UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

# RICARDO RAFAEL RIBEIRO DA SILVA

CRESCIMENTO DE *Egeria densa* (Planch.) E Salvinia molesta (Mitch.) EXPOSTAS A EXTRATOS AQUOSOS DE RIZOMAS E RAÍZES DE *Typha domingensis* (Pers.)

> SÃO CARLOS -SP 2021

## RICARDO RAFAEL RIBEIRO DA SILVA

## CRESCIMENTO DE Egeria densa (Planch.) E Salvinia molesta (Mitch.) EXPOSTAS A EXTRATOS AQUOSOS DE RIZOMAS E RAÍZES DE Typha domingensis (Pers.)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de doutor em Ciências, área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marcela B. da Cunha Santino



### UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

### Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Ricardo Rafael Ribeiro da Silva, realizada em 16/09/2021.

#### Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Marcela Bianchessi da Cunha Santino (UFSCar)

Prof. Dr. Irineu Bianchini Junior (UFSCar)

Profa. Dra. Sarah Caroline Ribeiro de Souza (UFSCar)

Profa. Dra. Flavia Cristina Sossae (UNIARA)

Profa. Dra. Carla Eloísa Diniz dos Santos (UFTM)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

Dedico à minha esposa pelo apoio incondicional e em homenagem aos meus pais.

### AGRADECIMENTO

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Código de Financiamento – 001), pela bolsa de estudos; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo: 2018/00348-0), que subsidiou a manutenção de equipamentos, a compra de reagentes e permitiu à aquisição das cubas de vidro utilizadas nos tratamentos relacionados a esse trabalho.

Expresso minha profunda gratidão ao Prof. Dr. Moarcir R. Forim (Departamento de Química - UFSCar, vinculado ao Laboratório de Produtos Naturais) por aceitar que fosse realizada análise qualitativa e quantitativa dos extratos aquosos de *Typha domingensis*. Ainda, quero agradecer ao Msc. Luis Guilhermo C. Durango (estudante de doutorado vinculado ao grupo de pesquisa de Produtos Naturais – DQ, UFSCar) por auxiliar na realização da análise dos extratos aquosos de *T. domingensis*.

Quero expressar minha gratidão à minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcela B. da Cunha Santino por ter aceitado enfrentar esse desafio comigo e prover todo apoio técnico e emocional durante a jornada. Ainda, não posso deixar de agradecer profundamente os conselhos e ensinamentos que o Prof. Dr. Irineu Bianchini Jr. me prestou.

Também agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN) por ter possibilitado o desenvolvimento da pesquisa provendo todo apoio técnico e administrativo.

Agradeço à equipe da secretaria do PPG-ERN sem a qual seria impossível o gerenciamento e atendimento aos demais profissionais e alunos.

À equipe e família do Laboratório de Bioensaios e Modelagem Matemática (LBMM) pelo compartilhamento de ideias e emoções durante meu período de estada: Andressa L. T. B. Cabral, Brayan P. Souza, Emmanuelle L. Wanderley, Erica Z. O. Andreoli, Fábio L. Silva, Karol Kotsubo, Luana L. S. Gimenes, Luana L. Yoshida, Mariana Soares Grando, Raphael Machado e Roberta Freitas.

"All things are poison and are not poison; only the dose makes a thing not a poison." Paracelsus (1493-1541).

### RESUMO

A alelopatia pode ser empregada para controlar espécies invasoras. O presente trabalho identificou possíveis alterações nas características de crescimento e desenvolvimento da Egeria densa (Planch.) e Salvinia molesta (Mitch.) por meio da avaliação dos componentes básicos da arquitetura (conectores e nós) e estimativa dos parâmetros cinéticos de crescimento (tempo de duplicação, coeficiente de crescimento e comprimento total) a partir da modelagem matemática. Expusemos 30 macrófitas de cada espécie para cada tratamento de extrato aquoso (EA) de raízes e rizomas de Typha domingensis (Pers.), variando a concentração do extrato aquoso em 5% (EA5), extrato aquoso 10% (EA10), extrato aquoso 15% (EA15) e um grupo controle (C) à temperatura de 23 °C e 27 °C (para *E. densa*) e apenas temperatura de 23 °C para S. molesta. E. densa apresentou menor quantidade de nós em temperatura de 27 °C expostas ao tratamento de EA15 (3,1 ± 1,3) que plantas expostas aos tratamentos controle  $(4,5 \pm 1,3)$  e EA5  $(5,1 \pm 2,0)$ . A S. molesta apresentou a menor quantidade de nós e conectores que foi identificada no tratamento de EA10. A parametrização do crescimento para *E. densa* revelou que a 23 °C tratamentos EA5 e EA10 reduziram o comprimento total bem como o coeficiente de crescimento (µ), tanto para fragmentos quanto ramos. Em 27 °C e tratamentos EA5, EA10 e EA15 houve aumento no crescimento de *E. densa* identificado pelos valores de comprimento total e µ. Para a macrófita S. molesta em estágio um de crescimento, foi encontrado inibição de crescimento que foi identificada na arquitetura que não apresentou diferenças entre os tratamentos e o controle. Ainda, os parâmetros de crescimento não puderam ser estimados devido ao não desenvolvimento da macrófita S. molesta exposta aos tratamentos. De maneira geral, o efeito inibidor de crescimento foi mais bem observado em macrófitas submersas expostas aos extratos aquosos em temperatura de 23 °C que em 27 °C.

**Palavras-chave:** arquitetura, efeito alelopático, espécies invasoras, Hydrocarytaceae, modelagem matemática, Salvinaceae, Typhaceae.

### ABSTRACT

Allelopathy can be used to control invasive species. The present study aimed to identify changes in the growth and development characteristics of Egeria densa (Planch.) and Salvinia molesta (Mitch.) by evaluating the basic components of the architecture (connectors and nodes) and estimating the kinetic parameters of growth (doubling time, growth coefficient and total length) from mathematical modeling. We exposed 30 macrophytes of each species for each treatment of aqueous extract (EA) of roots and rhizomes of Typha domingensis (Pers.), varying the concentration of aqueous extract by 5% (EA5), aqueous extract 10% (EA10), aqueous extract 15% (EA15) and a control group (C) at a temperature of 23 °C and 27 °C (for E. densa) and only a temperature of 23 °C for S. molesta. E. densa showed lower number of nodes at a temperature of 27 °C exposed to EA15 treatment (3.1  $\pm$  1.3) than plants exposed to control  $(4.5 \pm 1.3)$  and EA5  $(5.1 \pm 2.0)$ . S. molesta had the lowest number of nodes and connectors that was identified in the treatment of EA10. The parameterization of growth for E. dense revealed that at 23 °C treatments EA5 and EA10 reduced the total length, as well, the growth coefficient (µ) for both fragments and branches. At 27 °C and treatments EA5, EA10 and EA15 there was an increase in the growth of *E. densa* identified by the values of total length and growth coefficient (µ). For the S. molesta macrophyte in stage one growth, growth inhibition was found, which was identified in the architecture that did not show differences between treatments and control. Furthermore, the growth parameters could not be estimated due to the non-development of the S. molesta macrophyte exposed to the treatments. In general, the growth inhibitory effect was better observed in submerged macrophytes exposed to aqueous extracts at a temperature of 23 °C than at 27 °C.

**Keywords:** allelopathic effect, architecture, Hydrocarytaceae, invasive species, mathematical modeling, Salvinaceae, Typhaceae.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (A) Typha domingensis (Pers.), (B) Egeria densa (Planch) e (C) Salvinia
molesta (Mitch.). Acervo pessoal
Figura 2: Imagem de satélite da localização do ponto de coleta da macrófita T.
domingensis na cidade de Boa Esperança do Sul, São Paulo (Fonte: MAXAR
TECHNOLOGIES, 2021 [a])
Figura 3: Coleta de exemplares da macrófita emersa Typha domingensis (Pers.)
realizada no município de Boa Esperança do Sul, São Paulo. Acervo pessoal36
Figura 4: Imagem de satélite do ponto de coleta da água para cultivo das macrófitas
e local onde também foram coletadas as amostras de S. molesta (Fonte: MAXAR
TECHNOLOGIES, 2021 [b])37
Figura 5: (A) Câmara de germinação configurada para temperatura de 23 °C e outra
para 27 °C e fotoperíodo de 12/12 (dia/noite) onde couberam seis aquários de
borosilicato (B) contendo 10 exemplares de macrófitas cada aquário, em cada
tratamento. Acervo pessoal41
Figura 6: Aquário de borosilicato contendo espécimes de S. molesta em primeiro
estágio de crescimento expostas a extrato aquoso em concentração de 15% (EA15)
de raiz adulta da macrófita emersa <i>T. domingensis</i> . Arquivo pessoal42
Figura 7: Quantidade total média $\pm$ desvio padrão de NO da parte autotrófica de <i>E</i> .
densa (n = 30 por tratamento) para os tratamentos controle (C), extrato aquoso a 5%
(EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15) cultivadas a 27 °C.
Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis acompanhado com pós teste de Dunn
para múltiplas comparações. Letras diferentes significam diferença estatística (p <
0,05)
Figura 8: Comparação da quantidade média $\pm$ desvio padrão da quantidade total de
NO da parte autotrófica produzidos pelas macrófitas submersas (n = $30$ por tratamento
em cada temperatura). Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas
cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato
aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10%
(EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico
realizado foi ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam
diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas48

Figura 9: Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de CO da parte autotrófica produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.....49 Figura 10: Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de NO para o sistema radicular produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas em a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas......50

**Figura 11**: Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de CO para o sistema radicular produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas em a de 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.

Figura 13: Comparação da quantidade média ± desvio padrão de ramos produzidos

**Figura 16**: Comparação de média  $\pm$  desvio padrão do comprimento total de fragmentos das macrófitas *E. densa* (n = 30 por tratamento em cada temperatura) ao final do experimento. Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.....58 **Figura 17**: Comparação de média  $\pm$  desvio padrão do comprimento total de ramos da *E. densa* (n = 30 por tratamento em cada temperatura) ao final do experimento. Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de

5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.....59 Figura 18: Média (± desvio padrão) de comprimento (crescimento cumulativo [cm]) dos fragmentos de E. densa (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 23 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrões.....60 Figura 19: Média (± desvio padrão) do comprimento (crescimento cumulativo [cm]) dos ramos de E. densa (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 23 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrão. .....62 Figura 20: Média (± desvio padrão) de comprimento (crescimento cumulativo [cm]) de fragmentos de E. densa (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 27 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrões......63 Figura 21: Média (± desvio padrão) do comprimento (crescimento cumulativo [cm]) dos ramos de E. densa (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 27 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrão. .....64 Figura 22: Comprimento mediano (limite máximo e mínimo) dos rizomas de S. molesta (n = 30) cultivadas a 23 °C e mensurados ao final de 60 dias. Barras verticais limites máximo e mínimo dos tamanhos, as barras no centro das caixas indicam a mediano dos dados. Tratamentos controle(C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15). Diferença estatística (p < 0,05) é indicada por letras minúsculas diferentes, o teste estatístico aplicado foi o Kruskal-Wallis e como pós teste foi o teste de Dunn......67 Figura 23: Média (± desvio padrão) da biomassa seca da parte autotrófica de E. densa (n = 30 por tratamento) mensurada ao final do experimento, temperatura 23 °C e iluminação de 12/12 (dia e escuro). Controle (C), extrato aquoso em concentração de

Figura 25: Comparação da biomassa seca (média ± desvio padrão) da parte autotrófica das macrófitas submersas (n = 30 macrófitas por tratamento) ao final de 60 dias. Barras pretas são referentes a plantas cultivadas em temperatura de 23 °C. Barras cinzas são referentes a plantas cultivadas em temperatura de 27 °C. Controle (C), extrato aquoso a concentração de 5% (EA5), extrato aquoso a concentração de 10% (EA10), extrato aquoso a concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.....70 Figura 26: Média (± desvio padrão) da biomassa seca da parte autotrófica de S. molesta (n = 30 por tratamento) mensurada ao final do experimento, temperatura 23 °C e iluminação de 12/12 (dia e escuro). Controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10) e extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Letras diferentes indicam diferença significativa (p < 0.05) comparando com o tratamento controle. Barras verticais indicar o desvio padrão para cada variável. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis e aplicação do teste de Dunn como pós teste.....71

### LISTA DE TABELAS

**Tabela 4**: Parâmetros de crescimento de fragmentos e ramos de *E. densa* (n = 30 por tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 27 ° C e luz (12/12 dianoite). A parametrização do modelo aplicada foi a Equação 1, onde: (K) comprimento total da planta, ( $\mu$ ) coeficiente de crescimento (dia<sup>-1</sup>), (td) tempo de duplicação e (r<sup>2</sup>) é

o coeficiente de determinação do modelo matemático. (C) tratamento de controle, (AE5) extrato aquoso 5%, (AE10) extrato aquoso 10%, (AE15) extrato aquoso 15%.

**Tabela 5**: Biomassa seca média (± desvio padrão) das raízes de *E. densa* (n = 30 macrófitas por tratamento) cultivadas a 23 °C e 27 °C e período luminoso de 12/12 (dia/noite). Controle (C), extrato aquoso a concentração de 5% (EA5), extrato aquoso a concentração de 10% (EA10), extrato aquoso a concentração de 15% (EA15). Para a comparação entre os tratamentos de mesma temperatura foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn e letras minúsculas indicam diferença entre os grupos cultivados na mesma temperatura. A comparação de biomassa seca de cada tratamento em função da temperatura foi aplicado teste multiparamétrico ANOVA Two-way com pós teste de Tukey, letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa (p < 0,05) entre as temperaturas e letras minúsculas indicam diferença

significativa entre os tratamentos	73
Tabela 6: Compostos detectados a partir do extrato ERA de T. domingensis por me	eio
de análises Q-Tof-MS/MS. As massas monoisotópicas dos íons foram calculadas	s a
partir dos aductos de H <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> e NH4 <sup>+</sup>	99

## LISTA DE ABREVIATURAS

С	carbono
HCO <sub>3</sub> -	bicarbonato
CAM	crassulacean acid metabolism
СТ	carbono total
CID	carbono inorgânico dissolvido
COD	carbono orgânico dissolvido
NT	nitrogênio total
рН	potencial
MOD	matéria orgânica dissolvida
EA	extrato aquoso
Р	fósforo
Ν	nitrogênio
μ	coeficiente de crescimento (d-1)
K	valor máximo de crescimento (cm)
t	tempo (dias)
m	metros

## LISTA DE SIGLAS

IAS – International Allelopathy Society mg L<sup>-1</sup> – miligramas por litro C4 – metabolismo

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	20
1.1.	HIPÓTESE	23
1.2.	OBJETIVOS	23
1.2.1.	Geral	23
1.2.2.	Objetivos específicos	23
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
2.1.	ALELOPATIA	25
2.2.	MACRÓFITAS AQUÁTICAS E FATORES DE PRESSÃO AMBIENTAL	28
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1.	ESPÉCIES	32
3.2.	LOCAL DE COLETA DAS MACRÓFITAS	35
3.3.	PREPARO DO EXTRATO AQUOSO	38
3.4.	BIOENSAIO	39
3.4.1.	Egeria densa	39
3.4.2.	Salvinia molesta	41
3.5.	BIOMETRIA E ARQUITETURA	43
3.5.1.	Egeria densa	43
3.5.2.	Salvinia molesta: biometria e arquitetura	43
3.6.	MODELAGEM MATEMÁTICA	44
3.7.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	45
4.	RESULTADOS	46
4.1.	ARQUITETURA PARTE AUTOTRÓFICA	46
4.1.1.	Egeria densa	46
4.1.2.	Salvinia molesta	52
4.2.	BIOMETRIA, BIOMASSA E MODELAGEM MATEMÁTICA	53
4.2.1.	Egeria densa	53
4.2.2.	Modelagem matemática de E. densa	59
4.2.3.	Salvinia molesta	67
4.2.4.	Biomassa de Egeria densa	67

4.2.5.	Biomassa de Salvinia molesta	.70
4.3.	PARTE HETEROTRÓFICA	.71
4.3.1.	Egeria densa	.71
4.3.2.	Salvinia molesta	.74
5.	DISCUSSÃO	.77
6.	CONCLUSÕES	.83
ANEXC	D A – CARACTERIZAÇÃO REALIZADA POR HPLC DE AMOSTRA	DO
EXTRA	TO AQUOSO DE <i>TYPHA DOMINGENSIS</i> (PERS.)	.99

## 1. INTRODUÇÃO

A intensificação das ações antrópicas tem aumentado a pressão sobre as paisagens naturais tanto terrestres quanto aquáticas. Ações antrópicas resultam em aumento da carga de nutrientes (principalmente nitrogênio e o fósforo) nos corpos d'água, associados com temperatura, luminosidade e pulsos de inundação podem favorecer o crescimento descontrolado de espécies de macrófitas (COOK, 1974; POMPEO, 2008). Uma das espécies que apresentam crescimento rápido e que podem gerar problemas ambientais e econômicos é a Egeria densa (Planch.). Essa espécie é uma macrófita aquática submersa, nativa da América do Sul, mas encontrada em várias localidades do mundo e que apresenta um rápido crescimento (PISTORI; CAMATGO; HENR-SILVA, 2004; YARROW et al., 2009). Outra espécie é a macrófita flutuante Salvinia molesta (Mitch.), é do grupo das samambaias, nativa da América do Sul mais especificamente do Brasil (CHAPMAN et al., 2017). A definição para macrófitas aquáticas é ampla, a definição mais utilizada é de plantas em escala visível a olho nu, que apresentam sua porção autotrófica emersa ou submersa na coluna d´água, enraizadas ou livre nadantes e que pertencem a um vasto número de grupos taxonômicos (SPENCE, 1982; CHAMBERS et al., 2008). As macrófitas aquáticas apresentam grande importância ecológica como integrar o ciclo biogeoquímico, podem servir como berçário para diferentes espécies de animais, contribuem para o balanço ecológico (equilíbrio na relação organismo-ambiente) por meio da complexidade de habitat (THOMAZ et al., 2008).

Para realizar o controle de plantas que podem tornar-se invasoras, é necessário desenvolver técnicas que não impactem de maneira significativa e negativa o ambiente. Um exemplo é a utilização da alelopatia como método para controlar espécies invasoras. A ação de substâncias bioquímicas exsudadas de qualquer órgão de uma planta doadora pode provocar efeito de diminuição do desenvolvimento de uma planta "alvo" (PUTNAM; TANG, 1986). Por outro lado, a definição mais utilizada atualmente descreve alelopatia como o resultado da interação de compostos bioquímicos (aleloquímicos) que podem influenciar plantas de maneira positiva ou negativa (THIÉBAUT; TARAYRE; RODRÍGUEZ-PÉREZ, 2019). Esta última definição foi utilizada como orientação neste trabalho. Ainda, aleloquímicos também podem inibir ações de microrganismos, insetos e vários patógenos

(WALLER; FENG; FUJII, 1999). A entrada de aleloquímicos no ambiente aquático ocorre de diferentes maneiras, seja por lixiviação, exsudação ou volatilização; a exteriorização de grupos funcionais como alcaloides, terpenos, ácidos (alifáticos, fenólicos e orgânicos), glicosídeos, taninos, lactonas são originados em vários órgãos da planta (GOPAL; GOEL, 1993).

