

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

**LEANDRO KENJI TAKAO**

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS E A  
INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS NA SUA DISTRIBUIÇÃO  
EM UM ESTUÁRIO CEGO**

**SÃO CARLOS**

**2010**

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

**LEANDRO KENJI TAKAO**

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS E A  
INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS NA SUA DISTRIBUIÇÃO  
EM UM ESTUÁRIO CEGO**

**Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ecologia e  
Recursos Naturais, para obtenção do  
título de mestre em Ecologia e  
Recursos Naturais.**

*Orientação: Profa. Dra. Maria Inês  
Salgueiro Lima*

**SÃO CARLOS**

**2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

T136pa

Takao, Leandro Kenji.

Potencial alelopático de macrófitas aquáticas e a influência dos fatores ambientais na sua distribuição em um estuário cego / Leandro Kenji Takao. -- São Carlos : UFSCar, 2010.  
56 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Ecologia. 2. Salinidade. 3. Alagamento. 4. Diversidade biológica. 5. Ecótono. I. Título.

CDD: 574.5 (20ª)

Leandro Kenji Takao

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS E A  
INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS NA SUA DISTRIBUIÇÃO EM  
UM ESTUÁRIO CEGO**

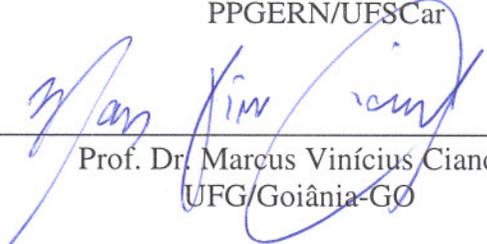
Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

**Aprovada** em 07 de maio de 2010

BANCA EXAMINADORA

Presidente   
Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima  
(Orientadora)

1º Examinador   
Profa. Dra. Sonia Cristina Juliano Gualtieri  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador   
Prof. Dr. Marcus Vinícius Cianciaruso  
UFG/Goiânia-GO

Dedico este trabalho à minha família  
e aos meus amigos.

## AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima, pela orientação, confiança e ensinamentos desde a monografia;
- À Profa. Dra. Sonia Cristina Juliano Gualtieri, pela disponibilização do laboratório para os bioensaios;
- À Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado;
- Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPGERN) e todo o corpo de funcionários;
- Às identificações: Drs.(as) Ana Paula Fortuna Perez (Fabaceae), Ana Odete Santos Vieira (Onagraceae), Paulo Takeo Sano (Poaceae), Maria do Carmo E. do Amaral (Typhaceae, Alismataceae e Nymphaeaceae), Maria das Graça L. Wanderley (Bromeliaceae e Maranthaceae), José Rubens Pirani (Apiaceae), George J. Shepherd (Cyperaceae) e Catia Urbanetz;
- Ao mestrando Marcelo (Laboratório de Fisiologia – UFSCar), pelo auxílio nas medições de potencial osmótico;
- Ao técnico Carlos Aparecido Casali, pelas conversas e pela sempre bem humorada disposição nas ajudas em laboratório;
- À Maristela Imatomi, à Paula Novaes e à Valquíria Marin Voltarelli, pelas agradáveis companhias e discussões;
- À Luciana Estriga, à Marina Vianna, à Renata Miotto e ao Matheus Silva, pela inestimável ajuda na coleta de campo;
- Ao José Pedro Nepomuceno Ribeiro e ao Reginaldo Sadao Matsumoto, pela amizade e, principalmente, pelo incentivo durante todo o mestrado;
- A todos os amigos de São Carlos, que animaram esses 8 anos de vida são carlense;
- Aos meus grandes ‘irmãos’ Alberto Oehlmeyer e Rodrigo Pereira;
- Às minhas queridas Natália Cerântola e Valéria Iared, pelo apoio e preocupação de sempre. Sou imensamente grato pela nossa amizade;
- À Letícia Quito, pelo carinho, amizade e pelos momentos únicos, apesar da “distância”. Afinal, estar ao lado nem sempre é físico.
- À minha linda família pelo eterno amor e apoio...

## RESUMO

Estuários tropicais cegos possuem um regime de alagamento que expõe a flora local a mudanças bruscas nas condições ambientais. A salinidade e o alagamento são os principais fatores que influenciam a distribuição de espécies vegetais nesses ambientes. As macrófitas aquáticas representam uma das comunidades mais produtivas e através do seu metabolismo podem influenciar o ecossistema aquático. As interações alelopáticas estão entre os fatores que afetam a fitossociologia e são aumentadas em situações de estresse biótico e abiótico. O potencial alelopático tem sido explorado no sentido da sua aplicação como herbicidas naturais para o controle de espécies infestantes de cultura. O objetivo do nosso trabalho foi avaliar a influência da salinidade e do alagamento sobre a distribuição, diversidade e riqueza de espécies, além de estudar e comparar as propriedades alelopáticas das espécies de macrófitas aquáticas, e sua possível aplicação para inibição de espécies infestantes de culturas. Para isso, nós estudamos a comunidade de macrófitas e suas relações com variáveis abióticas (alagamento e salinidade) no estuário tropical cego do Rio Massaguaçu, localizado no município de Caraguatatuba-SP. Nós encontramos nesse ambiente 54 espécies de macrófitas pertencentes a 27 famílias. A distribuição dessas espécies parece estar condicionada ao regime de alagamento e à salinidade. A diversidade e a riqueza de espécies variam com o tempo de alagamento, mas não com a salinidade. Ainda, a vegetação apresenta uma seqüência de comunidades heterogêneas ao longo do gradiente salino e das classes de alagamento. Dessa forma, o estuário do Rio Massaguaçu é definido como uma ecoclina dupla: no sentido longitudinal (entre o ambiente de água doce e marinho) e lateral (entre os ambientes terrestre e aquático). Observamos muitas espécies com potencial alelopático sobre a germinação de alface, espécie bioindicadora, em experimentos de laboratório com diferentes potenciais de inibição. Posteriormente, encontramos efeitos inibitórios significativos dos extratos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet sobre a germinação e crescimento inicial de espécies infestantes de cultura: *B. pilosa*, *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia*. Os nossos resultados ajudam no entendimento do ambiente estuarino tropical cego e da sua composição florística, caracterizando as populações existentes, sua distribuição e o seu potencial para exploração como alternativa a herbicidas sintéticos.

**Palavras-Chave:** Alelopatia. Alagamento. Diversidade e riqueza de espécies. Ecoclina. Salinidade.

## ABSTRACT

Tropical blind estuaries have a flooding regime that exposes the flora to extreme changes in environmental conditions. Salinity and flooding seem to be the major factors influencing vegetal species distribution in these environments. Aquatic macrophytes are one of the most productive communities and through their metabolism are able to influence aquatic ecosystem. Allelopathic interactions are among the factors that affect phytosociology and are increased under biotic and abiotic stress conditions. The allelopathic potential has been explored for its application as natural herbicide in weed species control. The aim of our study was to evaluate salinity and flooding influence on species distribution, diversity and richness. We also studied and compared allelopathic properties of aquatic macrophyte species and their possible application to inhibit weeds. For this, we studied the macrophytes' community and its relation with abiotic variables (flooding and salinity) in Massaguaçu River tropical estuary, located in Caraguatuba-SP. We found 54 macrophyte species belonging to 27 families in this environment. The distribution of these species seems to be related to flooding regime and salinity. Species diversity and richness vary with flooding time but not with salinity. Vegetation presents a sequence of heterogeneous communities through saline gradient and flooding categories. Thereby, Massaguaçu River estuary is defined as a double ecocline: lengthwise (between freshwater and seawater) and lateral (between terrestrial and aquatic habitats). We noticed several species with allelopathic potential over lettuce, a bioindicator species, in laboratory experiments with different inhibition potentials. Then, we found significative inhibitory effects of *Ipomoea cairica* (L.) Sweet extracts on the germination and early development of weed species: *B. pilosa*, *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia*. Our results help to understand tropical blind estuarine environment and its floristic composition, characterizing their vegetable populations, distribution and potential to be explored as an alternative to synthetic herbicides.

**Keywords:** Allelopathy, Ecocline. Flooding, Salinity, Species diversity and richness.

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução Geral</b>	09
<b>2. Capítulo 1 – A influência dos fatores ambientais na distribuição de macrófitas aquáticas em um estuário cego</b>	13
2.1 Resumo	13
2.2 Abstract	13
2.3 Introdução	15
2.4 Material e Métodos	16
2.5 Resultados e Discussão	18
2.6 Referências Bibliográficas	26
<b>3. Capítulo 2 – Potencial alelopático de macrófitas aquáticas de um estuário cego</b>	28
3.1 Resumo	28
3.2 Abstract	28
3.3 Introdução	30
3.4 Material e Métodos	31
3.5 Resultados e Discussão	33
3.6 Referências Bibliográficas	40
<b>4. Capítulo 3 – Potencial alelopático de <i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet sobre espécies infestantes de culturas</b>	43
4.1 Resumo	43
4.2 Abstract	43
4.3 Introdução	44
4.4 Material e Métodos	45
4.5 Resultados e Discussão	46
4.6 Referências Bibliográficas	53
<b>5. Considerações Finais</b>	56

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A palavra estuário deriva do latim *aestus* que significa “do mar” e se aplica a qualquer feição costeira na qual a maré é significativa. Assim, um estuário é um corpo de água costeiro semi-fechado que se estende até o limite superior da influência da maré, no interior do qual a água do mar proveniente de uma ou mais conexões livres com o mar aberto, ou de qualquer outro corpo costeiro de água salina, é significativamente diluída pela água doce oriunda da drenagem continental, e pode sustentar espécies biológicas parcialmente ou totalmente eurialinas durante o seu ciclo de vida (PERILLO, 1996). Muitos estuários, particularmente os tropicais, têm a sua entrada fechada por um banco de areia construído pelo oceano adjacente. Esses estuários são chamados de estuários cegos, e sua conexão com o oceano só se restabelece quando o banco de areia se rompe (geralmente no período das chuvas) (MIRANDA et al., 2002).

O Rio Massaguaçu, localizado no município de Caraguatatuba - SP, Brasil (23°37'20''S e 54°21'25''O), corre paralelamente à costa por cerca de 2000 m até a sua foz, onde há a formação intermitente de um banco de areia que impede a sua comunicação com o mar, dando origem a um estuário cego. Com a foz fechada, as variações no nível do estuário se devem à água oriunda dos rios e da precipitação. No entanto, a maré possui influência quando a comunicação com o oceano é restabelecida. O clima da região desse estuário recebe a classificação Af (segundo Köppen), caracterizado como tropical chuvoso, sem estação seca, com a precipitação média do mês mais seco superior a 60 mm (CEPAGRI-UNICAMP, 2010). A irregularidade na frequência e duração da abertura do banco de areia do estuário causa um regime de alagamento que impõe à flora local mudanças bruscas nas condições ambientais. Essas variações geram gradientes que envolvem salinidade, renovação da água marinha, nutrientes, turbidez e estrutura sedimentar. O gradiente é estruturado principalmente pelo fluxo de água doce, que dilui a água do mar e rearranja os sedimentos. Nesse caso, a salinidade pode ser responsável pelo gradiente na composição florística (TAGLIAPIETRA et al., 2009).

A distribuição de espécies vegetais nos estuários depende de inúmeros fatores, entre eles, o alagamento, a salinidade, fatores físico-químicos e interações biológicas como a competição e eventualmente da existência de processos alelopáticos (INDERJIT & WESTON, 2000; COSTA et al., 2003). O alagamento influencia as plantas diretamente ao afetar o seu suporte estrutural e as relações hídricas-gasosas e, indiretamente, através dos seus

efeitos sobre outros parâmetros físicos como a luz (EDWARDS et al., 2003) e alterações nos processos químicos, físicos e biológicos do solo (KOZLOWSKI, 1997). Trabalhos indicam que a salinidade é um gradiente físico-químico importante em estuários, modificando as interações entre as espécies vegetais (GREENWOOD & MACFARLANE, 2008).

As interações alelopáticas derivam da produção de metabólitos secundários (aleloquímicos) e a “International Allelopathy Society” (IAS) conceitua o fenômeno como “qualquer processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias, e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas naturais e agricultáveis” (MACÍAS et al., 1998). A produção dos aleloquímicos pelas plantas é regulada por fatores endógenos e exógenos. Dentre os últimos, cita-se a temperatura, intensidade luminosa, disponibilidade hídrica, de nutrientes, textura do solo e a presença de microrganismos (CHOU, 1986), além da radiação (UV), doenças e ataque de insetos (EINHELLIG, 1995). As condições ambientais podem modificar a taxa de produção dos aleloquímicos, por exemplo, elevando a concentração destes compostos e, assim, propiciar uma maior inibição no crescimento das plantas receptoras (EINHELLIG, 1996). Nas vegetações nativas, as espécies de plantas aquáticas estão adaptadas tanto aos fatores abióticos, alagamento, temperatura, salinidade, quanto à fatores bióticos, como competição e processos alelopáticos. Assim, apesar de em ambientes estressantes as comunidades de plantas serem amplamente influenciadas por todos esses fatores, eles podem não impedir o crescimento e desenvolvimento das espécies adaptadas a esse meio. No entanto, estas podem apresentar, em diversos graus, mecanismos que lhe conferem vantagens como os aleloquímicos, que podem ter grande potencial no controle de espécies de outros ambientes.

O fato do ambiente do estuário tropical cego do Rio Massaguaçu apresentar uma dinâmica de alagamento que submete a vegetação local a situações extremas nos leva a crer que ele possa apresentar espécies com potencial alelopático. Além disso, informações sobre ambientes estuarinos cegos em regiões tropicais são escassas. Assim, o estudo da flora local, caracterizando as populações existentes, sua distribuição e o seu potencial alelopático podem contribuir para o melhor entendimento desses ambientes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CEPAGRI-UNICAMP. **Clima dos Municípios Paulistas**. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>. Acesso em: 22/03/2010.
- CHOU, C.H. The role of allelopathy in subtropical agroecosystems of Taiwan. In: Putnam, A.R., Tang, C.S. **The science of allelopathy**. New York: John Wiley & Sons, 1986. p. 57-73.
- COSTA, C.S.B. et al. Plant zonation in irregularly flooded salt marshes: relative importance of stress tolerance and biological interactions. **Journal of Ecology**, v. 91, p. 951-965, 2003.
- EDWARDS, A.L. et al. Responses to a fluctuating environment: effects of water depth on growth and biomass allocation in *Eleocharis cellulosa* Torr. (Cyperaceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 81, p. 964-975, 2003.
- EINHELLIG, F.A. Current status and future goals. In: Inderjit, Dakshini, K.M.M., Einhellig, F.A. **Allelopathy - Organisms, Processes and Applications**. Washington, DC: American Chemical Society, 1995. p. 1-25.
- EINHELLIG, F.A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 886-893, 1996.
- GREENWOOD, M.E. & MACFARLANE, G.R. Effects of salinity on competitive interactions between two *Juncus* species. **Aquatic Botany**, v. 90, p. 23-29, 2008.
- INDERJIT & WESTON, L.A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2111-2118, 2000.
- KOZLOWSKI, T.T. Responses of wood plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v. 1, p. 1-29, 1997.
- MACÍAS, F.A. et al. What are allelochemicals? In: Olofsdotter, M. **Allelopathy in rice: Proceedings of the Workshop on Allelopathy in Rice**. Manila (Philippines): International Rice Research Institute, 1998. p. 154.
- MIRANDA, L.B.D. et al. Princípios de oceanografia física de estuários. In: São Paulo: Edusp, 2002. p. 414.

PERILLO, G.M.E. Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. In: Perillo, G.M.E. **Geomorphology and Sedimentology of Estuaries**. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. p. 17-47.

TAGLIAPIETRA, D. et al. A review of terms and definitions to categorise estuaries, lagoons and associated environments. **Marine and Freshwater Research**, v. 60, p. 497-509, 2009.

