise foi identificada a presença de diterpenos e triterpenos, tais como margocinolide, epoxyazadiradione e salimuzzalin. A decomposição foliar afetou negativamente a germinabilidade, a velocidade de emergência e o índice de sincronia de germinação de *M. urundeuva*, sobretudo durante o primeiro período de decomposição. Os resíduos das folhas de *A. indica* também afetaram negativamente o comprimento das plantas jovens de *M. urundeuva*, visto que os comprimentos do caule e da raiz foram reduzidos nos dois tempos de decomposição, sendo que no tratamento de menor concentração (A1, $8,57 \pm 1,49$) foi observado redução no comprimento da raiz apenas em T1. Os resíduos das folhas, no primeiro tempo de decomposição também influenciaram de forma negativa a biomassa total de *M. urundeuva*, em todos os tratamentos avaliados. Os produtos da decomposição, foram ainda, capazes de alterar a quantidade de pigmentos fotossintéticos no primeiro período de decomposição, visto que o conteúdo de clorofila total teve redução significativa do valor médio de 3,23 g/Kg ($\pm 0,093$) para 2,40 g/Kg ($\pm 0,082$), correspondendo a uma inibição de 25,71%. Os resultados observados sugerem que os compostos presentes na

serrapilheira de *A. indica* têm ação alelopática sobre *M. urundeuva*, sendo necessário limitar o uso da primeira em áreas que necessitem de restauração ecológica e em ambientes naturais preservados.

Palavras-chave: Alelopatia, Aroeira, Caatinga, Terpenos, Nim.

1 INTRODUÇÃO

Globalmente, a introdução de espécies exóticas tem se tornado uma das ameaças mais importantes enfrentadas pelos ecossistemas naturais (Al Harun et al., 2015). Geralmente, o sucesso da introdução dessas espécies é determinado pelas características do habitat e pelos atributos biológicos da invasora, dentre eles a ação alelopática (Adkins; Sowerby, 1996; Sakai et al., 2001; Yuan et al., 2012). São levantadas hipóteses que a alelopatia é um dos principais mecanismos que permite o estabelecimento de espécies em ecossistemas nativos, comumente afetando a diversidade, estrutura e composição da comunidade de plantas nativas através da liberação de substâncias químicas alelopáticas (Hierro; Callaway, 2003; Callaway; Ridenour, 2004; Chu et al., 2014). O potencial alelopático de espécies exóticas tem recebido cada vez mais atenção, tendo em vista que tais espécies possuem características que lhes confere a capacidade de formar grandes populações nas áreas ocupadas (Gioria; Osborne, 2014; Negi et al., 2016).

Devido à eficiência de crescimento, adaptação e produção de muitas sementes, o plantio e cultivo de determinadas plantas exóticas tem despertado o interesse principalmente para fins ornamentais e comerciais, a exemplo de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), introduzida no Brasil na década de 80, tornando-se a partir de então a principal espécie cultivada para arborização e restauração ecológica de ecossistemas degradados (Moro; Westerkamp, 2011; Moro; Westerkamp; Martins, 2013). Sendo reconhecida também por apresentar propriedades inseticidas, herbicidas e alelopáticas com seus aleloquímicos agindo sobre a germinação e desenvolvimento de outras espécies vegetais (França et al., 2008; Rickli et al., 2011; Costa et al., 2016; Silva et al., 2018).

Considerando o atual nível de naturalização de *A. indica* nas diversas regiões do Brasil e tendo em vista que a espécie vem se mostrando invasora em vários países, representando ameaça à biodiversidade, trabalhos têm sido realizados no Brasil com o intuito de alertar quanto aos mecanismos adaptativos que a espécie possui e aos danos que estes podem

representar às espécies vegetais nativas (Moro; Westerkamp; Martins, 2013; Silva et al., 2018) e à fauna, especialmente aos polinizadores (Amaral et al., 2015; Tschoeke et al., 2019).

A maioria dos trabalhos sobre o potencial alelopático de *A. indica*, confirmam a sua fitotoxicidade, porém não desvendam o processo da ação alelopática observada, tendo em vista que experimentos em laboratório, baseados exclusivamente na aplicação de extratos vegetais não esclarecem completamente o seu efeito (Al Harun et al., 2015). Logo, estudos que procurem simular o ambiente de campo são imprescindíveis para demonstrar de forma mais clara os efeitos alelopáticos, tendo em vista que fatores diversos a exemplo dos ambientais, edáficos, fisiológicos, bioquímicos entre outros, têm influência crucial no processo (Inderjit; Duke, 2003).

Diante da capacidade de *A. indica* de se estabelecer em novos ambientes, mesmo que estes possuam condições ambientais rigorosas, como é o caso da região semiárida do Brasil (Moro; Westerkamp; Martins, 2013); e considerando que a presença de indivíduos da espécie pode causar impactos prejudiciais por meio da liberação e acúmulo de aleloquímicos no ambiente, os quais podem inibir a regeneração natural e o desenvolvimento de outras plantas, tornam-se necessários estudos a fim de avaliar os mecanismos alelopáticos utilizados por essa espécie sobre a germinação de sementes e no crescimento de plântulas de espécies nativas (Fabricante et al., 2017; Silva et al., 2018).

Myracrodruon urundeuva Allemão (Anacardiaceae), conhecida como “aroeira” ou “aroeira-do-sertão”, é uma espécie nativa amplamente distribuída em todo o território brasileiro, principalmente nas regiões semiáridas, onde também desempenha papel socioeconômico essencial (Oliveira et al., 2019). Suas cascas são ricas em compostos fenólicos, os quais estão associadas as suas propriedades cicatrizantes e antiinflamatórias (Carlini et al., 2010). Sua madeira, é empregada na construção e mobiliário (Souza et al., 2018). Os múltiplos usos de *M. urundeuva*, associados à exploração indevida, tem se tornado uma ameaça a sua sobrevivência, levando a mesma a integrar a lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção, onde, atualmente, encontra-se na categoria “menos preocupante” (MMA, 2008, Scalon, Scalon Filho; Masetto, 2012).

Desta forma, devido à importância socioeconômica e a necessidade de preservação das populações de *M. urundeuva*, e considerando também o atual nível de naturalização de *A. indica* nas diversas regiões do Brasil, este trabalho objetivou-se avaliar o efeito da decomposição das folhas decíduas de *A. indica* sobre a germinação e crescimento inicial de *Myracrodruon urundeuva* Allemão. Utilizando um modelo experimental a fim de simular o

impacto da serapilheira no crescimento desta última, identificando também quais os aleloquímicos que são liberados no substrato durante a decomposição de suas folhas.

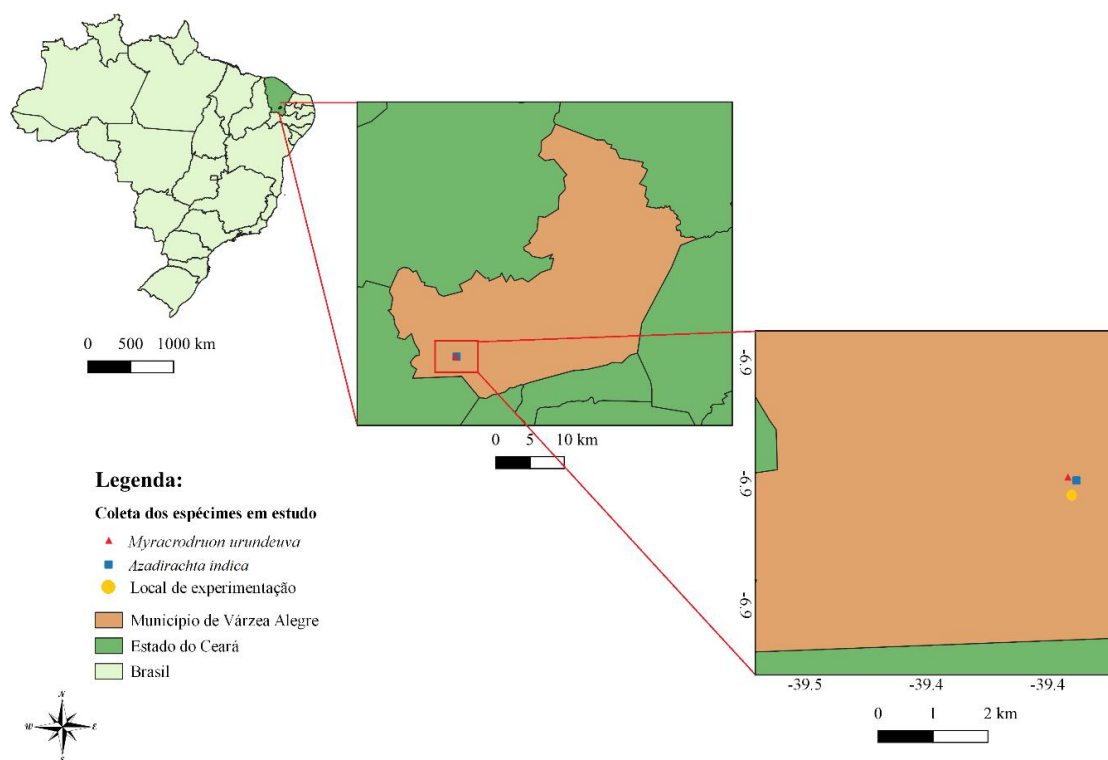
2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material botânico

Folhas de *A. indica* ao final da senescência foram coletadas durante a última semana de novembro de 2018 em uma área de caatinga, localizada na zona rural do município de Várzea Alegre - CE (Fazenda Oiticica), sob coordenadas 6° 52' 10,976'' S e 39° 25' 31,434'' W (Figura 1). Foram consideradas senescentes as folhas plenamente amarelas que se destacavam das plantas com um leve toque, as quais foram coletadas duas vezes ao dia com o auxílio de uma malha estendida ao solo. Após a coleta, o material foi seco à temperatura ambiente e armazenado em sacos de nylon até a utilização para o processo de decomposição foliar.

Sementes maduras de *M. urundeuva* foram coletadas na segunda semana do mês de outubro de 2018, sob coordenadas 6° 52' 8,926'' S e 39° 25' 36,052'' W (Figura 1), em uma área próxima ao local de coleta das folhas de *A. indica*. Os diásporos foram coletados com o auxílio de uma tesoura de poda alta, e acondicionados em sacos de papel. As sementes foram selecionadas de acordo com a inexistência de sinais de herbivoria, e posteriormente armazenadas em geladeira.