Observar interações alelopáticas é uma tarefa difícil por envolver diferentes fatores bióticos e abióticos como competição, limitação de recursos como nutrientes, iluminação etc. Assim, bioensaios são importantes para a detecção de atividades biológicas de produtos naturais em ecossistemas aquáticos (HOAGLAND; WILLIAMS, 2003). Diferentes autores identificaram interferências no crescimento de plantas em bioensaios de ação alelopática entre diferentes espécies de macrófitas (SUTTON; PORTIER, 1991; SZCZEPAŃSKI, 1977). A idealização de bioensaios cujas características biológicas e físicas se assemelham ao ambiente natural da macrófita pode fornecer melhor compreensão sobre estratégias de crescimento. Com variáveis controladas, como temperatura e intensidade luminosa, é possível identificar a possível interação alelopática entre um extrato aquoso de uma espécie doadora para espécies receptoras.

Diferentes pesquisas têm abordado a alelopatia para agricultura por meio da utilização de matéria orgânica vegetal (KHANH et al., 2005; NARWAL, 2006, 2000). Na área da Hidrobiologia, pesquisadores têm focado na extração e caracterização de compostos alelopaticamente ativos e no controle direto de potenciais plantas invasoras (MACÍAS et al., 2007). No entanto, existe escassez de informação sobre a resposta de macrófitas aquáticas expostas aos compostos potencialmente aleloquímicos em meio de cultivo com características de ambientes naturais.

Entre as espécies utilizadas para estudos de interações alelopáticas está a *Typha domingensis* (Pers.), macrófita emersa e enraizada com potencial alelopático (PRINDLE; MARTIN, 1996). Vários pesquisadores relataram o potencial alelopático de *T. domingensis*, PRINDLE; MARTIN (1996) observaram que o extrato da taboa impedia a germinação de alface e rabanete. Os pesquisadores identificaram e isolaram alguns compostos químicos com potencial alelopático. Além disso, GALLARDO; WILIANS (2002) identificaram ácidos graxos e ácidos fenólicos de extratos e lixiviados de diferentes órgãos da planta e observaram um potencial efeito inibitório das substâncias.

Plantas sensíveis a aleloquímicos que têm seu crescimento e desenvolvimento afetados são denominadas de plantas alvo (LEU et al., 2002; STOM; ROTH, 1981). Diferentes autores relataram a interferência no crescimento em bioensaios que avaliaram a ação alelopática entre várias espécies de macrófitas (AMORIM; ULISSES; MOURA, 2017; LEU et al., 2002; TAKEDA et al., 2011). Assim, a atividade aleloquímica pode controlar o crescimento e o desenvolvimento de espécies indígenas e exóticas.

As abordagens de arquitetura de planta de dossel e sistema radicular, e modelagem matemática foram empregadas para testar o desenvolvimento de *E. densa* e *S. molesta*. A arquitetura da planta é composta por componentes estruturais, os quais foram aplicados para entender a distribuição espacial e temporal de ramos autotróficos (GODIN, 2000). Os principais componentes da arquitetura da copa são os conectores (CO) e os nós (NO). Sua disposição revela informações sobre a estratégia de crescimento na presença de um estressor. A arquitetura da raiz depende de vários fatores como espécies de plantas, disponibilidade de nutrientes no ambiente, composição do solo (HODGE, 2004; MALAMY, 2005). Dessa forma, a arquitetura das raízes pode indicar possíveis respostas a forças estressoras, por exemplo a presença dos extratos ou a diferença de temperatura.

Outra abordagem que pode complementar o entendimento sobre estratégias de crescimento é a avaliação dos parâmetros de crescimento por meio de modelagem matemática. As forças ambientais podem impulsionar as respostas das plantas e estresses bióticos ou abióticos que também desencadeiam mudanças nos parâmetros de crescimento de macrófitas aquáticas (BORNETTE; PUIJALON, 2011). Assim, utilizar a modelagem matemática possibilita capturar a cinética do crescimento da espécie (CUNHA-SANTINO; BIANCHINI JR, 2011) além de facilitar o entendimento sobre bioensaios com macrófitas aquáticas (BIANCHINI JR et al., 2015).

Para *E. densa* foram avaliados os parâmetros de crescimento em duas temperaturas (23 °C e 27 °C) associadas a três concentrações diferentes de extrato aquoso de rizoma e raízes de *T. domingensis*. Já para a macrófita *S. molesta* foi empregada apenas a temperatura de 23 °C pelo fato dela ser flutuante e suas folhas estarem diretamente expostas a temperatura e dessecamento.

### 1.1. HIPÓTESE

*E. densa* e *S. molesta* podem sofrer inibição de crescimento e desenvolvimento quando expostas a diferentes concentrações de extrato aquoso em bioensaio com condições semelhantes ao ambiente *in situ*. Dessa forma, na maior concentração do extrato aquoso as macrófitas poderiam apresentar crescimento e desenvolvimento maiores que as macrófitas cultivadas na menor concentração do extrato. A variação de temperatura (comparando *E. densa* cultivada em 23 °C com as *E. densa* cultivadas em 27 °C) e a inibição do crescimento e desenvolvimento poderia ser mais acentuada em temperatura de 27 °C. Para a *S. molesta* espera-se que seu crescimento e desenvolvimento e desenvolvimento seja afetado negativamente na presença da concentração mais alta do extrato aquoso. Mais que isso, espera-se que outros atributos como produção de pseudo raízes, novos brotos e ramos sejam negativamente afetados, resultando em não crescimento e desenvolvimento das plantas.

### 1.2. OBJETIVOS

### 1.2.1. Geral

O objetivo principal dessa pesquisa foi examinar a influência do extrato aquoso de *T. domingensis* em três concentrações diferentes (5%, 10%, 15% de extrato aquoso v/v) sobre a ontogênese da espécie *E. densa* para duas temperaturas (23 °C e 27 °C) e para *S. molesta* em 23 °C. Para isso, analisamos diferenças nas características de crescimento (arquitetura e parâmetros de crescimento) de ambas as macrófitas durante o período de 60 dias.

1.2.2. Objetivos específicos

Foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos para *E. densa* e *S. molesta*:

 (i) Identificar inibição ou favorecimento na produção de componentes básicos da arquitetura da *E. densa* e *S. molesta*;

- (ii) Identificar alteração na produção de ramos e raízes (ou rizomas), na quantidade de brotação, comprimento de ramos e raízes;
- (iii) Identificar quais fatores influenciam na alteração dos parâmetros de crescimento e desenvolvimento de *E. densa* e *S. molesta*.
- (iv) Identificar, no caso da *E. densa*, o efeito combinado no crescimento da temperatura e das concentrações de alelopáticos.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. ALELOPATIA

Algumas plantas e microrganismos podem promover interações ecológicas negativas, positivas ou neutras com outros organismos. As interações que envolvem metabólitos produzidos por plantas e outros organismos são objeto de estudo a milênios. Um dos pesquisadores mais antigos na área da Botânica foi Theophrastus (300 A.E.C.), discípulo de Aristóteles e estudioso em diversos campos do conhecimento incluindo a botânica (WILLIS, 2008). No campo da Botânica, Theophrastus desenvolveu diversos trabalhos em relação ao crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo a possível interação química entre espécies (REIGOSA et al., 2013; RICE, 1985; WILLIS, 2008). Porém, foi o botânico austríaco Hans Molisch que utilizou o termo alelopatia pela primeira vez para se referir ao efeito de uma planta em outra em relação a inibição do crescimento/desenvolvimento (REIGOSA; PEDROL; GONZÁLEZ, 2006; WILLIS, 2008).

Molisch empregava o termo alelopatia para se referir a interações de inibição ou estimulação em organismos provocadas por qualquer tipo de compostos químicos. Essa definição de alelopatia estava pouco específica e confusa, assim, outros cientistas propuseram alterações na definição ao longo do tempo. RICE (1984) postulou que alelopatia poderia ser definida como a ação inibidora ou estimuladora decorrente da ação de substâncias químicas disponibilizadas no ambiente. Porém, muita confusão ainda ocorria, pois uma substância potencialmente alelopática poderia provocar respostas positivas ou negativas em decorrência da concentração aplicada (WILLIS, 2008). Muitos outros pesquisadores contribuíram para que uma definição do termo alelopatia fosse edificada com mais precisão (EINHELLIG, 1994; GROSS, 2003; RICE, 1984, 1987, 2012).

Dentre as diferentes definições que foram sendo ajustadas ao longo do tempo o pesquisador Szczepanski (1977) refinou a definição proposta por Muller (1969) em três termos diferentes (SAHU; KUMAR, 2019). Alelospolia indica quando um organismo utiliza algumas características intrínsecas para usufruir com maior eficiência dos recursos naturais (luz, espaço, nutrientes, água), limitando esses recursos para outros organismos, ou comumente chamada de competição. O outro termo designado para indicar quando um organismo interfere no desenvolvimento de outro é quando uma espécie altera condições físicas e ambientais impossibilitando o desenvolvimento de outras espécies próximas; essa interação ecológica foi denominada por alelomediação. Por último, Szczepanski indicou a alelopatia como sendo uma interferência provocada pela disponibilização no ambiente de biocompostos que interferissem no crescimento e desenvolvimento de outros organismos.

A alelopatia é uma interação que ocorre simultaneamente à competição que predomina no sentido de efeitos em organismos alvo tornando a identificação da alelopatia difícil (WILLIS, 2008). No ano de 1996 a Sociedade Internacional de Alelopatia (tradução livre do inglês *International Allelopathy Society*) estabeleceu que alelopatia é qualquer processo que envolva metabólitos secundários (aleloquímicos) produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciem positiva ou negativamente o crescimento e desenvolvimento de plantas ou microrganismos (IAS, 1996). Porém, ainda não existe um consenso científico sobre a definição que deve ser permanentemente estabelecida. Nessa tese será utilizado o termo cunhado pela IAS (1996).

Alelopatia pode ser utilizada por organismos como estratégia na competição por recursos limitantes como espaço, luz, nutrientes no solo ou evitar sem devorado (GIORIA e OSBORNE, 2014; HE et al., 2012; SINGH et al., 1999). Porém, a alelopatia não é intrinsecamente ligada ao termo competição, uma vez que a exsudação de metabólitos é independente da disponibilidade de recursos (EINHELLIG, 1994). Aleloquímicos podem ser utilizados para o manejo de espécies vegetais que possam competir com culturas agrícolas ou ainda, para controlar espécies invasoras (MACIAS et al., 2007). Por exemplo, em um estudo realizado com raízes Chenopodium murale L. foi possível identificar distúrbio do ciclo celular e dano oxidativo em mudas de trigo e Arabidopsis thaliana (DMITROVIĆ et al., 2015). Em outra pesquisa foi testado potencial alelopático de seis espécies vegetais para a inibição do crescimento de três espécies herbáceas que podem dominar plantações de arroz (KHALIQ et al., 2013). Dessa forma, a interação alelopática pode ser um dos fatores significativos que contribuem para a distribuição e abundância das espécies dentro das comunidades de plantas e pode ser importante no sucesso de plantas invasoras (HIERRO; CALLAWAY, 2003; INDERJIT; NILSEN, 2003; ORR; RUDGERS; CLAY, 2005). A alelopatia é uma interação ecológica que ocorre desde o surgimento da vida e que vem ganhando espaço entre grupos de pesquisa. Ainda, aleloquímicos são metabólitos biodegradáveis o que os tornam um recurso valioso para manejo de espécies invasoras (DUKE et al., 2002; MUSHTAQ; SIDDIQUI; HAKEEM, 2020).

De maneira geral, os fatores que podem iniciar liberação de aleloquímicos são tanto bióticos quanto abióticos. Entre os fatores bióticos é possível citar a competição entre indivíduos como gatilho para a alelopatia, entretanto as condições abióticas são mais adversas como as alterações na temperatura, intensidade de radiação luminosa, herbivoria (EINHELLIG, 1994). O modo de ação dos aleloquímicos não difere muito entre o ambiente terrestre e o aquático.

Para os ambientes aquáticos existem algumas similaridades com a alelopatia de plantas terrestres se não fosse pela diferença de solubilidade dos aleloquímicos aquáticos (GROSS, 2003). Além disso, o substrato no ambiente aquático é sempre inundado resultando em um ambiente anaeróbico (GROSS, 2003). Atualmente, é reconhecido que várias espécies de macrófitas apresentam ação alelopática. Um dos primeiros relatos de alelopatia em macrófitas foi realizado pelo pesquisador Oborn (1954) quando relatou que a macrófita Potamogeton sp não se desenvolveu ou até morreram quando cultivada junto a outras duas macrófitas, Eleocharis acicularis ou Sagittaria subulata. No final da década de 80 (Século XX) dois pesquisadores demonstraram, por meio de bioensaios, que pelo menos cinco das dezesseis espécies testadas apresentaram atividade alelopática (ELAKOVICH; WOOTEN, 1989). ELAKOVICH; WOOTEN (1989) identificaram que as macrófitas Nymphaea odorata (folhas e pecíolos), Nymphaea odorata (rizomas), Cabomba caroliniana (Gray.), Brasenia schreberi (Gmel.), Myriophyllum spicatum (Fernald.) e Vallisneria americanum (Michx.) foram as espécies que inibiram crescimento e germinação de sementes.

Por ser um fenômeno sutil e que ocorre em diferentes espécies, formas e estágios de vida (WILLIS, 2008), bioensaios são necessários para isolar o máximo de variáveis possível e assim permitir uma análise adequada dos efeitos alelopáticos sobre macrófitas aquáticas.

### 2.2. MACRÓFITAS AQUÁTICAS E FATORES DE PRESSÃO AMBIENTAL

As plantas tiveram sua origem na água e ao longo da evolução dominaram o ambiente terrestre, mas algumas espécies acabaram migrando para a água novamente. Em um determinado ponto evolutivo algumas espécies de plantas adaptaram seu ciclo de vida totalmente para ambientes saturados de água (como pântanos, várzeas) e outras se desenvolveram completamente na água (THOMAZ et al., 2008). A mudança para o ambiente aquático não foi repentina (levou algums milhares de anos) (COOK, 1999) e resultou em várias alterações morfológicas e fisiológicas. O ambiente aquático apresenta uma dificuldade no que tange a difusão de gases, mais especificamente a difusão do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e do oxigênio (O<sub>2</sub>). A morfologia foliar alterou moldando a forma das folhas (o que aumenta a área de difusão) e concentrando cloroplastos na parte adaxial das folhas (CHAMBERS et al., 2007). Algumas macrófitas desenvolveram mecanismos que utilizam carbono inorgânico (HCO<sub>3</sub>), outras macrófitas incorporaram outras vias metabólicas (metabolismo ácido crassuláceo e metabolismo C4) (CHAMBERS et al., 2007).

As macrófitas aquáticas como as macroalgas, briófitas, pteridófitas e angiospermas (macrófitas vasculares) habitam desde regiões úmidas até regiões aquáticas continentais e costeiras (WETZEL, 1990). Ainda, existem espécies de macrófitas que podem ser encontradas vivendo em outras plantas como em bromélias, em fontes termais (THOMAZ et al., 2008). De maneira geral, as macrófitas são representadas por aproximadamente 2.614 espécies e 412 gêneros, na região Neotropical existem 984 espécies (aproximadamente) (CHAMBERS et al., 2007). Fatores como nível, velocidade e fluxo da água (regime hidrológico), intensidade luminosa, direção e velocidade do vento, bem como ações antrópicas são características ambientais que podem selecionar os hábitos de vida (MARTINS et al., 2013).

As macrófitas aquáticas apresentam importância ecológica na proteção e estabilização de margens, auxiliam a oxigenação da água, estocagem e ciclagem de nutrientes (BIANCHINI JR; PACOBAHYBA; CUNHA-SANTINO, 2002; WETZEL, 2001). Ainda, várias espécies de peixes utilizam macrófitas como berçário para postura de seus ovos, como também é o caso de algumas aves e outros animais (PETR, 2000; PRADO; FREITAS; SOARES, 2011).

Características como a reprodução clonal, altas taxas de dispersão, plasticidade fenotípica e tolerância a estresses, aliadas a condições ambientais favoráveis, fazem com que as macrófitas aquáticas apresentem crescimento excessivo. Com o aumento da alteração da paisagem por ações antrópicas a eutrofização dos ambientes aquáticos está aumentando (ZAMPARAS; ZACHARIAS, 2014). Dessa forma, é possível que o crescimento excessivo afete múltiplos usos da água, por exemplo, provocando problemas na operação de hidrelétricas (THOMAZ; BINI, 1998; SANTAMARÍA, 2002) por conta do crescimento excessivo das macrófitas.

A alelopatia afeta os estágios iniciais de desenvolvimento das plantas alvo, principalmente na germinação (KATHIRESAN; KOGER; REDDY, 2006). Dessa forma, se faz de extrema importância o conhecimento de técnicas de controle biológico por meio de métodos ambientalmente amigáveis para o manejo das macrófitas. Para isso, é necessário conhecer os fatores que limitam seu crescimento e na literatura existem diversos trabalhos que abordam esse tema. Por exemplo, macrófitas submersas respondem a características ambientais como disponibilidade de luz, faixa de temperatura da água (mesmo que a variação de temperatura na água seja baixa), pH, alcalinidade, condutividade, herbivoria e competição, além dos próprios processos fisiológicos (HOWARD; RAFFERTY, 2006). Dentre os fatores limitantes citados anteriormente, a variação na concentração de N e P são fatores importantes no crescimento e desenvolvimento das macrófitas (ELSER et al., 2010; KOERSELMAN; MEULEMAN, 1996). A limitação na disponibilidade desses nutrientes pode acarretar alteração na realização de fotossíntese e alteração na alocação de biomassa.

A temperatura é um fator que altera a velocidade de reações químicas resultando na mudança das taxas metabólicas (quanto maior a temperatura mais rápidas são as reações). Diversas espécies de macrófitas apresentam seu ótimo de temperatura entre 20 °C e 35 °C (BARKO; ADAMS; CLESCERI, 1986; SANTAMARÍA; VAN VIERSSEN, 1997) e alguns grupos de macrófitas apresentam plasticidade fenotípica (ROONEY; KALFF, 2000) que pode alterar o crescimento. Assim, como resultado da alteração das taxas metabólicas a taxa de crescimento também sofrerá alteração bem como o tempo de duplicação (BORNETTE; PUIJALON, 2011; RIIS et al., 2012). Uma das respostas das macrófitas submersas às mudanças em parâmetros físicos, químicos e biológicos do ambiente aquático é o crescimento.

29

A espécie *Egeria densa* (Planch) é uma espécie de macrófita submersa que apresenta uma faixa ótima de temperatura entre 16 °C e 28 °C e que em algumas localidades onde ela ocorre pode suportar temperaturas de até 35 °C (BARKO; SMART, 1981; HARAMOTO; IKUSIMA, 1988; YARROW et al., 2009). Outra macrófita que pode apresentar crescimento agressivo quando em condições ótimas de nutrientes, temperatura e luz é a *Salvinia molesta* (Mitch.).

A Salvinia é uma macrófita flutuante do grupo das samambaias que, em ambientes com temperaturas de 22 °C a 30 °C podem apresentar crescimento rápido (MITCHELL; TUR, 1975). Com taxa de crescimento elevada, reprodução vegetativa (apresenta brotação de novas proles) e grande plasticidade fenotípica, a *Salvinia* pode cobrir extensas regiões de reservatórios naturais (lagos e lagoas), bloquear passagem de embarcações, entre outros problemas (DATTA, 1990; HENRY-SILVA et al., 2002; RUBIM; CAMARGO, 2001).