## **2 CAPÍTULO 1 – A influência dos fatores ambientais na distribuição de macrófitas aquáticas em um estuário cego**

**2.1 RESUMO** – (A influência dos fatores ambientais na distribuição de macrófitas aquáticas em um estuário cego). Estuários são considerados importantes zonas de transição entre sistemas de água doce e marinhos. Alguns estudos mostram que o regime hidrológico e a salinidade são os principais fatores que controlam a distribuição de espécies vegetais nesses ambientes. Porém, a maioria dos estudos é feita em estuários temperados do hemisfério norte. Há pouca informação sobre estuários tropicais cegos e a sua dinâmica. Tivemos como objetivo desse trabalho a avaliação da influência da salinidade e do alagamento sobre a distribuição, diversidade e riqueza de espécies de macrófitas aquáticas no estuário tropical cego do Rio Massaguaçu, localizado no município de Caraguatatuba, São Paulo, Brasil. Em janeiro de 2008, sorteamos 80 parcelas de 25m<sup>2</sup> em cada um dos cinco bancos de macrófitas existentes e coletamos dados de coberturas vegetais por espécie, dados hidrológicos e de salinidade do solo. Analisamos a influência da salinidade e do alagamento sobre a distribuição das espécies através da análise de correspondência canônica. Calculamos a diversidade e riqueza de espécies em diferentes condições de salinidade e de alagamento e verificamos a dissimilaridade da estrutura da vegetação entre as mesmas através do índice de Bray-Curtis. Observamos que o tempo de alagamento está inversamente relacionado à diversidade e à riqueza de espécies de macrófitas. Não verificamos o mesmo padrão para a salinidade. Além disso, notamos uma heterogeneidade crescente na comunidade vegetal ao longo do gradiente salino e do gradiente de alagamento no estuário do Rio Massaguaçu, classificando o mesmo como uma ecoclina.

**2.2 ABSTRACT** – (Influence of environmental factors on the distribution of aquatic macrophytes in a blind estuary). Estuaries are considered important transition zones between freshwater and marine systems. Some studies show that hydrological regime and salinity are the major factors controlling vegetal species distribution in these environments. However, the great majority of the studies is done in temperate estuaries in the north hemisphere. There is little information about tropical blind estuaries and their dynamic. We had as aim of this study the evaluation of the influence of salinity and flooding over aquatic macrophytes distribution, diversity and richness in the Massaguaçu River tropical blind estuary, located in the city of

Caraguatatuba, Sao Paulo, Brazil. In January of 2008, we drew 80 plots of 25m<sup>2</sup> in each macrophyte area and collected cover data of the species, hydrologic and salinity soil data. We analyzed the influence of salinity and flooding on species distribution with canonic correspondence analysis, calculated species diversity and richness in different salinity and flooding situations and verified the dissimilarity of the vegetation structure among them with Bray-Curtis index. We noticed that flooding time influences macrophyte species diversity and richness but salinity didn't present this pattern. There was an increasing heterogeneity in the vegetal community through the saline and flooding gradients in the Massaguaçu River estuary, fitting it in the ecocline concept.

## 2.3 INTRODUÇÃO

Estuários são considerados importantes zonas de transição entre sistemas de água doce e marinhos (ATRILL & RUNDLE, 2002). Estão entre os sistemas mais produtivos da Terra com grande importância biológica (ODUM, 2004). Eles retêm muitos nutrientes e abrigam um elevado número de espécies em todo ou em parte do seu ciclo vital, além de organismos migratórios que utilizam esses ambientes para reprodução ou alimentação, frente à maior proteção contra predadores e abundância de alimento. Neles são encontradas diversas espécies de peixes, moluscos, crustáceos, entre outros organismos, que dependem total ou parcialmente de seus recursos, sendo muitos de interesse econômico (ODUM, 2004).

Alguns estudos apontam que o regime hidrológico e a salinidade são os principais fatores que controlam a distribuição de espécies vegetais nesses ambientes (COSTA et al., 2003). O alagamento influencia as plantas diretamente ao afetar o seu suporte estrutural e as relações hídricas-gasosas e, indiretamente, através dos seus efeitos sobre outros parâmetros físicos como a luz (EDWARDS et al., 2003) e alterações nos processos químicos, físicos e biológicos do solo (KOZLOWSKI, 1997). Geralmente, o gradiente salino é o fator físico-químico dominante em estuários, modificando as interações entre as espécies vegetais (GREENWOOD & MACFARLANE, 2008). O represamento de água doce dos rios leva a mudanças na distribuição de macrófitas em estuários e o aporte contínuo de água doce mantém um gradiente de salinidade ao longo do estuário (WORTMANN et al., 1997). Flutuações no nível da água afetam a produtividade em ecossistemas aquáticos, porém os mecanismos que demonstram padrões de alagamento para a dinâmica das plantas são pouco estudados (NEILL, 1993).

As macrófitas aquáticas possuem grande capacidade de adaptação e grande amplitude ecológica, sendo que a grande maioria é capaz de suportar grandes períodos de seca, podendo se transformar em formas terrestres, com profundas modificações anatômicas e fisiológicas (ESTEVES, 1998). Macrófita aquática é a denominação mais adequada para caracterizar vegetais que habitam desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos, segundo o Programa Internacional de Biologia (IBP), independentemente dos aspectos taxonômicos (ESTEVES, 1998). As macrófitas podem aumentar a heterogeneidade física, reter sedimentos, e fornecer amplos habitats para o perifíton, invertebrados e peixes. No entanto, também podem se proliferar e impedir severamente o fluxo de água, degradar a

qualidade da água através de seus efeitos sobre o pH e oxigênio dissolvido (RISS & BIGGS, 2003).

As zonas de transição entre dois ecossistemas podem ser classificadas em duas categorias principais: ecótono e ecoclina (BACKÉUS, 1993). Um ecótono é uma área de mudança relativamente rápida, produzindo uma zona ecológica estreita entre dois tipos de comunidades diferentes e relativamente homogêneas. As flutuações são elevadas e criam uma série temporal de ambientes fortemente diferentes mas individualmente homogêneos (ATRILL & RUNDLE, 2002). Por outro lado, as ecoclinas possuem comunidades heterogêneas que apresentam mudanças graduais em resposta a um gradiente ambiental (VAN DER MAAREL, 1990). A dinâmica dos ambientes estuarinos tem sido alvo de estudos, (CRAIN et al., 2004; GREENWOOD, 2007) mas o conhecimento sobre essas áreas ainda é escasso comparado ao ambiente terrestre. Além disso, a maioria dos estudos é feita em estuários temperados do hemisfério norte e há pouca informação sobre estuários tropicais cegos e a sua dinâmica.

Nós tivemos como objetivo desse trabalho a avaliação da influência da salinidade e do alagamento sobre a distribuição, diversidade e riqueza de espécies de macrófitas aquáticas em um estuário tropical cego. Com base nos dados da literatura sobre ambientes temperados esperamos que a salinidade esteja negativamente relacionada com a diversidade e riqueza de espécies e que a composição e a estrutura da vegetação apresente modificações devido aos fatores ambientais.

## **2.4 MATERIAL E MÉTODOS**

Área de estudo – O estuário do Rio Massaguaçu, localizado no município de Caraguatatuba - SP, Brasil (23°37'20''S e 54°21'25''O), é um estuário cego com cerca de 200m de largura e 2000m de comprimento, separado do oceano por um banco de areia. A sua abertura ocorre, geralmente, de forma natural, fechando-se com o transporte de areia pela maré. Ao longo desse estuário, é possível distinguir cinco grandes bancos de macrófitas (Fig. 1).



Figura 1. Estuário do Rio Massaguaçu e os cinco bancos de macrófitas estudados (A, B, C, D e E) (Fonte: GOOGLE EARTH, 2009 - modificado).

Em janeiro de 2008, sorteamos 80 parcelas (5 x 5m) em cada banco de macrófitas e utilizamos um aparelho de GPS para a localização das mesmas em campo com base em uma foto aérea georreferenciada.

Características florísticas – Identificamos as espécies de macrófitas aquáticas e suas coberturas em cada parcela. O material fértil de cada espécie foi coletado e enviado para especialista para a sua identificação. Como as espécies não se encontram igualmente adensadas nas áreas que ocupam, utilizamos os seguintes cálculos para valorar esse adensamento. Classificamos as coberturas em três categorias de acordo com a densidade: I – baixa (onde a espécie cobre entre 1 e 33% da área), II – média (entre 34 e 66%) e III – alta (entre 67 a 100%). Calculamos os valores intermediários de cada categoria (baixa - 16%, média - 50% e alta - 83,3%). Esses valores foram multiplicados pelas áreas ocupadas pelas diferentes manchas de cada espécie em cada parcela e somados entre si resultando em um único valor de cobertura para cada espécie. Por exemplo, se uma espécie ocupava 20m<sup>2</sup> em uma parcela sendo 10 m<sup>2</sup> em baixa densidade e 10 m<sup>2</sup> em média densidade, sua cobertura era calculada da seguinte maneira: Cobertura = 10 m<sup>2</sup> x 0,16 + 10 m<sup>2</sup> x 0,5 = 6,6m<sup>2</sup>.

Características hidrológicas - Medimos o nível diário da água do estuário entre agosto de 2007 e março de 2009 (o nível zero foi padronizado no nível da água mais baixo, na maré baixa, com a barra aberta). Verificamos também a profundidade central de cada parcela através da diferença da profundidade da parcela em relação ao nível do estuário. Com base nas alturas de cada parcela e nos níveis diários do estuário, obtivemos o regime de alagamento

de cada parcela, assim classificamos as parcelas em classes por porcentagem de tempo de alagamento (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%)

Características edáficas – Coletamos amostras de solo (3 amostras em cada parcela) a cada cinco parcelas (16 por banco), a profundidades de 15 cm com o auxílio de um trado e enviamos para análise da condutividade elétrica (salinidade), no Instituto Agronômico de Campinas (IAC).

Análise dos dados – Calculamos a diversidade de Shannon e a riqueza de espécies para cada banco de macrófitas e para cada classe de tempo de alagamento. Fizemos uma análise de correspondência canônica (CCA) entre os dados florísticos e abióticos, obtidos em 16 pontos de cada banco, para verificar a influência da salinidade e do tempo de alagamento sobre a distribuição das espécies. Testamos a normalidade dos dados de salinidade e alagamento através do teste de Kolmogorov-Smirnov ( $p < 0,05$ ) e comparamos os cinco bancos de macrófitas através do teste de Kruskal-Wallis com teste à posteriori de Dunn ( $p < 0,05$ ). Efetuamos a análise de agrupamento pelo índice de dissimilaridade de Bray-Curtis (teste quantitativo) para avaliar as diferenças na estrutura da vegetação entre os bancos de macrófitas e entre as diferentes classes de alagamento.

## 2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nós identificamos 54 espécies de macrófitas aquáticas pertencentes a 27 famílias (Tab. 1). Destacam-se as famílias Cyperaceae (14 spp.) e Poaceae (8 spp.) que juntas correspondem a 40,7% do total de espécies e a 53,8% do total de cobertura vegetal no estuário do Rio Massaguaçu. No entanto, *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae) foi a espécie mais abundante, representando 28,4% do total da cobertura vegetal nesse estuário. As espécies desse ambiente estão expostas a um regime de alagamento caracterizado por grandes variações (Fig. 2). No período menos chuvoso (16.05.2008 a 08.10.2008) os ciclos de abertura e fechamento da barra duraram em média 24,3 dias, com uma altura média de alagamento de 109,7 cm. Por outro lado, no período mais chuvoso (09.10.2008 a 07.03.2009) o nível médio do estuário foi de 69,3 cm com um tempo médio de abertura e fechamento da barra de apenas 4,5 dias. A irregularidade na frequência e na duração da abertura da barra causa um regime de alagamento que expõe a flora local a mudanças bruscas nas condições ambientais.

Tabela 1. Lista das espécies de macrófitas aquáticas e suas coberturas no estuário do Rio Massaguaçu.

Espécie	Família	Cobertura (em m <sup>2</sup> )
<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham. & Schldtl.	Alismataceae	16,6
<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	Amaranthaceae	0,1
<i>Crinum americanum</i> L.	Amaryllidaceae	2828,2
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Apiaceae	1
<i>Forsteronia</i> sp.	Apocynaceae	13
<i>Mikania hastato-cordata</i> Malme	Asteraceae	0,6
<i>Blechnum serrulatum</i> Rich	Blechnaceae	16,6
<i>Aechmea distichantha</i> Lem.	Bromeliaceae	1
<i>Commelina schomburgkiana</i> Klotzsch.	Commelinaceae	26,9
<i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet	Convolvulaceae	1,7
<i>Costus arabicus</i> L.	Costaceae	4,1
<i>Calyptracarya longifolia</i> (Rudge) Kunth	Cyperaceae	196,2
cf. <i>Rhynchospora</i>	Cyperaceae	37,7
<i>Cyperus</i> sp.	Cyperaceae	4
<i>Eleocharis flavescens</i> (Poir.) Urb.	Cyperaceae	551,5
<i>Eleocharis interstincta</i> (Vahl) Roem. & Schult.	Cyperaceae	1294,4
<i>Eleocharis minima</i> Kunth	Cyperaceae	52,7
<i>Eleocharis montana</i> (Kunth) Roem. & Schult.	Cyperaceae	5,1
<i>Fuirena umbellata</i> Rottb.	Cyperaceae	4,6
Indeterminada 1	Cyperaceae	26,8
<i>Rhynchospora</i> cf. <i>holoschoenoides</i> (Rich.) Herter	Cyperaceae	8,3
<i>Rhynchospora corymbosa</i> (L.) Britton	Cyperaceae	700,1
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	Cyperaceae	76,3
<i>Scleria latifolia</i> Sw.	Cyperaceae	45,3
<i>Scleria mitis</i> O. Berg	Cyperaceae	350,4
<i>Mysanthus uleanus</i> (Harms) G. P. Lewis & A. Delgado	Fabaceae	0,1
<i>Spigelia</i> sp.	Loganiaceae	4,1
<i>Cyclodium meniscioides</i> (Willd.)	Lomariopsidaceae	4,1
<i>Stigmaphyllon ciliatum</i> (Lam.) A. Juss	Malpighiaceae	6,4
<i>Clidemia</i> cf. <i>bullosa</i> D. C.	Melastomataceae	8,3
<i>Nymphaea caerulea</i> Savigny	Nymphaeaceae	8,1
<i>Nymphoides</i> sp.	Nymphaeaceae	1,3
<i>Ludwigia elegans</i> (Cambess.) H. Hara	Onagraceae	4,1
<i>Ludwigia erecta</i> (L.) H. Hara	Onagraceae	17
<i>Ludwigia filiformes</i> (Hicheli) T. P. Ramanooorthy	Onagraceae	2,1
<i>Ludwigia hyssopifolia</i> (G. Don) Excell	Onagraceae	17
<i>Ludwigia octovalvis</i> (Jacq.) P. H. Raven	Onagraceae	8,3
<i>Acroceras zizanioides</i> (HBK) Dandy	Poaceae	958,4
<i>Axonopus</i> sp.	Poaceae	24,8
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk.) Stapf.	Poaceae	199,6
<i>Echinochloa polystachya</i> (Kunth) Hitchc	Poaceae	121
<i>Hymenachne amplexicaulis</i> (Rudge) Ness.	Poaceae	7,9
<i>Panicum</i> sp.1	Poaceae	41,3
<i>Panicum</i> sp.2	Poaceae	17
<i>Paspalum</i> sp.	Poaceae	625,3
<i>Polygonum ferrugineum</i> Wedd.	Polygonaceae	10,1
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx.	Polygonaceae	56,8
<i>Polygonum meisnerianum</i> Cham. & Schldtl.	Polygonaceae	76,3
<i>Serpocaulon triseriale</i> (Sw.) A. R.	Polypodiaceae	4,1
<i>Acrostichum danaeifolium</i> Langsd & Fisch	Pteridaceae	212,1
<i>Lygodium volubile</i> Sw.	Schizaeaceae	0,4
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.	Scrophulariaceae	1041,8
<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) K. Iwats.	Thelypteridaceae	41,2
<i>Typha dominguensis</i> Pers.	Typhaceae	142,6

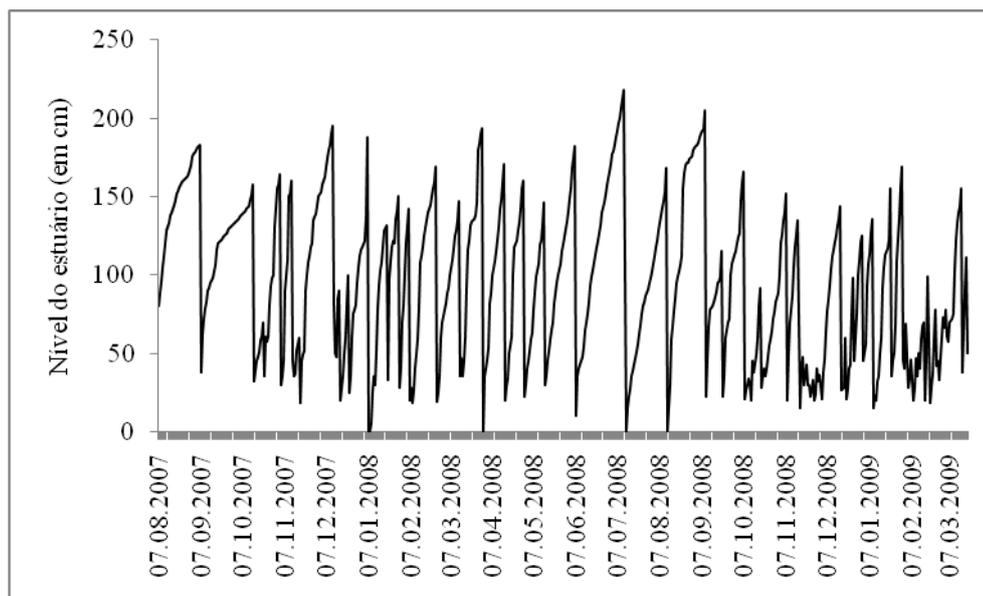


Figura 2. Nível do estuário do Rio Massaguaçu entre 07 de agosto de 2007 e 07 de março de 2009.