Figura 1 - Local de coleta do material botânico de *Azadirachta indica* A. Juss. e *Myracrodruon urundeuva* Allemão no município de Várzea Alegre - CE, Brasil.



Além do material botânico a ser utilizado no experimento, foram coletados também materiais testemunhos de *A. indica* e *M. urundeuva*, os quais foram depositados no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima - HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato – CE, Brasil, sob Voucher nº 13.928 e 14.198, respectivamente.

2.2 Decomposição foliar

Como substrato foi utilizado solo de caatinga, o qual foi coletado no horizonte A (10-20 cm). O solo foi peneirado para posteriormente ser misturado com as diferentes quantidades de folhas de *A. indica*.

Para simular a degradação da biomassa, as folhas de *A. indica* coletadas, foram misturadas com o solo, sendo depositadas em camadas intercaladas e postas à decomposição em concentrações variadas (0, 10, 20, 30 g/Kg) da massa total do solo (p/p), durante 90 (T1) e 180 dias (T2) em sacos voal (Huang et al., 2013). Os sacos contendo o solo e as folhas, foram distribuídos em uma área de 5 metros quadrados, onde permaneceram durante os dois períodos de decomposição (T1 e T2), a fim de simular condições de decomposição no campo (Huang et al., 2013).

Para a determinação da quantidade de folhas utilizadas para a condução do experimento foi realizado um cálculo com a quantidade da liberação anual de folhas de *A. indica*, que é de aproximadamente 10 t/ha (Brasil, 2001). Essa quantidade equivale à

concentração de 10 g/Kg utilizada no experimento. O experimento constou de três concentrações entre folhas/solo (A1: 10 g/Kg, A2: 20 g/Kg e A3:30 g/Kg) e um grupo controle ao qual não foi adicionado folhas (CK: 0 g/Kg) (Huang et al., 2013).

2.4 Testes físico-químicos do solo

Amostras do substrato de cada tratamento foram coletadas ao final de ambos os períodos de decomposição para a realização de testes físico-químicos, sendo analisados aspectos físicos, macro e micronutrientes que potencialmente influenciam na germinação e desenvolvimento de espécies vegetais. Tais testes foram realizados no Laboratório de Fertilidade do Solo na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA (Recife – PE), segundo metodologia da EMBRAPA (1997).

2.5 Preparação e análise cromatográfica dos extratos

Após cada período de decomposição foliar, o solo contendo as partículas de folhas de *A. indica* da concentração de 30 g/Kg e o solo controle foram submetidos a extração com solventes orgânicos. Devido ao fato das plantas absorverem somente compostos de natureza polar, inicialmente foi realizada uma extração exaustiva utilizando 8 L de *n*-hexano (1:2 p/v) juntamente com 4 quilos de solo, onde, a mistura permaneceu ao abrigo da luz durante 96 horas. Em seguida, a amostra foi filtrada e o solvente concentrado em evaporador rotatório. Posteriormente, a extração foi realizada com etanol, utilizando o mesmo volume de solvente por igual período para a obtenção dos compostos polares.

A identificação dos compostos presentes nos extratos foi realizada em um sistema Acquity® UPLC acoplado a um sistema quádruplo de tempo de voo (QTOF) (Waters Corporation, Milford, EUA), no Laboratório de Química e Produtos Naturais da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (Fortaleza, Ceará). Os ensaios cromatográficos foram realizados em uma coluna Waters Acquity® UPLC BEH (150 x 2,1 mm, 1,7 µm), com temperatura fixa a 40 ° C, fases aquosas móveis com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% de B (15 min), fluxo de 0,4 ml / min e volume de injeção de 5 µl. O modo ESI foi obtido na faixa de 110-1180 Da, com temperatura da fonte fixa a 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C, fluxo de gás de dessolvatação de 500 L / h, cone de extração de 0,5 V, voltagem

capilar de 2,6 kV. O modo ESI + foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa de 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C, fluxo de gás de dessolvatação de 500 L / h e tensão capilar de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como *lock mass*. O modo de aquisição foi o MS^E (espectrometria de massa de alta energia). O instrumento foi controlado pelo software Masslynx® 4.1 (Waters Corporation, Milford, EUA).

2.7 Testes de germinação e crescimento de *Myracrodruon urundeuva*

Após 90 (T1) e 180 dias (T2) os sacos contendo o solo juntamente com o material vegetal decomposto de *A. indica* foram levados ao Laboratório de Botânica Aplicada da Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, Brasil, para a condução dos experimentos de germinação e crescimento de *M. urundeuva*.

2.7.1 Testes de germinação

Os ensaios de germinação de cada período de decomposição foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Botânica Aplicada da Universidade Regional do Cariri (URCA), utilizando bandejas plásticas com 200 células. O solo contendo o material decomposto de *A. indica* e o solo controle (CK) foram utilizados como substrato para a germinação das sementes de *M. urundeuva*, estas, foram distribuídas nas bandejas, uma em cada célula, as quais foram umedecidas com 5 mL de água destilada, cada, seguida por regas diárias a fim de manter a umidade do substrato (Brasil, 2009). Os experimentos de germinação foram realizados em quadruplicata contendo 50 sementes por repetição.

Durante os experimentos foram realizadas observações a cada 24 horas por um período de 15 dias e a emergência das radículas foi utilizada como critério para considerar as sementes germinadas. Ao final de cada avaliação foram calculadas: a germinabilidade (%), o Índice de Velocidade de Emergência (IVE), sincronia (E) e o tempo de germinação de 50% das sementes (t_{50}).

A germinabilidade foi determinada ao final dos 15 dias de experimento, calculando-se a proporção do número de sementes cujas radículas emergiram acima do substrato. Os valores foram obtidos utilizando a fórmula: $G = (N/A) * 100$, onde: N - refere-se ao número total de sementes germinadas ao final do experimento e A – número total de sementes semeadas (Brito; Santos, 2012).

O Índice de velocidade de emergência (IVE) foi determinado a partir dos registros diários do número de sementes germinadas, através da fórmula proposta por Maguire (1962): $IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$, onde: E1, E2 e En - número de plântulas computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2 e Nn - número de dias após a semeadura do experimento.

A sincronia da germinação foi obtida por meio da fórmula: $E = - \sum f_i \cdot \log_2 f_i$, onde f_i é a frequência relativa de germinação (i.e., a proporção de sementes germinadas em um dado intervalo) e $\log_2 =$ logaritmo de base 2 (Ranal; Santana, 2006).

O tempo de germinação/emergência de 50% das plântulas (T50) de *M. urundeuva* foi calculado de acordo com a fórmula: $t_{50} = t_i + [(N/2 - n_i)(t_j - t_i)] / (n_j - n_i)$, onde N representa o número final de sementes germinadas e n_i e n_j é o número de sementes acumuladas que emergiram por contagens adjacentes nos tempos t_i e t_j , respectivamente, quando $n_i < N / 2 < n_j$ (Farooq et al., 2005).

2.7.2 Testes de crescimento

Para a análise do crescimento de *M. urundeuva*, sementes da referida espécie foram colocadas para germinar em placas de Petri de 9 cm de diâmetro devidamente esterilizadas, contendo duas folhas de papel filtro umedecidas com 3 mL de água destilada. As placas foram seladas com papel filme e acondicionadas em câmara de germinação do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) a 25 °C com fotoperíodo de 12 hrs (claro/escuro), onde permaneceram até as sementes germinarem e apresentarem radículas de 2 mm de comprimento, o que ocorreu após cerca de 28 horas.

Após a germinação, as plântulas de *M. urundeuva* foram transplantadas para recipientes plásticos individuais contendo o solo com as diferentes quantidades de folhas (0 g/Kg, 10 g/Kg, 20 g/Kg e 30 g/Kg). Antes da semeadura, os recipientes foram previamente umedecidos com água destilada, a qual foi determinada de acordo com a capacidade de campo do substrato (Brasil, 2009).

Foram definidos no experimento, 12 repetições para cada tratamento, sendo que cada repetição correspondeu a um recipiente contendo uma plântula de *M. urundeuva*. Após a semeadura, os recipientes foram levados para casa de vegetação onde permaneceram durante dois meses. No decorrer do experimento os potes foram regados a cada dois ou três dias a fim de manter a umidade do solo.

Passados dois meses de crescimento, as plantas jovens de cada tratamento foram levadas ao laboratório, retiradas dos recipientes e lavadas cuidadosamente com água corrente para posterior medições dos índices de crescimento, peso seco e conteúdo de clorofila. Todas as etapas de experimentação e parâmetros analisados foram realizados em ambos os períodos de decomposição (T1 e T2).

Os comprimentos das raízes e dos caules das plantas jovens *M. urundeuva* foram medidos com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. Para o comprimento do caule, tomou-se a medida da base do colo ao ápice da planta, para a raiz, mediu-se da base do colo a extremidade da raiz, sendo os resultados expressos em centímetros (cm).

O peso seco das partes aéreas, da raiz e total das plantas jovens foi obtido a partir da separação das raízes e partes aéreas, que após serem acondicionados em sacos de papel previamente identificados foram postos em estufa de circulação de ar a 105°C, onde permaneceram durante 30 minutos. Passado esse tempo, a temperatura foi alterada para 80°C, com permanência de 24 horas, ao final do qual foram pesadas em balança analítica (Huang et al., 2013).

A extração e quantificação do conteúdo de clorofila e carotenoides das folhas de *M. urundeuva* foram realizadas segundo a metodologia proposta por Arnon (1949) e Lichtenthaler e Wellburn (1983), utilizando amostras de folhas frescas (100 mg), removendo-se as nervuras. Com as luzes apagadas, as amostras foram maceradas com carbonato de cálcio (CaCO_3) e acetona a 80% (10 mL) com o uso de um almofariz e pistilo. Após a maceração, as amostras foram centrifugadas por três minutos a 200 gravidades, e o sobrenadante de cada amostra foi analisado nas absorvâncias de 470 nm, 646 nm, 663 nm e 710 nm. As concentrações de clorofila a, b, total e carotenoides foram calculados conforme o método descrito por Porra, Thompson e Kriedemann (1989).

2.8 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa GraphPadPrism versão 6.0, com análise de variância (ANOVA) de duas vias (Two-way) em função do tempo de decomposição e quantidade de folhas no substrato (tratamentos), seguida do teste de Tukey a 5%.