Com a intensificação das mudanças climáticas promovida pela ação antrópica um dos fenômenos resultantes dessas mudanças é o aumento da temperatura média global do ar (NOBRE, 2008). Alguns pesquisadores têm indicado que em um cenário conservador a temperatura ar pode aumentar entre 1,5 °C e 2 °C até o final do século XXI e como resultado ocorrerá a perda de biodiversidade, alterações nas relações ecológicas nos diferentes níveis de organização dos ecossistemas (BELLARD et al., 2012; IPCC, 2019; VILAS BOAS, 2016). Por outro lado, projeções mais recentes têm mostrado variação no aumento da temperatura global pode ser de 1,5 °C até 4,0 °C até o fim do século (IPCC, 2019). Dessa forma, é extremamente necessário estudar as respostas das macrófitas frente às alterações ambientais com a finalidade de identificar potenciais problemas ecológicos resultantes do rápido crescimento desses organismos e propor medidas de manejo.

A modelagem matemática é uma ferramenta que auxilia a descrever as alterações na cinética do crescimento dos organismos ao longo do tempo. BIANCHINI Jr. et al. (2015) demonstraram que é possível identificar e predizer o crescimento de macrófitas, bem como delinear a colonização no ambiente por meio da modelagem matemática. Ainda, BEST et al. (2001) afirmam que aplicar a modelagem matemática em bioensaios pode auxiliar na identificação e relação de respostas das macrófitas aquáticas frente a forças estressoras naturais ou antropogênicas; parametrizar e simular o crescimento de macrófitas aquáticas pode prever cenários futuros e auxiliar

no desenvolvimento de técnicas eficientes de manejo. Em um estudo avaliando a influência da temperatura e turbidez da água no crescimento de *E. densa,* MACHADO et al. (2020) observou que o modelo matemático identificou com precisão a alteração no crescimento da macrófita. A modelagem matemática pode ser utilizada para distinguir características que compõem os mecanismos de crescimento e desenvolvimento.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

## 3.1. ESPÉCIES

Como espécie doadora do extrato aquoso (EA) do rizoma e raízes utilizou-se a *T. domingensis* (imagem capturada no local de coleta da espécie) e como espécies receptoras foram utilizadas *E. densa* e *S. molesta* (imagem capturada durante o experimento) (Figura 1).

**Figura 1**: (A) *Typha domingensis* (Pers.), (B) *Egeria densa* (Planch) e (C) *Salvinia molesta* (Mitch.). Acervo pessoal.



Fonte: Arquivo pessoal

A macrófita emergente *T. domingensis* (ou comumente chamada de taboa; Figura 1A) pertence à classe Liliopsida família Typhaceae; apresenta crescimento vegetativo por meio de seus rizomas formando densos estandes monoclonais impossibilitando a existência de outras espécies podendo atingir 2 m de altura ou mais (EID; SHALTOUT; ASAEDA, 2012). Por outro lado, por formar estandes e ocorrer em regiões como margens de lagos, várzeas, canais de drenagem, essa espécie serve como abrigo para diversas espécies de animais (ASAEDA et al., 2005). A taboa é eficiente em absorção de metais pesados provenientes das atividades antrópicas e é dominante em locais onde ocorra a variação no nível da água (BONANNO; CIRELLI, 2017; CARVALHO et al., 2019; SALEH MUNEERA et al., 2019). Dessa forma, *T. domingensis* apresenta grande tolerância a ambientes degradados o que a confere classificação como espécie bioindicadora sendo utilizada para tratamento de efluentes (BELLAVANCE; BRISSON, 2010; DI LUCA et al., 2015; MUFARREGE et al., 2011). Diferentes espécies do gênero *Typha* tem sido estudado devido ao seu potencial alelopático (JARCHOW; COOK, 2009; PRINDLE; MARTIN, 1996; ZHANG; HU; ZHANG, 2012). Com isso, diferentes compostos potencialmente alelopáticos têm sido identificados e isolados a partir de amostras de diferentes partes da taboa.

*Egeria densa* (Planch.) pertencente a classe Liliopsida e família das Hydrocarytaceae (Figura 1B), apresenta 17 gêneros com 127 espécies identificadas até o momento (LOURENÇO; BOVE, 2017). Nativa da América do Sul e com ocorrência nos continentes América do Norte, Nova Zelândia, Europa e Ásia, exceto nos continentes Ártico e Antártico (HARAMOTO e IKUSIMA, 1988; YARROW et al., 2009), no Brasil há registro de quinze espécies distribuídas em seis gêneros (LOURENÇO; BOVE, 2017).

A macrófita *E. densa* pode ocorrer tanto em ambientes aquáticos lênticos ou lóticos e em profundidade de dois metros abaixo da superfície da água, aproximadamente (YARROW et al., 2009). Apesar da profundidade média de ocorrência da macrófita, as raízes da *E. densa* podem atingir sete metros de profundidade (CARRILLO; GUARÍN; GUILLOT, 2006). Mesmo sendo uma angiosperma, seu principal modo de reprodução é por propagação vegetativa, quando ocorre rompimento de um ramo que desenvolve raízes fixando o indivíduo no substrato (YARROW et al., 2009). A produção de raízes ocorre, geralmente, em regiões onde há a produção de brotos para que quando ocorra a separação do novo ramo da planta mãe esse novo broto possa se fixar e continuar seu crescimento (YARROW et al., 2009). Como qualquer espécie, a *E. densa* apresenta grande importância ecológica para os sistemas aquáticos como fixação do substrato,

oxigenação da coluna d'água e como berçário para diferentes espécies de animais (como peixes e zooplâncton) (YARROW et al., 2009). Por outro lado, em algumas regiões como Europa, alguns países asiáticos até mesmo no Brasil a *E. densa* pode causar problemas econômicos e ecológicos, resultado de seu crescimento rápido e sua característica reprodutiva (HAMOROTO e IKUSIMA, 1988).

Em ambientes aquáticos a difusão e equilíbrio de CO<sub>2</sub> são baixos e por esse motivo, algumas macrófitas aquáticas, como é o caso da *E. densa*, desenvolveram mecanismos que possibilitam a utilização de bicarbonato (HCO<sup>-3</sup>) (RASCIO et al., 1991). Ainda, *E. densa* apresenta outra adaptação metabólica para suprir a dificuldade de assimilação de carbono inorgânico (CI) que é por meio do metabolismo C<sub>4</sub> e o metalismo ácido crassuláceo. Essa adaptação metabólica possibilita que a macrófita apresente duas vias de assimilação de C (carbono) e possa suprir sua demanda nutricional que pode resultar em vantagem adaptativa contra outras espécies.

Salvinia molesta (Mitch.) pertencente à classe Equisetopsida e família das Salvinaceae foi alocada no clado das Monilophytas, correspondentes das samambaias. S. molesta é nativa do Brasil, mas em várias regiões da Terra como América do Norte, Europa (países como Áustria, Alemanha), África, Ásia e Oceania (CHAPMAN et al., 2017). É uma macrófita flutuante e não enraizada, suas folhas são duplas e dobradas ao longo do eixo longitudinal, apresentam cerdas na parte adaxial das folhas que evita umidade nessa região (MITCHELL; TUR, 1975). Esta espécie apresenta crescimento em forma de ramete com três estágios de crescimento: a primeira fase a planta apresenta folhas fechada e pequenas, na segunda fase as folhas estão abertas e os pares de folhas são disposicionados espaçadamente e a terceira fase as folhas estão disposicionadas mais próximas umas das outras (MUNIAPPAN; REDDY; RAMAN, 2009). A macrófita não apresenta raiz verdadeira, mas folhas modificadas que podem apresentar associação com cianobactérias fixadoras de nitrogênio que podem ser utilizadas em projetos de biorremediação de áreas degradadas (CHAPMAN et al., 2017; DA SILVA et al., 2018; KOUTIKA; RAINEY, 2015). Por outro lado, quando a Salvinia é exposta a condições favoráveis de temperatura e nutrientes pode cobrir toda a superfície de ambientes aquáticos, resultando em diminuição de luminosidade, oxigênio e redução de biodiversidade (CANCIAN, 2007; PISTORI, 2009).

## 3.2. LOCAL DE COLETA DAS MACRÓFITAS

A obtenção de exemplares da macrófita emersa *T. domingensis* foi realizada em uma área urbana com fluxo variável do nível de água. O ponto de coleta localizouse no município de Boa Esperança do Sul, São Paulo, Brasil (21° 59' 37"S e 48° 23' 21" O, 480 m acima do nível do mar) (MAXAR TECHNOLOGIES, 2021, [a]). O clima da região é classificado como Aw segundo critério de Köppen, com inverno seco e verão chuvoso. A região de coleta dos exemplares é urbanizada com a presença de casas e comércios no perímetro próximo ao ponto de coleta.

**Figura 2:** Imagem de satélite da localização do ponto de coleta da macrófita *T. domingensis* na cidade de Boa Esperança do Sul, São Paulo (**Fonte:** MAXAR TECHNOLOGIES, 2021 [a]).



Em campo, realizamos a coleta aleatoriamente de 5 exemplares adultos e sem indícios de herbivoria ou qualquer sinal de deficiência nutricional. Para a coleta realizamos a demarcação de um perímetro com, aproximadamente, 50 cm de diâmetro em torno de cada indivíduo. Com o auxílio de cavadeiras e pás, realizamos a remoção dos exemplares escavando em torno até a profundidade de 30 cm (aproximadamente) com objetivo de preservar o máximo o sistema radicular e os rizomas (Figura 3).
**Figura 3**: Coleta de exemplares da macrófita emersa *Typha domingensis* (Pers.) realizada no município de Boa Esperança do Sul, São Paulo. Acervo pessoal.



Após as coletas, os exemplares foram armazenados e transportados até o Laboratório de Bioensaios e Modelagem Matemática (LBMM) da UFSCar para o processamento.

A macrófita submersa *E. densa* foi coletada em tanques de cultivo instalados no jardim experimental do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos, São Paulo (22° 00' 22° 30'S e 47° 30' 48° 00' O e 850 m de altitude acima do mar). O clima da região onde o jardim experimental está localizado é caracterizado como Aw, segundo a classificação de Köppen. Exemplares de *S. molesta* foram coletadas em um reservatório natural do rio Monjolinho, que é detalhado a seguir.

O ponto de coleta da água utilizada como meio de cultura e da macrófita foi em

uma região próxima ao Departamento de Hidrobiologia (21°59'08" S e 47°52'39" O) (Figura 4), é um reservatório integrado a microbacia do rio Monjolinho.

**Figura 4:** Imagem de satélite do ponto de coleta da água para cultivo das macrófitas e local onde também foram coletadas as amostras de *S. molesta* (**Fonte:** MAXAR TECHNOLOGIES, 2021 [b]).



Imagens ©2021 Maxar Technologies, Imagens ©2021 CNES / Airbus, Maxar Technologies, Dados do mapa ©2021 50 m

O rio Monjolinho apresenta extensão de 43,2 km e ao menos 500 m do rio transpassa pela região urbana da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) (SIQUEIRA; TRIVINHO-STRIXINO, 2005). O rio está inserido em uma região geográfica cujo clima é caracterizado como Cwa segundo método de Köppen, com estações bem definidas, uma estação quente e chuvosa (outubro a março) a outra é fria e seca (abril a setembro) (PRADO et al., 2004). O trecho do rio Monjolinho que transpassa pelo campus da UFSCar apresenta sinais de antropização resultante dos usos do solo pela agricultura e pela área urbana do campus (SILVA et al., 2016; SILVA et al., 2017). As variáveis limnológicas N, CT, CI e CO da água foram avaliadas utilizando o analisador de carbono orgânico total (TOC) (Total organic carbon analyser, TOC-L ASI-L, Shimadzu) e o fósforo total foi quantificado pelo método de onze meses que compreendeu de novembro de 2017 a outubro de 2018 (Tabela 1).

**Tabela 1**: Concentrações médias ± desvio padrão dos das variáveis da água, nitrogênio total (NT), fósforo total (PT), carbono total (CT), carbono inorgânico dissolvido (CID) e carbono orgânico dissolvido (COD) do ponto de coleta das amostras de água foi utilizada como meio de cultivo para a *E. densa* e *S. molesta*.

Variáveis químicas	mg L <sup>-1</sup>
NT	$2,6 \pm 2,3$
PT	$2,2 \pm 3,7$
СТ	17,6 ± 9,7
CID	$7,8 \pm 2,5$
COD	$9,8 \pm 7,3$

## 3.3. PREPARO DO EXTRATO AQUOSO

Após a coleta dos exemplares de *T. domingensis* em laboratório as macrófitas foram fracionadas e as raízes, rizomas, colmo e folhas foram separados. As partes utilizadas nesse estudo foram apenas as raízes e os rizomas, as demais partes dos exemplares foram secas e armazenadas para caracterização química (Anexo B).

Para preparar o extrato aquoso (AE) foram utilizados ca. 20,0 g de rizomas com raízes frescas, previamente lavados em água corrente e água deionizada e secos em temperatura ambiente por 30 min.

O primeiro passo foi homogeneizar (IKA®-T10 Basic Ultra-Turrax®) os rizomas frescos com 10,0 ml de água deionizada durante 3 min. Na sequência, as partes heterotróficas (raízes e foram submetidas a um banho ultrassônico (Unique - Ultra Cleaner 1400 A) por 15 min e o extrato aquoso (EA) foi completado até 1000 ml com água deionizada. Então, o AE foi filtrado em membrana de microfibra de vidro (Macherey-Nagel, malha de 0,6 µm e diâmetro de 47 mm) em sistema de vácuo (Diapump compressor de vácuo, Fanem). Ao final do processo de extração os elementos CT, CI, CO e NT foram avaliados em equipamento TOC-L ASI-L (Total organic carbono analyser, TOC-L ASI-L, Shimadzu) (Tabela 2). Após o processo de extração as amostras foram armazenadas a -4 °C até o momento do uso.

**Tabela 2**: Variáveis químicas avaliadas para amostra de extrato aquoso de raízes e rizomas de *Typha domingensis* (Pers.). Nitrogênio total (NT), carbono total (CT), carbono inorgânico dissolvido (CID), carbono orgânico dissolvido (COD).

Variáveis químicas	mg L⁻¹
NT	0,69
СТ	10,42
CID	2,90
COD	7,51

Os procedimentos adotados para obtenção do EA foram adaptados do método realizado por Gallardo-Willians et al. (2002).

### 3.4. BIOENSAIO

A pesquisa desenvolvida por SILVEIRA; MAIA; COELHO (2012) foi utilizada para a determinação das concentrações do presente trabalho. Fragmentos de *E. densa* e *S. molesta* foram expostos a AE durante 60 dias em três concentrações de AE (v/v): (i) 5% (AE5), (ii) 10% (AE10) e (iii) 15% (AE15) e um (iv) tratamento controle (apenas com água do reservatório e as macrófitas).

Os tratamentos foram montados em triplicata de aquários (n = 10 fragmentos de *E. densa* em cada recipiente) totalizando 30 fragmentos por tratamento. Os bioensaios foram realizados em duas etapas sem intervalo entre as etapas: (i) o tratamento Controle e o tratamento AE5 (ii) na segunda etapa foram montados os tratamentos AE10 e AE15; as medições foram realizadas a cada quatro dias. Para *S. molesta*, foram utilizados aquários de borosilicato, em cada aquário foram colocados 10 exemplares para cada tratamento (n = 30 por tratamento), os tratamentos (incluindo o tratamento controle) foram realizados em triplicata. Para manter a identificação individual de cada broto, utilizou-se anéis de poliestireno com 4,0 cm de diâmetro e 0,4 cm de altura.

## 3.4.1. Egeria densa

Fragmentos de *E. densa* com 9,0 cm mensurados a partir da gema apical, sem sinais de senescência ou herbivoria, foram colhidos aleatoriamente no jardim experimental. Fragmentos (ca. 2,0 cm) foram inseridos em recipiente de poliestireno

(volume de 40 ml) preenchido com latossolo dismórfico seco em temperatura ambiente (não autoclavado nem calcinado). A sua fertilidade natural é considerada baixa e a sua origem se relaciona com rochas basálticas; devido a sua larga ocorrência no país, comporta uma grande parcela da produção agrícola (IBGE, 2007). Por fim, uma fina camada de areia calcinada (Edgcon 3P 7000, FDG a 520 °C durante 120 min) foi adicionada à superfície do substrato para evitar que ocorra turbidez da água durante a manipulação.

A água coletada em um pequeno reservatório natural foi filtrada (papel filtro com poro em torno de 3  $\mu$ m - 80 g m<sup>-2</sup>) para remover sólidos suspensos e manter a microbiota. O protocolo utilizado para a montagem dos aquários com macrófitas submersas foi adaptado de Bianchini et al. (2010).

Antes da exposição ao AE, fragmentos de *E. densa* foram aclimatados durante cinco dias em câmara de germinação (Tecnal - TE 401) a 23 °C com fotoperíodo de 12/12 dia/noite (Figura 5 A). Outra câmara do mesmo modelo foi configurada para a 27 °C e fotoperíodo também de 12/12 dia e noite para a aclimatação. O fotoperíodo medido por Biospherical *Instruments Inc.* (QSL100) (40,1 µmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>). Foram utilizados aquários de borosilicato com volume de uso de 6 litros e dimensões de 27 cm de altura e 14,7 cm de diâmetro (Figura 5 B).

**Figura 5**: (A) Câmara de germinação configurada para temperatura de 23 °C e outra para 27 °C e fotoperíodo de 12/12 (dia/noite) onde couberam seis aquários de borosilicato (B) contendo 10 exemplares de macrófitas cada aquário, em cada tratamento. Acervo pessoal.



#### 3.4.2. Salvinia molesta

Brotos de *S. molesta* no primeiro estágio de desenvolvimento (MITCHELL; TUR, 1975), sem sinais de senescência ou herbivoria, foram colhidos aleatoriamente no mesmo local de coleta da água utilizada para o bioensaio. A escolha do estágio de desenvolvimento foi devido ao fato de apresentarem maior atividade metabólica.

Os brotos apresentavam por um par de folhas ovaladas com comprimento de  $\ge 0,5$  cm e  $\ge 0,3$  cm de altura. Os exemplares foram levados para o laboratório onde foram lavados em água corrente e em seguida em água deionizada para retirar quaisquer detritos. A água coletada em um pequeno reservatório natural foi filtrada (papel filtro com poro em torno de 3 µm - 80 g m<sup>-2</sup>) para remover os detritos do curso

e manter a microbiota. Antes da exposição ao AE, brotos de *S. molesta* foram aclimatados durante cinco dias em câmara de germinação (Tecnal - TE 401) a 23 °C com fotoperíodo de 12/12 dia/noite. e para a *S. molesta* foram utilizados aquários, também em borosilicato, de 2 litros e dimensões de 12 cm de altura e 14,7 cm de diâmetro (Figura 6).

Figura 6: Aquário de borosilicato contendo espécimes de *S. molesta* em primeiro estágio de crescimento expostas a extrato aquoso em concentração de 15% (EA15) de raiz adulta da macrófita emersa *T. domingensis*. Arquivo pessoal.



Antes da exposição ao AE, fragmentos de *S. molesta* foram aclimatados durante cinco dias em câmara de germinação (Tecnal - TE 401) a 23 °C com fotoperíodo de 12/12 dia/noite. O fotoperíodo foi mensurado por um quantameter *Biospherical Instruments Inc.* (QSL100) (40,1 µmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>). Tanto a *E. densa* como a *S. molesta* apresentam faixas de temperaturas ótimas para o crescimento bem próximas. Testes prévios com o estágio um de desenvolvimento da *S. molesta* mostraram que temperaturas acima de 25 °C desidratam os brotos.