No estuário do Rio Massaguaçu, a distribuição da maioria das espécies de macrófitas aquáticas parece estar condicionada majoritariamente pelo regime de alagamento, mas a salinidade também é importante para essa distribuição (Fig. 3). Verificamos que as classes intermediárias de tempo de alagamento (50 e 60%) são as que apresentam as maiores diversidades e riquezas de espécies (Fig. 4). Já as classes extremas, que apresentam pouco ou muito tempo de alagamento, são constituídas quase que exclusivamente pelas espécies mais abundantes do estuário. Os bancos de macrófitas do estuário do Rio Massaguaçu localizam-se longitudinalmente ao longo do estuário e a salinidade apresenta um gradiente ao longo dos mesmos (Fig. 5). Desse modo, os bancos possuem características adequadas para se verificar a influência do gradiente salino para a composição e estrutura vegetal do estuário do Rio Massaguaçu. A diversidade de macrófitas também pode estar inversamente associada com a salinidade (KIPRIYANOVA et al., 2007). Porém, não observamos esse efeito da salinidade sobre a diversidade e riqueza de espécies (Fig. 6). Verificamos menores valores de diversidade e riqueza de espécies no banco B (Fig. 6). Porém, acreditamos que isso se deve ao fato desse banco ser uma ilha e apresentar condições de alagamento diferentes dos outros bancos e não ao fato da sua salinidade ser alta. Esse banco apresenta média de 80% de tempo de alagamento (Fig. 6), o que aparentemente é suficiente para ocasionar baixas diversidade e riqueza de espécies (Fig. 4).

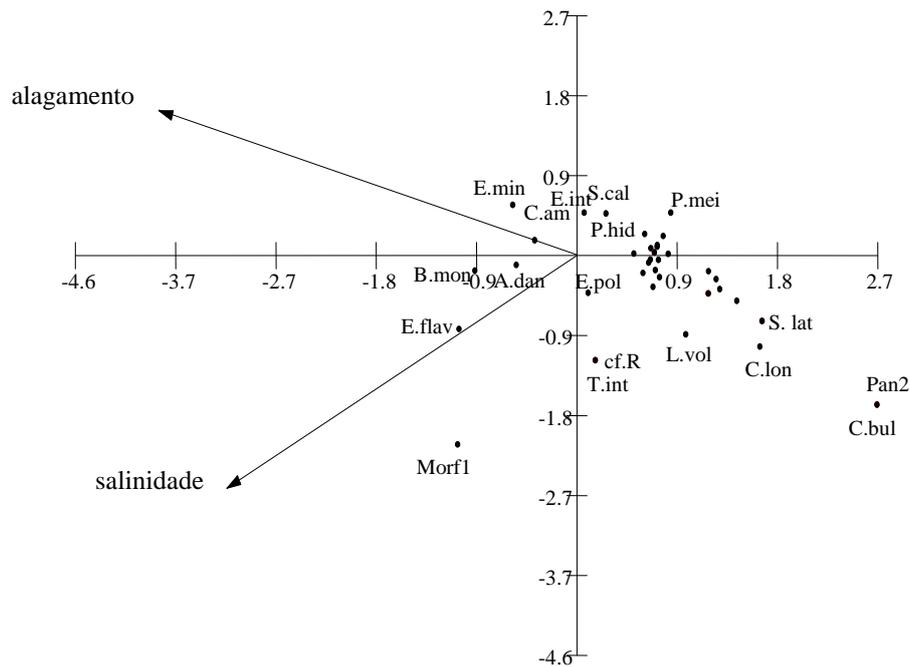


Figura 3. Análise de correspondência canônica entre a distribuição das espécies de macrófitas aquáticas e os fatores abióticos (salinidade e tempo de alagamento) do estuário do Rio Massaguaçu. Pontos: espécies de macrófitas aquáticas. Abreviaturas: A.dan = *Acrostichum danaeifolium* Langsd & Fisch; B.mon = *Bacopa monnieri* (L.) Wettst.; C.am = *Crinum americanum* L.; C.bul = *Clidemia cf. bullosa* D. C.; C.lon = *Calyptrocarya longifolia* (Rudge) Kunth; cf.R = cf. *Rhyncospora*; E.flav = *Eleocharis flavescens* (Poir.) Urb.; E.int = *Eleocharis interstincta* (Vahl) Roem. & Schult.; E.min = *Eleocharis minima* Kunth; E.pol = *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitchc; L.vol = *Lygodium volubile* Sw.; Morf1 = Morfoespécie 1; P.hid = *Polygonum hydropiperoides* Michx.; P.mei = *Polygonum meisnerianum* Cham. & Schldtl.; Pan2 = *Panicum* sp.2; S.cal = *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják; S.lat = *Scleria latifolia* Sw.; T.int = *Thelypteris interrupta* (Willd.) K. Iwats.. Os pontos aglomerados estão sem indicação da espécie.

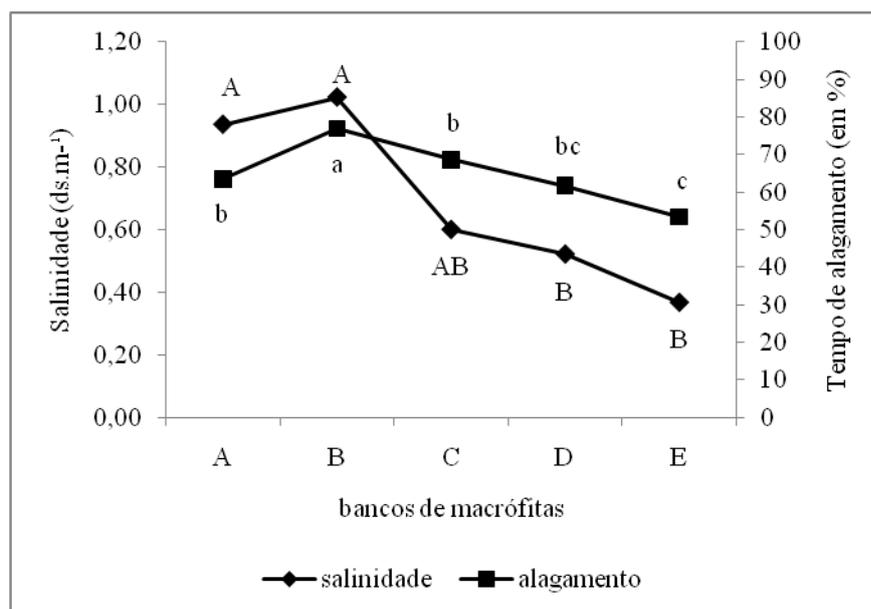


Figura 5. Salinidade média e tempo de alagamento médio nos cinco bancos de macrófitas do estuário do Rio Massaguaçu. Letras maiúsculas iguais para a salinidade e minúsculas iguais para o alagamento não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn ( $p < 0,05$ ).

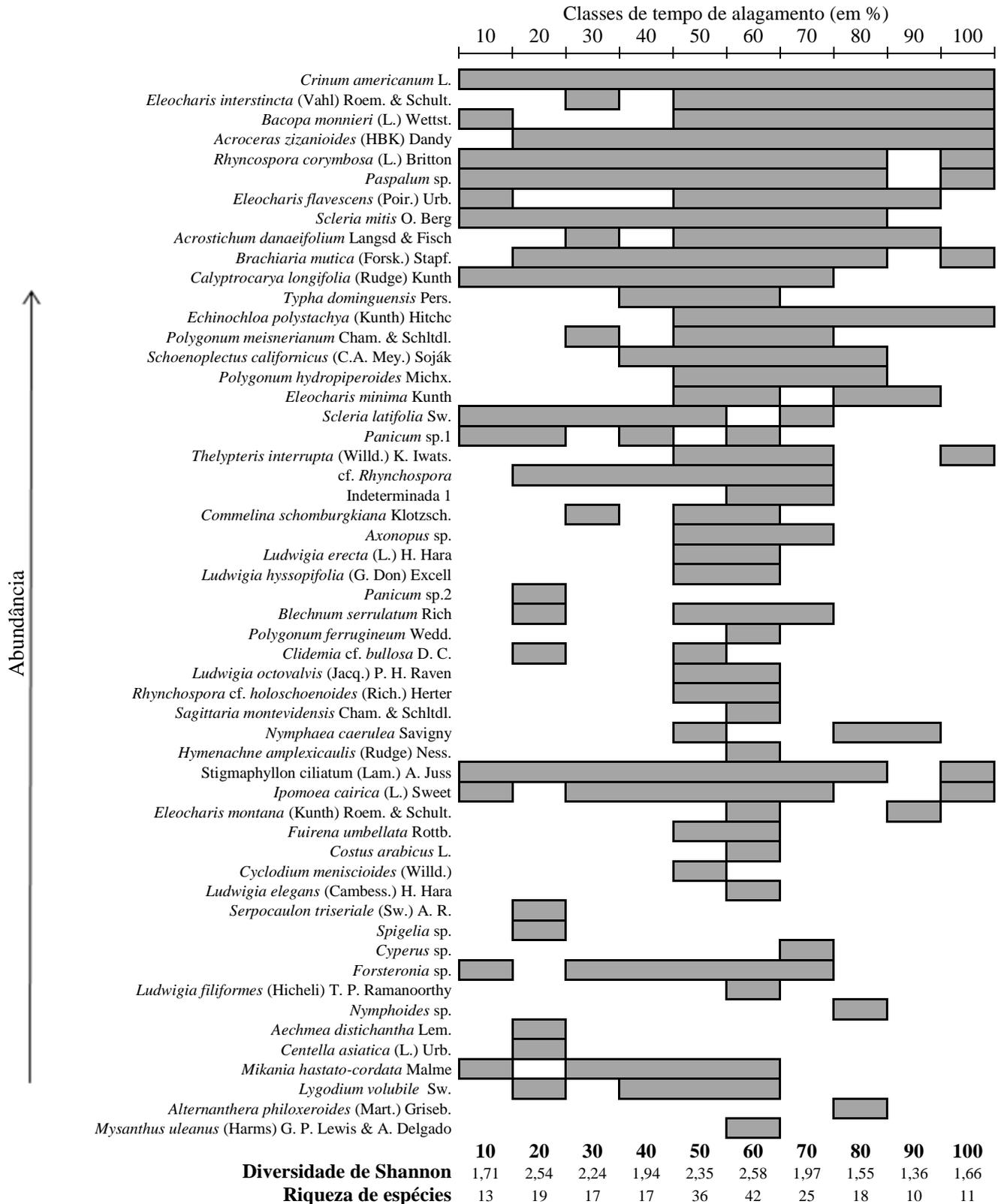


Figura 4. Distribuição espacial nas diferentes classes de alagamento, diversidade e riqueza de espécies de macrófitas aquáticas no estuário do Rio Massaguaçu. As espécies estão dispostas da mais abundante para a menos abundante. Quadro preenchido corresponde à presença da espécie na respectiva classe de alagamento.



Figura 6. Distribuição espacial nos 5 bancos, diversidade e riqueza de espécies de macrófitas aquáticas no estuário do Rio Massaguaçu. As espécies estão dispostas da mais abundante para a menos abundante. Quadro preenchido corresponde à presença da espécie no respectivo banco de macrófita.

A colonização de macrófitas é primariamente controlada pela frequência de alagamento e as espécies podem necessitar de períodos adequados de estabilidade hidrológica para seus propágulos chegarem e se desenvolverem numa cobertura substancial (RISS & BIGGS, 2003). Isto pode resultar em preferências por habitats com regimes de alagamento específicos para cada espécie, e em um mosaico de comunidades com estruturas vegetais diferenciadas como resultado das condições heterogêneas de alagamento. Ainda, as espécies que têm alta produção de propágulos podem constituir a maior proporção da vegetação em ambientes com grandes variações de alagamento. Nós verificamos que a dissimilaridade na estrutura da vegetação aumenta abruptamente ao longo das classes de alagamento (Fig. 7). A dissimilaridade variou de 0,31 até 0,85. As comunidades das classes de alagamento são aparentemente heterogêneas e a diferença ocorre de forma gradual ao longo desse gradiente. Em relação salinidade, a estrutura da vegetação também apresenta diferenças crescentes com o aumento desse gradiente (Fig. 8), ou seja, do banco A para o E. A maior dissimilaridade encontrada foi de 0,55. Apesar de comumente se supor que o aumento da salinidade reduz a biodiversidade, esse fato nem sempre é verdadeiro. Em ambientes aquáticos, a salinidade é algumas vezes melhor considerada como um guia da estrutura do ecossistema (MCEVOY & GOONAN, 2003).

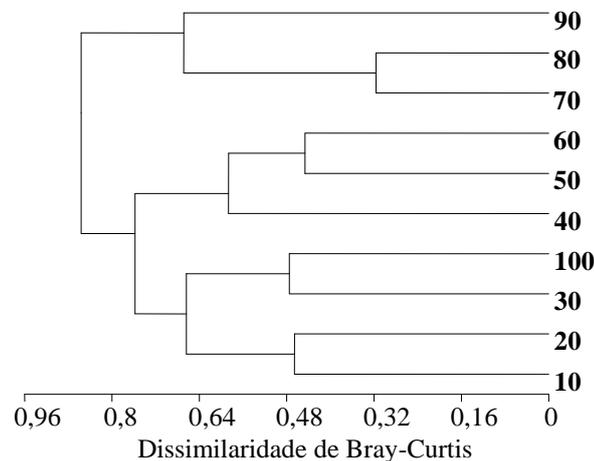


Figura 7. Dendrograma da dissimilaridade de Bray-Curtis para a estrutura da vegetação entre as classes de alagamento do estuário do Rio Massaguaçu.

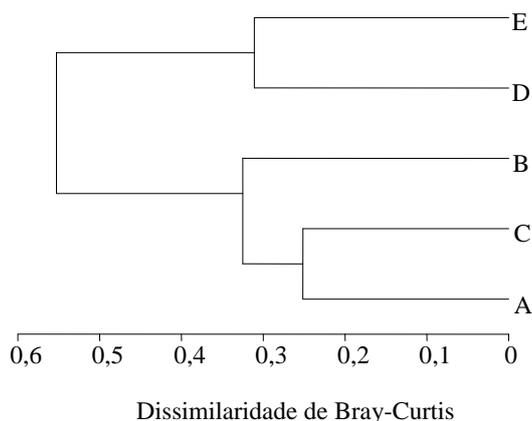


Figura 8. Dendrogramas da dissimilaridade de Bray-Curtis para a estrutura da vegetação entre os cinco bancos de macrófitas (A, B, C, D e E) do estuário do Rio Massaguaçu.

O estuário do rio Massaguaçu constitui uma zona de transição dupla: entre o ambiente de água doce e marinho, e entre os meios terrestre e aquático. Os nossos resultados sugerem uma seqüência de comunidades heterogêneas ao longo do gradiente salino e das classes de alagamento. Dessa forma, esse ambiente não pode ser definido como um ecótono. O padrão observado na vegetação o classifica como uma ecoclina no sentido longitudinal (entre o ambiente de água doce e marinho) e lateral (entre os ambientes terrestre e aquático). A única característica de ecótono que pode ser mantida é que o estuário é uma área ambientalmente estressante (ATRILL & RUNDLE, 2002). A zonação de plantas pode estar relacionada com as diferenças de tolerância à salinidade entre as diferentes espécies (PENNINGS & CALLAWAY, 1992). Verificamos que no ambiente estudado o fator tempo de alagamento e o fator salinidade influenciam de forma semelhante a distribuição das espécies. Para as espécies exclusivamente aquáticas o constante alagamento representa uma condição favorável enquanto que a falta do mesmo se torna cada vez mais desfavorável quando esta se desloca para classes de menor tempo de alagamento. As espécies terrestres têm ampla distribuição em classes de pouco alagamento e diminuem essa dominância em condições de alagamento prolongado. O mesmo processo ocorre em relação à salinidade. As espécies marinhas têm condições favoráveis próximo ao banco de areia e desfavoráveis rio acima. Já nas espécies de água doce o inverso. Desse modo, com relação à salinidade e ao alagamento, temos uma distribuição dependente da tolerância das espécies.