3 RESULTADOS

Verificou-se nas análises físico-químicas do solo, que a maioria dos micro e macronutrientes tiveram aumento em suas concentrações entre os distintos tratamentos e/ou após os períodos de decomposição foliar (Tabela 1). Dois elementos (H, Mg) tiveram aumento em suas concentrações entre os tratamentos à medida que se elevou a quantidade de biomassa de *A. indica*, e apresentaram diminuição no segundo tempo de decomposição em comparação ao primeiro. Enquanto os teores de fósforo (P) e sódio (Na) não mostraram grandes alterações entre os diferentes tratamentos e períodos de decomposição (Tabela 1).

Quanto aos valores de pH do substrato, estes se tornaram mais elevados entre os tratamentos comparado ao solo no qual não foi adicionado material vegetal, apresentando valores próximos a 7, enquanto o controle apresentou pH de 5,30 em ambos os períodos de decomposição. Por fim, verificou-se que com a adição das folhas de *A. indica* a saturação por base (V) mostrou valores elevados entre os diferentes tratamentos e com aumento no segundo período de decomposição em comparação ao primeiro (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise de caracteres físico-químicos do substrato antes e depois da decomposição foliar.

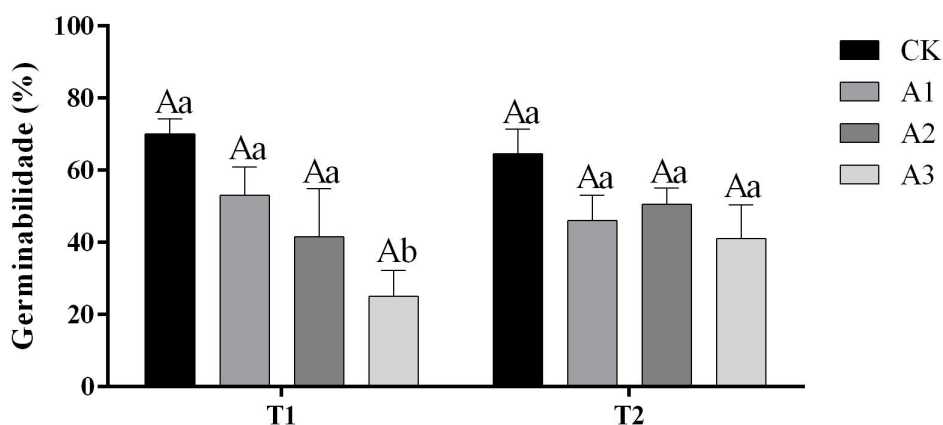
Período	Tratamento	pH (H ₂ O)	P Mg/dm ³	K ----- Cmolc/dm ³ -----	Na	H	Al	Ca	Mg	S	CTC -Cmolc/dm ³ -	V -----%-----	M
T1	CK	5,30	2	0,14	0,13	5,02	0,25	6,60	2,40	9,3	14,5	64,00	3,00
	A1	6,60	2	0,19	0,10	4,20	0,00	5,90	3,70	9,9	14,1	70,00	0
	A2	6,90	2	0,30	0,11	4,29	0,00	5,25	4,50	10,2	14,5	70,00	0
	A3	7,50	2	0,37	0,10	3,38	0,00	7,25	5,00	12,7	16,1	79,00	0
T2	CK	5,30	2	0,13	0,11	2,30	0,25	8,25	0,90	9,4	11,9	79,00	3,00
	A1	6,90	2	0,27	0,08	1,96	0,00	8,60	1,15	10,1	12,1	84,00	0
	A2	7,00	2	0,25	0,11	1,65	0,00	7,80	2,10	10,3	11,9	86,00	0
	A3	7,70	3	0,34	0,14	0,41	0,00	10,00	2,20	12,7	13,1	97,00	0

Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; pH: potencial hidrogeniônico; P: fósforo; K: Potássio; Na: sódio; H: hidrogênio; Al: alumínio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; S: soma de base; CTC: capacidade de troca catiônica; V: capacidade de saturação de base; M: saturação de alumínio.

A germinabilidade de *M. urundeuva* foi afetada negativamente no tratamento de maior concentração de resíduos de folhas de *A. indica* (A3, 25%±7,32) no primeiro período de decomposição, enquanto nas menores concentrações não foi verificada diferença estatística quando comparado ao controle (CK, 70%±4,32). Enquanto no T2 não foi observada diferença significativa na germinação das sementes em nenhum dos tratamentos analisados. Quando

comparado os tratamentos de iguais concentrações entre os períodos de decomposição, também não foi verificada diferença estatística (Figura 2).

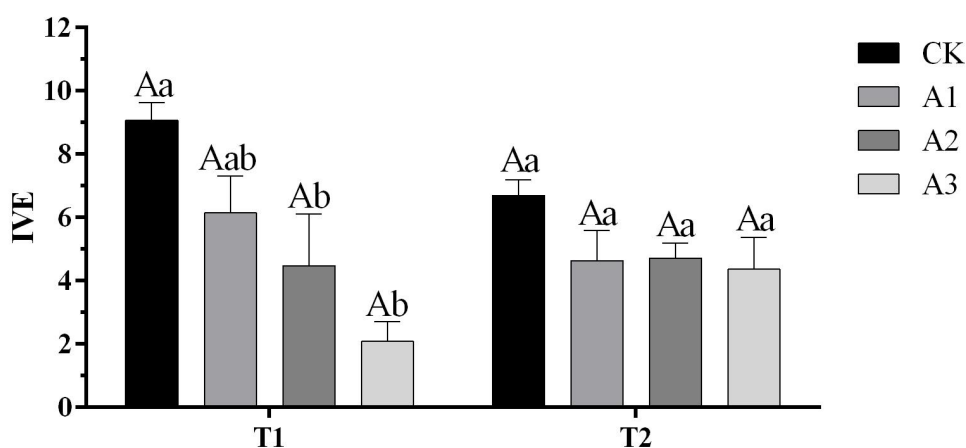
Figura 2 – Germinabilidade das sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações.



Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

A velocidade de emergência de *M. urundeuva* diminuiu à medida que se elevou a concentração das folhas de *A. indica* quando as sementes de *M. urundeuva* foram semeadas no solo após 90 dias de decomposição (T1) (Figura 3), essa diminuição tornou-se mais aparente nas concentrações de 20 e 30 g/Kg ($4,47 \pm 1,63$ e $2,08 \pm 0,62$, respectivamente), comparado ao controle ($9,07 \pm 0,55$). Quanto ao IVE das plântulas no segundo período de decomposição, não foi observada diferença estatística entre os diferentes tratamentos e o grupo controle (Figura 3). E ao comparar isoladamente cada tratamento entre os períodos de decomposição também não foi verificada alterações significativas (Figura 3).

Figura 3 – Índice de Velocidade de Emergência – IVE das sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações.



Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

O menor índice de sincronia de germinação foi registrado na concentração de 30 g/Kg de folhas de *A. indica*, em 90 dias de decomposição ($0,124 \pm 0,042$). Os demais tratamentos em ambos os períodos de decomposição não apresentaram resultados estatisticamente significativos quando comparados aos tratamentos a quais não foram adicionadas folhas (CK). Entre os tratamentos de iguais concentrações também não foi verificada diferença estatística na sincronia de germinação quando comparado os dois períodos (Tabela 2).

Tabela 2 - Ação da decomposição foliar de *Azadirachta indica* sobre a sincronia da germinação de *Myracrodruon urundeuva*.

Períodos	Tratamentos			
	CK	A1	A2	A3
T1	$0,278 \pm 0,017$ Aa	$0,210 \pm 0,020$ Aa	$0,177 \pm 0,045$ Aa	$0,124 \pm 0,042$ Ab
T2	$0,245 \pm 0,044$ Aa	$0,188 \pm 0,033$ Aa	$0,219 \pm 0,021$ Aa	$0,205 \pm 0,023$ Aa

Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

O tempo gasto para a emergência de 50% das plântulas de *M. urundeuva* não mostrou diferença estatística em nenhuma das concentrações testadas de ambos os períodos de decomposição das folhas de *A. indica* quando comparado ao controle (Tabela 3). Assim como não foi observada alterações significativas ao comparar os mesmos tratamentos entre os dois períodos de decomposição (Tabela 3).

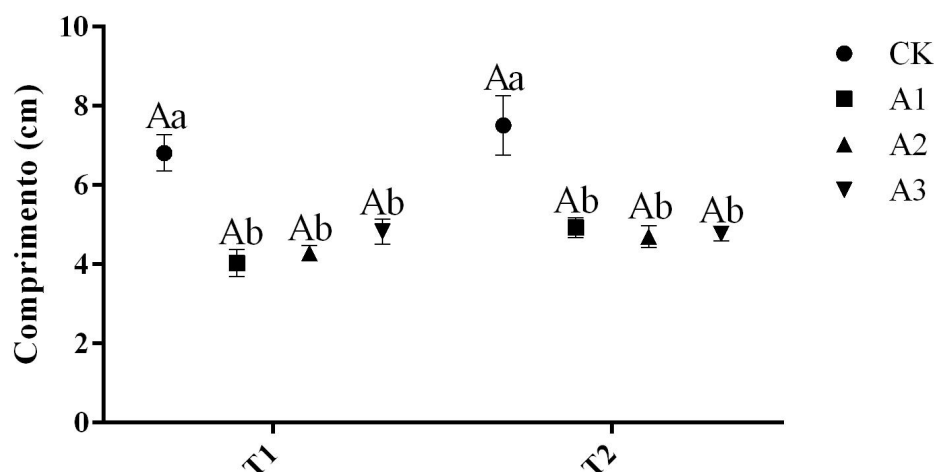
Tabela 3 - Ação da decomposição foliar de *Azadirachta indica* sobre o tempo de emergência de 50% das plântulas de *Myracrodruon urundeuva*.

Períodos	Tratamentos			
	CK	A1	A2	A3
T1	3,24±0,07Aa	3,87±0,25Aa	4,94±0,57Aa	5,10±0,64Aa
T2	4,60±0,55Aa	4,61±0,32Aa	5,38±0,59Aa	4,33±0,34Aa

Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

Pode-se observar na figura 4 que a adição de resíduos de folhas de *A. indica* apresentou efeito inibitório sobre o comprimento do caule de *M. urundeuva* em todos os tratamentos nos dois tempos de decomposição. Verificou-se ainda, que não ocorreu diferença estatística ao comparar os tratamentos de iguais concentrações entre os dois períodos (Figura 4).

Figura 4 – Comprimento dos caules das plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações.