Para manter a identificação individual de cada broto, utilizou-se anéis de poliestireno com 4,0 cm de diâmetro e 0,4 cm de altura (Figura 6).

### 3.5. BIOMETRIA E ARQUITETURA

#### 3.5.1. Egeria densa

Para aferição do comprimento, fragmentos e ramos (biometria) de *E. densa* cada exemplar foi retirado do aquário (durante aproximadamente de 3 minutos (para evitar desidratação). O critério de mensuração do comprimento da planta foi posicionando uma régua desde a superfície do substrato até a região apical de cada *E. densa*. Foram considerados apenas fragmentos e ramos sem sinais de senescência, ou seja, que não apresentavam amarelecimento das folhas ou herbivoria. Além disso, apenas ramos com comprimentos  $\geq$  1,0 cm foram medidos.

O comprimento das raízes foi realizado após a desmontagem dos experimentos ao final dos 60 dias. Ao final do experimento, as plantas foram retiradas uma a uma para evitar o dessecamento excessivo. Cada macrófita foi desplantada e lavada em água corrente para remoção do substrato aderido e em seguida lavada com água deionizada. A mensuração de cada raiz foi realizada posicionando uma fita métrica na região de brotamento da raiz até a parte apical. As raízes foram posicionadas de maneira que fosse possível mensurar seu comprimento sem que houvesse a total deformação da forma. Foram consideradas apenas raízes ≥ 1,0 cm de comprimento.

A contagem de conectores (CO) e nós (NO) da parte autotrófica (ramos) e heterotróficas (raízes), considerou-se toda estrutura que tenha um comprimento total superior a 0,3 cm. A análise da arquitetura foi modificada de SOUZA et al. (2011). O NO foi definido como toda região da macrófita que apresentasse brotamento de novos ramos ou raízes. Ou seja, todo NO é uma região que apresenta tecido meristemático que pode originar um ou mais ramos ou raízes.

A contagem do NO foi realizada a partir do primeiro ramo produzido pela planta, sendo esta ordenada de forma ascendente (de próximo do substrato em direção a gema apical). Em cada NO é possível originar um ou mais CO e esses podendo ser novos ramos ou novas raízes. Os dados da topologia de *E. densa* foram organizados como a média total (± desvio padrão) de CO e NO.

3.5.2. Salvinia molesta: biometria e arquitetura

Exemplares de *S. molesta* utilizados estavam em estágio de desenvolvimento inicial (primeira fase) e como critério para mensuração foram escolhidas exemplares com tamanho de suas folhas  $\geq$  1 cm de comprimento. O comprimento de rizomas da *S. molesta* foi realizado por meio de um paquímetro (MTX, 316119) na base da primeira folha até a base da próxima folha existente no rizoma.

A contagem de CO e (NO) da parte autotrófica (rizomas) e heterotróficas (raízes), foi utilizada a mesma metodologia que para *E. densa*. Considerou-se toda estrutura que tenha um comprimento total superior a 0,3 cm. A análise da arquitetura foi modificada de SOUZA et al. (2011). O NO foi definido como toda região da macrófita flutuante que apresentasse brotamento de novos brotos ou raízes. Ou seja, todo NO é uma região que apresenta tecido meristemático que pode originar um ou mais rizomas ou raízes.

A contagem do NO foi realizada a partir do primeiro ramo produzido pela planta, sendo esta ordenada distalmente ao primeiro broto. Em cada NO é possível originar um ou mais CO e esses podendo ser novos ramos ou novas raízes. Os resultados de topologia para a *S. molesta* foram organizados como a média total (± desvio padrão) de CO e NO. Após 60 dias de incubação, os componentes básicos arquitetônicos de cada planta permitiram identificar os tipos de CO e NO macrófitas.

Após as avaliações, as macrófitas foram secas em estufa (Fanem 315E) com temperatura constante de 50 °C até atingirem massa constante. A aferição da biomassa seca de cada parte das macrófitas (autotrófica e raízes) foi realizada ao final do experimento.

## 3.6. MODELAGEM MATEMÁTICA

A medição dos fragmentos e ramos resultou em um conjunto de dados que possibilitou a avaliação dos parâmetros cinéticos de crescimento de *E.* densa. A macrófita *S. molesta* não apresentou crescimento impossibilitando a avaliação dos parâmetros cinéticos de crescimento. Para a obtenção dos parâmetros cinéticos foi aplicada regressão não linear calculada pelo algoritmo interativo de Levenberg-Marquardt (PRESS et al., 2007). Portanto, o crescimento cumulativo médio total ( $\pm$  desvio padrão) foi ajustado ao modelo de primeira ordem para calcular os parâmetros de crescimento ( $\mu$  e K). O modelo logístico foi selecionado para parametrizar o crescimento de *E. densa* sob diferentes tratamentos (controle, AE 5, AE 10, AE 15)

(Equação 1; BIANCHINI et al., 2010; BIANCHINI JR et al., 2015).

$$dN/(dt) = \mu \times (1-N/K)$$
 Equação (1),

onde:  $dN = variação do comprimento, dt = variação do tempo, <math>\mu = coeficiente de crescimento (dia<sup>-1</sup>) e K = comprimento máximo (cm) e N = comprimento (cm).$ 

Além disso, o tempo de duplicação (td) de fragmentos e ramos foi estimado pela Equação 2 (MITCHELL, 1974)

td = 
$$\ln 2/\mu$$
 Equação (2)

# 3.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para o conjunto de dados referentes a arquitetura, crescimento cumulativo, número de ramos e raízes os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Para o conjunto de dados de comprimento de ramos e raízes os dados são apresentados graficamente com a mediana, interquartis e, máximo e mínimo.

Para verificar se os valores de comprimento (autotrófico e heterotrófico), biomassa, arquitetura (autotrófico e heterotrófico), número de ramos e raízes apresentaram distribuição normal foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk e D'Agostino-Pearson. Com isso, verificou-se que os dados não seguiram distribuição normal e não apresentaram homoscedasticidade sendo o teste de Kruskal-Wallis (p < 0,05) e o teste de Dunn utilizados para em comparações múltiplas entre as variáveis as explicativas. A comparação das variáveis explicativas para *E. densa* entre as temperaturas de 23 °C e 27 °C foi aplicado o teste de Análise de Variância de duas vias (*ANOVA Two-way*) e o teste de Tukey a *posteriori*.

# 4. RESULTADOS

Considerando que o extrato aquoso de raízes e rizomas de *T. domingensis* provoquem alterações significativas nas características estruturais da espécie *E. densa*, foram analisados os resultados coletados durante os experimentos como arquitetura (autotrófica e heterotrófica), biometria, padrão de crescimento e alocação de biomassa e serão apresentados a seguir em função das variáveis de concentração dos extratos aquosos de raízes e rizomas da *T. domingensis* e temperatura (23 °C e 27 °C). A macrófita *S. molesta* teve todos os parâmetros de arquitetura, biometria, padrão de crescimento e alocação de biomassa avaliados apenas para temperatura de 23 °C.

# 4.1. ARQUITETURA PARTE AUTOTRÓFICA

# 4.1.1. Egeria densa

Comparando separadamente os componentes básicos da arquitetura de *E. densa* (média  $\pm$  desvio padrão dos CO e NO) da parte autotrófica das plantas cultivadas em 23 °C não foram identificadas diferenças significativas (p > 0,05) (Figura 6). Por outro lado, comparando os componentes básicos (CO e NO) da parte autotrófica entre as macrófitas expostas aos tratamentos C, EA5, EA10 e EA15 a 27 °C notou-se diferença significativa (p < 0,05) (Figura 7). **Figura 7:** Quantidade total média ± desvio padrão de NO da parte autotrófica de *E. densa* (n = 30 por tratamento) para os tratamentos controle (C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15) cultivadas a 27 °C. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis acompanhado com pós teste de Dunn para múltiplas comparações. Letras diferentes significam diferença estatística (p < 0,05).



A maior diferença ocorreu para o tratamento EA15 (maior concentração do extrato aquoso) que apresentou quantidade média de NO 69% menor que a quantidade de NO emitidos pelas plantas do tratamento controle  $(4,5 \pm 1,3)$ . Por outro lado, o tratamento EA5  $(5,1 \pm 2,0)$  apresentou 13% maior quantidade total média de NO que as plantas do tratamento C  $(4,5 \pm 1,3)$  e EA15  $(3,1 \pm 1,3)$  O tratamento EA10 não apresentou diferença em comparação ao C.

Por meio da comparação dos tratamentos (C, EA5, EA10 e EA15) entre temperaturas diferentes foram identificadas diferenças para NO (p < 0,05) (Figura 8). As macrófitas expostas aos tratamentos C, EA5, EA10 e EA15 cultivadas a 27 °C apresentaram os maiores valores para a quantidade média total de NO.

**Figura 8:** Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de NO da parte autotrófica produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



Na Figura 8 macrófitas submersas expostas ao tratamento controle e cultivadas em temperatura de 27 °C (barras listradas) apresentaram 95% mais de NO  $(4,5 \pm 1,3)$  em comparação com as plantas do tratamento controle  $(2,3 \pm 1,5)$  cultivadas em 23 °C (barras pretas). As macrófitas expostas ao tratamento EA5 apresentaram 96% a mais de NO  $(5,1 \pm 2,0)$  quando comparadas com macrófitas expostas ao mesmo tratamento  $(2,6 \pm 1,3)$  a 23 °C (Figura 5). Para o tratamento EA10 as plantas cultivadas a 27 °C produziram 50% a mais de NO  $(4,8 \pm 1,7)$  em relação às macrófitas cultivadas a 23 °C  $(3,2 \pm 1,8)$  (Figura 8). Para as macrófitas dos tratamentos EA15 não ocorreu diferença estatística (p > 0,05) para a quantidade média total de NO comparando plantas cultivadas em temperaturas diferentes. Mesmo assim, foi possível notar que as plantas expostas ao tratamento EA15 cultivadas em temperatura de 27 °C apresentou 10% a mais de NO  $(3,1\pm1,3)$  em comparação às plantas expostas à mesma concentração e cultivadas em temperatura de 23 °C  $(2,8 \pm 1,7)$  (Figura 8).

Para os tratamentos cultivados a 23 °C e 27 °C os CO da parte autotrófica de

*E. densa* é possível notar diferença entre a quantidade de CO identificados nas macrófitas submersas. Macrófitas cultivadas a 23 °C e 27 °C a diferença (p < 0,05) foi identificada para o tratamento EA10 ( $8,0 \pm 1,9$ ) que apresentou de 25% mais CO em comparação com as macrófitas do tratamento Controle ( $6,4 \pm 1,5$ ). A comparação da quantidade média total de CO produzidos pelas macrófitas expostas aos tratamentos C, EA5, EA10 e EA15 cultivadas em 23 °C e 27 °C também revelaram diferença significativa (p < 0,05) (Figura 9).

**Figura 9:** Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de CO da parte autotrófica produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



Em macrófitas expostas ao tratamento controle e cultivadas a 27 °C (barras listradas) não foi verificada diferença estatística (p > 0,05) comparando com as do tratamento controle em 23 °C. No entanto, as macrófitas do tratamento controle cultivadas em temperatura de 27 °C apresentaram 30% mais de CO ( $6,4 \pm 1,5$ ) em comparação com as plantas do tratamento controle cultivadas em 23 °C ( $4,9 \pm 2,9$ ) (barras pretas). As macrófitas expostas ao tratamento EA5 cultivadas em temperatura

de 27 °C apresentaram mais de CO ( $6,6 \pm 2,2$ ) quando comparadas com macrófitas expostas ao mesmo tratamento em temperatura de 23 °C ( $4,5 \pm 1,3$ ) (Figura 9). Para o tratamento EA10 as plantas cultivadas a 27 °C produziram mais de CO ( $8,0 \pm 1,9$ ) em relação às plantas cultivadas a 23 °C ( $4,8 \pm 1,9$ ) (Figura 9). Para as macrófitas dos tratamentos EA15 cultivadas em temperatura de 27 °C houve diferença estatística para a quantidade média total de CO ( $6,6 \pm 2,2$ ) comparando plantas mantidas a 23 °C ( $4,9 \pm 2,0$ ).

A quantidade média total de NO avaliados para as raízes não apresentou diferença significativa nas macrófitas dos tratamentos C, EA5, EA10 e EA15 cultivadas tanto a 23 °C quanto a 27 °C. Quando os tratamentos foram comparados para a quantidade de NO entre as temperaturas de 23 °C e 27 °C foi verificada diferenças significativas (p < 0,05) (Figura 10).

**Figura 10:** Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de NO para o sistema radicular produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas em a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



As macrófitas submersas cultivadas a 23 °C apresentaram brotação de raízes junto de alguns ramos novos, fenômeno que também foi notado nas macrófitas

cultivadas em 27 °C. As macrófitas do tratamento controle, cultivadas a 23 °C, apresentaram maior quantidade média total de NO  $(2,3 \pm 1,5)$  (p < 0,05) em comparação com as do tratamento controle  $(1,5 \pm 0,7)$  cultivadas em 27 °C (Figura 7). A diferença (p < 0,05) também foi identificada entre as macrófitas dos tratamentos EA5 23 °C  $(2,6 \pm 1,3)$  e EA5 27 °C  $(2,1 \pm 1,3)$ , entre EA10 23 °C  $(3,2 \pm 2,0)$  e EA10 27 °C  $(1,7 \pm 0,7)$ . Por fim, o tratamento EA15 a 23 °C  $(2,8 \pm 1,6)$  também apresentou maior quantidade média total de NO em relação as macrófitas do tratamento EA15 a 27 °C  $(1,6 \pm 0,8)$  (Figura 7).

A quantidade média total dos CO para as raízes foi identificada diferença significativa (p < 0,05) entre os tratamentos tanto para 23 °C quanto para 27 °C. Macrófitas expostas aos tratamentos EA15 (5,0  $\pm$  2,0) e EA10 (4,3  $\pm$  1,8) em temperatura de 23 °C apresentaram mais CO que as macrófitas expostas ao controle (2,8  $\pm$  1,6). Já para as macrófitas cultivadas em temperatura de 27 °C os tratamentos AE10 (6,13  $\pm$  1,52) e o tratamento AE5 (5,90  $\pm$  2,52) apresentaram maior quantidade de CO em comparação ao tratamento controle (4,93  $\pm$  2,24). O tratamento EA15 não apresentou diferença significativa em comparação com o controle, em ambas as temperaturas. A comparação dos tratamentos (C, EA5, EA10 e EA15) entre as duas temperaturas revelou diferença inversa a comparação realizada para a quantidade de CO (Figura 11).

Para o sistema radicular das *E. densa*, os controles as macrófitas cultivadas em 27 °C apresentaram 4,9  $\pm$  2,3 CO enquanto a 23 °C apresentaram apenas 2,8  $\pm$ 1,6, o tratamento EA5 em 23 °C com 3,5  $\pm$  1,3 e em temperatura de 27 °C 5,9  $\pm$  2,6. Por fim, o tratamento EA10 em 27 °C apresentou 6,1  $\pm$  1,5 e em 23 °C apenas 4,3  $\pm$ 1,8, o tratamento EA15 não apresentou diferença de CO entre as temperaturas (Figura 11). **Figura 11**: Comparação da quantidade média ± desvio padrão da quantidade total de CO para o sistema radicular produzidos pelas macrófitas submersas (n = 30 por tratamento em cada temperatura). Macrófitas cultivadas em a de 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Twoway com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



#### 4.1.2. Salvinia molesta

A avaliação dos componentes básicos da arquitetura (média  $\pm$  desvio padrão dos CO e NO) da parte autotrófica (estruturas acima do nível da água) da *S. molesta* cultivada em 23 °C revelou diferença quando comparados os tratamentos EA5 e EA10 com o controle. Figura 12 (A) mostra que apenas as plantas expostas ao tratamento EA10 apresentou menor quantidade de NO (3,6  $\pm$  1,2) em relação ao tratamento controle (4,0  $\pm$  2,3) e ao tratamento EA5 (4,4  $\pm$  1,0). O tratamento EA15 não apresentou desenvolvimento de NO. Na Figura 12 (B) é possível notar que a quantidade de CO foi diferente entre os tratamentos. O tratamento EA10 apresentou o menos CO (2,7  $\pm$  1,3) em comparação ao controle (4,5  $\pm$  1,8) e ao tratamento EA5 (3,5  $\pm$  1,1) que por sua vez apresentou menos CO em comparação ao tratamento controle (4,5  $\pm$  1,8). Plantas expostas ao tratamento EA15 não apresentaram componentes básicos da como conectores e nós arquitetura.

**Figura 12**: Quantidade total média  $\pm$  desvio padrão de NO e CO da parte autotrófica de *S. molesta* (n = 30 por tratamento) para os tratamentos controle (C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15) cultivadas 23 °C. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis acompanhado com pós teste de Dunn para múltiplas comparações. Letras diferentes significam diferença estatística (p < 0,05).



A macrófita *S. molesta* não apresenta raízes, apenas folhas modificadas que realizam função de raízes verdadeiras e por conta da morfologia peculiar essa macrófita não ocorre a identificação de componentes básicos da arquitetura.

# 4.2. BIOMETRIA, BIOMASSA E MODELAGEM MATEMÁTICA

### 4.2.1. Egeria densa

A quantidade de ramos produzidos pelas macrófitas submersas cultivadas em 23 °C apresentaram diferenças comparando média  $\pm$  desvio padrão entre o tratamento controle e os tratamentos de exposição (EA5, EA10 e EA15). Os tratamentos EA5, EA10 e EA15 apresentaram menores quantidades de ramos produzidos (1,2  $\pm$  0,05 e 1,1  $\pm$  0,33, 1,7  $\pm$  0,68 respectivamente) (p < 0,05) comparando com o tratamento controle (2,3  $\pm$  1,20). As macrófitas cultivadas em 27 °C apresentaram diferença significativa (p < 0,05) comparando os tratamentos de exposição com o controle. No entanto, menor quantidade de ramos foi identificada no tratamento EA5 (1,60  $\pm$  0,57) e no tratamento controle (1,70  $\pm$  0,66). Por outro lado, os tratamentos EA10 e EA15 apresentaram maiores quantidades de ramos (2,60  $\pm$  0,93 e 2,60  $\pm$  1,10 respectivamente) em comparação ao controle. Entre os tratamentos EA10 e EA15. Comparando a quantidade de ramos lorados ao final do experimento, os tratamentos apresentaram diferença significativa entre as temperaturas de 23 °C e 27 °C (Figura 13).

**Figura 13**: Comparação da quantidade média ± desvio padrão de ramos produzidos pelas *E. densa* (n = 30 por tratamento em cada temperatura) ao final do período de 60 dias. Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



Macrófitas submersas utilizadas no presente estudo e expostas ao tratamento EA10 em temperatura de 27 °C apresentaram 44% mais ramos (p < 0,05) em comparação com as macrófitas do EA10 cultivadas em temperatura de 23 °C (Figura 13). Outro destaque foi o tratamento EA15 com macrófitas cultivadas em temperatura de 27 °C que apresentou quase 56% a mais (p < 0,05) de ramos produzidos em comparação ao EA15 a 23 °C. O tratamento controle (23 °C) não foi diferente estatisticamente em relação ao controle (27 °C). Valor parecido foi registrado para macrófitas do tratamento EA5 em 27 °C, 56% mais ramos em comparação às macrófitas do tratamento EA5 em 23 °C.