O entendimento da dinâmica de áreas de transição deve abranger várias características (bióticas e abióticas) e a definição terminológica clara destas é necessária para a comparação entre os estudos (HUFKENS et al., 2009). Além disso, essas áreas de transição, ecótonos e ecoclinas, podem ser indicadoras sensíveis de mudanças ambientais uma vez que

consistem de um balanço de padrões bióticos e abióticos. Assim, mudanças nas condições ambientais podem afetar esse balanço favorecendo um sistema ecológico com conseqüente mudança biológica dessa área de transição (RISSER, 1990). Com base nos dados obtidos, nós concluímos que o estuário tropical cego do Rio Massaguaçu é uma ecoclina, apresenta uma heterogeneidade crescente na comunidade vegetal ao longo do gradiente salino e das classes de alagamento, sendo que o alagamento apresenta interferência na diversidade e riqueza de espécies. No entanto, a definição dos padrões de distribuição da comunidade vegetal em estuários tropicais cegos necessita de maiores investigações e comparações com outras áreas para fortalecer as conclusões desse estudo.

## 2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATRILL, M.J. & RUNDLE, S.D. Ecotone or Ecocline: Ecological Boundaries in Estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 55, p. 929-936, 2002.

BACKÉUS, I. Ecotone *versus* ecocline: vegetation zonation and dynamics around a small reservoir in Tanzania. **Journal of Biogeography**, v. 20, p. 209-218, 1993.

COSTA, C.S.B. et al. Plant zonation in irregularly flooded salt marshes: relative importance of stress tolerance and biological interactions. **Journal of Ecology**, v. 91, p. 951-965, 2003.

CRAIN, C.M. et al. Physical and biotic drivers of plant distribution across estuarine salinity gradients. **Ecology**, v. 85, p. 2539-2549, 2004.

EDWARDS, A.L. et al. Responses to a fluctuating environment: effects of water depth on growth and biomass allocation in *Eleocharis cellulosa* Torr. (Cyperaceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 81, p. 964-975, 2003.

ESTEVEZ, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 1998. 602 p.

GREENWOOD, M.D.F. Nekton community change along estuarine salinity gradients: can salinity zones be defined? **Estuarine and Coasts**, v. 30, p. 537-542, 2007.

GREENWOOD, M.E. & MACFARLANE, G.R. Effects of salinity on competitive interactions between two *Juncus* species. **Aquatic Botany**, v. 90, p. 23-29, 2008.

HUFKENS, K. et al. Ecotones in vegetation ecology: methodologies and definitions revised. **ecological Research**, v. 24, p. 977-986, 2009.

KIPRIYANOVA, L. et al. Changes in the biota of Chany Lake along a salinity gradient. **Hydrobiologia**, v. 576, p. 83-93, 2007.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of wood plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v. 1, p. 1-29, 1997.

MCEVOY, P. & GOONAN, P. Salinity is not necessarily bad for biodiversity: case studies of invertebrates from South Australian streams and River Murray wetlands. **Records of the South Australian Museum**, v. p. 131-134, 2003.

NEILL, C. Seasonal flooding, soil salinity and primary production in northern prairie marshes. **Oecologia**, v. 95, p. 499-505, 1993.

ODUM, E. **Fundamentos de Ecologia**. 7 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2004. 927 p.

PENNINGS, S.C. & CALLAWAY, R.M. Salt marsh plant zonation: the relative importance of competition and physical factors. **Ecology**, v. 73, p. 681-690, 1992.

RISS, T. & BIGGS, B.J.F. Hydrologic and hydraulic control of macrophyte establishment and performance in streams. **Limnology and Oceanography**, v. 48, p. 1488-1497, 2003.

RISSER, P.G. The ecological importance of land-water ecotones. In: Naiman, R.J., Décamps, H. **The ecology and management of aquatic-terrestrial ecotones**. Paris: UNESCO, 1990. p. 7-21.

VAN DER MAAREL, E. Ecotones and ecoclines are different. **Journal of Vegetation Science**, v. 1, p. 135-138, 1990.

WORTMANN, J. et al. Evaluating the effects of freshwater inflow on the distribution of estuarine macrophytes. **Ecological Modelling**, v. 106, p. 213-232, 1997.

### 3 CAPÍTULO 2 – Potencial alelopático de macrófitas aquáticas de um estuário cego

**3.1 RESUMO** – (Potencial alelopático de macrófitas aquáticas de um estuário cego). Macrófitas aquáticas representam uma das comunidades mais produtivas que através de sua atividade metabólica são capazes de produzir grandes interferências no ambiente. As interações alelopáticas são aparentemente aumentadas sob condições de estresse biótico e abiótico, que podem existir em estuários devido à competição, variações de salinidade e outros fatores. O objetivo desse trabalho foi avaliar as propriedades alelopáticas de extratos aquosos foliares de 25 espécies de macrófitas aquáticas de um estuário cego. Testamos os efeitos dos extratos foliares em quatro concentrações sobre a germinação de alface, espécie bioindicadora. Ordenamos e comparamos as espécies doadoras de acordo com a dose reposta sobre a variedade de tratamentos a partir de valores únicos de índices alelopáticos. Dez das 25 espécies diminuíram a porcentagem de germinação, todas diminuíram a velocidade de germinação e 24 espécies aumentaram a entropia informacional de germinação das sementes da espécie receptora em pelo menos uma das concentrações testadas. Em geral, as menores porcentagens de germinação coincidiram com as menores velocidades e maiores entropias informacionais de germinação das sementes de alface, mostrando um conjunto de alterações ocorrendo simultaneamente com o aumento da concentração dos extratos.

**3.2 ABSTRACT** – (Allelopathic potencial of aquatic macrophytes from a blind estuary). Aquatic macrophytes represent one of the most productive communities which through its metabolic activity is capable to produce great interferences on the environment. Allelopathic interactions are apparently increased under biotic and abiotic stresses and may exist in estuaries due to competition, salinity variations and other factors. The aim of this study was to evaluate the allelopathic properties of leaf extracts of 25 aquatic macrophytes species from a blind stuary. We tested the leaf extracts effects in four concentrations on the germination of lettuce, a bioindicator species. We ranked and compared the receptor species according to the dose-response over the variety of treatments through unique values of allelopathic indexes. Ten of 25 species decreased the germination percentage, all of them decreased the speed of germination and 24 species increased the germination informational entropy of the receptor species seeds at least in one of the tested concentrations. In general, the lowest germination percentages concurred with the lowest germination speed and highest germination

informational entropies of lettuce seeds, showing an assemblage of alterations occurring simultaneously with the increase of extracts concentrations.

### 3.3 INTRODUÇÃO

A alelopatia é um dos fatores que determinam as interações entre plantas (BLANCO, 2007). Ela influencia a sucessão vegetal, a dominância, a formação clímax, a diversidade de espécies, a estrutura das comunidades e a produtividade, sendo importante em ambientes naturais e agroecossistemas (AN, 2005). Evidências de campo e estudos em laboratório indicam que a alelopatia pode ocorrer em todos os ambientes aquáticos e que todos os grupos de produtores primários possuem espécies capazes de produzir e liberar compostos alelopaticamente ativos (GROSS, 2003). O processo alelopático é diferente nos meios aquático e terrestre. No meio aquático os aleloquímicos movimentam-se com uma velocidade maior do que no solo (FERREIRA & AQUILA, 2000). Além disso, a maioria dos fotoautótrofos são cercados por água e os aleloquímicos liberados pelo organismo doador devem ser suficientemente hidrofílicos e alcançar os organismos receptores em concentrações efetivas apesar da diluição (GROSS, 2003).

Macrófitas aquáticas representam uma das comunidades mais produtivas dentre todos os ecossistemas. Através do seu metabolismo são capazes de produzir grandes interferências no ambiente (ESTEVES, 1988). Sua atividade alelopática parece ser uma resposta evolutiva eficiente contra o fitoplâncton e epífitas (GROSS, 2003; ERHARD & GROSS, 2006), uma vez que a ocupação destes na coluna d'água causa intenso sombreamento, e a redução da luminosidade é o principal fator limitante para as macrófitas (PHILLIPS et al., 1978). Verificar se a dominância de certas espécies se deve às interferências alelopáticas tem sido alvo de estudos (GROSS et al., 2007) e trabalhos investigando a alelopatia em espécies aquáticas são cada vez mais numerosos (ERHARD, 2006). As interações alelopáticas são aparentemente aumentadas sob condições de estresse biótico e abiótico (GROSS, 2003), o que nos fez acreditar na existência de espécies com potencial alelopático no ambiente estuarino cego, onde o regime de alagamento expõe a flora local a mudanças bruscas nas condições ambientais (Capítulo 1 desta dissertação).

Experimentos em laboratório são amplamente utilizados para detectar a atividade biológica de produtos naturais (e.g. atividade aleloquímica) (HOAGLAND & WILLIAMS, 2003). Porém, os bioensaios de germinação de sementes possuem pouca padronização. A maioria das pesquisas é feita com poucas espécies, principalmente espécies cultivadas para analisar aspectos bioquímicos e fisiológicos da germinação (ALIOTTA et al., 2006). Os trabalhos sobre alelopatia, por exemplo, empregam métodos e espécies receptoras

variáveis, o que torna difícil a comparação entre as espécies doadoras. Há trabalhos sobre alelopatia para sete das 25 espécies escolhidas para este estudo: *Brachiaria mutica* (Forsk) Stapf (CHOU, 1989), *Crinum americanum* L. (RIBEIRO et al., 2009), *Eleocharis interstincta* (Vahl) Roem. & Schult. (SUTTON & PORTIER, 1991), *Eleocharis flavescens* (Poir.) Urb., *Eleocharis montana* (Kunth) Roem. & Schult. (WOOTEN & ELAKOVICH, 1991), *Ipomoea cairica* (L.) Sweet (MA et al., 2009) e *Typha dominguensis* Pers. (GALLARDO et al., 1998). Porém, a comparação entre os mesmos não é possível pelas razões mencionadas anteriormente. A comparação dos potenciais fitotóxicos das espécies doadoras em bioensaios de germinação é uma importante ferramenta para a seleção de espécies promissoras aos estudos nesta área. A alface, espécie bioindicadora sensível a diversas categorias de metabólitos secundários, amplamente utilizada para este fim (FERREIRA & AQUILA, 2000), tem se mostrado eficiente em nossos estudos ao possibilitar a detecção de baixas até altas fitotoxicidades permitindo, portanto, o ranqueamento das espécies. Diferentemente, espécies infestantes (e.g. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv) mostram menores sensibilidades aos extratos, impossibilitando a detecção de baixas toxicidades.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar as propriedades alelopáticas de extratos foliares aquosos de 25 espécies de macrófitas aquáticas do estuário do Rio Massaguaçu sobre a germinação de alface. Esperamos que neste ambiente estressante existam espécies com potencial alelopático.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparação dos extratos - O estuário do Rio Massaguaçu (Caraguatatuba-SP, Brasil) (23°37'20''S e 54°21'25''O), é um estuário cego separado do oceano por um banco de areia. Em março de 2009, coletamos folhas adultas, sem sinais de predação ou doenças, de 25 espécies de macrófitas aquáticas em diferentes estágios fisiológicos (Tab. 1). Nós coletamos as espécies de forma assistemática, sem preferência por famílias. Secamos as folhas à 45°C em estufa de circulação forçada até a estabilização das massas. Trituramos em moinho e estocamos a -10°C em bolsas plásticas até o uso. Preparamos extratos aquosos 10% (p/v) com os pulverizados das folhas secas e água destilada. Colocamos por 5 minutos em agitador magnético (22°C) e filtramos a vácuo em papel filtro (3 µm) após acondicionamento à 6°C durante 12 horas. Fizemos diluições de 5,0;

2,5; e 1,25% em água destilada a partir da solução resultante (10%) e testamos os seus efeitos sobre a germinação de alface (*Lactuca sativa* L., variedade Grand Rapids).

Bioensaio de germinação – Colocamos trinta sementes de alface em placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo camada dupla de papel filtro (3 µm) umedecida com 5 mL de solução. Utilizamos água destilada como controle. Lacramos todas as placas de Petri com filme PVC, fechamos e colocamos em estufa DBO (25°C e 12h-12h de luz-escuro). Fizemos leituras a cada 12h considerando germinadas sementes com protrusão radicular igual ou superior a 2 mm (BRASIL, 1992). Após 10 dias calculamos a porcentagem, velocidade e entropia informacional (E) de germinação (LABOURIAU, 1983). Utilizamos estes valores para a construção de gráficos tomando o grupo controle como referência. Calculamos a área de inibição entre a resposta do controle e a curva de dose-resposta (resposta da espécie alvo) gerada pela concentração das soluções. Obtivemos um único valor de potencial alelopático para cada espécie, o índice alelopático (IA) (AN et al., 2005). A partir desses valores, comparamos e ranqueamos as espécies segundo seu potencial alelopático sobre cada um dos parâmetros analisados. Para o cálculo do IA da entropia informacional utilizamos os valores de  $E^{-1}$  para que tratamentos com germinabilidade nula não fossem subestimados. Aplicamos cinco tratamentos para cada espécie doadora (controle e soluções 1,25, 2,5, 5, 10%) em delineamento experimental de blocos casualizados (SANTANA & RANAL, 2004) com cinco réplicas.

Potencial hidrogeniônico e potencial osmótico - Medimos o pH e os potenciais osmóticos dos extratos e montamos bioensaios de germinação, submetendo as sementes de alface a soluções de Polietilenoglicol 6000, soluto mais utilizado para verificar a influência desse fator por ser quimicamente inerte e não apresentar toxicidade sobre as sementes (VILLELA et al., 1991), com os valores de potenciais osmóticos -0,1; -0,2; -0,3; -0,4; -0,5; -0,6; -0,7; -0,8; -0,9, -1,0.

Análise dos dados - Fizemos a análise da normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ( $p < 0,05$ ). Posteriormente, analisamos os dados de porcentagem de germinação através do teste de Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn ( $p < 0,05$ ) e os dados de velocidade, entropia informacional de germinação e índices alelopáticos pela ANOVA com teste a posteriori de Tukey ( $p < 0,05$ ), através do programa estatístico GraphPad Prism. Utilizamos o mesmo programa na construção dos gráficos e para o cálculo dos valores de IA.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observamos alterações significativas sobre todos os parâmetros da germinação (porcentagem, velocidade e entropia informacional) das sementes de alface submetidas à ação dos extratos foliares. Alterações desses parâmetros indicam interferências nas reações metabólicas responsáveis pela germinação (LABOURIAU, 1983). Extratos de 10 espécies de macrófitas apresentaram efeito inibitório significativo sobre a porcentagem de germinação na concentração máxima, sendo que *C. americanum*, *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schl. e *I. cairica* apresentaram os maiores valores de IA (Tab. 1). Observamos um padrão dose-resposta (crescente inibição com o aumento da concentração do extrato) para todas as espécies com efeito inibitório. A resposta característica de um organismo a um aleloquímico, estímulo em baixas concentrações e inibição com o aumento da concentração (hormese), é bem conhecida na literatura (AN, 2005). Estímulos de certas substâncias químicas sob baixas concentrações podem ocorrer através de diversos mecanismos no sentido de evitar/compensar o estresse químico, variando de acordo com as substâncias e com as espécies. Uma substância química pode induzir diferentes sistemas de defesa que atenuem o seu efeito no organismo, por exemplo, estimulando respostas hormonais responsáveis pelo alongamento foliar em uma concentração e ter efeito inibitório neste ou em outro mecanismo em doses maiores (DUKE et al., 2006).

Muitas vezes a atividade alelopática não ocorre sobre a germinabilidade, mas sobre outros parâmetros do processo germinativo (FERREIRA & AQUILA, 2000). A alface, apesar de ser uma espécie sensível, apresenta um processo de germinação muito rápido. Em 24 horas quase todas as sementes já haviam germinado. Assim, o efeito na germinabilidade final pode ser muito sutil. De fato, a porcentagem de germinação das sementes de alface foi o parâmetro menos sensível em nossos bioensaios. A maioria das espécies testadas (15 de 25) não apresentou efeito sobre este parâmetro (Tab. 1).