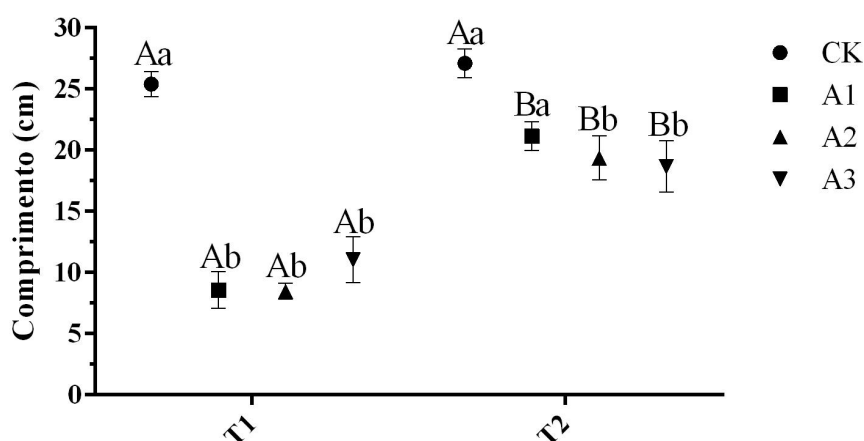


Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

Para os tratamentos A2 e A3, o efeito inibitório sobre as raízes de *M. urundeuva* foi observado em ambos os períodos de decomposição (Figura 5). Enquanto o tratamento de menor concentração (A1, $8,57 \pm 1,49$) apresentou efeito negativo apenas em T1, em comparação ao grupo controle (CK, $25,41 \pm 1,01$) (Figura 5).

A interação dos tratamentos contendo concentrações iguais de resíduos de *A. indica* entre os diferentes períodos de decomposição, mostrou diferença estatística no comprimento das raízes das plantas de *M. urundeuva* no primeiro tempo de decomposição em relação ao segundo em todos os tratamentos analisados, evidenciando, portanto, que o efeito inibitório foi mais acentuado aos 90 dias de decomposição das folhas de *A. indica* (Figura 5).

Figura 5 – Comprimento das raízes das plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* submetidas ao substrato contendo folhas decompostas de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações.



Legenda: T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

O resíduo das folhas de *A. indica* em decomposição, influenciou significativamente a biomassa seca de *M. urundeuva* (Figura 6). Comparada com o controle ($20,06 \pm 1,47$), a biomassa das folhas foi reduzida significativamente no primeiro tempo de decomposição nas concentrações de 20 e 30 g/Kg de folhas da espécie doadora ($11,86 \pm 2,54$ e $11,11 \pm 0,95$, respectivamente) (Figura 6A). No segundo período de decomposição não foi observada diferença significativa quando comparado os distintos tratamentos ao grupo controle (Figura 6A). Ao analisar os mesmos tratamentos entre os dois períodos de decomposição, foi verificado que apenas no A1 ocorreu redução significativa do peso seco das folhas de *M. urundeuva* no T1 ($11,86 \pm 2,54$) em relação ao T2 ($20,96 \pm 2,45$) (Figura 6A).

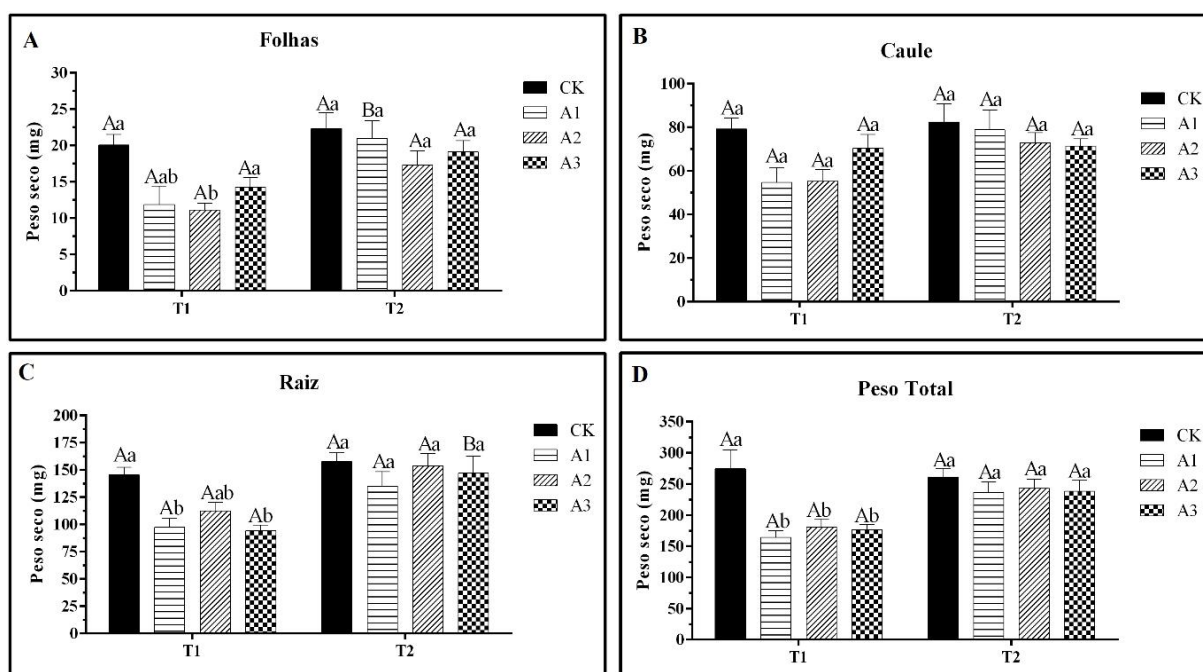
Não foram observados efeitos inibitórios para o peso seco dos caules de *M. urundeuva* em nenhum dos tratamentos analisados de ambos os períodos de decomposição, comparado ao controle (Figura 6B). A interação entre os diferentes tratamentos dos dois períodos de decomposição também não mostrou diferença estatística (Figura 6B).

Pode-se observar na figura 6 (C) que a biomassa seca das raízes de *M. urundeuva* foi afetada negativamente no primeiro período de decomposição em todos os tratamentos analisados, quando comparado ao grupo controle; enquanto no T2 não foi observada diferença significativa nos tratamentos nos quais resíduos de folhas de *A. indica* foram adicionadas nas diferentes concentrações (Figura 6C). A interação entre os tratamentos iguais dos dois

períodos de decomposição mostrou que apenas no A3 ocorreu redução significativa da biomassa das raízes no T1 ($94,86 \pm 5,50$) em relação ao T2 ($147,0 \pm 6,09$) (Figura 6C).

O peso seco total das plantas de *M. urundeuva* foi reduzido significativamente em todas as concentrações no primeiro tempo de decomposição, enquanto no T2 não foi verificada diferença estatística quando comparado ao controle (Figura 6D). E ao analisar a interação dos tratamentos entre os tempos de decomposição, verificou-se que não ocorreu diferença significativa do peso seco total das plantas entre os dois períodos (Figura 6D).

Figura 6 – Ação da decomposição foliar de *Azadirachta indica* sobre o peso seco de *Myracrodruon urundeuva*.

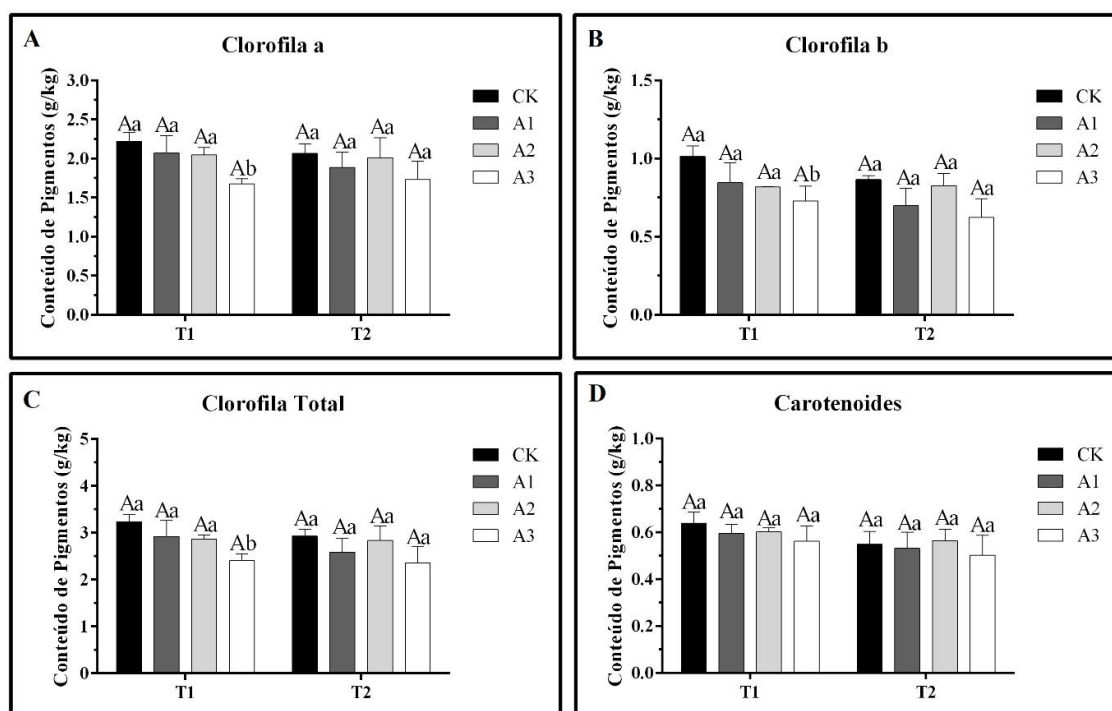


Legenda: Peso seco das folhas (A), caules (B), raízes (C) e total (D). T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

Verificou-se que as plantas jovens de *M. urundeuva* submetidas ao tratamento de maior concentração de folhas decompostas de *A. indica* mostraram efeitos inibitórios no teor de clorofila no primeiro período de decomposição (Figura 7). O teor médio de clorofila a e b foram reduzidos de 2,22 g/Kg ($\pm 0,063$) e 1,01 g/Kg ($\pm 0,063$) no controle, para 1,67 g/Kg ($\pm 0,039$) e 0,72 g/Kg ($\pm 0,055$), respectivamente (Figura 7 A e B). Enquanto o conteúdo de

clorofila total teve redução significativa do valor médio de 3,23 g/Kg ($\pm 0,093$) para 2,40 g/Kg ($\pm 0,082$), correspondendo a uma inibição de 25,71% (Figura 7 C). Já o conteúdo de carotenoides não mostrou diferença estatística em nenhum dos tratamentos e períodos de decomposição (Figura 7 D).