Os comprimentos (mediana e valores máximos e mínimos) dos fragmentos (planta mãe) no tratamento AE15 (51 cm) cultivadas a 23 °C foram maiores quando comparando ao controle (35 cm). Por outro lado, os tratamentos AE5 (24 cm) e AE10 (30 cm) não apresentaram diferença significativa em comparação ao controle (Figura 14 A). Os comprimentos dos ramos foram diferentes entre os tratamentos AE5 (13 cm) e do tratamento AE10 (10 cm) comparados ao controle (29 cm) (p < 0,05) (Figura 14 B).

**Figura 14:** Comprimento mediano (limite máximo e mínimo) dos fragmentos (A) e ramos (B) de *E. densa* (n = 30) cultivadas a 23 °C e mensurados ao final de 60 dias. Barras verticais indicam limites máximo e mínimo dos tamanhos, as barras no centro das caixas indicam a mediano dos dados. Tratamentos controle(C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10) e extrato aquoso a 15%. Diferença estatística (p < 0,05) é indicada por letras minúsculas diferentes, o teste estatístico aplicado foi o Kruskal-Wallis e como pós teste foi o teste de Dunn.



Os fragmentos das macrófitas *E. densa* expostos aos tratamentos extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15) mantidos a 27 °C apresentaram diferença significativa em comparação ao controle (Figura 15). As diferenças do comprimento final das macrófitas expostas aos tratamentos EA5 (mediana = 33 cm), EA10 (mediana = 36 cm) e EA15 (mediana = 36 cm) foram, respectivamente, maiores (p < 0,05) que os comprimentos finais dos fragmentos do controle (mediana = 27) (Figura 15 A). Para o comprimento total dos ramos produzidos ao longo do experimento foi identificado diferença apenas entre o tratamento controle (mediana = 12) EA15 (mediana = 17) (Figura 15 B). A mediana dos comprimentos dos ramos ficou fora do limite interquartil dos comprimentos dos ramos controle. Para os comprimentos dos ramos das macrófitas expostas aos demais tratamentos, a diferença não foi significativa para a medida de tendência utilizada.

**Figura 15**: Comprimento mediano (limite máximo e mínimo) dos fragmentos (A) e ramos (B) de *E. densa* (n = 30) cultivadas em temperaturas de 27 °C e mensurados ao final de 60 dias. Barras verticais indicam limites máximo e mínimo dos tamanhos, as barras no centro das caixas indicam a mediano dos dados. Tratamentos controle(C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10) e extrato aquoso a 15%. Diferença estatística (p < 0,05) é indicada por letras minúsculas diferentes, o teste estatístico aplicado foi o Kruskal-Wallis e como pós teste foi o teste de Dunn.



A comparação do comprimento total dos fragmentos de *E. densa* entre as temperaturas de 23 °C e 27 °C expostos aos diferentes tratamentos foi possível identificar diferença apenas entre os fragmentos do tratamento controle e o tratamento EA15 (Figura 16). O comprimento dos fragmentos EA15 cultivados em 23 °C foram maiores (p < 0,05) (mediana = 51, máximo = 81 e mínimo = 22) em comparação aos fragmentos do tratamento EA15 em 27 °C (mediana = 36, máximo = 48 e mínimo = 21) (Figura 13). Foi possível notar a diferença dos comprimentos para os tratamentos em temperaturas diferentes, para macrófitas do tratamento controle (23 °C) que apresentaram comprimento mediano de 57 (comprimento máximo = 72, mínimo = 30) em comparação às macrófitas do tratamento controle cultivadas em 27 °C (mediana = 27, máximo = 40 e mínimo = 15). Outra diferença notada foi entre as macrófitas do tratamento EA15 (23 °C) que apresentaram comprimento a1% maior (p < 0,05) que as macrófitas expostas ao tratamento EA15

### (27 °C) (Figura 16).

**Figura 16**: Comparação de média ± desvio padrão do comprimento total de fragmentos das macrófitas *E. densa* (n = 30 por tratamento em cada temperatura) ao final do experimento. Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



Comparando o comprimento dos ramos produzidos pelas macrófitas submersas entre as temperaturas (23 °C e 27 °C) diferenças foram identificadas (p < 0,05) apenas para os ramos das macrófitas do tratamento controle entre as temperaturas de 23 °C e 27 °C (mediana = 29 e 12, respectivamente) (Figura 17). Os comprimentos dos ramos das macrófitas cultivadas em 27 °C de tratamentos EA5 e EA10 revelaram comprimentos ligeiramente maiores (mediana = 17 e 16, respectivamente) em comparação às macrófitas dos tratamentos EA5 e EA10 (mediana = 13 e 10, respectivamente) cultivadas em 23 °C (Figura 17).

**Figura 17**: Comparação de média ± desvio padrão do comprimento total de ramos da *E*. *densa* (n = 30 por tratamento em cada temperatura) ao final do experimento. Macrófitas cultivadas a 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



Mesmo que os comprimentos das macrófitas para os tratamentos EA5, EA10 e EA15 não tenham sido diferentes significativamente na comparação entre as duas temperaturas, foi possível identificar variação de tamanho. EA5 e EA10 em temperatura de 27 °C (mediana = 17 e 16, respectivamente) foram diferentes dos tratamentos EA5 e EA10 (mediana = 13 e 10, respectivamente) das macrófitas cultivadas na temperatura de 23 °C (Figura 14).

#### 4.2.2. Modelagem matemática de E. densa

O crescimento cumulativo dos fragmentos de *E. densa* mostrou diferenças entre os tratamentos ao longo de 60 dias de experimento para as plantas cultivadas em temperatura de 23 °C. Comparando os parâmetros de crescimento dos fragmentos entre os tratamentos, o tratamento controle indicou o maior valor de crescimento cumulativo com tendência de estabilização após o 55º dia do bioensaio.

A parametrização do crescimento dos fragmentos das macrófitas cultivadas em temperatura constante de 23 °C indicou que o tratamento com AE15 apresentou o

segundo maior valor de K (51,0  $\pm$  1,3 cm), próximo ao tratamento controle (54,7  $\pm$  10,1 cm) (Tabela 3). Os tratamentos com menores valores de K foram AE5 (33,2 cm) e AE10 (37,2 cm). AE10 apresentou o  $\mu$  na mesma ordem de magnitude observada no tratamento controle e AE15 (Tabela 3). O tempo de duplicação (td) foi de 8,0 dias para as macrófitas do tratamento controle e 8,3 para o tratamento AE10 e 8,6 para o AE15. O tratamento AE5 apresenta um td 1,8 vez maior do que outros tratamentos (Tabela 3). O coeficiente de determinação (r<sup>2</sup>) ficou entre 97 e 99% indicando alta confiabilidade nos valores obtidos em função da modelagem. Após duas semanas de crescimento com fácil identificação da fase log do crescimento, o tratamento (Figura 18 A). Por outro lado, os tratamentos AE5 e AE10 apresentaram um crescimento contínuo sem definição entre as fases de crescimento e sem indícios de estabilização (Figura 18 B, C). O tratamento AE15 apresentou crescimento acentuado, sem identificação das fases log e lag de crescimento e estabilizou no 50° dia (Figura 18 D).

**Figura 18**: Média (± desvio padrão) de comprimento (crescimento cumulativo [cm]) dos fragmentos de *E. densa* (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 23 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrões.



**Tabela 3**: Parâmetros de crescimento de fragmentos e ramos de *E. densa* (n = 30 por tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 23 ° C e luz (12/12 dia-noite). A parametrização do modelo aplicada foi a Equação 1, onde: (K) comprimento total da planta, (μ) coeficiente de crescimento (dia<sup>-1</sup>), (td) tempo de duplicação e (r<sup>2</sup>) é o coeficiente de determinação do modelo matemático. (C) tratamento de controle, (AE5) extrato aquoso 5%, (AE10) extrato aquoso 10%, (AE15) extrato aquoso 15%.

Parâmetros de	Fragmentos				Ramos			
crescimento	С	AE5	AE10	AE15	С	AE5	AE10	AE15
K (cm)	54,7±10,1	33,8±1,8	37,2±0,9	51,0±1,3	29,1±1,5	17,0±1,4	24,1±12,8	21,4±0,6
µ (dia⁻¹)	0,086±0,004	0,046±0,004	0,084±0,006	0,080±0,007	0,079±0,007	0,047±0,004	0,044±0,008	0,081±0,008
td	8,1	15,1	8,3	8,6	8,8	8,7	15,7	8,5
۲ <sup>2</sup>	0,99	0,98	0,98	0,98	0,98	0,99	0,97	0,98

O início do brotamento de ramos de *E. densa* do tratamento controle foi ao final da primeira semana (ao 7º dia do início do experimento) (Figura 19 A). AE5 produziu ramos a partir da segunda metade da 1ª semana (entre o 4º e o 5º dia do início do experimento). Ramos do EA10 brotam na metade da 2ª semana (Figura 19 B e C) e o único tratamento que produziu ramos desde o início do experimento foi o tratamento AE15 (Figura 19 D). Não foi identificado as fases de crescimento dos ramos em nenhum tratamento, além disso, as macrófitas do tratamento EA15 apresentaram estabilização do crescimento por volta do 45° dia e com maior variação entre os diferentes comprimentos. Além das macrófitas do tratamento EA15 não houve sinal de estabilização do crescimento em nenhum outro tratamento.

**Figura 19**: Média (± desvio padrão) do comprimento (crescimento cumulativo [cm]) dos ramos de *E. densa* (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 23 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrão.



A avaliação dos parâmetros de crescimento também foi usada para monitorar o desenvolvimento de ramos de *E. densa* cultivadas em temperatura de 23 °C (Tabela 3). O tratamento AE5 exibiu um comprimento máximo menor dos ramos (17,0  $\pm$  1,4 cm) em comparação ao tratamento de controle (Tabela 3). O tratamento AE15 também apresentou ramificações com comprimento máximo menor (21,4  $\pm$  0,6 cm)

do que o tratamento controle (29,1  $\pm$  1,5 cm) e o AE10 (24,1  $\pm$  12,8). O coeficiente de crescimento (µ) dos ramos variou entre os tratamentos e o menor valor foi identificado para o tratamento AE10 seguido pelo EA5 (Tabela 3).

O padrão de crescimento cumulativo dos fragmentos de macrófitas submersas expostas aos diferentes tratamentos mostrou diferenças ao longo do experimento para as plantas cultivadas em temperatura de 27 °C. Os exemplares de macrófitas do tratamento controle apresentaram crescimento sem fase log definida, tendendo a estabilização ao 45º dia de experimento (Figura 20 A). Diferentemente, o tratamento EA5 indicou crescimento cumulativo e fase log bem definida e apresentou tendência de estabilização do crescimento após o 50º dia do bioensaio (Figura 20 B). Por outro lado, o crescimento cumulativo dos tratamentos EA10 e EA15 não apresentou indícios de estabilização do crescimento (Figura 20 C e D).

**Figura 20**: Média (± desvio padrão) de comprimento (crescimento cumulativo [cm]) de fragmentos de *E. densa* (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 27 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrões.



O início do surgimento dos ramos das macrófitas submersas cultivadas a 27 °C foi variável (Figura 21 A). O brotamento dos ramos em macrófitas do tratamento controle e EA15 iniciou logo nos primeiros dias de experimento e em ambos os

tratamentos não é possível identificar as fases de crescimento (log e lag) (Figura 21 A e D). Para as macrófitas do tratamento EA5 foi identificado que o início da brotação foi ao final da primeira semana (por volta do sexto dia) e já é possível identificar as fases do crescimento (Figura 21 B). Já o tratamento EA10 ocorreu início de brotação entre os dias três e quatro a partir do início do experimento e não apresentou as fases de crescimento definidas (Figura 21 C).

**Figura 21**: Média (± desvio padrão) do comprimento (crescimento cumulativo [cm]) dos ramos de *E. densa* (n = 30 cada tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 27 °C e luz (12/12 dia-noite). (A) tratamento de controle, (B) AE5 (extrato aquoso a 5%), (C) AE10 (extrato aquoso a 10%) e (D) AE15 (extrato aquoso a 15%). Barras verticais são desvios padrão.



O desenvolvimento de ramos de *E. densa* cultivadas em temperatura de 27 °C foi avaliado por meio dos parâmetros de crescimento (Tabela 4). As plantas que apresentaram os maiores valores de comprimento total (K) foram as macrófitas expostas aos tratamentos EA10 e EA15 quando comparadas com o controle (Tabela 4). O coeficiente de crescimento ( $\mu$ ) dos ramos variou entre os tratamentos; o tratamento AE10 apresentou o menor coeficiente de crescimento dos ramos entre todos os tratamentos (Tabela 4). Já em relação ao tempo de duplicação, o tratamento EA5 foi o que apresentou macrófitas com o menor valor médio (± desvio padrão) entre

todas as macrófitas dos outros tratamentos (Tabela 4). Para todos os parâmetros avaliados o coeficiente de determinação foi de 99% na maioria dos tratamentos, isso mostra que a distribuição dos valores de crescimento convergiu com o modelo matemático proposto.

**Tabela 4**: Parâmetros de crescimento de fragmentos e ramos de *E. densa* (n = 30 por tratamento) durante 60 dias em condições controladas de 27 ° C e luz (12/12 dia-noite). A parametrização do modelo aplicada foi a Equação 1, onde: (K) comprimento total da planta, (μ) coeficiente de crescimento (dia<sup>-1</sup>), (td) tempo de duplicação e (r<sup>2</sup>) é o coeficiente de determinação do modelo matemático. (C) tratamento de controle, (AE5) extrato aquoso 5%, (AE10) extrato aquoso 10%, (AE15) extrato aquoso 15%.

Parâmetros de	Fragmentos				Ramos			
crescimento	С	AE5	AE10	AE15	С	AE5	AE10	AE15
K (cm)	28,4±0,5	33,1±0,4	35,4±0,9	37,9±0,9	13,6±0,6	16,5±0,3	22,9±2,9	20,6±0,6
µ (dia⁻¹)	0,029±0,004	0,010±0,004	0.083±0,006	0,066±0,004	0,066±0,006	0,144±0,008	0,056±0,005	0,082±0,004
td	13,1	6,9	8,4	10,5	10,5	4,8	12,3	8,5
r <sup>2</sup>	0,99	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99

#### 4.2.3. Salvinia molesta

O comprimento de rizomas dos exemplares de *S. molesta* cultivadas a 23 °C apresentou diferença apenas para as macrófitas expostas ao tratamento EA10 (mediana = 0,3 cm) em comparação as macrófitas expostas ao tratamento controle (mediana = 1,3 cm) (Figura 22). As macrófitas flutuantes expostas ao tratamento EA15 não apresentaram produção de rizomas.

**Figura 22**: Comprimento mediano (limite máximo e mínimo) dos rizomas de *S. molesta* (n = 30) cultivadas a 23 °C e mensurados ao final de 60 dias. Barras verticais limites máximo e mínimo dos tamanhos, as barras no centro das caixas indicam a mediano dos dados. Tratamentos controle(C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15). Diferença estatística (p < 0,05) é indicada por letras minúsculas diferentes, o teste estatístico aplicado foi o Kruskal-Wallis e como pós teste foi o teste de Dunn.



Não foi possível realizar a parametrização do crescimento dos brotos de estágio um de desenvolvimento da *S. molesta* cultivada a 23 °C.

### 4.2.4. Biomassa de Egeria densa

A biomassa seca (média  $\pm$  desvio padrão) da parte autotrófica (caules e folhas) de *E. densa* cultivada em temperatura de 23 °C apresentou diferença significativa (p < 0,05) na comparação dos tratamentos AE5 (0,099  $\pm$  0,029 g), AE10 (0,096  $\pm$  0,02 2 g) e AE15 (0,140  $\pm$  0,067 g) com o tratamento de controle (0,180  $\pm$  0,068 g) (Figura 23). Mas, mesmo não tendo sido identificada diferença estatística entre os tratamentos de exposição, é possível ver que o tratamento AE15 foi 1,4 vezes maior do que AE5 e AE10.

**Figura 23**: Média (± desvio padrão) da biomassa seca da parte autotrófica de *E. densa* (n = 30 por tratamento) mensurada ao final do experimento, temperatura 23 °C e iluminação de 12/12 (dia e escuro). Controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10) e extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Letras diferentes indicam diferença significativa (p < 0.05) comparando com o tratamento controle. Barras verticais indicar o desvio padrão para cada variável. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis e aplicação do teste de Dunn como pós teste.



A comparação da biomassa seca da parte autotrófica de *E. densa* (n = 30 macrófitas por tratamento) expostas aos tratamentos controle, EA5, EA10 e EA15 em temperatura de 27 °C revelou diferença significativa. As macrófitas expostas ao tratamento EA15 apresentaram menor biomassa seca (0,65 ± 0,01 g) em comparação às plantas do tratamento controle (0,13 ± 0,04 g) (Figura 24). Os tratamentos EA5 e EA10 não apresentaram diferença significativa em relação as plantas do tratamento controle, mas foi possível notar que EA5 e EA10 apresentaram biomassas ligeiramente maior (0,14 ± 0,03 g e 0,15 ± 0,02 g, respectivamente) que as plantas do tratamento controle.

**Figura 24**: Média (± desvio padrão) da biomassa seca da parte autotrófica de *E. densa* (n = 30 por tratamento) mensurada ao final do experimento, temperatura 27 °C e iluminação de

12/12 (dia e escuro). Controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10) e extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Letras diferentes indicam diferença significativa (p < 0.05) comparando com o tratamento controle. Barras verticais indicar o desvio padrão para cada variável. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis e aplicação do teste de Dunn como pós teste.



Comparação entre biomassa seca de *E. densa* expostas aos três tratamentos e o controle em temperatura de 23 °C e 27 °C revelou diferenças significativas (Figura 25). De maneira geral, não houve um padrão na diferença entre as amostras pois, apenas as plantas do controle  $(0,18 \pm 0,07 \text{ g})$  e tratamento EA15  $(0,14 \pm 0,07)$ ; cultivadas em 23 °C apresentaram maiores valores de biomassa em comparação as macrófitas expostas aos mesmos tratamentos cultivadas em 27 °C (controle: 0,13 ± 0,04 g e EA5: 0,06 ± 0,01) (Figura 25). As macrófitas dos tratamentos EA5 e EA10  $(0,09 \pm 0,1 \text{ e } 0,09 \pm 0,1, \text{ respectivamente})$  em temperatura de 23 °C foram menores em relação as macrófitas dos tratamentos homólogos cultivadas (EA5: 0,14 ± 0,03 e EA10: 0,15 ± 0,02) em temperatura de 27 °C (Figura 25).

**Figura 25**: Comparação da biomassa seca (média ± desvio padrão) da parte autotrófica das macrófitas submersas (n = 30 macrófitas por tratamento) ao final de 60 dias. Barras pretas são referentes a plantas cultivadas em temperatura de 23 °C. Barras cinzas são referentes a plantas cultivadas em temperatura de 27 °C. Controle (C), extrato aquoso a concentração de 5% (EA5), extrato aquoso a concentração de 10% (EA10), extrato aquoso a concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



## 4.2.5. Biomassa de Salvinia molesta

Os resultados da avaliação da biomassa seca da parte autotrófica da macrófita *S. molesta* indicou diferença significativa entre os tratamentos das macrófitas cultivadas a 23 °C. O tratamento com que apresentou menor biomassa seca foi o tratamento EA15 (0,0021 ± 0,00072) quando comparado com o tratamento controle (0,0056 ± 0,0034), tratamentos EA5 (0,0093 ± 0,004) e EA10 (0,014 ± 0,0051) (Figura 26). É possível notar que ocorreu grande diferença entre os tratamentos, o tratamento EA15 apresentou macrófitas com menores valores das variáveis avaliadas.