Tabela 1. Efeitos dos extratos foliares aquosos em diferentes concentrações de espécies de macrófitas aquáticas sobre a porcentagem de germinação de sementes de alfaca.<sup>1</sup>

Espécie	Família	Fértil	Concentração (%)					IA
			0	1,25	2,5	5	10	
<i>Crinum americanum</i> L.	Amaryllidaceae	n	97,3±2,7 a	95,3±1,8 a	94,0±4,9 a	48,0±19,5 ab	0,0±0,0 b	435,8 A
<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham. & Schl.	Alismataceae	n	97,3±2,7 a	92,7±4,3 ab	94,7±5,5 ab	81,3±6,9 abc	0,6±1,4 c	309,5 AB
<i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet	Convolvulaceae	s	97,3±2,7 a	94,7±5,0 a	91,3±4,4 ab	86,6±8,4 ab	28,3±36,3 b	208,8 BC
<i>Eleocharis flavescens</i> (Poir.) Urb.	Cyperaceae	s	97,3±2,7 a	94,0±2,7 ab	96,7±3,3 ab	96,0±2,7 ab	66,6±38,0 b	117,5 CD
<i>Ludwigia erecta</i> (L.) H. Hara	Onagraceae	n	97,3±2,7 a	96,0±3,6 ab	94,0±4,3 ab	95,3±2,9 ab	62,0±32,4 b	102,9 CDE
<i>Acrostichum danaeifolium</i> Langsd & Fisch	Pteridaceae	s	97,3±2,7 a	95,3±4,4 ab	94,7±3,8 ab	94,7±5,5 ab	73,3±16,1 b	101,2 CDE
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk) Stapf	Poaceae	s	97,3±2,7 a	95,0±42,7 ab	93,3±5,2 ab	92,7±5,4 ab	73,3±19,4 b	91,1 CDEF
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.	Scrophulariaceae	s	97,3±2,7 ab	98,0±2,9 a	92,7±12,7 ab	96,0±2,7 ab	55,3±31,3 b	82,2 CDEF
<i>Ludwigia hyssopifolia</i> (G. Don) Exel	Onagraceae	s	97,3±2,7 a	98,0±2,9 a	98,7±1,8 a	96,0±2,7 a	65,3±38,6 a	82,0 CDEF
<i>Typha dominguensis</i> Pers.	Typhaceae	n	97,3±2,7 a	96,7±3,3 ab	97,3±4,3 a	93,3±3,3 ab	86,6±4,0 b	42,0 DEF
<i>Echinochloa polystachya</i> (Kunth) Hitchc	Poaceae	s	97,3±2,7 a	93,3±3,3 a	92,7±6,4 a	93,3±7,8 a	91,3±6,0 a	41,2 DEF
<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) Iwats.	Thelypteridaceae	n	97,3±2,7 a	98,0±1,8 a	96,0±2,7 ab	96,0±4,3 ab	88,0±1,8 b	30,4 DEF
<i>Hymenachne amplexicaulis</i> (Rudge) Ness.	Poaceae	s	97,3±2,7 a	98,0±2,9 a	98,0±7,3 a	94,0±5,9 a	90,7±8,6 a	30,0 DEF
<i>Ludwigia octovalvis</i> (Jacq.) Raven	Onagraceae	s	97,3±2,7 a	94,7±3,8 a	93,3±4,0 a	95,3±3,8 a	90,0±41,1 a	27,1 DEF
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	Cyperaceae	s	97,3±2,7 a	96,7±3,3 a	97,3±1,4 a	96,0±2,7 a	88,7±8,0 a	27,0 DEF
<i>Scleria latifolia</i> Sw.	Cyperaceae	n	95,3±2,9 a	98,0±2,9 a	93,3±2,3 a	94,0±3,6 a	92,7±6,8 a	27,0 DEF
<i>Acroceras zizanioides</i> (HBK) Dandy	Poaceae	s	97,3±2,7 a	96,7±4,0 a	98,7±1,8 a	93,3±4,0 a	94,0±4,9 a	21,2 DEF
<i>Eleocharis interstincta</i> (Vahl) Roem. & Schult.	Cyperaceae	s	97,3±2,7 a	98,7±2,9 a	96,7±3,3 a	95,3±2,9 a	94,0±5,4 a	14,5 DEF
<i>Eleocharis minima</i> Kunth	Cyperaceae	n	97,3±2,7 a	96,7±4,0 a	96,7±2,3 a	96,0±2,7 a	94,7±1,8 a	13,3 DEF
								<b>0,0 DEF</b>
<i>Scleria mitis</i> O. Berg	Cyperaceae	s	95,3±2,9 a	98,7±1,8 a	94,0±2,7 a	96,0±4,3 a	96,7±2,3 a	-5,4 DEF
<i>Eleocharis montana</i> (Kunth) Roem. & Schult.	Cyperaceae	s	97,3±2,7 a	98,7±1,8 a	95,3±5,5 a	95,3±5,0 a	99,3±1,4 a	-9,9 DEF
<i>Polygonum ferrugineum</i> Wedd.	Polygonaceae	s	95,3±2,9 a	96,0±1,4 a	98,7±1,8 a	96,0±2,7 a	96,7±4,0 a	-12,5 EF
<i>Calyptracarya longifolia</i> (Rudge) Kunth	Cyperaceae	s	95,3±2,9 a	92,7±4,3 a	97,3±3,6 a	94,7±4,4 a	97,3±3,6 a	-18,3 EF
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx.	Polygonaceae	s	95,3±2,9 a	99,3±1,4 a	96,7±5,7 a	97,3±2,7 a	95,3±2,9 a	-20,8 EF
<i>Polygonum meisnerianum</i> Cham. & Schltldl.	Polygonaceae	s	95,3±2,7 a	97,3±2,9 a	96,7±2,3 a	96,7±4,7 a	98,0±1,8 a	-30,4 F

<sup>1</sup>Média±desvio padrão. IA: Índices Alelopáticos. Letras maiúsculas iguais não diferem entre si pela ANOVA e teste a posteriori de Tukey (p<0,05). Letras minúsculas iguais dentro da mesma linha não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn (p<0,05). n: vegetativo, s: fértil (florado ou com soros). **0,0**: controle. As espécies foram dispostas do maior para o menor IA.

A velocidade de germinação foi o parâmetro mais sensível à ação dos extratos aquosos. Todas as espécies reduziram a velocidade em pelo menos uma das concentrações testadas (Tab. 2). Observamos IAs significativos sobre a velocidade de germinação em relação ao controle em dez espécies, sendo que *C. americanum* e *S. montevidensis* reduziram significativamente a velocidade de germinação em todas as concentrações testadas. O aumento da atividade inibitória com o aumento da concentração do extrato aquoso testado também ocorreu em relação a esse parâmetro em todas as espécies (Tab. 2). Não verificamos estímulos em quaisquer concentrações para nenhuma das espécies testadas.

O aumento da entropia informacional revela a perda da sincronia nas reações metabólicas da germinação indicando heterogeneidade fisiológica nas sementes (MARASCHIN-SILVA & AQUILA, 2006). Isso leva a uma distribuição mais esparsa no tempo de germinação dessas sementes. Atribui-se a esse tipo de distribuição um caráter adaptativo, como uma compensação às condições desfavoráveis do meio (JELLER & PEREZ, 2001). A germinação das sementes de alface da variedade Grand Rapids foi sincronizada sob condições utilizadas como controle, tendo em geral um pico único de germinação em 24h. Todas as espécies de macrófitas, exceto *S. latifolia*, afetaram a sincronia de germinação de alface em alguma concentração (Tab. 3). A entropia informacional no processo de germinação da alface apresentou maiores valores sob ação dos extratos de *I. cairica*, *S. montevidensis* e *C. americanum*, respectivamente. Observamos maiores valores de entropia na concentração máxima dos extratos em 21 das 25 espécies estudadas. Em *A. danaeifolium*, *S. latifolia*, *C. longifolia* e *Eleocharis minima* não houve este aumento. Nestas, observamos maiores inibições sobre a sincronia de germinação em concentrações intermediárias.

Tabela 2. Efeitos dos extratos foliares aquosos em diferentes concentrações de espécies de macrófitas aquáticas sobre a velocidade de germinação de sementes de alface.<sup>2</sup>

Espécie	Família	Concentração (%)					IA
		0	1,25	2,5	5	10	
<i>Crinum americanum</i> L.	Amaryllidaceae	0,036±0,005 a	0,031±0,001 b	0,026±0,001 b	0,013±0,002 c	0,000±0,000 d	0,21 A
<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham. & Schl.	Alismataceae	0,036±0,005 a	0,027±0,002 b	0,025±0,001 b	0,010±0,001 c	0,000±0,002 d	0,21 A
<i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet	Convolvulaceae	0,036±0,005 a	0,033±0,003 ac	0,028±0,003 bc	0,018±0,003 d	0,000±0,000 e	0,18 AB
<i>Acrostichum danaeifolium</i> Langsd & Fisch	Pteridaceae	0,036±0,005 a	0,041±0,001 a	0,030±0,002 b	0,017±0,002 c	0,009±0,000 d	0,15 ABC
<i>Ludwigia hyssopifolia</i> (G. Don) Exel	Onagraceae	0,036±0,005 ab	0,045±0,016 a	0,029±0,003 bc	0,020±0,002 cd	0,008±0,002 d	0,14 ABCD
<i>Ludwigia octovalvis</i> (Jacq.) Raven	Onagraceae	0,036±0,005 ab	0,038±0,004 a	0,030±0,005 b	0,023±0,002 c	0,014±0,001 c	0,14 ABCD
<i>Hymenachne amplexicaulis</i> (Rudge) Ness.	Poaceae	0,036±0,005 a	0,035±0,003 ab	0,029±0,003 bc	0,023±0,002 c	0,012±0,001 d	0,13 ABCD
<i>Ludwigia erecta</i> (L.) H. Hara	Onagraceae	0,036±0,005 a	0,037±0,004 a	0,036±0,010 a	0,020±0,003 b	0,010±0,001 b	0,13 ABCD
<i>Eleocharis flavescens</i> (Poir.) Urb.	Cyperaceae	0,036±0,005 a	0,035±0,003 a	0,032±0,003 ab	0,026±0,001 b	0,008±0,004 c	0,12 ABCD
<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) Iwats.	Thelypteridaceae	0,036±0,005 a	0,038±0,005 a	0,033±0,003 a	0,023±0,003 b	0,012±0,000 c	0,12 ABCD
<i>Acroceras zizanioides</i> (HBK) Dandy	Poaceae	0,036±0,005 a	0,036±0,003 a	0,030±0,001 a	0,023±0,001 b	0,014±0,003 c	0,12 ABCDE
<i>Eleocharis interstincta</i> (Vahl) Roem. & Schult.	Cyperaceae	0,036±0,005 a	0,031±0,007 ab	0,029±0,000 ab	0,026±0,004 b	0,014±0,003 c	0,11 ABCDE
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.	Scrophulariaceae	0,036±0,005 a	0,037±0,002 a	0,032±0,003 a	0,032±0,002 a	0,012±0,000 b	0,11 ABCDE
<i>Scleria latifolia</i> Sw.	Cyperaceae	0,040±0,006 a	0,036±0,002 ab	0,035±0,004 ab	0,031±0,002 bc	0,024±0,002 c	0,09 BCDE
<i>Polygonum meisnerianum</i> Cham. & Schtdl.	Polygonaceae	0,040±0,006 a	0,039±0,001 a	0,039±0,001 a	0,030±0,003 b	0,020±0,002 c	0,09 BCDE
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx.	Polygonaceae	0,040±0,006 a	0,035±0,004 a	0,036±0,003 a	0,033±0,002 a	0,017±0,001 b	0,09 BCDE
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk) Stapf	Poaceae	0,036±0,005 abcd	0,039±0,017 b	0,039±0,003 c	0,030±0,001 d	0,016±0,002 e	0,09 BCDE
<i>Calyptracarya longifolia</i> (Rudge) Kunth	Cyperaceae	0,040±0,006 a	0,037±0,002 ab	0,035±0,002 ab	0,030±0,004 bc	0,027±0,001 c	0,08 BCDE
<i>Polygonum ferrugineum</i> Wedd.	Polygonaceae	0,040±0,006 a	0,034±0,001 ab	0,037±0,000 a	0,030±0,003 bc	0,027±0,003 c	0,08 BCDE
<i>Echinochloa polystachya</i> (Kunth) Hitchc	Poaceae	0,036±0,005 a	0,040±0,001 a	0,035±0,003 a	0,028±0,001 b	0,017±0,002 c	0,08 BCDE
<i>Typha dominguensis</i> Pers.	Typhaceae	0,036±0,005 a	0,038±0,002 a	0,034±0,003 ab	0,030±0,000 b	0,020±0,002 c	0,07 BCDE
<i>Eleocharis minima</i> Kunth	Cyperaceae	0,036±0,005 a	0,037±0,003 a	0,033±0,002 ab	0,029±0,000 bc	0,024±0,002 c	0,06 BCDE
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	Cyperaceae	0,036±0,005 a	0,041±0,004 a	0,039±0,002 a	0,035±0,003 a	0,011±0,002 b	0,06 BCDE
<i>Scleria mitis</i> O. Berg	Cyperaceae	0,040±0,006 a	0,040±0,001 a	0,038±0,002 a	0,036±0,003 a	0,025±0,002 b	0,06 CDE
<i>Eleocharis montana</i> (Kunth) Roem. & Schult.	Cyperaceae	0,036±0,005 a	0,037±0,002 a	0,036±0,002 a	0,035±0,004 a	0,026±0,003 b	0,03 D
							<b>0,00 E</b>

<sup>2</sup> Média±desvio padrão. IA: Índices Alelopáticos. Letras minúsculas iguais dentro da mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre si pela ANOVA e teste a posteriori de Tukey (p<0,05). **0,0**: controle. As espécies foram dispostas do maior para o menor IA.

Tabela 3. Efeitos dos extratos foliares aquosos em diferentes concentrações de espécies de macrófitas aquáticas sobre a entropia informacional de germinação de sementes de alface.<sup>3</sup>