Figura 7 – Ação da decomposição foliar de *Azadirachta indica* sobre o conteúdo de clorofila e carotenoides de *Myracrodruon urundeuva*.



Legenda: Clorofila a (A), b (B), total (C) e carotenoides (D). T1: Primeiro período de decomposição (90 dias); T2: Segundo período de decomposição (180 dias); CK: Controle; A1: 10 g/Kg; A2: 20 g/Kg; A3: 30 g/Kg; Letras maiúsculas comparam cada tratamento (CK, A1, A2 e A3) entre os dois períodos de decomposição (T1 e T2), enquanto as letras minúsculas comparam os tratamentos (A1, A2 e A3) com o grupo controle (CK) dentro de cada período de decomposição. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) (Média \pm erro padrão).

Foram identificados sete constituintes em cada período de decomposição das folhas, sendo seis destes, comuns em ambos (Tabela 3 e 4).

Após o período de decomposição de 90 dias, foram determinados quatro diterpenos (C_{20}) e três triterpenos (C_{30}) (Figura 8). O composto 1 representa um diterpeno ($C_{26}H_{33}O_6$) de m/z 441.2290 também identificado por Santos et al. (2018) nos extratos das folhas de *A. indica*. Os demais diterpenos (Margocinolide ($C_{27}H_{32}O_8$), Epoxyazadiradione ($C_{28}H_{34}O_6$) e Margosinone ($C_{29}H_{50}O_4$)) foram encontrados em ambos os períodos de decomposição.

Os triterpenos identificados, Iso-azadirolide ($C_{32}H_{42}O_{10}$), Salimuzzalin ($C_{30}H_{40}O_7$) e Deacetylsalannin ($C_{32}H_{42}O_8$) foram encontrados nos extratos do solo após 90 e 180 dias de decomposição foliar de *A. indica*. No segundo período de decomposição foi verificada a presença do composto Nimbolide B ($C_{27}H_{30}O_9$), este constituinte foi caracterizado por Kato-Noguchi et al. (2014) que em seu trabalho identificou propriedades alelopáticas inibitórias decorrentes da substância. Os cromatogramas das análises da decomposição das folhas senescentes de *A. indica* após 90 e 180 dias de decomposição são apresentados nas figuras 8 e 9, respectivamente.

Figura 8- UPLC-MS no modo iônico negativo do extrato etanólico do solo utilizado para decomposição das folhas de *Azadirachta indica* após 90 dias.

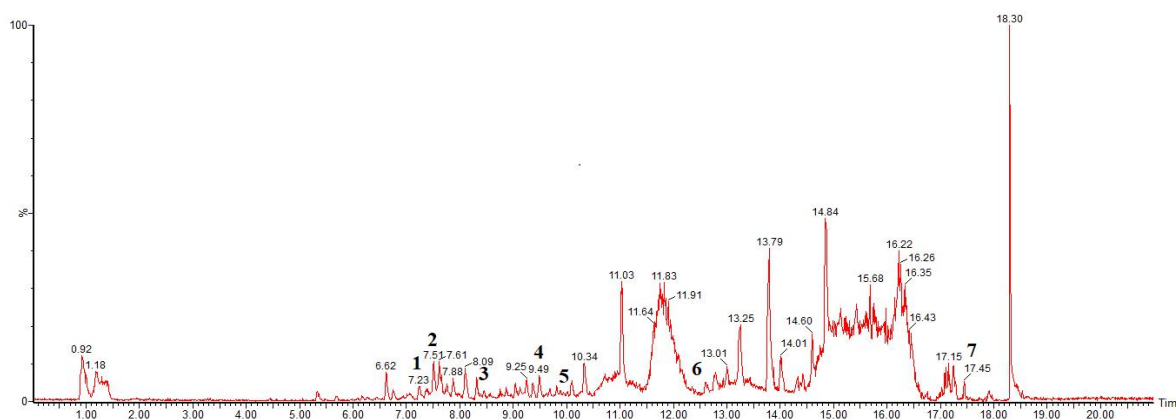


Figura 9- UPLC-MS no modo iônico negativo do extrato etanólico do solo utilizado para decomposição das folhas de *Azadirachta indica* após 180 dias.

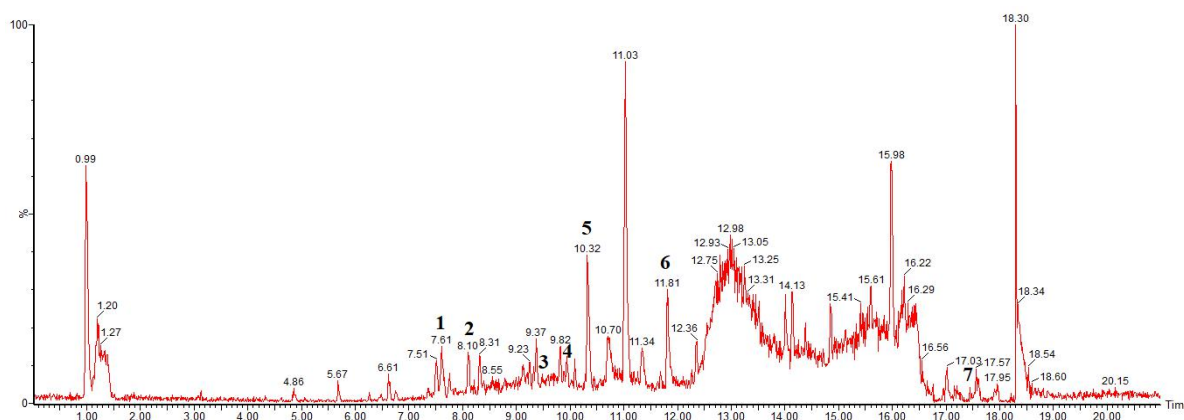


Tabela 4 - Componentes identificados no solo de caatinga após 90 dias (T1) de decomposição foliar de *Azadirachta indica*.

Nº Pico	Rt Min	[M-H] ⁻ Observada	[M-H] ⁻ Calculada	Fragmentos Principais (intensidade %) <i>m/z</i>	Fórmula	Ppm	Composto	Referências
1	7.234	441.2290	441.2277	163.0887 (13); 293.0417 (17); 442.2323 (23); 499.2037 (6); 601.2568 (8); 810.3610 (3)	C ₂₆ H ₃₃ O ₆	2.9	Limonoide	Cruz Silva (2007) Haldar (2014) Santos et al. (2018)
2	7.512	483.2033	483.2019	193.0853 (52); 245.1149 (9); 311.1751 (6); 347.2048 (20); 439.2115 (44); 484.2149 (29); 499.2049 (9)	C ₂₇ H ₃₂ O ₈	2.9	Margocinolide (tetranortriterpenóide)	Dayakar et al. (2015) Deepa; Sreekumar; Biju (2016)
3	8.313	587.2751	587.2700	325.1845 (20); 427.2175 (57); 459.2643 (24); 585.2753 (58); 587.2817 (30)	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₀	8.7	Iso-azadirolide tetranortriterpenóide	Álvarez-Caballero; Coy-Barrera (2019) Deepa; Sreekumar; Biju (2016)
4	9.478	513.2875	513.2852	131.0711 (24); 144.9263 (16); 311.1704 (21); 325.1883 (27); 425.2334 (23); 443.2834 (40); 514.2933 (35); 559.2947 (23); 675.2946 (10)	C ₃₀ H ₄₀ O ₇	4.5	Salimuzzalin (triterpenóide tetracíclico)	Álvarez-Caballero; Coy-Barrera (2019)
5	10.026	467.2417	467.2434	297.1573 (30); 311.1700 (45); 341.1017 (15); 507.3824 (16); 549.2834 (46); 550.2925 (20); 745.4335 (6)	C ₂₈ H ₃₄ O ₆	-3.6	Epoxyazadiradione (limonóide)	Álvarez-Caballero; Coy-Barrera (2019) Deepa; Sreekumar; Biju (2016) Santos et al. (2018)
6	12.470	555.2898	555.2957	293.2236 (8633); 311.1637 (30); 387.2970 (20); 721.5185 (13)	C ₃₂ H ₄₂ O ₈	-0.2	Deacetylsalannin (triterpenóide)	Dayakar et al. (2015) Pandreka et al. (2015) Santos et al. (2018)

7	17.441	461.3678	461.3631	283.2687 (14); 311.1680 (5); 337.2479 (4); 355.2708 (5); 462.3777 (23)	C ₂₉ H ₅₀ O ₄	9.2	Margosinone (terpenóide)	Deepa; Sreekumar; Biju (2016)
---	--------	----------	----------	--	--	-----	-----------------------------	----------------------------------

Tabela 5 - Componentes identificados no solo de caatinga após 180 dias (T2) de decomposição foliar de *Azadirachta indica*.

Nº Pico	Rt Min	[M-H] ⁻ Observada	[M-H] ⁻ Calculada	Fragmentos Principais (intensidade %) <i>m/z</i>	Fórmula	Ppm	Composto	Referências
1	7.606	483.2035	483.2019	193.0870 (100); 245.1253 (13); 311.1744 (18); 325.1844 (15); 485.2346 (29)	C ₂₇ H ₃₂ O ₈	3.3	Limonoide (tetranortriterpenóide)	Dayakar et al. (2015) Deepa; Sreekumar; Biju (2016)
2	8.129	587.2861	587.2856	287.2167 (52); 325.1891 (50); 415.2619 (33); 427.2177 (100); 585.2764 (69); 586.2768 (25)	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₀	0.9	tetranortriterpenóide	Álvarez-Caballero; Coy-Barrera (2019) Deepa; Sreekumar; Biju (2016)
3	9.502	513.2868	513.2868	144.9278 (18); 311.1664 (48); 793.5111 (8); 833.5198 (10)	C ₃₀ H ₄₀ O ₇	3.1	Salimuzzalin (triterpenóide tetracíclico)	Dayakar et al. (2015)
4	9.881	497.1781	497.1812	311.1683 (62); 325.1768 (25); 339.2129 (14); 379.1213 (32); 529.2976 (29); 541.3083 (22)	C ₂₇ H ₃₀ O ₉	-6.2	Nimbolide B	Kato-Noguchi et al. (2014)
5	10.320	467.2479	467.2434	116.9299 (68); 183.0125 (29); 297.1519 (14); 343.1175 (50); 371.1153 (68); 439.1798 (100); 440.1835 (27)	C ₂₈ H ₃₄ O ₆	8.7	Epoxyazadiradione (limonóide)	Álvarez-Caballero; Coy-Barrera (2019) Deepa; Sreekumar; Biju (2016) Santos et al. (2018)
6	11.810	555.2982	555.2958	215.2632 (37); 341.1053 (100); 523.2809 (18); 539.2802 (16); 721.4508 (15); 767.4411 (8)	C ₃₂ H ₄₂ O ₈	4.3	Deacetylsalannin (triterpenóide)	Dayakar et al. (2015) Pandreka et al.