**Figura 26**: Média (± desvio padrão) da biomassa seca da parte autotrófica de *S. molesta* (n = 30 por tratamento) mensurada ao final do experimento, temperatura 23 °C e iluminação de 12/12 (dia e escuro). Controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10) e extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Letras diferentes indicam diferença significativa (p < 0.05) comparando com o tratamento controle. Barras verticais indicar o desvio padrão para cada variável. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis e aplicação do teste de Dunn como pós teste.



### 4.3. Parte Heterotrófica

### 4.3.1. Egeria densa

O número de raízes para *E. densa* não apresentou diferença significativa comparando as macrófitas cultivadas a 23 °C e 27 °C para os diferentes tratamentos. Além da quantidade de raízes não ter revelado diferença estatística, o comprimento das raízes também não apresentou diferenças estatística (p > 0,05).

Quanto ao comprimento das raízes foi identificada diferenças sutis tanto para macrófitas cultivadas em temperatura de 23 °C. O comprimento mediano (máximo e mínimo) das raízes para a temperatura de 23 °C apresentou diferença significativa (p < 0,05) para o tratamento AE5 (29 cm) quando comparado com o controle (39 cm) e os tratamentos AE10 (36 cm) e AE15 (41 cm) (Figura 27).

**Figura 27**: Comprimento mediano total de raízes de *E. densa* (n = 30) cultivadas por 60 dias em temperatura de 23 °C e fotoperíodo de 12/12 horas claro e escuro. Tratamento controle (C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15).
Diferença estatística é indicada por letras diferentes (p < 0,05), teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis.



A mensuração do comprimento das raízes de macrófitas expostas aos diferentes tratamentos (controle, EA5, EA10 e EA15) a 27 °C não revelou diferença significativa. Por outro lado, comparando o comprimento das raízes das macrófitas expostas aos diferentes tratamentos (controle, EA5, EA10 e EA15) entre temperaturas diferentes (23 °C e 27 °C) foi identificada diferença significativa. Macrófitas expostas ao tratamento EA5 em temperatura de 23 °C apresentaram menores comprimento de raízes (28,0 ± 7,0 cm) em comparação aos comprimentos das raízes de macrófitas expostas ao tratamento EA5 em temperatura de 27 °C (44,4 ± 11,3 cm) (Figura 28). Para o comprimento das raízes das macrófitas expostas aos tratamentos controle, EA10 e EA15 não houve diferença quando comparadas entre as diferentes temperaturas.

**Figura 28**: Comparação do comprimento médio ± desvio padrão de raízes de *E. densa* (n = 30 por tratamento em cada temperatura) mensurada ao final do experimento. Macrófitas cultivadas em temperatura de 23 °C (barras pretas) e macrófitas cultivadas em 27 °C (barras listradas) expostas aos tratamentos controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10), extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Teste multiparamétrico realizado foi a ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pares de tratamento em diferentes temperaturas.



A biomassa da parte heterotrófica (raízes) apresentou diferenças significativas entre os tratamentos para as macrófitas cultivadas em temperatura de 23 °C (Tabela 5).

**Tabela 5**: Biomassa seca média (± desvio padrão) das raízes de *E. densa* (n = 30 macrófitas por tratamento) cultivadas a 23 °C e 27 °C e período luminoso de 12/12 (dia/noite). Controle (C), extrato aquoso a concentração de 5% (EA5), extrato aquoso a concentração de 10% (EA10), extrato aquoso a concentração de 15% (EA15). Para a comparação entre os tratamentos de mesma temperatura foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn e letras minúsculas indicam diferença entre os grupos cultivados na mesma temperatura. A comparação de biomassa seca de cada tratamento em função da temperatura foi aplicado teste multiparamétrico ANOVA Two-way com pós teste de Tukey, letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa (p < 0,05) entre as temperaturas e letras minúsculas indicam diferença significativa entre os tratamentos.

	Biomassa (g)				
Temperatura (°C)	С	EA5	EA10	EA15	
23 °C	0,06±0,07 <sub>Aa</sub>	0.02± 0,01 <sub>Bc</sub>	$0,01\pm0,01_{Bc}$	0,04±0,05 <sub>Ab</sub>	
27 °C	$0,02\pm0,02_{Ca}$	$0.01 \pm 0,00_{Bb}$	$0,01\pm0,00_{Bb}$	0,01±0,00 <sub>Bb</sub>	

A biomassa seca do tratamento controle foi 4 vezes maior do que AE5, 4,5 vezes maior do que os tratamentos AE10 e 1,4 vezes maior do que AE15. Entre os três tratamentos notamos diferença significativa (p < 0,05) quando comparamos o tratamento AE15 ( $0,064 \pm 0,07$  g) com AE5 ( $0,016 \pm 0,012$  g) e AE10 ( $0,045 \pm 0,049$  g) (Tabela 5). A biomassa seca das raízes de macrófitas cultivadas em temperatura de 27 °C também apresentou diferença entre as macrófitas dos tratamento em comparação as macrófitas do tratamento controle (Tabela 5). Identifiquei diferença significativa quando comparada a biomassa seca das raízes de cada tratamento entre as temperaturas de 23 °C e 27 °C. As macrófitas (tratamento controle) cultivadas em temperatura de 27 °C apresentaram 33% menos biomassa seca em comparação as macrófitas cultivadas em 23 °C. Outro tratamento cujas macrófitas apresentaram diferença significativa quando comparadas entre as temperaturas foram do tratamento EA15. As macrófitas cultivadas a 27 °C apresentaram biomassa seca das raízes 25% menores que macrófitas cultivadas em temperatura de 23 °C (Tabela 5).

#### 4.3.2. Salvinia molesta

A quantidade de raízes produzidas pela *S. molesta* diferiu entre os tratamentos, começando pelo tratamento EA15 que não produziu raiz. Comparando os tratamentos EA5  $(4,0 \pm 1,0)$  e EA10  $(3,2 \pm 1,1)$  com as macrófitas do tratamento controle  $(1,7 \pm 1,3)$  ficou evidente que as macrófitas expostas a menor concentração de extrato produziram mais raízes em comparação com as macrófitas dos tratamentos controle e EA10 (Figura 29).

**Figura 29**: Quantidade média  $\pm$  desvio padrão de raízes produzidas pela *S. molesta* (n = 30 macrófitas por tratamento) ao final do experimento. Controle (C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10), extrato aquoso a 15% (EA15). Diferença estatística é indicada por letras diferentes (p < 0,05), teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis.



A mensuração do comprimento das raízes revelou diferenças estatística entre todos os tratamentos (controle, EA5 e EA10). O tratamento EA10 (mediana = 8,6 cm) foi o que apresentou maior comprimento de raízes em comparação com o controle (mediana = 2,1 cm) e EA5 (mediana = 5,7 cm) (Figura 30).

**Figura 30**: Comprimento mediano (limite superior e limite inferior) das raízes de macrófitas *S. molesta* expostas a dois concentrações de extrato aquoso e um tratamento sem o extrato: controle (C), extrato aquoso a 5% (EA5), extrato aquoso a 10% (EA10). Diferença estatística é indicada por letras diferentes (p < 0,05), teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis.



A alocação de biomassa para as raízes da *S. molesta* seguiu um padrão de diferença similar ao que ocorreu com o comprimento das raízes. *S. molesta* expostas ao tratamento EA10 apresentaram a maior biomassa seca em comparação aos outros tratamentos. Enquanto as macrófitas cultivadas no tratamento controle apresentaram 0,002  $\pm$  0,0007 g de biomassa seca de raízes o tratamento EA10 apresentaram 4 vezes mais biomassa (0,0076  $\pm$  0,0036). *S. molesta* expostas ao tratamento EA5 ocorreu valor intermediário de biomassa seca (0,0036  $\pm$  0,002) (Figura 31).

**Figura 31**: Média ± desvio padrão da biomassa seca de raízes da *S. molesta* (n = 30 por tratamento) mensurada ao final do experimento, temperatura 23 °C e iluminação de 12/12 (dia e escuro). Controle (C), extrato aquoso em concentração de 5% (EA5), extrato aquoso em concentração de 10% (EA10) e extrato aquoso em concentração de 15% (EA15). Letras diferentes indicam diferença significativa (p < 0.05) comparando com o tratamento controle. Barras verticais indicar o desvio padrão para cada variável. Teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis e aplicação do teste de Dunn como pós teste.



### 5. DISCUSSÃO

Estudos identificaram biocompósitos alelopáticos metabolizados em órgãos das macrófitas do gênero Typha spp., incluindo a espécie T. domingensis, apresentam aleloquímicos como esteróides e ácidos graxos (ALIOTTA et al., 1990), 2-clorofenol e salicilaldeído (GALLARDO; MARTIN; MARTIN, 1998; PRINDLE; MARTIN, 1996). O extrato utilizado de *T. domingensis* no presente estudo identificou a presença de aleloquímicos de diversos grupos químicos (Anexo A). No que tange a arquitetura da macrófita, a temperatura de 27 °C favoreceu a produção de NO e CO em E. densa. E. densa está inserida em um ambiente aquático que apresente equilíbrio ecológico sua presenca pode ser benéfica para toda comunidade aquática. A temperatura pode afetar positivamente o crescimento e desenvolvimento da espécie E. densa (HARAMOTO; IKUSIMA, 1988; YARROW et al., 2009) e a presença do extrato em maior concentração (tratamento EA15 – 23 °C e 27 °C) pode ter inibido a extensão da copa (Figuras 5 e 6). Por outro lado, plantas dos demais tratamentos (EA5 e EA10) podem ter apresentado maior crescimento devido a presença de possíveis compostos aleloquímicos. Nesse sentido, determinados aleloquímicos apresentam características que podem proporcionam às plantas maior resistência a alterações ambientais (EINHELLIG; ECKRICH, 1984).

Taxa de crescimento e tempo de duplicação fazem parte de parâmetros de crescimento que revelam as estratégias de ocupação de uma área pelas macrófitas (BIANCHINI et al., 2015). Outros pesquisadores têm mostrado que a taxa de crescimento da *E. densa* pode variar de 0,009 a 0,107 dia<sup>-1</sup> (PISTORI et al., 2004). Ainda, MACHADO, R.; BIANCHINI, I.; CUNHA-SANTINO, M. B. (2020) identificaram que *E. densa* expostas a temperaturas de 27 °C apresentaram crescimento maior que as macrófitas em 25 °C. No presente estudo, foi verificado que em condições controladas *ex situ* a taxa de crescimento de fragmentos e ramos secundários foram abaixo da taxa de crescimento do controle e o tempo de crescimento foi maior (Tabela 3). Essa pode ser uma resposta à presença da menor concentração de extrato (5%) aplicada no tratamento EA5. Dessa forma, macrófitas submersas (como *E. densa*) que experimentam temperaturas acima de 23 °C podem apresentar copa mais extensa na presença de compostos potencialmente alelopáticos. Ou seja, tanto os fragmentos quanto ramos não apresentaram parâmetros ótimos de crescimento,

condição que pode afetar negativamente a propagação da espécie. Por outro lado, pesquisadores têm mostrado que espécies invasivas apresentam grande resistência e resiliência frente a fatores estressantes (bióticos ou abióticos) (THIÉBAUT et al., 2020). No caso da macrófita flutuante *S. molesta*, a arquitetura não apresentou diferença estatística, fato que pode estar relacionado com a fase de desenvolvimento. Espécies que apresentam reprodução assexuada desenvolvem estratégias de colonização como a arquitetura complexa dos rizomas como é o caso da *S. molesta* (ROOM, 1983; 1988).

O número de ramos produzidos por E. densa, expostas ao AE5 (23 °C), diminuiu as chances de sobrevivência dos novos ramos no ambiente. Por outro lado, a exposição das macrófitas do AE15 (23 °C e 27 °C) no tratamento quantidade dos ramos foi diferente ao controle, ou seja, as concentrações dos tratamentos AE10 e AE15 parece não ter interferido na regeneração das plantas. Regeneração é a capacidade de desenvolvimento (de crescer e se estabelecer no ambiente) que um fragmento de macrófita apresenta após seu desprendimento da planta original (BARRAT-SEGRETAIN; BORNETTE; HERING-VILAS-BÔAS, 1998; RIIS; MADSEN; SENNELS, 2009). No caso das macrófitas cultivadas a 27 °C a presença de extrato associada a temperatura pode ter estimulado a produção de ramos. Em uma comunidade onde ocorra maior quantidade de ramos produzidos pode indicar que em um cenário com temperatura acima de 23 °C a *E. densa* é capaz de propagação. Esse fato corrobora com os dados encontrados por HARAMOTO; IKUSIMA (1988) onde notaram que em altas temperaturas a *E. densa* pode dominar o ambiente. Ainda, outros pesquisadores identificaram que o crescimento de E. densa é favorecido em temperaturas altas. MACHADO; BIANCHINI; CUNHA-SANTINO (2020) identificaram que mesmo em diferentes níveis de turbidez, quando a *E. densa* foi cultivada em temperatura de 27 °C ocorreu favorecimento do crescimento. Outro grupo de pesquisadores notou que mesmo na presença de surfactantes em diferentes concentrações E. densa apresentou maior crescimento em comparação com tratamento controle (WANDERLEY; BIANCHINI; CUNHA-SANTINO, 2021).

Para a macrófita flutuante, *S. molesta*, não houve estímulo de produção para rizomas laterais. Dessa forma, a estabilidade da comunidade pode ser fragilizada, já que *S. molesta* tem como estratégia de colonização a expansão de ramos laterais (BARTHÉLÉMY; CARAGLIO, 2007; ROOM, 1984). Em adição, fatores bióticos como

presença de fito-hormônios que regulam desde o ângulo de inserção de ramos (no caso da *E. densa*) ou rizomas (no caso da *S. molesta*) bem como fatores ambientais (ROOM, 1984) podem alterar a capacidade de propagação da macrófita.

Não só a produção de novos ramos, mas também o alongamento de fragmentos e ramos foram afetados. Em condições de bioensaio E. densa tendeu a apresentar altas taxas de crescimento com variação t<sub>d</sub> (de alguns dias a semanas) e o crescimento máximo é controlado pela densidade de espécimes (PISTORI; CAMATGO; HENR-SILVA, 2004). Nessa pesquisa foram identificados ambos os efeitos (inibição e estimulação) no crescimento e desenvolvimento das macrófitas. O crescimento de *E. densa* no tratamento AE5 a 23 °C apresentou os menores valores de alongamento para os fragmentos e ramos. De maneira geral, as macrófitas responderam positivamente a presença de extrato em ambas as temperaturas, 23 °C e 27 °C. Vários pesquisadores demonstram que a temperatura é um dos fatores determinantes para o crescimento de macrófitas aquáticas (PISTORI; CAMATGO; HENR-SILVA, 2004; RIIS et al., 2012; RIIS; MADSEN; SENNELS, 2009). Mas no caso do presente estudo é possível notar que referente ao comprimento de ramos e fragmentos as plantas expostas apresentaram aumento. Dito isso, Bottino et al. (2018) indicaram que lixiviado de Pistia stratiotes (macrófita flutuante) resultou em aumento na produção de Chlamydomonas moewusii provavelmente devido a concentração de matéria orgânica dissolvida (MOD). O menor crescimento dos fragmentos apresentado pelas macrófitas expostas ao AE5 em 23 °C pode ter sido influenciado pela possível presença de compostos fenólicos como alguns tipos de flavonoides, compostos que são encontrados na T. domingensis (GALLARDO et al., 1999; PRINDLE; MARTIN, 1996). Em adição, macrófitas cultivadas em temperatura de 27 °C apresentaram menores comprimentos em comparação as macrófitas cultivadas em temperatura de 23 °C que pode ser devido a possível combinação de alta temperatura e presença do extrato. Os compostos fenólicos desempenham um papel importante no transporte de elétrons nas enzimas envolvidas no fotossistema, resultando em menor eficiência na assimilação de nutrientes (LEU et al., 2002). Os bioensaios com S. molesta demonstraram que o estágio um de desenvolvimento é vulnerável a agentes estressores. Tanto a falta de desenvolvimento da arquitetura quanto pelo comprimento dos rizomas das macrófitas expostas ao tratamento EA10 (Figura 15) é possível que a presença do EA possa ter afetado o crescimento de novos ramos. Como em uma pesquisa conduzida por GALLARDO, M. T.; MARTIN, B. B.; MARTIN, D. F. (1998), observaram que o extrato de *T. domingensis* provocou inibição do crescimento de *S. molesta* de maneira similar ao que os compostos sintéticos 2-clorofenol e salicilaldeido provocaram. Menor quantidade de NO e CO aliados a menores comprimentos de ramos podem ser indícios de que o processo de crescimento e desenvolvimento da *S. molesta* foi afetado, pelo menos a 23 °C. Dessa forma, pode não ocorrer o aumento populacional de *S. molesta*, mesmo que em uma região rica em nutrientes.

As macrófitas são reconhecidamente os principais produtores primários nos sistemas aquáticos continentais, ultrapassando 50% da produção total (WETZEL, 1990). Nesse sentido, outro fator que talvez tenha influenciado o estímulo ao crescimento das *E. densa* cultivadas no tratamento AE15 pode estar relacionado ao sinergismo e à concentração de diferentes biomoléculas (GHEZAL et al., 2017; LORENZEN et al., 2001; MENDES; VERMELHO, 2013). Ghezal et al. (2017) observaram o estímulo ao crescimento de mudas de pera em um experimento realizado com diferentes tipos de extratos de *Typha angustifolia*, incluindo extrato aquoso. Ainda, diferentes autores têm demonstrado que macrófitas aquáticas são as maiores responsáveis pela disponibilidade de matéria orgânica dissolvida (MOD) (BOTTINO et al., 2018; WETZEL, 2001). Esta pode ser uma outra possível explicação para o crescimento da *E. densa* exposta ao AE15 terem apresentado em fragmentos e ramos.

A arquitetura e comprimento médio das raízes de *E. densa* no tratamento AE5 em 23 °C configurou uma extensão menor do sistema radicular. Assim, com menor alongamento da raiz, sua capacidade de transporte de nutrientes (PEDERSEN, 1993; PEDERSEN; SAND-JENSEN, 1993) talvez tenha afetado o desenvolvimento da macrófita. Gallardo et al. (1998) mostraram que o extrato aquoso de raízes de *T. domingensis* inibiu o crescimento da macrófita *S. minima* (Willd.). Dessa forma, valores menores de comprimento radicular, podem estar relacionados à inibição de processos metabólicos ligados à síntese de proteína fosfatase causada por diferentes tipos de biocompostos alelopáticos (AMORIM; ULISSES; MOURA, 2017; LUAN, 2003; SMITH; WALKER, 1996). Dito isso, pode ser que o motivo das macrófitas cultivadas terem apresentado diferença na comparação de arquitetura pode estar relacionada com a temperatura do que com os extratos.