Espécie	Família	Concentração (%)					IA
		0	1,25	2,5	5	10	
<i>Ipomoea cairica</i> (L) Sweet	Convolvulaceae	0,5±0,3 b	1,0±0,3 a	0,7±0,4 a	2,1±0,2 a	-	10,8 A
<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham. & Schl.	Alismataceae	0,5±0,3 d	1,2±0,3 bc	0,9±0,1 cd	2,7±0,2 a	-	10,7 A
<i>Crinum americanum</i> L.	Amaryllidaceae	0,5±0,3 b	1,2±0,2 b	1,6±0,4 b	1,6±0,3 a	-	9,8 AB
<i>Eleocharis flavescens</i> (Poir.) Urb.	Cyperaceae	0,5±0,3 b	0,6±0,1 b	1,1±0,3 b	1,8±0,1 a	-	9,3 AB
<i>Ludwigia hyssopifolia</i> (G. Don) Exel	Onagraceae	0,5±0,3 e	0,7±0,2 de	1,5±0,3 cd	2,0±0,3 bc	2,6±0,9 a	9,3 AB
<i>Acroceras zizanioides</i> (HBK) Dandy	Poaceae	0,5±0,3 d	0,7±0,2 cd	1,3±0,3 c	1,7±0,0 b	2,7±0,4 a	9,1 AB
<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) Iwats.	Thelypteridaceae	0,5±0,3 c	0,9±0,5 c	1,1±0,2 bc	1,9±0,5 b	2,6±0,2 a	8,8 AB
<i>Hymenachne amplexicaulis</i> (Rudge) Ness.	Poaceae	0,5±0,3 c	0,9±0,3 bc	1,4±0,2 ab	1,5±0,1 a	1,9±0,2 a	8,7 AB
<i>Ludwigia octovalvis</i> (Jacq.) Raven	Onagraceae	0,5±0,3 c	0,3±0,3 c	1,3±0,5 b	2,0±0,2 a	2,1±0,9 a	8,6 AB
<i>Ludwigia erecta</i> (L.) H. Hara	Onagraceae	0,5±0,3 b	0,6±0,3 b	1,2±0,1 b	2,2±0,3 a	2,6±0,8 a	8,5 AB
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.	Scrophulariaceae	0,5±0,3 c	0,5±0,2 c	1,1±0,3 b	1,3±0,1 b	2,8±1,2 a	8,4 AB
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk) Stapf	Poaceae	0,5±0,3 c	0,4±0,2 c	0,3±0,3 c	1,3±0,2 b	2,1±0,4 a	8,2 AB
<i>Acrostichum danaeifolium</i> Langsd & Fisch	Pteridaceae	0,5±0,3 c	0,1±0,1 c	1,4±0,3 b	2,2±0,4 a	1,9±0,2 ab	7,9 AB
<i>Eleocharis interstincta</i> (Vahl) Roem. & Schult.	Cyperaceae	0,5±0,3 b	1,0±0,4 b	1,3±0,2 b	1,3±0,4 b	2,4±0,4 a	7,7 AB
<i>Typha dominguensis</i> Pers.	Typhaceae	0,5±0,3 d	0,5±0,3 d	1,0±0,2 cd	1,4±0,0 ab	1,8±0,5 a	7,3 AB
<i>Polygonum ferrugineum</i> Wedd.	Polygonaceae	0,7±0,1 b	0,9±0,1 ab	0,8±0,2 b	1,2±0,2 a	1,2±0,1 a	4,8 AB
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx.	Polygonaceae	0,7±0,1 c	0,6±0,3 c	0,5±0,0 c	1,2±0,2 b	2,4±0,1 a	4,3 AB
<i>Polygonum meisnerianum</i> Cham. & Schltl.	Polygonaceae	0,7±0,1 c	0,4±0,1 c	0,6±0,1 c	1,3±0,2 b	1,9±0,2 a	4,0 AB
<i>Scleria latifolia</i> Sw.	Cyperaceae	0,7±0,1 ab	0,6±0,2 b	0,9±0,2 ab	1,2±0,2 a	1,0±0,3 ab	3,7 AB
<i>Calyptracarya longifolia</i> (Rudge) Kunth	Cyperaceae	0,7±0,1 b	0,5±0,3 b	0,7±0,1 ab	1,2±0,2 a	1,0±0,3 b	3,3 AB
<i>Echinochloa polystachya</i> (Kunth) Hitchc	Poaceae	0,5±0,3 bc	0,3±0,2 c	1,0±0,2 b	0,8±0,3 bc	2,1±0,2 a	3,3 AB
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	Cyperaceae	0,5±0,3 b	0,4±0,2 b	0,5±0,4 b	0,9±0,2 b	2,6±0,1 a	3,2 AB
<i>Eleocharis minima</i> Kunth	Cyperaceae	0,5±0,3 b	0,8±0,3 ab	1,1±0,1 a	0,7±0,0 ab	0,7±0,4 ab	1,9 AB
<i>Scleria mitis</i> O. Berg	Cyperaceae	0,7±0,1 b	0,3±0,2 b	0,6±0,1 b	0,8±0,3 ab	1,3±0,4 a	0,9 AB
<i>Eleocharis montana</i> (Kunth) Roem. & Schult.	Cyperaceae	0,5±0,3 b	0,3±0,1 b	0,6±0,2 b	0,6±0,2 b	1,7±0,3 a	0,7 AB

**0,0 B**

<sup>3</sup>Média±desvio padrão. IA: Índices Alelopáticos. Letras minúsculas iguais dentro da mesma linha e letras maiúsculas iguais não diferem entre si pela ANOVA e teste a posteriori de Tukey (p<0,05). **0,0**: controle. As espécies foram dispostas do maior para o menor IA. – Valores não calculados devido a réplicas com germinabilidade nula.

Um conjunto de alterações negativas ocorreu simultaneamente com o aumento da concentração dos extratos. Em geral, as menores porcentagens coincidiram com as menores velocidades e as maiores entropias informacionais da germinação de alface. Alterações nos padrões de germinação podem resultar de efeitos sobre a permeabilidade de membranas, da transcrição e da tradução do DNA, do funcionamento dos mensageiros secundários, da respiração por seqüestro de oxigênio (fenóis), da conformação de enzimas e receptores, ou ainda da combinação destes fatores (FERREIRA & AQUILA, 2000). Os extratos aquosos são misturas que podem conter substâncias de várias classes como terpenóides, fenóis, alcalóides, aminoácidos não protéicos, dentre outras, e apresentam efeitos complexos sobre a alface, ainda não elucidados completamente (MARASCHIN-SILVA & AQUILA, 2006). O efeito fitotóxico do extrato pode ocorrer pela ação de uma substância isolada ou pela ação sinérgica de várias substâncias (MACÍAS et al., 1998). Ainda, as substâncias alelopáticas podem atuar em diferentes processos fisiológicos como crescimento e fotossíntese e até mesmo de forma indireta, por intermédio de outros organismos (FERREIRA & AQUILA, 2000).

A alelopátia pode fornecer uma vantagem competitiva na interação com outros produtores primários nos ambientes aquáticos (GROSS, 2003). *C. americanum* foi a espécie que apresentou o maior potencial alelopático, o que nos faz acreditar que essa característica possa influenciar a abundância e alta dominância dessa espécie verificados no estuário do Rio Massaguaçu (Capítulo 1 desta dissertação). Também identificamos efeitos inibitórios nos extratos de *I. cairica* e *S. montevidensis*. No entanto, essas espécies não possuem altas dominâncias, neste estuário. Os organismos de um mesmo ambiente podem estar adaptados aos aleloquímicos presentes nesse sistema e as interações alelopáticas podem ser mais comuns entre organismos de diferentes ambientes (REIGOSA et al., 1999). Dessa forma, os potenciais alelopáticos de *I. cairica* e *S. montevidensis* poderiam favorecê-las, por exemplo, em ambientes nos quais elas são invasoras. De fato, a alelopátia é sugerida como um mecanismo para o sucesso de plantas invasoras (HIERRO & CALLAWAY, 2003), *I. cairica* é apontada como uma espécie amplamente distribuída pelas regiões tropicais, considerada nociva e invasora (LLAMAS, 2003), e *S. montevidensis* caracteriza-se como uma planta invasora medianamente freqüente, ocorrendo em ambientes alagados e pantanosos (LORENZI, 2000). A alelopátia pode agir alternativamente ou ao menos de forma complementar a outros mecanismos (e.g. crescimento rápido), sendo uma estratégia contra a competição com outros produtores primários (ERHARD, 2006).

Neste trabalho, os extratos de todas as espécies doadoras afetaram o processo germinativo das sementes de alface. Em geral, a interferência alelopática pode variar dependendo do estágio fisiológico do indivíduo doador (SOUZA FILHO et al., 2002) e das condições ambientais (BLANCO, 2007). De qualquer forma, pudemos realizar comparações sobre todos os parâmetros da germinação de alface analisados através de valores únicos de IAs para cada espécie, através da dose resposta de quatro concentrações. O estabelecimento da dose resposta de 3 ou mais concentrações de material ou lixiviado fitotóxico mostra-se ideal para se obter dados confiáveis sobre a atividade alelopática (INDERJIT & WESTON, 2000). A necessidade da espécie alvo ser do mesmo ambiente do organismo doador é controversa. Plantas terrestres ou partes delas são algumas vezes utilizadas porque podem fornecer o melhor sistema modelo para uma detalhada investigação do modo de ação (GROSS, 2003).

O potencial osmótico das soluções pode ser um fator negativo adicional aos seus efeitos alelopáticos, reduzindo, atrasando ou impedindo a germinação (ASTARITA et al., 1996). Os valores de potencial osmótico dos extratos foliares testados variaram entre -0,017 e -0,98 MPa. Verificamos que as soluções com concentrações de PEG 6000 menores que -0,4 MPa aumentaram significativamente a entropia informacional e a velocidade de germinação de alface, enquanto que a porcentagem de germinação foi reduzida a partir do potencial -0,6 MPa. Os efeitos das soluções na concentração 10% de *A. danaeifolium*, *B. monnieri*, *E. flavescens*, *E. montana*, *I. cairica* e *T. dominguensis*, e da solução 5% de *C. americanum*, sobre a entropia informacional e a velocidade de germinação de alface se devem, em parte, ao efeito de seus potenciais osmóticos. A solução 10% de *C. americanum* apresentou o potencial osmótico mais discrepante (-0,98 MPa) e seus efeitos sobre todos os parâmetros da germinação de alface se devem parcialmente aos efeitos da sua osmolaridade. A germinação de sementes de alface não é afetada sob condições de escuridão/luminosidade dentro dos limites de pH 2,6 a 10,6 (REYNOLDS, 1975). O pH dos extratos foliares variou de 4,4 a 6,9, descartando a possibilidade de qualquer efeito deste fator sobre a germinação.

Com base nos dados obtidos, concluímos que todas as espécies doadoras mostraram efeitos sobre o processo de germinação da planta bioindicadora. Das 25 espécies estudadas, 10 diminuíram a porcentagem de germinação, todas diminuíram a velocidade e 24 aumentaram a entropia informacional de germinação das sementes da espécie receptora. O cálculo do IA para os parâmetros da germinação mostrou-se eficaz para ranquear as espécies doadoras de acordo com a curva dose-reposta. Ensaios em laboratório são ferramentas

importantes para se obter um modelo do processo alelopático e nortear a seleção de espécies doadoras para experimentos com espécies do ambiente natural ou de sistemas agricultáveis.

### 3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIOTTA, G. et al. Weed germination, seedling growth and their lesson for allelopathy in agriculture. In: Reigosa, M.J., Pedrol, N., González, L. **Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 285-297.

AN, M. Mathematical Modelling of Dose-Response Relationship (Hormesis) in Allelopathy and its Application. **Nonlinearity in Biology, Toxicology, and Medicine**, v. 3, p. 153-172, 2005.

AN, M. et al. Whole-range assessment: a simple method for analysing allelopathic dose-response data. **Nonlinearity in Biology, Toxicology and Medicine**, v. 3, p. 245-260, 2005.

ASTARITA, L.V. et al. *Mimosa bimucronata*: Allelopathy and osmotic stress. **Allelopathy Journal**, v. 3, p. 43-50, 1996.

BLANCO, J.A. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. **Ecological Modelling**, v. 209, p. 65-77, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

CHOU, C.H. Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan. IV. Comparative phytotoxic nature of leachate from four subtropical grasses **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, p. 2149-2159, 1989.

DUKE, S.O. et al. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? **Outlooks on Pest Management**, v. 17, p. 29-33, 2006.

ERHARD, D. Allelopathy in aquatic environments. In: Reigosa, M.J., Pedrol, N., González, L. **Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 433-450.

ERHARD, D. & GROSS, E.M. Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttalli* against epiphytes and phytoplankton. **Aquatic Botany**, v. 85, p. 203-211, 2006.

ESTEVEZ, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 1988. 602 p.

FERREIRA, A.G. & AQUILA, M.E.A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.

GALLARDO, T.M. et al. Inhibition of water fern *Salvinia minima* by cattail (*Typha dominguensis*) extracts and by 2-chlorophenol and salicylaldehyde. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, p. 1483-1490, 1998.

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

GROSS, E.M. et al. Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton - state of the art and open questions. **Hydrobiologia**, v. 584, p. 77-88, 2007.

HIERRO, J.L. & CALLAWAY, R.M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v. 256, p. 29-39, 2003.

HOAGLAND, R.E. & WILLIAMS, R.D. Bioassays: Useful tools for the study of allelopathy. In: Macias, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G., Cutler, H.G. **Allelopathy: Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2003. p. 315-351.

INDERJIT & WESTON, L.A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2111-2118, 2000.

JELLER, H. & PEREZ, S.C.J.G.A. Efeito dos estresses hídrico e salino e da ação de giberelina em sementes de *Senna spectabilis*. **Ciência Florestal**, v. 11, p. 93-104, 2001.

LABOURIAU, L.F.G. **A germinação das sementes**. ed. Washington: Departamento de Assuntos Científicos e Tecnológicos da Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174 p. (Biologia).

LLAMAS, K.A. **Tropical Flowering Plants: a guide to identification and cultivation** 1ed. Portland: Timber Press, 2003. 423 p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608 p.

MA, R.J. et al. Isolation and identification of allelochemicals from invasive plant *Ipomoea cairica*. **Allelopathy Journal**, v. 24, p. 77-84, 2009.

MACÍAS, F.A. et al. What are allelochemicals? In: Olofsdotter, M. **Allelopathy in rice: Proceedings of the Workshop on Allelopathy in Rice**. Manila (Philippines): International Rice Research Institute, 1998. p. 154.

MARASCHIN-SILVA, F. & AQUILA, M.E.A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 61-69, 2006.

PHILLIPS, G.L. et al. A mechanism to account for macrophyte decline in progressively eutrophicated freshwater. **Aquatic Botany**, v. 4, p. 103-126, 1978.

REIGOSA, M.J. et al. Ecophysiological Approach in Allelopathy **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 14, p. 577-608, 1999.

REYNOLDS, T. pH restraints on lettuce fruit germination. **Annals of Botany**, v. 39, p. 797-805, 1975.

RIBEIRO, J.P.N. et al. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, p. 183-188, 2009.

SANTANA, D.G. & RANAL, M.A. **Análise da Germinação: Um enfoque estatístico**. 1 ed. Brasília: Editora UnB, 2004. 247 p.

SOUZA FILHO, A.P.S. et al. Development Stages and Water Stress on the Allelopathic Potential of Marandu Grass. **Planta Daninha**, v. 20, p. 25-31, 2002.

SUTTON, D.L. & PORTIER, K.M. Influence of Spikerush Plants on Growth and Nutrient Content of *Hydrilla*. **Journal of Aquatic Plant Manage**, v. 29, p. 6-11, 1991.

VILLELA, F.A. et al. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

WOOTEN, J.W. & ELAKOVICH, S.D. Comparison of potencial allelopathy of seven freshwater species of spikerushes (*Eleocharis*). **Journal of Aquatic Plant Manage**, v. 29, p. 12-15, 1991.

#### **4 CAPÍTULO 3 – Potencial alelopático de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet sobre espécies infestantes de culturas**

**4.1 RESUMO** – (Potencial alelopático de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet sobre espécies infestantes de cultura). O uso de aleloquímicos como herbicidas sobre espécies infestantes de cultura busca o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável. *Ipomoea cairica* é considerada uma espécie infestante com potencial alelopático. O objetivo desse trabalho foi investigar a atividade alelopática de extratos foliares aquosos de *Ipomoea cairica* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Euphorbia heterophylla* L. e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donel. Testamos os efeitos dos extratos foliares em quatro concentrações sobre a germinação e o crescimento inicial dessas espécies infestantes. Os extratos inibiram a germinação, o crescimento inicial e a morfologia de todas as espécies infestantes testadas, sendo o efeito fitotóxico maior obtido com o aumento da concentração dos extratos testados. O conjunto de alterações ocasionadas pelo extrato de *I. cairica* sobre a germinação adicionadas aos seus efeitos sobre o crescimento das plântulas pode ser mais efetivo. Essas características suportam a idéia dessa espécie como doadora no desenvolvimento de novos herbicidas baseados em produtos naturais.

**4.2 ABSTRACT** – (Allelopathic potential of *Ipomoea cairica* (L.) Sweet over weed species). The use of allelochemicals as herbicides over weed species searches for the development of a more sustainable agriculture. *Ipomoea cairica* is considered a weed species with allelopathic potential. The aim of this study was to evaluate the allelopathic properties of leaf extracts of *Ipomoea cairica* over the germination and early development of *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Euphorbia heterophylla* L. e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donel. We tested the leaf extracts effects in 4 concentrations on the germination and early development of these weed species. Extracts inhibited germination, early development and morphology of tested weed species. The phytotoxic effect was higher as the concentration of extracts increased. The set of alterations caused by *I. cairica*'s extract over the germination added to its effects over seedlings' development can be more effective. These characteristics support the idea of this species as a donor to the development of new herbicides based on natural products.

### 4.3 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos os estudos sobre o processo alelopático têm focado a sua aplicação na agricultura. O uso de aleloquímicos como herbicidas sobre espécies infestantes de culturas visa desenvolver uma agricultura mais sustentável (CHON et al., 2003). A utilização de produtos naturais, aleloquímicos e extratos de plantas, pode não fornecer o mesmo nível de controle de espécies infestantes como um herbicida sintético, mas pode ser vantajosa por necessitar de uma menor quantidade deste herbicida (KHANH et al., 2006). O uso excessivo de herbicidas sintéticos pode causar a poluição do solo/água e injúrias à saúde humana (AHN et al., 2008). Os compostos naturais possuem vantagens sobre os compostos sintéticos, como ausência de moléculas halogenadas e menor meia vida (DUKE et al., 2000). Ainda, a maioria dos produtos naturais com atividade biológica são parcialmente solúveis em água, apresentando bioatividade em baixas concentrações (VYVYAN, 2002).