									(2015)
7	17.440	461.3677	461.3631	337.3228 (20); 355.2665 (12); 411.3421 (13); 462.4215 (14)	C ₂₉ H ₅₀ O ₄	6.3	Margosinone (terpenóide)	Santos et al. (2018) Deepa; Sreekumar; Biju (2016)	

4 DISCUSSÃO

Os metabólitos secundários desempenham papel importante na taxa de decomposição, na ciclagem de nutrientes e sobre as comunidades bióticas do solo (Chomel et al., 2016). Em escalas amplas, como a de uma comunidade vegetal, a disposição e persistência de metabólitos secundários no solo podem resultar em impactos diretos na germinação e crescimento de vegetais, podendo representar implicações na regeneração, estrutura e propriedade dos ecossistemas (Ormeño; Fernandez; Mévy, 2007; Iason; Dicke; Hartley, 2012; Fernandez et al., 2013; Chomel et al., 2016).

Estudos demonstram que a decomposição de serapilheira e conseqüentemente a liberação de metabólitos secundários é um fator chave em processos alelopáticos, afetando principalmente o crescimento e a sobrevivência de plântulas (Bonanomi et al., 2006; Huang et al., 2019). O efeito alelopático da decomposição de resíduos vegetais tem sido atribuído principalmente ao fato de que os compostos químicos liberados da serapilheira podem persistir no solo mesmo após a senescência e decomposição do vegetal, podendo causar efeitos sobre o crescimento ou a germinação de plantas vizinhas e de próximas gerações (Jilani et al., 2008; Bonanomi et al., 2011).

Neste estudo verificou-se que os resíduos das folhas de *A. indica* afetaram a germinação e o crescimento de *M. urundeuva*, indicando que provavelmente tal efeito se deva ao acúmulo de metabólitos secundários liberados pelas folhas de *A. indica* especialmente durante o período inicial de decomposição, resultados semelhantes aos encontrados nos trabalhos Huang et al. (2014) e Álvarez-Iglesias et al. (2018). Huang et al. (2014) atribuíram a redução dos metabólitos secundários no solo ao longo do tempo, ao papel que os microrganismos desempenham na decomposição desses resíduos vegetais, e conseqüentemente na redução do acúmulo de tais compostos no solo. Acredita-se ainda, que à medida que o vegetal decompõe, sua qualidade bioquímica modifica-se devido a depleção progressiva de substâncias químicas facilmente degradáveis e solúveis em água (Mazzoleni et al., 2015; Chomel et al., 2016).

Estudos mostram que ao passo em que a decomposição progride, a biomassa presente diminui gradualmente e o material vegetal decomposto é transformado em nutrientes, principalmente pela ação dos microrganismos do solo (Guo et al., 2009; Cheng, F.; Cheng, Z., 2015; Li et al., 2015). Neste trabalho verificou-se que com aumento da serapilheira de *A. indica* nos diferentes tratamentos, em ambos os tempos de decomposição, houve um aumento também na quantidade de determinados nutrientes do solo, logo, era de se esperar que

ocorresse um aumento no desenvolvimento de *M. urundeuva* nos tratamentos em que foram adicionados as folhas da espécie doadora quando comparados ao grupo controle, no entanto, nesses tratamentos foi observado um efeito inibitório sobre a germinação e crescimento de *M. urundeuva*, sobretudo durante o primeiro período de decomposição. Segundo Mohammadkhani e Servati (2017) esse efeito pode estar relacionado ao fato de que os aleloquímicos liberados no solo pelas folhas durante a decomposição diminuem ou inibem a absorção de minerais pelas plantas, afetando a eficiência da translocação de assimilados e o acúmulo de nutrientes em plantas, e conseqüentemente, afetando o desenvolvimento das mesmas.

Além de atuarem nos processos de germinação, os aleloquímicos podem afetar o crescimento das plantas receptoras, interrompendo as atividades fisiológicas celulares normais, através de alterações na divisão, alongamento e estrutura das células. (Zhong-Ling; Qing-Cheng; Long-Fei, 2011; Rice, 2012; Huang et al., 2013). Os aleloquímicos podem também causar alterações no crescimento da planta-alvo, afetando a sua fotossíntese, através da redução do conteúdo de clorofila (Li, Y.; Li, X.; Hu, 2013; Chen et al., 2018).

Observou-se neste trabalho, que os teores de clorofila a, b e total foram reduzidos no primeiro tempo de decomposição no tratamento de maior concentração de folhas decompostas de *A. indica*. Tais pigmentos são essenciais para o vegetal, os seus conteúdos e funcionalidades são indispensáveis para os processos de absorção e conversão da energia luminosa em energia química nos fotossistemas (Prasad et al., 2004; Rice, 2012; Chen et al., 2018). Com a diminuição dos teores de clorofila, o vegetal reduz a capacidade de realizar o processo fotossintético, e como consequência, não gera compostos orgânicos suficientes através da fotossíntese para o seu crescimento (Huang et al., 2013). O que sugere possíveis limitações fotossintéticas exercidas por compostos alelopáticos contidos nas folhas de *A. indica* e liberados durante o processo de decomposição foliar, que pode ser evidenciado tanto no peso seco como no comprimento das plantas jovens de *M. urundeuva*.

Dentre os constituintes químicos liberados das folhas de *A. indica* durante a decomposição, foram identificados a presença de diterpenos e triterpenos, classes de compostos caracterizados pelas suas propriedades alelopáticas, e os quais foram os compostos provavelmente envolvidos na ação inibitória observada sobre *M. urundeuva*. Os diterpenos (C₂₀) destacam-se por seus constituintes atuarem em diferentes processos nos vegetais, podendo inibir a germinação e crescimento de mudas, inibir a síntese de ATP, diminuir a indução de hormônios do crescimento, além de atuarem como inibidores da fotossíntese,

agindo sobre a síntese de clorofila, como observado neste estudo (Gu; Duan; Luo, 1998; Morales-Flores et al., 2007).

O diterpeno Nimbolide B liberado pelas folhas de *A. indica* durante o segundo período de decomposição, é um metabólito que possui comprovada atividade alelopática, sendo que em trabalho anterior o composto derivado de extratos aquosos das folhas de *A. indica* foi isolado e atuou como potente inibidor do crescimento das raízes e da parte aérea de diversas espécies de cultivares e plantas daninhas, dentre estas, *Lactuca sativa* L. e *Digitaria sanguinalis* L. (Kato-Noguchi et al., 2014).

Os triterpenos (C₃₀) foram a segunda classe de compostos encontrados nos extratos em ambos os períodos de decomposição. Ecologicamente, esses compostos possuem funções importantes para os vegetais, atuando como componentes de ceras superficiais e membranas especializadas nas células, fornecendo proteção contra patógenos e pragas, (Thimmappa et al., 2014) além de atuarem em processos alelopáticos (Macias et al., 2003). Neste último caso, os triterpenos agem a nível celular, onde podem inibir alguns estágios da mitose e influenciar na perda da integridade da membrana celular, podendo causar ainda desequilíbrios hormonais e influenciar diretamente no processo fotossintético, reduzindo a formação de clorofila, logo, todos esses fatores podem influenciar diretamente no desenvolvimento dos vegetais sob a ação desses compostos (Macías-Rubalcava et al., 2007; Rizzi et al., 2016). À vista disso, os triterpenos (Iso-azadirolide, Salimuzzalin e Deacetylsalannin) liberados pelas folhas de *A. indica* podem estar relacionados diretamente aos efeitos inibitórios observados sobre a germinação e crescimento de *M. urundeuva*.

No solo, os aleloquímicos são submetidos a processos de retenção, degradação/transformação e translocação. No processo de retenção ocorre a atração dos compostos alelopáticos às partículas do solo, matéria orgânica e nutrientes através da adsorção, o que irá restringir a mobilidade dos aleloquímicos (Kah; Brown, 2007). Durante a degradação ou transformação, os aleloquímicos adsorvidos no solo passarão por uma série de reações bioquímicas através da ação de microrganismos, os quais possuem a capacidade de alterar os componentes desses compostos, podendo implicar em mudanças específico-químicas dos aleloquímicos e de suas estruturas, modificando-os em compostos mais ativos, menos ativos, ou até mesmo inativos (Li et al., 2015; Scavo; Abbate; Mauromicale, 2019) o que pode explicar o fato de que determinados compostos (Limonioide-T1 e Nimbolide B-T2) foram identificados em apenas um dos períodos de decomposição, e que as suas atividades alelopáticas foram mais acentuadas em um determinado período em relação ao outro.

Chen et al. (2018) ao realizarem experimentos de alelopatia semelhantes, com a decomposição de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, observaram que os aleloquímicos liberados pela espécie durante a decomposição foram capazes de afetar as características fotossintéticas, causando diminuição dos teores de clorofila e carotenóides da espécie receptora (*Medicago sativa* L.), além de causar alterações na capacidade de adaptação à luz e no metabolismo fisiológico da planta. Outro estudo similar, avaliando o impacto da decomposição das folhas de *Cinnamomum septentrionale* Hand.-Mazz., indicou que os terpenos liberados pela espécie reduziram o conteúdo de pigmentos fotossintéticos e afetaram diferentes parâmetros de crescimento (altura, diâmetro basal, biomassa) de *Eucalyptus grandis* W.Hill (Huang et al., 2013). Neste estudo, verificou-se que *A. indica* também é capaz de liberar e incorporar ao solo aleloquímicos (terpenos), os quais apresentaram diferentes ações alelopáticas sobre *M. urundeuva*.

5 CONCLUSÃO

A decomposição da serapilheira de *Azadirachta indica* exerceu efeitos alelopáticos sobre *Myracrodruon urundeuva*, provavelmente devido à presença de compostos químicos (diterpenos e triterpenos) que foram liberados e incorporados ao solo durante o processo de decomposição foliar. Tais efeitos são observados sobre a germinabilidade, velocidade e sincronia de germinação das sementes, bem como sobre as atividades fisiológicas, que foram evidenciadas com a inibição do crescimento, biomassa e conteúdo de pigmentos fotossintéticos da espécie receptora. Verificou-se que a ação alelopática ocorre dependente das concentrações do material vegetal decomposto, dado que, a germinação e crescimento foram reduzidos de acordo com o aumento da biomassa de *A. indica*. Os efeitos alelopáticos da serrapilheira de *A. indica* sobre *M. urundeuva* limitam o seu uso na restauração ecológica. Por fim, sugere-se que o plantio de *A. indica* não seja feito sob ou próximo ao plantio de *M. urundeuva*, tendo em vista que a serapilheira de *A. indica* pode inibir a germinação e crescimento de *M. urundeuva*.