Plantas expostas aos tratamentos AE10 e AE15 apresentaram os maiores valores de conectores (CO) e nós (NO) e com uma arquitetura extensa poderiam suportar o crescimento de uma nova coorte de ramos. E. densa apresenta dois mecanismos de assimilação de carbono, via C3 e C4 (PRINS; ELZENGA, 1989; RASCIO et al., 1991), e uma possível maior concentração de carbono inorgânico presente em maior concentração talvez tenha estimulado a produção de uma nova coorte (GRACE, 1993; UMETSU; EVANGELISTA; THOMAZ, 2012). A classe de aleloquímicos que ocorre em concentrações mais elevadas em extratos aquosos de T. domingensis são ácidos graxos essenciais, ácido linoléico e alfa-linoléico (GALLARDO-WILLIAMS et al., 2002) que podem ser uma fonte de nutrientes para algumas espécies em baixas concentrações. Ainda, alguns estudos mostraram que plantas com raízes dicotômicas são mais eficientes na aquisição de nutrientes e requerem menos energia para a produção e apresentam rápido crescimento radicular (HUANG et al., 2018; JACKSON; MOONEY; SCHULZE, 1997). E. densa apresenta sistema radicular dicotômico de raízes que se caracteriza por um sistema radicular sem a presença de uma raiz central e longa (BOUMA et al., 2001; FITTER, 2008).

Espécies com habilidade de se tornarem invasoras alteram a alocação de nutrientes para que possam se reproduzir, nesse caso, propagar novos ramos (BARRAT-SEGRETAIN, 2001; BARRAT-SEGRETAIN; BORNETTE; HERING-VILAS-BÔAS, 1998) como é o caso da *E. densa*. Para *E. densa* em todos os tratamentos EA e em ambas as temperaturas, a média total de biomassa seca foi menor quando comparada ao tratamento controle. Os compostos presentes no meio de crescimento podem afetar o metabolismo das macrófitas em diferentes níveis e organização dos órgãos das plantas (ALIOTTA et al., 1990), dessa forma a retenção de biomassa tende a diminuir. No entanto, nossos resultados não corroboram a informação de que aleloquímicos aplicados em baixas concentrações estimulam o crescimento de organismos (JAMIL et al., 2009).

A presença de diferentes concentrações de AE proporcionou um efeito negativo na biomassa de macrófitas cultivadas em temperatura de 23 °C o que pode indicar que apenas a presença dos extratos pode ter interferido no desenvolvimento das macrófitas. As macrófitas cultivadas em temperaturas de 27 °C não apresentaram um padrão na ação do extrato aquoso avaliando apenas as variáveis isoladamente. Porém, quando ocorre comparação entre as temperaturas fica nítido que com a

presença de maior concentração do extrato ocorre a inibição do crescimento e desenvolvimento das macrófitas.

Por fim, a alocação de biomassa foi afetada nos exemplares de *E. densa* cultivados em 23 °C e 27 °C. A redução da alocação de biomassa implica em diminuição na proliferação de novos brotos resultando em diminuição de matéria orgânica proveniente da decomposição dessas macrófitas (BIANCHINI JÚNIOR, 2003). Por outro lado, é possível inferir que *E. densa* e *S. molesta* apresentou investimento energético para o crescimento de seus fragmentos em detrimento dos ramos e armazenamento de biomassa. Essa resposta pode estar relacionada a presença do EA, uma vez que não havia a ação de nenhum fator limitante como luz e nutrientes.

Do ponto de vista ecológico, utilizar a modelagem matemática possibilitou entender a dinâmica do crescimento e desenvolvimento de macrófitas com maior refino como resposta a fatores estressantes (BEST et al., 2001); no caso desse estudo, o extrato aquoso e a temperatura e pelo menos para *E. densa*. No mesmo sentido, os componentes básicos da arquitetura (conectores e nós) estão relacionados com diversas funções como aquisição espacial, evitar sombreamento, estratégia de propagação (BARTHÉLÉMY; CARAGLIO, 2001). Assim, em um cenário de alterações intensas na temperatura atmosférica (IPCC, 2019), é possível observar alterações nas características das plantas o que pode auxiliar na tomada de decisão para possíveis ações de controle de crescimento dessas macrófitas.

#### 6. CONCLUSÕES

Os componentes básicos da arquitetura de *E. densa* foram influenciados negativamente no tratamento EA15 (extrato aquoso 15%) a 23 °C e 27 °C. Comparando entre temperaturas a quantidade de NO foi maior nas *E. densa* em 27 °C indicando que a temperatura foi determinante nesse caso. Para os CO e NO das raízes, houve leve estímulo na produção de CO em ambas as temperaturas. A influência dos EA na arquitetura da *S. molesta* foi evidente.

Em relação a biometria, ocorreu a inibição na produção de ramos de *E. densa* apenas em 23 °C nos tratamentos EA. Enquanto isso, apenas o tratamento EA5 (extrato 5%) em 27 °C inibiu a produção de ramo de *E. densa*. No caso da *S. molesta*, ocorreu inibição do crescimento dos rizomas em todos os tratamentos de EA em 23 °C. Assim, *E. densa* exposta aos tratamentos EA em 23 °C podem ter sido mais eficientes para inibir a produção de ramos que em 27 °C.

Os parâmetros de crescimento da *E. densa* indicam inibição dos fragmentos quanto ao comprimento máximo (K), e coeficiente de crescimento (µ) resultando no aumento do tempo de duplicação (t<sub>d</sub>). Esse é um forte indício que os tratamentos EA5 e EA10 foram mais determinantes na inibição do crescimento em 23 °C. Para os ramos de *E. densa*, o tratamento EA5 foi mais eficiente para inibir crescimento de novos ramos além de retardar o surgimento de novos ramos. Já os tratamentos em 27 °C apresentaram aumento nos valores dos parâmetros de crescimento, indicando que a temperatura pode ter estimulado não apenas o comprimento máximo, mas o coeficiente de crescimento também.

A biomassa autotrófica de *E. densa* nos tratamentos EA também foi menor em *E. densa* cultivadas em 23 °C, em contraste as plantas cultivadas em 27 °C que apenas as macrófitas do tratamento EA15 apresentaram redução drástica em sua biomassa. Na comparação entre as temperaturas, *E. densa* cultivada em 27 °C tendeu a apresentar valores das características de crescimento maiores que as cultivadas em 23 °C.

Assim, em um cenário onde a temperatura média global pode aumentar até 4 °C no fim do século, pode ser que os extratos aquosos estimulem o crescimento em menores concentrações que em maiores. Para afirmar que seja realmente possível o controle do crescimento e desenvolvimento da espécie em questão é necessário que mais estudos sejam feitos.

## REFERÊNCIAS

ALIOTTA, G. et al. In vitro algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia* L. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 9, p. 2637–2646, 1990.

AMORIM, C. A.; ULISSES, C.; MOURA, A. N. Biometric and physiological responses of *Egeria densa* Planch. cultivated with toxic and non-toxic strains of Microcystis. **Aquatic Toxicology**, v. 191, p. 201–208, 2017.

ASAEDA, T. et al. Latitudinal characteristics of below- and above-ground biomass of Typha: a modelling approach. **Annals of Botany**, v. 96, n. 2, 2005.

BARKO, J. W.; ADAMS, M. S.; CLESCERI, N. L. Environmental factors and their consideration in the management of submersed aquatic vegetation: a review. **Journal of Aquatic Plant Management**, v. 24, p. 1–10, 1986.

BARKO, J. W.; SMART, R. M. Comparative influences of light and temperature on the growth and metabolism of selected submersed freshwater macrophytes. **Ecological Monographs**, v. 51, n. 2, p. 219–236, 1981.

BARRAT-SEGRETAIN, M.-H. Biomass allocation in three macrophyte species in relation to the disturbance level of their habitat. **Freshwater Biology**, v. 46, n. 7, p. 935–945, 2001.

BARRAT-SEGRETAIN, M.-H.; BORNETTE, G.; HERING-VILAS-BÔAS, A. Comparative abilities of vegetative regeneration among aquatic plants growing in disturbed habitats. **Aquatic Botany**, v. 60, n. 3, p. 201–211, 1998.

BARTHÉLÉMY, D.; CARAGLIO, Y. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. **Annals of Botany**, v. 99, n. 3, p. 375–407, 2007.

BELLARD, C.; BERTELSMEIER, C.; LEADLEY, P.; THUILLER, W.; COUCHAMP, F. Impacts of climate change on the future of biodiversity. **Ecology letters**, v. 15, n. 4, p. 365-377, 2012.

BELLAVANCE, M.-E.; BRISSON, J. Spatial dynamics and morphological plasticity of common reed (*Phragmites australis*) and cattails (*Typha sp.*) in freshwater marshes and roadside ditches. **Aquatic Botany**, v. 93, n. 2, p. 129–134, 2010.

BEST, E. P. et al. Modeling submersed macrophyte growth in relation to underwater light climate: modeling approaches and application potential. **Hydrobiologia**, v. 444, n. 1, p. 43–70, 2001.

BIANCHINI, I. et al. Growth of *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle under controlled conditions. **Hydrobiologia**, v. 644, n. 1, p. 301–312, 2010.

BIANCHINI JR, I. et al. Model parametrization for the growth of three submerged aquatic macrophytes. **Journal of Aquatic Plant Management**, p. 64–73, 2015.

BIANCHINI JR, I.; PACOBAHYBA, L. D.; CUNHA-SANTINO, M. B. Aerobic and anaerobic decomposition of Montrichardia arborescens (L.) Schott. Acta Limnologica Brasiliensia, v. 14, n. 3, p. 27–34, 2002.

BIANCHINI JÚNIOR, I. Modelos de crescimento e decomposição de macrófitas aquáticas. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas. Maringá: Eduem**, p. 85–126, 2003.

BONANNO, G.; CIRELLI, G. L. Comparative analysis of element concentrations and translocation in three wetland congener plants: *Typha domingensis*, *Typha latifolia* and *Typha angustifolia*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 92–101, 2017.

BORNETTE, G.; PUIJALON, S. Response of aquatic plants to abiotic factors: a review. **Aquatic Sciences**, v. 73, n. 1, p. 1–14, 2011.

BOTTINO, F. et al. Effects of macrophyte leachate on *Anabaena sp.* and *Chlamydomonas moewusii* growth in freshwater tropical ecosystems. **Limnology**, v. 19, n. 2, p. 171–176, 2018.

BOUMA, T. J. et al. Root system topology and diameter distribution of species from habitats differing in inundation frequency. **Functional Ecology**, v. 15, n. 3, p. 360–369, 2001.

CANCIAN, L. F. UNESP. Crescimento das macrófitas aquáticas flutuantes *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta* em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo. p. iii, 54 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, 2007.

CARRILLO, Y.; GUARÍN, A.; GUILLOT, G. Biomass distribution, growth and decay of *Egeria densa* in a tropical high-mountain reservoir (NEUSA, Colombia). **Aquatic Botany**, v. 85, n. 1, p. 7–15, 1 jul. 2006.

CARVALHO, C. F. M. DE et al. Phytoremediation of barium-affected flooded soils using single and intercropping cultivation of aquatic macrophytes. **Chemosphere**, v. 214, p. 10–16, 2019.

CHAMBERS, P. A. et al. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. In: **Freshwater animal diversity assessment**. [s.l.] Springer, 2007. p. 9–26.

CHAMBERS, P. A. et al. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 9–26, 2008.

CHAPMAN, D. et al. *Salvinia molesta* D.S. Mitch. **EPPO Bulletin**, v. 47, n. 3, p. 531–536, 2017.

COOK, C. D. K. (ED.). Water plants of the world: a manual for the identification of the genera of freshwater macrophytes. The Hague: Junk, 1974.

COOK, C. D. The number and kinds of embryo-bearing plants which have become aquatic: a survey. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 2, n. 1, p. 79–102, 1999.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR, I. Colonização de macrófitas aquáticas em ambientes lênticos. **Boletim ABlimno**, v. 39, p. 1 – 14, 2011.

DA SILVA, A. A. et al. Phytoremediation potential of *Salvinia molesta* for arsenite contaminated water: role of antioxidant enzymes. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 30, n. 4, p. 275–286, 2018.

DA SILVA, F. Naturalidade da paisagem verificada por meio de indicadores ambientais: manancial do Rio Monjolinho, São Carlos-SP. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 10, n. 3, p. 970–980, 2017.

DA SILVA, F. L. et al. Qualidade dos sedimentos do rio Monjolinho: índice de geoacumulação. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**, v. 4, n. 1, p. 79–87, 2016.

DI LUCA, G. A. et al. Influence of *Typha domingensis* in the removal of high P concentrations from water. **Chemosphere**, v. 138, p. 405–411, 2015.

DMITROVIĆ, S. et al. Hairy root exudates of allelopathic weed *Chenopodium murale* L. induce oxidative stress and down-regulate core cell cycle genes in Arabidopsis and wheat seedlings. **Plant growth regulation**, v. 75, n. 1, p. 365–382, 2015.

DUKE, S. O. et al. Chemicals from nature for weed management. **Weed science**, v. 50, n. 2, p. 138–151, 2002.

EID, E. M.; SHALTOUT, K. H.; ASAEDA, T. Modeling growth dynamics of *Typha domingensis* (Pers.) Poir. ex Steud. in Lake Burullus, Egypt. **Ecological Modelling**, v. 243, p. 63–72, 2012.

EINHELLIG, F. A. Mechanism of Action of Allelochemicals in Allelopathy. In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; EINHELLIG, F. A. (Eds.). **Allelopathy**. Washington, DC: American Chemical Society, v. 582p. 96–116, 1994.

EINHELLIG, F. A.; ECKRICH, P. C. Interactions of temperature and ferulic acid stress on grain sorghum and soybeans. **Journal of Chemical Ecology**, v. 10, n. 1, p. 161–170, 1984.

ELAKOVICH, S. D.; WOOTEN, J. W. Allelopathic potential of sixteen aquatic and wetland plants. **Toxicology**, v. 17, p. 129–182, 1989.

ELSER, J. J. et al. Biological stoichiometry of plant production: metabolism, scaling and ecological response to global change. **New Phytologist**, v. 186, n. 3, p. 593–608, 2010.

FITTER, A. H. An architectural approach to the comparative ecology of plant root systems. **New Phytologist**, v. 106, p. 61–77, 2008.

GALLARDO, M. T. et al. Effect of cattail (*Typha domingensis*) extracts, leachates, and selected phenolic compounds on rates of oxigen production by salvinia (*Salvinia minima*). Journal of Aquatic Plant Management, p. 80–82, 1999.

GALLARDO, M. T.; MARTIN, B. B.; MARTIN, D. F. Inhibition of Water Fern *Salvinia minima* by Cattail (*Typha domingensis*) Extracts and by 2-Chlorophenol and Salicylaldehyde. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 9, p. 1483–1490, 1998.

GALLARDO-WILLIAMS, M. T. et al. Essential fatty acids and phenolic acids from extracts and leachates of southern cattail (*Typha domingensis* P.). **Phytochemistry**, v. 59, n. 3, p. 305–308, 2002.

GHEZAL, N. et al. Stimulatory effect on pea of *Typha Angustifolia* L. extracts and their chemical composition. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, n. 14, p. 1993–2005, 2017.

GIORIA, M.; OSBORNE, B. A. Resource competition in plant invasions: emerging patterns and research needs. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, 2014.

GODIN, C. Representing and encoding plant architecture: A review. **Annals of Forest Science**, v. 57, n. 5, p. 413–438, 2000.

GOPAL, B.; GOEL, U. Competition and allelopathy in aquatic plant communities. **The Botanical Review**, v. 59, n. 3, p. 155–210, 1993.

GRACE, J. B. The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. **Aquatic Botany**, v. 44, n. 2–3, p. 159–180, 1993.

GROSS, E. M. Allelopathy of Aquatic Autotrophs. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 3–4, p. 313–339, 2003.

HARAMOTO, T.; IKUSIMA, I. Life cycle of *Egeria densa* planch., an aquatic plant naturalized in Japan. **Aquatic Botany**, v. 30, n. 4, p. 389–403, 1988.

HE, H. B. et al. Separation of Allelopathy from Resource Competition Using Rice/Barnyardgrass Mixed-Cultures. PLoS ONE, v. 7, n. 5, p. e37201, 2012.

HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R. M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 29–39, 2003.

HOAGLAND, R. E.; WILLIAMS, R. D. Bioassays–Useful tools for the study of allelopathy. **Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals**, p. 315–451, 2003.

HODGE, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. **New Phytologist**, v. 162, n. 1, p. 9–24, 2004.

HOWARD, R. J.; RAFFERTY, D. W. Clonal variation in response to salinity and flooding stress in four marsh macrophytes of the northern Gulf of Mexico, USA. **Environmental and Experimental Botany**, vol. 56, no. 3, p. 301-313, 2006.

HUANG, X. et al. The root structures of 21 aquatic plants in a macrophyte-dominated lake in China. **Journal of Plant Ecology**, v. 11, n. 1, p. 39–46, 2018.

INDERJIT; NILSEN, E. T. Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: progress and problems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 3–4, p. 221–238, 2003.

IAS – International Allelopathy Society. Constitution and Bylaw of IAS. Cádiz-Spain, **IAS Newsletter**, 1996.

INTERGOVERNMENTAL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. I. Summary for Policymakers — Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate, 2019. Disponível em: <a href="https://www.ipcc.ch/srocc/chapter/summary-for-policymakers/">https://www.ipcc.ch/srocc/chapter/summary-for-policymakers/</a>. Acesso em: 9 agosto de 2021.

JACKSON, R. B.; MOONEY, H. A.; SCHULZE, E.-D. A global budget for fine root biomass, surface area, and nutrient contents. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 14, p. 7362–7366, 1997.

JAMIL, M. et al. Alternative control of wild oat and canary grass in wheat fields by allelopathic plant water extracts. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, n. 3, p. 475–482, 2009.

JARCHOW, M. E.; COOK, B. J. Allelopathy as a mechanism for the invasion of *Typha angustifolia*. **Plant Ecology**, v. 204, n. 1, p. 113–124, 2009.

KATHIRESAN, R.; KOGER, C. H.; REDDY, K. N. ALLELOPATHY FOR WEED CONTROL IN AQUATIC AND WETLAND SYSTEMS. In: INDERJIT; MUKERJI, K. G. (Eds.). Allelochemicals: Biological Control of Plant Pathogens and Diseases. **Disease Management of Fruits and Vegetables**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v. 2p. 103–122, 2006.

KHALIQ, A. et al. Differential suppression of rice weeds by allelopathic plant aqueous extracts. **Planta Daninha**, v. 31, p. 21–28, 2013.

KHANH, T. D. et al. The Exploitation of Crop Allelopathy in Sustainable Agricultural Production. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 191, n. 3, p. 172–184, 2005.

KOERSELMAN, W.; MEULEMAN, A. F. The vegetation N: P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. **Journal of applied Ecology**, p. 1441–1450, 1996.

KOUTIKA, L. S.; RAINEY, H. J. A review of the invasive, biological and beneficial characteristics of aquatic species *Eichhornia crassipes* and *Salvinia molesta*. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 13, n. 1, p. 263–275, 2015.

LEU, E. et al. Polyphenolic Allelochemicals from the Aquatic Angiosperm *Myriophyllum spicatum* Inhibit Photosystem II. **Plant Physiology**, v. 130, n. 4, p. 2011–2018, 2002.

LORENZEN, B. et al. Growth, biomass allocation and nutrient use efficiency in *Cladium jamaicense* and *Typha domingensis* as affected by phosphorus and oxygen availability. **Aquatic Botany**, v. 70, n. 2, p. 117–133, 2001.

LOURENÇO, A. R.; BOVE, C. P. Flora do Rio de Janeiro: Hydrocharitaceae. **Rodriguésia**, v. 68, p. 43–50, 2017.

LUAN, S. Protein phosphatases in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 54, n. 1, p. 63–92, 2003.

MACHADO, R.; BIANCHINI, I.; CUNHA-SANTINO, M. B. Temperature and turbidity as drive forces to the growth of *Egeria densa* (Planchon) under to controlled conditions. **Aquatic Botany**, v. 164, p. 103-234, 2020.