O prejuízo causado por espécies infestantes é de cerca de 95 bilhões de dólares anuais na produção de alimentos em nível mundial (FAO, 2009). As espécies infestantes estão entre os principais componentes do agroecossistema que interferem em culturas (KUVA et al., 2008). Estas competem por recursos com as espécies cultivadas, diminuindo a produção agrícola, e podem depositar grandes quantidades de sementes no solo, perpetuando o problema aos plantios subseqüentes (VYVYAN, 2002). *Bidens pilosa* L. (Picão-preto), *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (Capim-arroz), *Euphorbia heterophylla* L. (Amendoim-bravo) e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donel (Corda-de-viola) estão entre as mais importantes espécies infestantes de diversas culturas no Brasil e em muitos outros países (KISSMANN & GROTH, 1992; NORRIS et al., 2001).

As macrófitas aquáticas têm sido alvo de estudos na área da alelopatia, demonstrando um grande número de espécies promissoras (AHN et al., 2008). Nós verificamos previamente o potencial alelopático de 25 espécies de macrófitas aquáticas (Capítulo 2 desta dissertação) e algumas espécies apresentaram forte inibição sobre a germinação de alface, espécie bioindicadora. *Ipomoea cairica* (L.) Sweet está dentre as espécies com maior inibição sobre a germinação de alface. A alelopatia é apontada como uma característica comum de espécies invasoras, favorecendo-as nesses ambientes (WU et al., 2006). *I. cairica* é uma espécie perene da família Convolvulaceae amplamente distribuída pelas regiões tropicais, considerada nociva e invasora, sendo monodominante nas regiões invadidas (LLAMAS, 2003; MA et al., 2009). A natureza química dos seus compostos

secundários foi investigada recentemente e os compostos 3-3'-5-Trihidroxi-4'-7-dimetoxiflanona e 3-3'-5-Trihidroxi-4'-7-dimetoxiflavona-3-O-sulfato foram identificados como responsáveis pelas suas propriedades alelopáticas sobre rabanete (*Raphanus sativus* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), couve chinesa (*Brassica pekinensis* (Lou.) Rupr.) e uma espécie infestante (*Ligularia virgaurea* (Maxim.) Mattf), sendo possíveis candidatos ao desenvolvimento de novos herbicidas baseados em produtos naturais (MA et al., 2009). Porém, a sensibilidade de outras espécies infestantes de cultura aos seus aleloquímicos ainda necessita de elucidação. Os extratos aquosos podem apresentar uma grande variedade de substâncias ativas oriundas do metabolismo secundário. Assim, esperamos que *I. cairica* apresente potencial alelopático sobre outras espécies de interesse agrônômico.

O objetivo desse trabalho foi investigar a atividade alelopática de extratos aquosos de folhas de *Ipomoea cairica* sobre a germinação e o crescimento inicial de quatro espécies infestantes de culturas: *B. pilosa*, *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia*.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparação do extrato - Coletamos folhas adultas e sem sinais de herbivoria ou doenças de indivíduos floridos de *I. cairica* no estuário do Rio Massaguaçu (23°37'20''S e 54°21'25''O), Caraguatatuba, São Paulo. Secamos as folhas à 45°C em estufa de circulação forçada até a estabilização de suas massas, trituramos em moinho e estocamos a -10°C em bolsas plásticas até o seu uso. Preparamos extratos aquosos 10% (p/v) com os pulverizados de folhas secas e água destilada, agitamos por 5 minutos em temperatura ambiente (22°C) e, após acondicionamento à 6°C por 12 horas, filtramos a vácuo através de papel filtro (3 µm) (RIBEIRO et al., 2009 - modificado). Fizemos diluições em água destilada a partir da solução resultante (10%), obtendo soluções nas concentrações 7,5; 5; 2,5 e 1,25%, e testamos os seus efeitos sobre a germinação das espécies alvo: *B. pilosa*, *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia*. As sementes de *I. grandifolia* foram previamente escarificadas com ácido sulfúrico puro (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> PA) durante 4 minutos para a quebra da dormência, lavadas em água corrente e secas em papel filtro.

Bioensaio de germinação – Colocamos trinta sementes da espécie alvo em placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo camada dupla de papel filtro (3 µm) umedecida com 5 mL de solução; e utilizamos água destilada como controle. Lacramos todas as placas de

Petri com filme PVC, fechamos e colocamos em estufa DBO (28°C e 12h-12h de luz-escuro). Efetuamos leituras a cada 12h considerando germinadas sementes com protrusão de uma das partes do embrião de dentro do envoltório, adotando o critério botânico de germinação (BORGUETTI & FERREIRA, 2004). Após 10 dias calculamos a porcentagem, tempo médio, e entropia informacional de germinação (LABOURIAU, 1983).

Bioensaio de crescimento inicial – Colocamos dez plântulas da espécie alvo, previamente germinadas (2-4 mm de radícula), em caixa plástica esterelizada (8x13x5 cm) contendo camada dupla de papel filtro (3 µm) umedecida com 8 mL de solução; e utilizamos água destilada como controle. Fechamos todas as caixas plásticas e colocamos em estufa DBO (28°C e 12h-12h de luz-escuro). Após cinco dias, medimos os comprimentos da radícula e da parte aérea de cada plântula com paquímetro, e calculamos a porcentagem de plântulas mortas. Além disso, avaliamos a morfologia das plântulas.

Potencial osmótico e pH - medimos os potenciais osmóticos e pH dos extratos e montamos bioensaios de germinação e crescimento inicial com as espécies alvo, submetidas a tratamentos com Polietilenoglicol 6000 em concentrações de potencial osmótico correspondentes.

Análise dos dados - Cada espécie alvo recebeu cinco tratamentos (controle e soluções 2,5; 5; 7,5 e 10%) em delineamento experimental de blocos casualizados, com cinco réplicas. Após o teste da normalidade (Kolmogorov-Smirnov:  $p < 0,05$ ), fizemos a análise dos dados de porcentagem de germinação, entropia informacional e porcentagem de plântulas mortas através do teste de Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn ( $p < 0,05$ ), e a análise dos dados de tempo médio de germinação e de crescimento inicial pela ANOVA e teste a posteriori de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### **4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os extratos de *I. cairica* afetaram negativamente a germinação de todas as espécies infestantes de cultura testadas (Tab. 1), sendo o efeito maior com o aumento da concentração dos extratos testados. Em geral, o tempo médio foi o parâmetro mais sensível aos extratos, seguido da porcentagem e entropia informacional de germinação. O tempo médio de germinação de *B. pilosa* foi aumentado significativamente em todas as concentrações, e de *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia* a partir da concentração 5%.

Com relação à porcentagem de germinação, apenas o extrato 10% diminuiu significativamente os valores para *I. grandifolia*, *E. heterophylla* e *E. crus-galli*; e concentrações a partir de 7,5% foram tóxicas para *B. pilosa*. Além disso, a sincronia de germinação também foi afetada. Alguns valores de entropia informacional de germinação das sementes de *I. grandifolia* foram aumentados em relação ao controle. Os valores de entropia informacional de germinação das sementes de *B. pilosa*, *E. crus-galli* e *I. grandifolia* não puderam ser calculados sob ação de extratos em concentrações mais altas devido à falta de germinação em algumas réplicas. No entanto, as curvas de germinação (Fig. 1) enfatizam o efeito inibitório dos extratos sobre a sincronia e distribuição no tempo da germinação. Observamos curvas erráticas para *B. pilosa*, platicúrticas (5, 7,5 e 10%) para *E. heterophylla* e *E. crus-galli*, e curtoses para *I. grandifolia*, indicando o alongamento da germinação no tempo. Em geral, o aumento da concentração dos extratos coincidiu com menores valores de porcentagem e maiores valores de tempo médio e de entropia informacional de germinação.

Tabela 1. Efeitos dos extratos foliares aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet sobre a germinação de sementes de *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Euphorbia heterophylla* L. e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donel, após 10 dias de bioensaio.<sup>1</sup>

Espécie	Concentração	G(%)	Tm	E
<i>B. pilosa</i>	0%	92,7±1,4 a	48,8±4,0 C	2,30±0,32 a
	2,5%	76,7±19,4 ab	90,3±12,2 B	2,63±0,69 a
	5%	46,7±24,6 ab	135,5±15,2 A	1,95±0,76 a
	7,5%	6,7±9,4 b	-	-
	10%	0,0±0,0 b	-	-
<i>E. crus-galli</i>	0%	72,7±12,5 a	52,2±2,6 B	2,02±0,24 a
	2,5%	74,0±6,4 a	57,7±5,1 B	2,09±0,35 a
	5%	66,7±7,0 ab	72,6±3,5 A	2,27±0,27 a
	7,5%	45,3±14,2 ab	87,3±9,0 A	2,27±0,16 a
	10%	10,7±12,1 b	-	-
<i>E. heterophylla</i>	0%	92,0±5,5 a	24,3±3,3 D	1,49±0,38 a
	2,5%	79,3±10,3 a	29,8±2,7 CD	1,49±0,37 a
	5%	80,7±6,4 a	37,8±4,7 BC	1,94±0,28 a
	7,5%	63,3±17,3 a	45,3±9,0 AB	2,07±0,42 a
	10%	38,7±10,1 b	56,0±11,2 A	2,14±0,44 a
<i>I. grandifolia</i>	0%	75,3±5,0 a	21,4±6,7 C	1,18±0,49 a
	2,5%	64,0±5,4 a	37,1±3,4 BC	1,39±0,21 a
	5%	60,0±9,4 a	56,6±17,4 AB	2,32±0,42 ab
	7,5%	52,0±10,4 a	65,1±14,1 A	2,65±0,30 b
	10%	13,3±16,1 b	-	-

<sup>1</sup>Média±desvio padrão. G(%): germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; E: entropia informacional de germinação. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem entre si pela ANOVA e teste a posteriori de Tukey (p<0,05) dentro da cada espécie. Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn (p<0,05) dentro da cada espécie. -: valores que não puderam ser calculados devido a réplicas sem germinação.

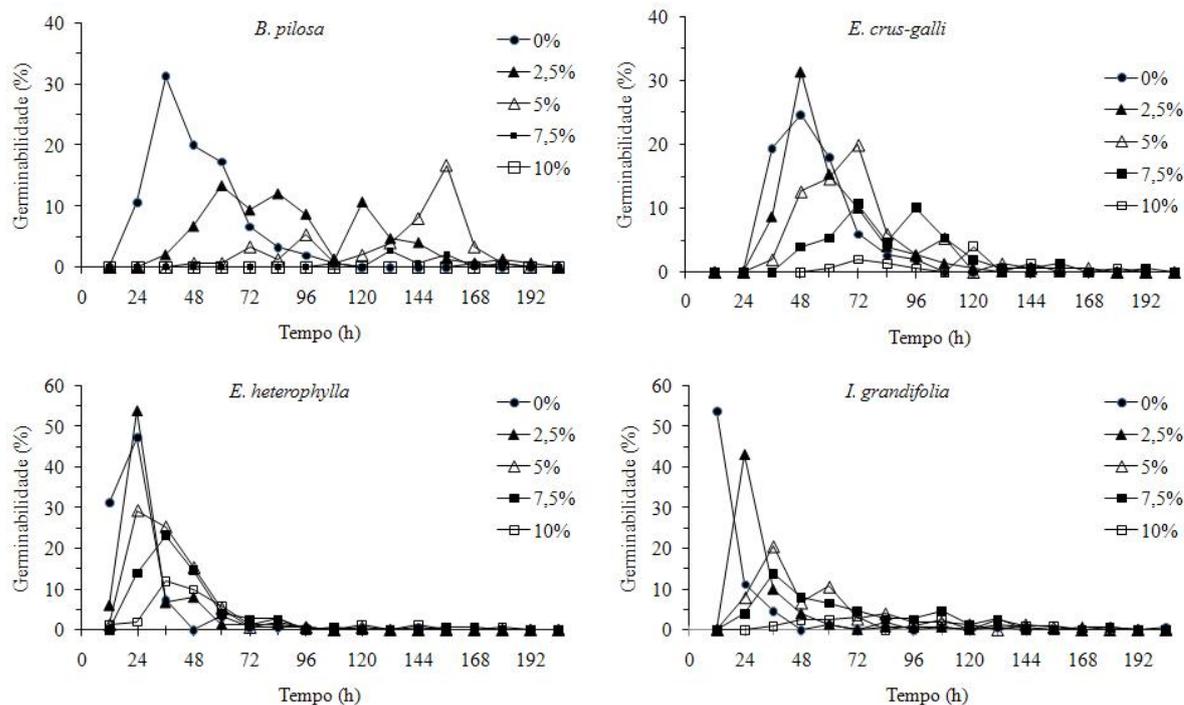


Figura 1. Germinabilidade de sementes de *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Euphorbia heterophylla* L. e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donel, durante 10 dias sob ação de extratos foliares aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet em diferentes concentrações.

Os extratos de *I. cairica* também inibiram o crescimento inicial de todas as espécies receptoras testadas (Fig. 2). Houve um aumento do efeito inibitório com o aumento da concentração do extrato, sendo que a raiz foi o órgão mais sensível. Ainda, cerca de 80% das plântulas de *B. pilosa* e *E. heterophylla*, e 30% de *I. grandifolia*, morreram sob ação do extrato 10%. Na maioria dos casos estas se encontravam apodrecidas, impossibilitando sua medição. Em geral, a parte aérea é menos sensível aos aleloquímicos (PIRES & OLIVEIRA, 2001), apresentando somente menores comprimentos. A parte aérea das plântulas de *E. crus-galli*, por exemplo, apresentou estímulo de crescimento sob ação do extrato 2,5% e crescente inibição com o aumento da concentração. Esta resposta, estímulo em baixas concentrações e inibição com aumento da concentração (hormese) é comumente encontrada na literatura. Várias espécies apresentam resposta hormética sob ação de substâncias alelopáticas (CALABRESE & BALDWIN, 2003) e até mesmo sob ação de vários tipos de herbicidas (DUKE et al., 2006). Os efeitos horméticos podem influenciar a ocorrência de sucessão primária e secundária em sistemas biológicos. Além disso, esse conceito é importante no desenvolvimento de herbicidas baseados em produtos naturais, no qual o foco é o nível tóxico da dose resposta (CALABRESE & BALDWIN, 2003). A avaliação qualitativa das plântulas constitui outra ferramenta para a análise dos efeitos das substâncias alelopáticas (FERREIRA & AQUILA, 2000). Nós verificamos anormalidades nas plântulas de todas as espécies alvo

sendo o sistema radicular o mais afetado. Este apresentou radículas defeituosas (Fig. 5c, 5d, 5e, Fig. 6b), atrofiadas (Fig. 4d, 4e, e Fig. 6c, 6d, 6e), curtas e desproporcionais em relação à parte aérea (Fig. 4b, 4c) e necrosadas (Fig. 3c, 3d, 3e). Observamos também estímulo do crescimento de raízes laterais em detrimento da raiz primária (Fig. 5b), sugerindo um transtorno do balanço hormonal (DAYAN et al., 2000). Diversos trabalhos indicam inibições na germinação, crescimento e anormalidades das plântulas como efeitos da ação de aleloquímicos (GATTI et al., 2003; MARASCHIN-SILVA & AQUILA, 2006; RIBEIRO et al., 2009). Alterações na morfologia da raiz e da parte aérea e no tamanho das partes da planta podem ser o resultado de efeitos secundários e não do mecanismo primário de ação do composto fitotóxico. Por exemplo, a avaliação dos efeitos do aleloquímico sorgoleone (exsudato da raiz de *Sorghum bicolor* L.) através do crescimento da raiz é inadequada porque não há relação direta entre o parâmetro medido e o mecanismo de ação deste aleloquímico, que é a inibição do fotossistema II (DAYAN et al., 2000).