REFERÊNCIAS

Adkins, S., Sowerby, M., 1996. Allelopathic potential of the weed, *Parthenium hysterophorus* L., in Australia. *Plant Protection Quarterly*, 11(1), 20–23.

- Al Harun, M. A. Y., Johnson, J., Uddin, M. N., Robinson, R. W., 2015. Identification and phytotoxicity assessment of phenolic compounds in *Chrysanthemoides monilifera* subsp. *monilifera* (Boneseed). *Plos One*, 10(10), 1-19.
- Álvarez-Caballero, J. M., Coy-Barrera, E., 2019. Chemical and Antifungal Variability of Several Accessions of *Azadirachta indica* A. Juss. from Six Locations Across the Colombian Caribbean Coast: Identification of Antifungal Azadirone Limonoids. *Plants*, 8(12), 555.
- Álvarez-Iglesias, L., Puig, C. G., Revilla, P., Reigosa, M. J., Pedrol, N., 2018. Faba bean as green manure for field weed control in maize. *Weed Research*, 58(6), 437-449.
- Amaral, L. R., Venzon, M., Martins Filho, S., Lima, M. A. P., 2015. Does ingestion of neem-contaminated diet cause mortality of honey bee larvae and foragers?. *Journal of Apicultural Research*, 54(4), 405-410.
- Arnon, D. I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1-15.
- Bonanomi, G., Sicurezza, M. G., Caporaso, S., Esposito, A., Mazzoleni, S., 2006. Phytotoxicity dynamics of decaying plant materials. *New Phytologist*, 169(3), 571-578.
- Bonanomi, G., Incerti, G., Barile, E., Capodilupo, M., Antignani, V., Mingo, A., ... Mazzoleni, S. (2011). Phytotoxicity, not nitrogen immobilization, explains plant litter inhibitory effects: evidence from solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *New Phytologist*, 191(4), 1018-1030.
- Brasil. 2001. Cultivo E Usos Do Nim. (*Azadirachta indica* A. Juss): Boletim Agropecuário. UFLA, 1(68), 1-14.
- Brasil. 2009. Regras para análise de sementes: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Secretaria de Defesa Agropecuária. Mapa/ACS. 1nd edition, 399 p.
- Brito, I. C. A., Santos, D. R., 2012. Alelopatia de espécies arbóreas da caatinga na germinação e vigor de sementes de feijão macaçar. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 7(1), 129-140.
- 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(8), 436-443.
- Carlini, E. A., Duarte-Almeida, J. M., Rodrigues, E., Tabach, R. (2010). Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(2), 140-146.
- Charchafchi, F. A., Al-Nabhani, I., Al-Kharousi, H., Al-Quraini, F., Al-Hanai, A., 2007. Effect of Aqueous Extract of *Azadirachta indica* (Neem) Leaves on Germination and Seedling Growth of *Vigna radiata* (L.). *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(21), 3885-3889.

- Chen, F., Liu, K., Xie, Z., Liu, M., Chen, C., 2018. Effects of decomposing leaf litter of *Leucaena leucocephala* on photosynthetic traits of *Cynodon dactylon* and *Medicago sativa*. *New Forests*, 49(5), 667-679.
- Cheng, F., Cheng, Z., 2015. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. *Frontiers in plant science*, 6(1020), 1-16.
- Chomel, M., Guittonny-Larchevêque, M., Fernandez, C., Gallet, C., DesRochers, A., Pare, D., ... Baldy, V., 2016. Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. *Journal of Ecology*, 104(6), 1527-1541.
- Chu, C., Mortimer, P. E., Wang, H., Wang, Y., Liu, X., Yu, S., 2014. Allelopathic effects of *Eucalyptus* on native and introduced tree species. *Forest Ecology and Management*, 323, 79-84.
- Costa, E. M., Torres, S. B., Ferreira, R. R., da Silva, F. G., Araujo, E. L., 2016. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. *Revista Ciência Agronômica*, 47(2), 401-406.
- Dayakar, A., Chandrasekaran, S., Veronica, J., Sundar, S., Maurya, R., 2015. In vitro and in vivo evaluation of anti-leishmanial and immunomodulatory activity of Neem leaf extract in *Leishmania donovani* infection. *Experimental parasitology*, 153, 45-54.
- Deepa, V., Sreekumar, S., Biju, C. K., 2016. Validation of russell's viper venom detoxification activity of *Azadirachta indica* through in silico method. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci*, 11, 35-46.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. 1997. Manual de métodos de análises de solo. EMBRAPA-CNPS. 2nd edition, 212 p.
- Fabricante, J. R., Santos, J. P. B., Araújo, K. C. T., Cotarelli, V. M., 2017. Utilização de espécies exóticas na arborização e a facilitação para o estabelecimento de casos de invasão biológica. *Biotemas*, 30(1), 55-63.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Ahmad, N., Hafeez, K., 2005. Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(2), 187-193.
- Fernandez, C., Santonja, M., Gros, R., Monnier, Y., Chomel, M., Baldy, V., Bousquet-Mélou, A., 2013. Allelochemicals of *Pinus halepensis* as drivers of biodiversity in Mediterranean open mosaic habitats during the colonization stage of secondary succession. *Journal of Chemical Ecology*, 39(2), 298-311.
- França, A. C., Souza, I. F. D., Santos, C. C. D., Oliveira, E. Q. D., Martinotto, C., 2008. Allelopathic activities of nim on the growth of sorghum, lettuce and *Bidens pilosa*. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(5), 1374-1379.
- Gioria, M., Osborne, B. A., 2014. Resource competition in plant invasions: emerging patterns and research needs. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-21.

- Gu, W. X., Duan, S. S., Luo, S. M., 1998. Ecological characteristics of terpenoids and their allelopathic effects to plant. *J. South China Agric. Univ.*, 19(4), 108–112.
- Guo, P., Jiang, H., Yu, S., Ma, Y., Dou, R., Song, X., 2009. Comparison of litter decomposition of six species of coniferous and broad-leaved trees in subtropical China. *Chin J Appl Environ Biol*, 15, 655-659.
- Haldar, S., 2014. Chemical finger-printing, metabolic profiling, and biotransformation of neem (*Azadirachta indica*) limonoids. Thesis (Doctorate in Chemistry), Division of Organic Chemistry, Pune, 310 p.
- Hierro, J. L., Callaway, R. M., 2003. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and soil*, 256(1), 29-39.
- Huang, J. B., Hu, T. X., Wu, Z. L., Hu, H. L., Chen, H., Wang, Q., 2014. Effects of decomposing leaf litter of *Juglans regia* on growth and photosynthetic characteristics of *Triticum aestivum*. *Acta Ecol Sin*, 34(23), 6855-6863.
- Huang, W., Hu, T., Chen, H., Wang, Q., Hu, H., Tu, L., Jing, L., 2013. Impact of decomposing *Cinnamomum septentrionale* leaf litter on the growth of *Eucalyptus grandis* saplings. *Plant physiology and biochemistry*, 70, 411-417.
- Huang, X., Chen, J., Liu, J., Li, J., Wu, M., Tong, B., 2019. Autotoxicity Hinders the Natural Regeneration of *Cinnamomum migao* HW Li in Southwest China. *Forests*, 10, 1-17.
- Iason, G. R., Dicke M., Hartley, S. E., 2012. The ecology of plant secondary metabolites: from genes to global processes. University Press. 1st edition, 352 p.
- Inderjit, Duke, S. O., 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217(4), 529-539.
- Jilani, G., Mahmood, S., Chaudhry, A. N., Hassan, I., Akram, M., 2008. Allelochemicals: sources, toxicity and microbial transformation in soil—a review. *Annals of Microbiology*, 58(3), 351-357.
- Kah, M., Brown, C. D., 2007. Prediction of the adsorption of ionizable pesticides in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2312-2322.
- Kato-Noguchi, H., Salam, M. A., Ohno, O., Suenaga, K., 2014. Nimbolide B and nimbic acid B, phytotoxic substances in neem leaves with allelopathic activity. *Molecules*, 19(6), 6929-6940.
- Li, Y. P., Feng, Y. L., Chen, Y. J., Tian, Y. H., 2015. Soil microbes alleviate allelopathy of invasive plants. *Science Bulletin*, 60(12), 1083-1091.
- Li, Y., Li, X., Hu, T., 2013. Effects of *Eucalyptus grandis* leaf litter decomposition on the growth and photosynthetic characteristics of *Eremochola ophiuroides*. *Acta Prataculturae Sinica*, 22(3), 169-176.

- Li, Z. B., Hu, T. X., Li, S., Chen, H., Hu, H. L., Wei, J. J., Ding, W., 2015. Effects of initial decomposing leaf litter of *Cinnamomum camphora* on the growth and physiology of *Impatiens balsamina*. *Chin J Appl Environ Biol*, 21(5), 571-578.
- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 591-592.
- Macias, F. A., Galindo, J. C., Molinillo, J. M., Cutler, H. G. 2003. *Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals*. CRC Press. 1st edition, 392 p.
- Macías-Rubalcava, M. L., Hernández-Bautista, B. E., Jiménez-Estrada, M., Cruz-Ortega, R., Anaya, A. L., 2007. Pentacyclic triterpenes with selective bioactivity from *Sebastiania adenophora* leaves, Euphorbiaceae. *Journal of chemical ecology*, 33(1), 147-156.
- Maguire, J. D., 1962. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176-177.
- Mazzoleni, S. G., Bonanomi, G., Incerti, G., Chiusano, M. L., Termolino, P., Mingo, A., ... Lanzotti, V., 2015. Inhibitory and toxic effects of extracellular self-DNA in litter: a mechanism for negative plant–soil feedbacks?. *New Phytologist*, 205(3), 1195-1210.
- MMA (Ministério do Meio Ambiente). 2008. Instrução Normativa Nº 06, de 23 de setembro de 2008. [Online] Available: https://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092008034949.pdf
- Mohammadkhani, N., Servati, M., 2017. Nutrient concentration in wheat and soil under allelopathy treatments. *Journal of plant research*, 131(1), 143-155.
- Morales-Flores, F., Aguilar, M. I., King-Díaz, B., Santiago-Gómez, J. R., Lotina-Hennsen, B., 2007. Natural diterpenes from *Croton ciliatoglanduliferus* as photosystem II and photosystem I inhibitors in spinach chloroplasts. *Photosynthesis research*, 91(1), 71-80.
- Moro, M. F., Westerkamp, C., 2011. The alien street trees of Fortaleza (NE Brazil): qualitative observations and the inventory of two districts. *Ciência Florestal*, 21(4), 789-798.
- Moro, M. F., Westerkamp, C., Martins, F., 2013. Naturalization and potential impact of the exotic tree *Azadirachta indica* A. Juss. in Northeastern Brazil. *Check List*, 9(1), 153-156.
- Negi, A., Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., 2016. Allelopathic effect of leaves of invasive tree *Broussonetia papyrifera* against some crop plants. *Annals of Plant Sciences*, 5(1), 1261-1264.
- Oliveira, G. M. D., Silva, F. F. S. D., Araujo, M. D. N., Costa, D. C. C. D., Gomes, S. E. V., Matias, J. R., ... Dantas, B. F. (2019). Environmental stress, future climate, and germination of *Myracrodruon urundeuva* seeds. *Journal of Seed Science*, 41(1), 32-43.
- Ormeño, E., Fernandez, C., Mévy, J. P., 2007. Plant coexistence alters terpene emission and content of Mediterranean species. *Phytochemistry*, 68(6), 840-852.