MACÍAS, F. A. et al. Allelopathy—a natural alternative for weed control. **Pest Management Science**, v. 63, n. 4, p. 327–348, 2007.

MACKERTH, F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Freshwater Biological Association Scientific Publication**, v. 36, p. 117, 1978.

MALAMY, J. E. Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, n. 1, p. 67–77, 2005.

MARTINS, S. V. et al. Human and natural drivers of changing macrophyte community dynamics over 12 years in a Neotropical riverine floodplain system. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 23, n. 5, p. 678–697, 2013.

MAXAR TECHNOLOGIES (São Paulo). Ponto de coleta da macrófita *Thypha domingensis* (Pers.) na cidade de Boa Esperança do Sul - SP. São Paulo: Google, 2021 (a). 1 imagem de satélite.

MAXAR TECHNOLOGIES (São Paulo). Ponto de coleta da água e das macrófitas flutuantes Salvinia molesta (Mitch.) na Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos - SP. São Paulo: Google, 2021 (b). 1 imagem de satélite.

MELZER, A. Aquatic macrophytes as tools for lake management. In: **The Ecological Bases for Lake and Reservoir Management**. [s.l.] Springer, p. 181–190, 1999.

MENDES, L. B. B.; VERMELHO, A. B. Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation. **Biotechnology for biofuels**, v. 6, n. 1, p. 1–14, 2013.

MITCHELL, D. S. (ED.). Aquatic vegetation and its use and control. Paris: Unesco, 1974.

MITCHELL, D. S.; TUR, N. M. The rate of growth of *Salvinia molesta* (*S. Auriculata* Auct.) in Laboratory and Natural Conditions. **The Journal of Applied Ecology**, v. 12, n. 1, p. 213, 1975.

MUFARREGE, M. M. et al. Adaptability of *Typha domingensis* to high pH and salinity. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 2, p. 457–465, 2011.

MUNIAPPAN, R.; REDDY, G. V. P.; RAMAN, A. **Biological control of tropical weeds using arthropods**. Cambridge, UK; New York: Cambridge University Press, 2009.

MUSHTAQ, W.; SIDDIQUI, M. B.; HAKEEM, K. R. History of Allelopathy. In: MUSHTAQ, W.; SIDDIQUI, M. B.; HAKEEM, K. R. (Eds.). **Allelopathy**. Springer Briefs in Agriculture. Cham: Springer International Publishing, p. 5–24, 2020.

NAKAI, S. et al. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. **Water Science and Technology**, v. 39, n. 8, p. 47–53, 1999.

NARWAL, S. Allelopathy in ecological sustainable organic agriculture. In: **Allelopathy Journal**, v. 25 p. 537–564, 2006.

NARWAL, S. S. Allelopathy in ecological agriculture. In: NARWAL, S. S. et al. (Eds.). **Allelopathy in Ecological Agriculture and Forestry**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 11–32, 2002.

NOBRE, P. Aquecimento global, oceanos & sociedade. InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade, v. 3, n. 1, 2011.

OBORN, E. T. Control of Aquatic Weeds that Impede Flow of Western Irrigation Waters. **Weeds**, v. 3, n. 3, p. 231–240, 1954.

ORR, S. P.; RUDGERS, J. A.; CLAY, K. Invasive plants can inhibit native tree seedlings: testing potential allelopathic mechanisms. **Plant Ecology**, v. 181, n. 2, p. 153–165, 2005.

PEDERSEN, O. Long-Distance Water Transport in Aquatic Plants. **Plant Physiology**, v. 103, n. 4, p. 1369–1375, 1993.

PEDERSEN, O.; SAND-JENSEN, K. Water transport in submerged macrophytes. Aquatic Botany, v. 44, n. 4, p. 385–406, 1993.

PETR, T. Interactions between fish and aquatic macrophytes in inland waters: a review. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2000.

PISTORI, R. E. T.; CAMATGO, A. F. M.; HENR-SILVA, G. G. Relative growth rate and doubling time of the submerged aquatic macrophyte *Egeria densa* Planch. **Acta Limnologica Brasiliensia**, p. 77–84, 2004.

PISTORI, R. E. T. Crescimento das macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. e *Salvinia molesta* (Mitchell) em diferentes concentrações de nutrientes. UNESP - Jaboticabal, 2009.

POMPÊO, M. Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas. **Oecologia brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 5, 2008.

PRADO, C. H. B. DE A. et al. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 1, 2004.

PRADO, K. L. L.; FREITAS, C. E. DE C.; SOARES, M. G. M. Assembleias de peixes associadas às macrófitas aquáticas em lagos de várzea do baixo rio Solimões doi: 10.5007/2175-7925.2010v23n1p131. **Biotemas**, v. 23, n. 1, 2011.

PRESS, W. H. (ED.). **Numerical recipes: the art of scientific computing**. 3rd ed ed. Cambridge, UK; New York: Cambridge University Press, 2007.

PRINDLE, V.; MARTIN, D. F. Allelopathic properties of cattails, *Typha domingensis*, in Hillsborough country Florida. **Florida Scientist**, p. 155–162, 1996.

PRINS, H. B. A.; ELZENGA, J. T. M. Bicarbonate utilization: function and mechanism. **Aquatic Botany**, v. 34, n. 1–3, p. 59–83, 1989.

PUTNAM, A. R.; TANG, C. S. State of the science. **The Science of Allelopathy**, p. 1-19, 1986.

RAO, Q. et al. Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Allocation Strategy Among Organs in Submerged Macrophytes Is Altered by Eutrophication. **Frontiers in Plant Science**, v. 0, 2020.

RASCIO, N. et al. Photosynthetic strategies in leaves and stems of *Egeria densa*. **Planta**, v. 185, n. 3, 1991.

REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629–646, 2013.

REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (EDS.). **Allelopathy**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2006.

RICE, E. L. Allelopathy. 2nd ed. Orlando: Academic Press, 1984.

RICE, E. L. Allelopathy — An Overview. In: COOPER-DRIVER, G. A.; SWAIN, T.; CONN, E. E. (Eds.). **Chemically Mediated Interactions between Plants and Other Organisms**. Boston, MA: Springer US, p. 81–105, 1985.

RICE, E. L. Allelopathy: An Overview. In: WALLER, G. R. (Ed.). Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry. ACS Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, v. 330p. 8–22, 1987.

RICE, E. L. Allelopathy. Burlington: Elsevier Science, 2012.

RIIS, T. et al. Growth and morphology in relation to temperature and light availability during the establishment of three invasive aquatic plant species. **Aquatic Botany**, v. 102, p. 56–64, 2012.

RIIS, T.; MADSEN, T. V.; SENNELS, R. S. H. Regeneration, colonisation and growth rates of allofragments in four common stream plants. **Aquatic Botany**, v. 90, n. 2, p. 209–212, 2009.

ROOM, P. M. `Falling apart' as a lifestyle: the rhizome architecture and population growth of *Salvinia molesta*. **Journal of Ecology**, v. 71, n. 2, p. 349–365, 1983.

ROOM, P. M. Plant architecture and how biological control agents affect the dynamics of weeds. In: **Proceedings of the VI International Symposium on Biological Control of Weeds/edited by Ernest S. Delfosse**. Ottawa: Agriculture Canada, 1985, c1986, 1985.

ROOM, P. M. Effects of temperature, nutrients and a beetle on branch architecture of the floating weed *Salvinia molesta* and simulations of biological control. **Journal of Ecology**, v. 76, n. 3, p. 826–848, 1988.

ROONEY, N.; KALFF, J. Inter-annual variation in submerged macrophyte community biomass and distribution: the influence of temperature and lake morphometry. **Aquatic Botany**, v. 68, n. 4, p. 321–335, 2000.

SAHU, S. C.; KUMAR, S. **Diversity and Ecology of Invasive Plants**. [s.l.] BoD–Books on Demand, 2019.

SALEH MUNEERA, A. et al. Heavy metals accumulation and translocation by *Typha elephantina* roxb. and *Typha domingensis* pers. in an arid habitat: perspectives for phytoremediation. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 4, n. 1, p. 044–053, 2019.

SANTAMARÍA, L.; VAN VIERSSEN, W. Photosynthetic temperature responses of fresh- and brackish-water macrophytes: a review. **Aquatic Botany**, v. 58, n. 2, p. 135–150, set. 1997.

SHIMADZU, T.; ANALYZER, T. N. Analysis of total organic carbon. [s.d.].

SILVEIRA, P. F.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. DE F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de cascas de jurema preta no desenvolvimento inicial de alface. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 20–27, 2012.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Autotoxicity: Concept, Organisms, and Ecological Significance. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 6, p. 757–772, 1999.

SIQUEIRA, T.; TRIVINO-STRIXINO, S. Diversidade de Chironomidae (Diptera) em dois córregos de baixa ordem na região central do Estado de São Paulo, através de coleta de exúvias de pupa. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 49, n. 4, p. 531–534, 2005.

SMITH, R. D.; WALKER, J. C. Plant protein phosphatases. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 47, n. 1, p. 101–125, 1996.

SOUZA, J. P. et al. Influence of shoot inclination on irradiance and morphophysiological leaf traits along shoots in cerrado trees with distinct leaf deciduousness. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n. 4, p. 281–289, 2009.

SPENCE, D. H. N. Factors controlling the distribution of freshwater macrophytes with particular reference to the lochs of Scotland. **The Journal of Ecology**, p. 147–170, 1967.

SPENCE, D. H. N. The zonation of plants in freshwater lakes. In: Advances in Ecological Research. [s.l.] Elsevier, v. 12p. 37–125, 1982.

STOM, D. I.; ROTH, R. Some effects of polyphenols on aquatic plants: I. Toxicity of phenols in aquatic plants. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 27–27, n. 1, p. 332–337, 1981.

SUTTON, D. L.; PORTIER, K. M. Influence of spikerush plants on growth and nutrient content of hydrilla. **Journal of Aquatic Plant Management**, v. 29, p. 6–11, 1991.

SZCZEPAŃSKI, A. J. Allelopathy as a means of biological control of water weeds. **Aquatic Botany**, v. 3, p. 193–197, 1977.

TAKEDA, F. et al. Allelopathic Potential against *Microcystis aeruginosa* by emergent macrophytes on floating beds. **Journal of Water and Environment Technology**, v. 9, n. 4, p. 371–380, 2011.

THIÉBAUT, G. et al. Variation of thermal plasticity for functional traits between populations of an invasive aquatic plant from two climatic regions. **Hydrobiologia**, 2020.

THIÉBAUT, G.; TARAYRE, M.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, H. Allelopathic effects of native versus invasive plants on one major invader. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 854, 2019.

THOMAZ, S. M. et al. Aquatic macrophytes in the tropics: ecology of populations and communities, impacts of invasions and human use. **Tropical biology and conservation management**, v. 4, p. 27-60, 2008.

THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios. Acta Limnologica Brasiliensia, v. 10, n. 1, p. 103–116, 1998.

UMETSU, C. A.; EVANGELISTA, H. B. A.; THOMAZ, S. M. The colonization, regeneration, and growth rates of macrophytes from fragments: a comparison between exotic and native submerged aquatic species. **Aquatic Ecology**, v. 46, n. 4, p. 443–449, 2012.

VILAS BOAS, L. K. Efeito das variações de temperatura relacionadas às mudanças climáticas globais sobre as respostas fotossintéticas de macrófitas aquáticas de ecossistemas lóticos tropicais. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 76 p., 2016.

WALLER, G. R.; FENG, M. C.; FUJII, Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. **Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions. CRC Press, Boca Raton**, p. 75–98, 1999.

WANDERLEY, E. L.; BIANCHINI, I.; CUNHA-SANTINO, M. B. DA. Surfactant and temperature as forcing functions on the growth of *Egeria densa* and *Chara sp.*: a modeling approach. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 26145–26153, 2021.

WETZEL, R. G. Land-water interfaces: Metabolic and limnological regulators. **SIL Proceedings**, **1922-2010**, v. 24, n. 1, p. 6–24, 1990.

WETZEL, R. G. Limnology: lake and river ecosystems. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2001.

WILLIS, R. J. The History of Allelopathy. Dordrecht: Springer, 2008.

YARROW, M. et al. The ecology of *Egeria densa* Planchón (Liliopsida: Alismatales): A wetland ecosystem engineer? **Revista chilena de historia natural**, v. 82, n. 2, 2009.

ZAMPARAS, M.; ZACHARIAS, I. Restoration of eutrophic freshwater by managing internal nutrient loads. A review. **The Science of the Total Environment**, v. 496, p. 551–562, 2014.

ZHANG, T. T.; HU, W.; ZHANG, D. Allelopathic effect of *Typha Angustifolia* L. on phytoplankton. **Advanced Materials Research**, v. 383–390, p. 3724–3728, 2012.

# ANEXO A – Caracterização realizada por HPLC de amostra do extrato aquoso de *Typha domingensis* (Pers.).

**Tabela 6**: Compostos detectados a partir do extrato ERA de *T. domingensis* por meio de análises Q-Tof-MS/MS. As massas monoisotópicas dos íons foram calculadas a partir dos aductos de H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> e NH4<sup>+</sup>. Compostos que apresentam apenas código alfa numérico no campo **Composto** significa que o composto não existe no banco de dados acessado pelo equipamento utilizado.

	Composto	Rt (min)	Fórmula molecular	Massa monoisotópica	<b>Erro</b> (ppm)
1	Flavoxate	3.685	$C_{24}H_{25}NO_4$	391.1784	-1.55
2	Nigakilactone B	4.942	C22H32O6	392.2199	-0.53
3	Fumonisin FP2	8.318	C <sub>39</sub> H <sub>62</sub> NO <sub>15</sub>	784.4119	0.96
4	Cyanopeptolin A	8.334	C46H72N10O12	956.5331	-4.13
5	2,3-Bis(3- hydroxytetradecanoyl)-Î <sup>2</sup> -D- glucosaminyl 1-phosphate	8.378	C34H66NO12P	711.4323	-2.14
6	PS(17:0/22:6(4Z,7Z,10Z,13 Z,16Z,19Z))	8.379	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> NO <sub>10</sub> P	821.5207	-3.86
7	PI(15:1(9Z)/12:0)	8.38	C36H67O13P	738.4319	0.51
8	SE 175	8.386	$C_{16}H_{13}NO_6S$	347.0464	-2.16
9	(6S)-vitamin D3 6,19-[4-{2- (6,7-dimethoxy-4-methyl-3- oxo-3,4- dihydroquinoxalinyl)ethyl}- 1,2,4-triazoline-3,5-dione]	8.387	C42H59N5O6	729.4465	2.58
10	PE(14:1(9Z)/18:4(6Z,9Z,12 Z,15Z))	8.395	C37H64NO8P	681.437	-1.17
11	PI(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z ,19Z)/18:3(9Z,12Z,15Z))	8.403	C49H77O13P	904.5102	2.73

12	PS(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16 Z,19Z)/17:2(9Z,12))	8.407	C45H72NO10P	817.4894	-4.29
13	3-trans-Caffeoyltormentic acid	8.416	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> O <sub>8</sub>	650.3819	-2.56
14	6-beta,17-Dihydroxy-3,5- cyclo-5alpha,17alpha- pregn-20-ene-21-carboxylic acid, gamma lactone	8.424	C22H30O3	342.2195	-2.61
15	3-Hydroxyisoheptanoic acid	8.439	C7H14O3	146.0943	2.51
16	Gabunine	8.445	C42H50N4O5	690.3781	3.65
17	Diphenoxylate	8.475	C30H32N2O2	452.2464	-4.62
18	Hydroxyhomodestruxin B	8.632	C <sub>31</sub> H <sub>53</sub> N5O <sub>8</sub>	623.3894	3.9
19	5(6)-EET-d11	8.641	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> D <sub>11</sub> O <sub>3</sub>	331.3042	-0.44
20	Tuliposide A	8.858	C11H18O8	278.1002	-0.28
21	3-Isopropylcatechol	9.109	C9H12O2	152.0837	4.38
22	17-Hydroxy-3-oxo-17alpha- pregna-1,4-diene-21- carboxylic acid, gamma- lactone	9.511	C22H28O3	340.2038	-2.06
23	5,6-epoxy-18R-HEPE	9.549	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	332.1988	-1.87
24	Dibenzo-18-crown-6	9.554	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	360.1573	0.56
25	Methyl (9Z)-8'-oxo-6,8'- diapo-6-carotenoate	9.557	C23H28O3	352.2038	-0.28
26	(9S,10S)-10-hydroxy-9- (phosphonooxy)octadecano ic acid	9.576	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> O7P	396.2277	2.28

27	24-(dimethoxyphosphoryl)- 25,26,27-trinorvitamin D3	9.866	C26H43O4P	450.2899	-2.51
28	Streptoval C	10.664	C40H49NO14	767.3153	2.09
29	PS(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16 Z,19Z)/17:2(9Z,12))	10.764	C45H72NO10P	817.4894	-2.24
30	5alpha-Androstane- 3beta,17beta-diol diacetate	10.766	C23H36O4	376.2614	4.24
31	U-73122	10.888	$C_{29}H_{40}N_2O_3$	464.3039	-3.85
32	Diazinon	11.452	C12H21N2O3S	304.1011	1.3
33	Ethacridine	11.664	C15H15N3O	253.1215	-4.03
34	UDP-L-Ara4O	11.717	C14H20N2O16P 2	534.0288	-0.78
35	L-Arabinose	12.096	$C_5H_{10}O_5$	150.0528	0.51
36	3alpha,21-Dihydroxy-D- homo-5beta-pregn-17a(20)- en-11-one	13.149	C22H34O3	346.2508	2.61
37	alpha,alpha'-Trehalose 6- palmitate	13.155	C <sub>28</sub> H <sub>52</sub> O <sub>12</sub>	580.3459	-0.13
38	Isorhamnetin 3-(4"- sulfatorutinoside)	13.361	C28H32O19S	704.1259	1.71
39	PS(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16 Z,19Z)/19:0)	14.503	C47H80NO10P	849.552	-1.54
40	17-Propyl-5alpha-androst- 2-en-17beta-ol	15.047	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O	316.2766	-2.27
41	Santalyl phenylacetate	15.422	C23H30O2	338.2246	-1.24
42	Tirofiban	15.546	$C_{22}H_{36}N_2O_5S$	440.2345	2.58
43	UCM707	16.022	C <sub>25</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>2</sub>	383.2824	4.43
44	PA(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16 Z,19Z)/13:0)	16.699	C38H63O8P	678.4261	-0.56
45	Squamocin	16.715	C37H66O7	622.4809	3.06
46	PS(14:0/15:0)	16.72	C35H68NO10P	693.4581	2.43

47	Cer(d18:0/18:1(11Z))	16.743	C36H71NO3	565.5434	-1.07
48	Fluvoxamine	16.755	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	318.1555	-1.36
49	PI(P- 20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))	16.78	C49H87O12P	898.5935	-3.33
50	Minabeolide-3	16.853	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	424.2977	-0.31
51	Ipecac (Methylpsychotrine)	16.896	C <sub>29</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	478.2832	3.31
52	PE(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/P- 18:1(11Z))	17.688	C <sub>43</sub> H <sub>76</sub> NO <sub>7</sub> P	749.5359	-0.16
53	Luffariellolide	17.736	C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	386.2821	-1.76
54	2-(Biaryl)carbapenems	17.737	C21H19NO4	349.1314	-0.14
55	2,12,14,16,17- pentachlorotetracosane- 1,15-disulfate	17.91	C24H45C15O8S2	700.0998	4.36