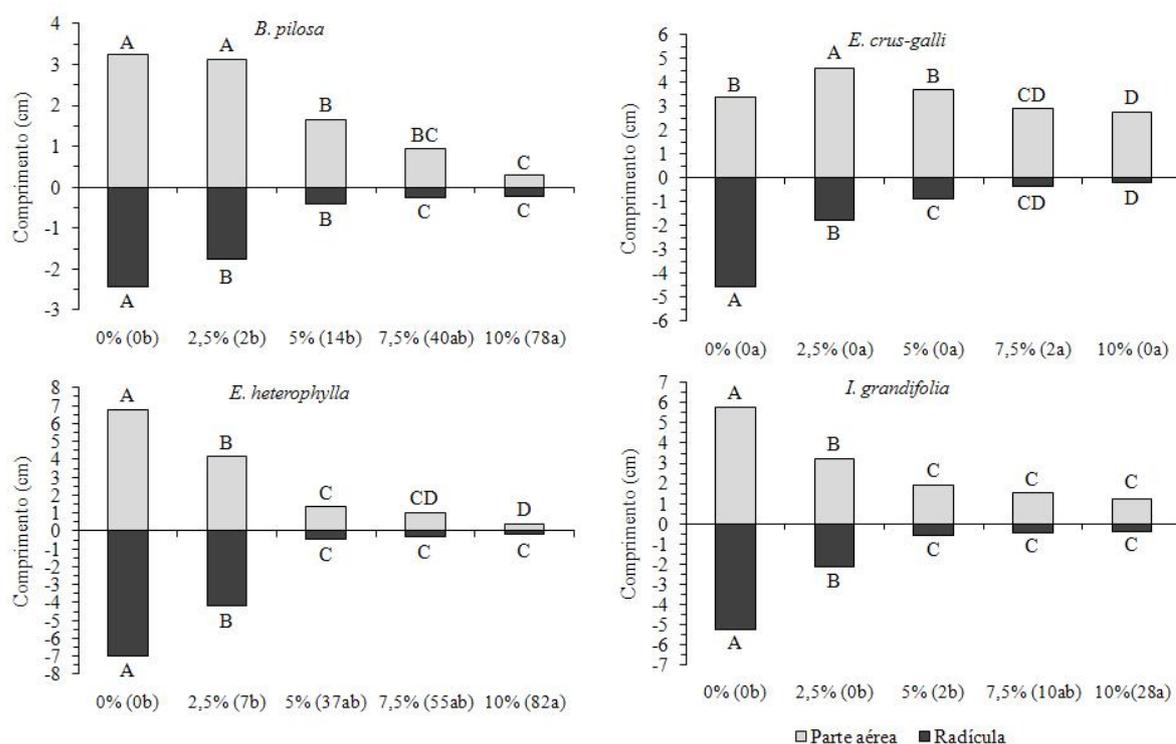


Figura 2. Efeitos dos extratos foliares aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet no crescimento inicial de plântulas de *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Euphorbia heterophylla* L. e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donell após 5 dias. Parte aérea: comprimento do conjunto hipocótilo-cotilédone. Valor entre parênteses: porcentagem de plântulas mortas. Letras maiúsculas iguais não diferem entre si pela ANOVA e teste a posteriori de Tukey ( $p < 0,05$ ) dentro de cada parte das plântulas e dentro de cada espécie. Letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn ( $p < 0,05$ ) dentro de cada espécie.

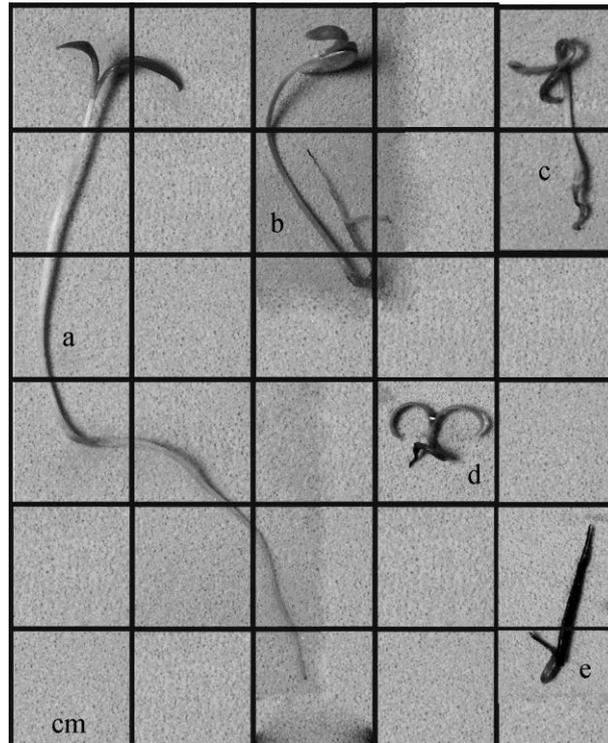


Figura 3. Anormalidades de plântulas de *Bidens pilosa* L. sob ação dos extratos aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. Plântula normal: a – controle. Concentrações: b – 2,5%, c – 5%, d – 7,5%, e – 10%.

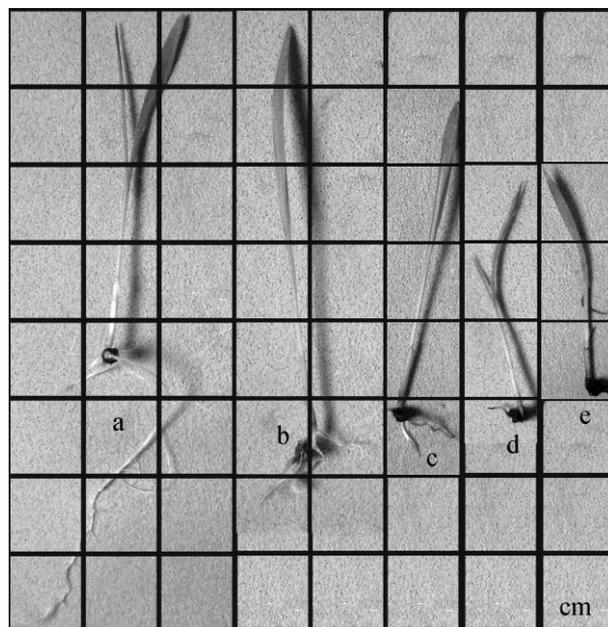


Figura 4. Anormalidades de plântulas de *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. sob ação dos extratos aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. Plântula normal: a - controle. Concentrações: b – 2,5%, c – 5%, d – 7,5%, e – 10%.

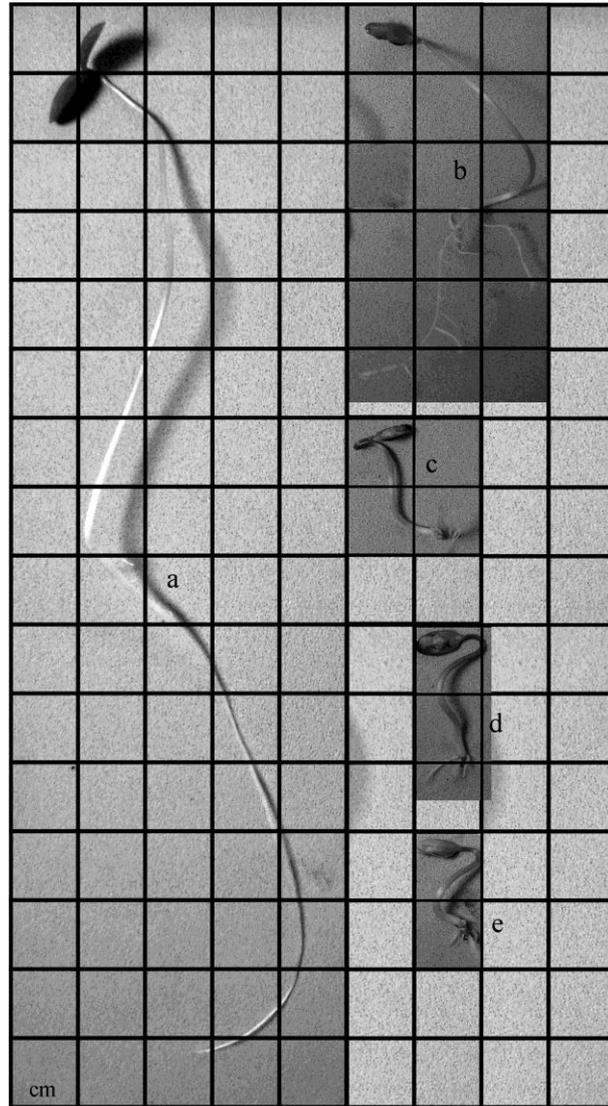


Figura 5. Anormalidades de plântulas de *Euphorbia heterophylla* L. sob ação dos extratos aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. Plântula normal: a – controle. Concentrações: b – 2,5%, c – 5%, d – 7,5%, e – 10%.

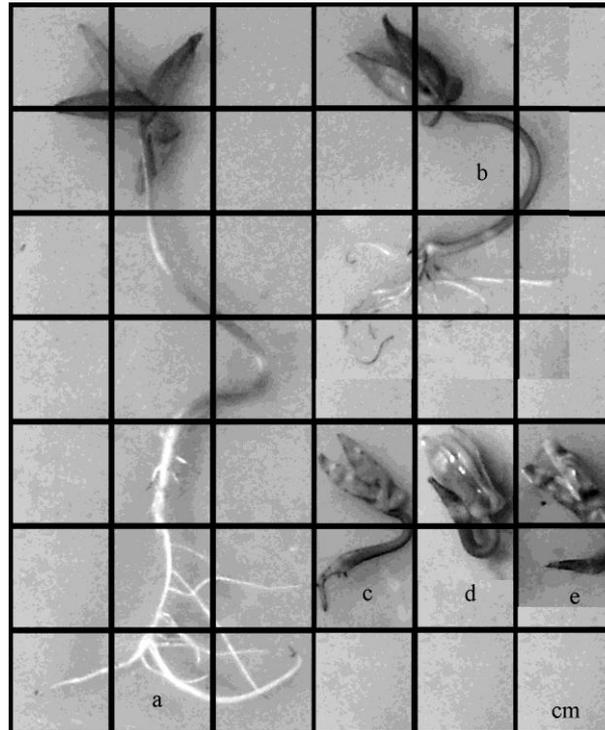


Figura 6. Anormalidades de plântulas de *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donel sob ação dos extratos aquosos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. Plântula normal: a - controle. Concentrações: b – 2,5%, c – 5%, d – 7,5%, e – 10%.

Geralmente é assumido que a resposta das sementes e plântulas aos extratos vegetais se deve à alelopatia mas o potencial osmótico do extrato também pode exercer um efeito negativo sobre as espécies alvo (ASTARITA et al., 1996). Os valores de potencial osmótico dos extratos foliares aquosos de *I. cairica* variaram de -0,13 a -0,43 MPa (Tab. 3). Verificamos que os efeitos dos extratos 7,5 e 10% sobre a porcentagem de germinação de *I. grandifolia* e tempo médio de germinação de *E. crus-galli* se devem em parte ao potencial osmótico. O potencial osmótico também é parcialmente responsável pela inibição causada pelos extratos 5, 7,5 e 10% sobre a parte aérea de plântulas de *E. heterophylla* e *I. grandifolia*, e pela inibição verificada nas radículas de *E. crus-galli* sob ação dos extratos em todas as concentrações. A germinação e o desenvolvimento também podem ser afetados negativamente em condições de extrema acidez ou extrema alcalinidade (SOUZA FILHO et al., 1996). Verificamos baixa acidez nos extratos testados. Os valores de pH variaram entre 5,74 e 5,92, sem implicações sobre a germinação e crescimento inicial das espécies receptoras testadas.

Tabela 3. Valores de pH e potencial osmótico dos extratos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet em diferentes concentrações.

Concentração	pH	Potencial osmótico (MPa)
2,5%	5,92	0,07
5%	5,86	0,13
7,5%	5,71	0,26
10%	5,74	0,44

Os efeitos dos extratos de *I. cairica* sobre *B. pilosa*, *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia* podem favorecer as culturas infestadas por essas espécies. No controle de espécies infestantes a redução do número de indivíduos em um estágio (e.g. germinação) aumenta as opções de manejo nos estágios subseqüentes (e.g. crescimento). A efetividade de um tratamento pode ser maior do que indicado pelos estudos que tratam do fator em isolado (MOHLER, 2001). Por exemplo, um lote de sementes de uma espécie infestante pode ter poucos diásporos capazes de germinar sob a ação de um aleloquímico. Esse número reduzido de sementes ainda germina espalhados no tempo e, posteriormente, sofre os efeitos fitotóxicos dos extratos sobre o seu crescimento inicial. Ou seja, os efeitos dos extratos de *I. cairica* podem ser mais efetivos se os considerarmos em conjunto, diminuindo a competição por recursos e espaço no ambiente agricultável. Apesar de nosso experimento ser limitado ao laboratório, os resultados suportam a idéia de *I. cairica* como potencial espécie doadora ao desenvolvimento de novos herbicidas baseados em produtos naturais.

#### 4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, J.K. et al. Screening of aquatic plant extracts for herbicidal, fungicidal and insecticidal activity. **Allelopathy Journal**, v. 21, p. 361-372, 2008.

ASTARITA, L.V. et al. *Mimosa bimucronata*: Allelopathy and osmotic stress. **Allelopathy Journal**, v. 3, p. 43-50, 1996.

BORGUETTI, F. & FERREIRA, A.G. Interpretação de resultados de germinação. In: Ferreira, A.G., Borguetti, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 323.

CALABRESE, E.J. & BALDWIN, L.A. Hormesis: the dose-response revolution. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 43, p. 175-197, 2003.

CHON, S.U. et al. Herbicidal potential and quantification of causative allelochemicals from several Compositae weeds. **Weed Research** v. 43, p. 444-450, 2003.

DAYAN, F.E. et al. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2079-2094, 2000.

DUKE, S.O. et al. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? **Outlooks on Pest Management**, v. 17, p. 29-33, 2006.

DUKE, S.O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed Research**, v. 40, p. 99-111, 2000.

FAO. **The lurking menace of weeds.** Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/en/item/29402/icode/>>. Acesso em: 03/11/2010.

FERREIRA, A.G. & AQUILA, M.E.A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.

GATTI, A.B. et al. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 3, p. 459-472, 2003.

KHANH, T.D. et al. Weed suppression by *Passiflora edulis* and its potential allelochemicals. **European Weed Research Society**, v. 46, p. 296-303, 2006.

KISSMANN, K.G. & GROTH, D. **Plantas Infestantes e nocivas.** 2 ed. São Paulo: BASF, 1992. 798 p.

KUVA, M.A. et al. Weed plant infestation patterns in raw sugarcane agricultural systems. **Planta Daninha**, v. 26, p. 549-557, 2008.

LABOURIAU, L.F.G. **A germinação das sementes.** ed. Washington: Departamento de Assuntos Científicos e Tecnológicos da Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174 p. (Biologia).

LLAMAS, K.A. **Tropical Flowering Plants: a guide to identification and cultivation** 1ed. Portland: Timber Press, 2003. 423 p.

MA, R.J. et al. Isolation and identification of allelochemicals from invasive plant *Ipomoea cairica*. **Allelopathy Journal**, v. 24, p. 77-84, 2009.

MARASCHIN-SILVA, F. & AQUILA, M.E.A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 61-69, 2006.

MOHLER, C.L. Weed life history: identifying vulnerabilities. In: Liebman, M., Mohler, C.L., Staver, C.P. **Ecological Management of Agricultural Weeds**. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. p. 40-98.

NORRIS, R.F. et al. Spatial arrangement, density, and competition between barnyardgrass and tomato: I. Crop growth and yield. **Weed Science**, v. 49, p. 61-68, 2001.

PIRES, N.M. & OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. In: **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 145-185.

RIBEIRO, J.P.N. et al. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, p. 183-188, 2009.

SOUZA FILHO, A.P.S. et al. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. **Planta Daninha**, v. 14, p. 93-101, 1996.

VYVYAN, J.A. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, v. 58, p. 1631-1646, 2002.

WU, J.R. et al. Allelopathic potential of *Alternanthera philoxeroides*, *Ipomoea cairica* and *Spartina alterniflora*. **Allelopathy Journal**, v. 18, p. 279-285, 2006.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estuário do Rio Massaguaçu possui 54 espécies de macrófitas aquáticas pertencentes a 27 famílias. A distribuição das espécies parece estar condicionada ao regime de alagamento e à salinidade. A diversidade e a riqueza de espécies variam com o tempo de alagamento. Já a salinidade parece não influir nesses valores. Ainda, a vegetação apresenta uma seqüência de comunidades heterogêneas ao longo do gradiente salino e das classes de alagamento. Dessa forma, o estuário do Rio Massaguaçu é definido como uma ecoclina dupla: no sentido longitudinal (entre o ambiente de água doce e marinho) e lateral (entre os ambientes terrestre e aquático). A única característica de ecótono que pode ser mantida é que o estuário é uma área ambientalmente estressante. Esse ambiente possui um regime de alagamento que expõe a flora local a mudanças bruscas nas condições ambientais. Observamos muitas espécies com potencial alelopático sobre a germinação de alface, espécie bioindicadora, em experimentos de laboratório com diferentes escalas de inibição. Posteriormente, encontramos efeitos inibitórios significativos dos extratos de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet sobre a germinação e crescimento inicial de espécies infestantes de cultura: *B. pilosa*, *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia*. Dessa forma, nossos resultados ajudam no melhor entendimento do ambiente estuarino e da sua composição florística, caracterizando as populações existentes, sua distribuição e o seu potencial alelopático e a possível exploração como alternativa a herbicidas sintéticos.