- Pandreka, A., Dandekar, D. S., Haldar, S., Uttara, V., Vijayshree, S. G., Mulani, F. A., ... Thulasiram, H. V., 2015. Triterpenoid profiling and functional characterization of the initial genes involved in isoprenoid biosynthesis in neem (*Azadirachta indica*). *BMC plant biology*, 15(1), 214.
- Porra, R. J., Thompson, W. A., Kriedemann, P. E., 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 975(3), 384-394.
- Prasad, S. M., Dwivedi, R., Zeeshan, M., Singh, R., 2004. UV-B and cadmium induced changes in pigments, photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia* sp. *Acta Physiologiae Plantarum*, 26(4), 423-430.
- Ranal, M. A., Santana, D. G. D., 2006. How and why to measure the germination process?. *Brazilian Journal of Botany*, 29(1), 1-11.
- Rice, E. L. 2012. Allelopathy. Academic press. 2nd edition, 368 p.
- Rickli, H. C., Fortes, A. M. T., Silva, P. S. S., Pilatti, D. M., Hutt, D. R., 2011. Allelopathic effect of aqueous extract of *Azadirachta indica* A. Juss. On lettuce, soybeans, maize, beans and *bidens pilosa*. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(2), 473-484.
- Rizzi, E. S., Pereira, K. C. L., Abreu, C. A. A., Silva, B. C. F. L., Fernandes, R. M., Oliveira, A. K. M., Matias, R., 2016. Allelopathic potential and phytochemistry of cambarazinho (*Vochysia haenkeana* (Spreng.) Mart.) leaves in the germination and development of lettuce and tomato. *Bioscience Journal*, 32(1), 98-107.
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., ... McCauley, D. E., 2001. The population biology of invasive species. *Annual review of ecology and systematics*, 32(1), 305-332.
- Santos, K. S., Barbosa, A. M., Freitas, V., Muniz, A. V., Mendonça, M. C., Calhelha, R. C., ... Dariva, C., 2018. Antiproliferative activity of neem leaf extracts obtained by a sequential pressurized liquid extraction. *Pharmaceuticals*, 11(3), 76.
- Scalon, S. D. P. Q., Scalon Filho, H., Masetto, T. E. 2012. Aspectos da germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de aroeira. *Cerne*, 18(4), 533-539.
- Scavo, A., Abbate, C., Mauromicale, G., 2019. Plant allelochemicals: agronomic, nutritional and ecological relevance in the soil system. *Plant and Soil*, 442(1-2), 23-48.
- Silva, S. C., 2007. Estudo Químico de Microorganismos Associados a *Khaya ivorensis* (Meliaceae). Thesis (PhD in Chemistry), Federal University of São Carlos, São Carlos, 219 p.
- Silva, S. F., Costa, H. S. L., Viana, J. S., Ferreira, A. M. O., Pereira, D. S., Medeiros Filho, S., 2018. Phytotoxicity of exotic plants on the physiological potential of seeds of native species of caatinga. *Revista Agro@mbiente On-line*, 12(2), 134-144.

- Souza, D. C. L., Rossini, B. C., de Souza, F. B., Sebbenn, A. M., Marino, C. L., Moraes, M. L. T. 2018. Development of microsatellite markers for *Myracrodruon urundeuva* (FF & MF Allemão), a highly endangered species from tropical forest based on next-generation sequencing. *Molecular biology reports*, 45(1), 71-75.
- Thimmappa, R., Geisler, K., Louveau, T., O'Maille, P., Osbourn, A., 2014. Triterpene biosynthesis in plants. *Annual review of plant biology*, 65(1), 225-257.
- Tschoeke, P. H., Oliveira, E. E., Dalcin, M. S., Silveira-Tschoeke, M. C. A. C., Sarmiento, R. A., Santos, G. R. 2019. Botanical and synthetic pesticides alter the flower visitation rates of pollinator bees in neotropical melon fields. *Environmental Pollution*, 251, 591-599.
- Yuan, Y., Wang, B., Zhang, S., Tang, J., Tu, C., Hu, S., ... Chen, X., 2012. Enhanced allelopathy and competitive ability of invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range. *Journal of Plant Ecology*, 6(3), 253-263.
- Zhong-Ling, L., Qing-Cheng, W., Long-Fei, H., 2011. Interspecific allelopathic effect of different organs' aqueous extracts of *Betula platyphylla* and *Larix olgensis* on their seed germination and seedling growth. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 22(12), 3138-3144.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Manuscrito I

O uso indevido das espécies vegetais da caatinga, principalmente para utilização na indústria madeireira é uma realidade na qual a *Myracrodruon urundeuva* está inserida. A exploração intensa e predatória levou essa espécie a constar na lista oficial da flora brasileira ameaçada de extinção, onde, atualmente, é classificada na categoria "menos preocupante".

As técnicas de armazenamento e promoção da germinação de *M. urundeuva* apresentadas neste trabalho, são aspectos fundamentais a serem considerados no processo produtivo da espécie, tais informações podem auxiliar na tomada de decisões sobre a escolha do melhor armazenamento, a fim de preservar a sua viabilidade e vigor, em função da sua finalidade. Considerando que o conhecimento de métodos tecnológicos básicos para a conservação de sementes de espécies florestais é essencial para o estabelecimento de protocolos para a produção de mudas, visando principalmente a recuperação de áreas degradadas, demonstrou-se neste trabalho que a melhor condição de armazenamento de diásporos *M. urundeuva* se deu com o acondicionamento em sacos de papel, por 360 dias, sem a perda da viabilidade. Vale salientar também que as médias de porcentagem de germinação de *M. urundeuva* mantiveram-se acima de 80% em todos os tempos e recipientes avaliados.

Manuscrito II

Os trabalhos que abordam os efeitos alelopáticos de *Azadirachta indica*, são vastos, porém, em sua maioria consideram o uso dos extratos das diversas partes da planta (folhas, caule, raiz e frutos), sendo que os efeitos alelopáticos da decomposição do vegetal não foram relatados até o presente momento. Neste estudo busca-se contribuir para o entendimento de como ocorre a liberação e atuação dos metabólitos secundários à medida que as folhas senescentes de *A. indica* se decompõem, e os seus efeitos alelopáticos sobre *M. urundeuva*, espécie florestal de grande importância econômica e medicinal. Dado que, a compreensão da biossíntese, liberação e ação dos metabólitos secundários durante a decomposição do vegetal pode levar a uma melhor compreensão sobre questões ecológicas maiores, a exemplo das

interações alelopáticas e a sua influência no sucesso do estabelecimento do vegetal, bem como a atuação dos aleloquímicos sobre outros vegetais a níveis fisiológicos e ecológicos.

Os resultados demonstram que os produtos da decomposição da serapilheira de *A. indica* exerceram efeitos alelopáticos sobre *M. urundeuva*, os quais podem ser atribuídos à presença de compostos químicos (diterpenos e triterpenos) que foram liberados e incorporados ao solo durante o processo de decomposição foliar. Sugerindo que os efeitos alelopáticos de *A. indica* sobre *M. urundeuva* limitam o seu uso na restauração ecológica, à vista disso diferentes estratégias de manejo devem ser adotadas para proteção das espécies que são alvo da serapilheira do vegetal. Do ponto de vista da proteção de *M. urundeuva*, recomenda-se que o plantio de *A. indica* não seja realizado sob ou próximo a áreas que possuam indivíduos da primeira espécie, tendo em vista que a serapilheira de *A. indica* pode inibir a germinação e crescimento de *M. urundeuva*.

ANEXOS

ANEXO A: Comprovante de Aceite - Artigo 1



Journal of Agricultural Science
Canadian Center of Science and Education
1595 Sixteenth Ave, Suite 301, Richmond Hill, Ontario, L4B 3N9, Canada
Tel: 1-416-642-2606
Fax: 1-416-642-2608
E-mail: jas@ccsnet.org
Website: www.ccsnet.org

August 25, 2020

Graduate Program in Biological Diversity and Natural Resources
Regional University of Cariri
Crato, Ceará, CEP: 63.105-000, Brazil

Dear Dr. Viviane Bezerra da Silva,

Thanks for your submission of paper to *Journal of Agricultural Science*.

We have the pleasure to inform you that your manuscript has been accepted for publication. It will be published on the Vol. 12, No. 10, in September 2020.

Title: Evaluation of Germination of *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) Diaspores Submitted to Different Storage Methods

Authors: Viviane Bezerra da Silva, José Weverton Almeida Bezerra, Marcos Aurélio Figueiredo dos Santos, Pâmela Lavor Rolim & Maria Arlene Pessoa da Silva

If you have any questions, please do not hesitate to contact with us.

Sincerely,



Anne Brown

On behalf of,
The Editorial Board of *Journal of Agricultural Science*
Canadian Center of Science and Education

ANEXO B: Documento de Autorização para coleta de material botânico



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 65877-1	Data da Emissão: 29/10/2018 19:58:55	Data da Revalidação*: 29/10/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Viviane Bezerra da Silva	CPF: 068.023.213-35
--------------------------------	---------------------

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Myracrodruon urundeuva	-
2	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Azadirachta indica	-