

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 17/02/2019.

**ANDERSON LOURENÇÃO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA*  
KÜTZING (KÜTZING) PRODUTORA DE MICROCISTINA, EXPOSTA  
AOS EXTRATOS DE *PISTIA STRATIOTES* L.**

**ASSIS**

**2017**

**ANDERSON LOURENÇÃO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA*  
KÜTZING (KÜTZING) PRODUTORA DE MICROCISTINA, EXPOSTA  
AOS EXTRATOS DE *PISTIA STRATIOTES* L.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientador: Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira

Bolsista: CAPES

ASSIS

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca da F.C.L. – Assis – Unesp

L892r      Lourenção, Anderson  
Respostas fisiológicas de *Microcystis aeruginosa* Kützinger (Kützinger) produtora de microcistina, exposta aos extratos de *Pistia stratiotes* L. / Anderson Lourenção. Assis, 2017.  
52 f. : il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis – Universidade Estadual Paulista.  
Orientador: Dr Regildo Márcio Gonçalves da Silva  
Co-Orientadora: Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira

1. Cianobacteria. 2. Alelopatia. 3. Fenóis. 4. Flavonoides.  
I. Título.

CDD 581.5

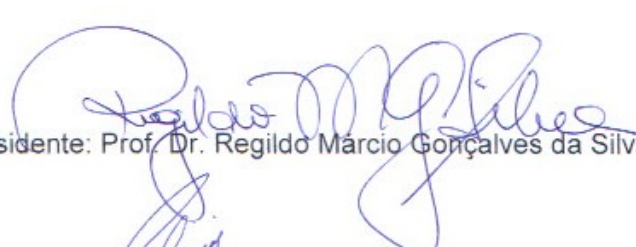
Anderson Lourenção

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE "MICROCYSTIS  
AERUGINOSA KÜTZING" (KÜTZING) PRODUTORA DE  
MICROCISTINA, EXPOSTA AOS EXTRATOS DE "PISTIA  
STRATIOTES" L.

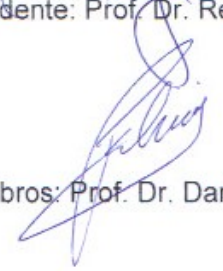
Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências e Letras – UNESP/Assis para a  
obtenção do título de Mestrado Acadêmico em  
BIOCIÊNCIAS (Área de Conhecimento:  
Caracterização e Aplicação da Diversidade  
Biológica)

Data da Aprovação: 17/02/2017

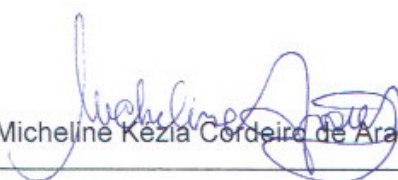
COMISSÃO EXAMINADORA



Presidente: Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva - UNESP/ASSIS



Membros: Prof. Dr. Dário Abel Palmieri - UNESP/ASSIS



Profa. Dra. Micheline Kézia Cordeiro de Araújo - USP/PIRACICABA

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar a Deus, por todas as bênçãos e oportunidades.

À minha família, que sempre me apoiou em tudo e não poupou esforços para que meu sonho se realizasse.

Ao meu orientador, o professor Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, por seus ensinamentos, por toda a atenção, compreensão, disponibilidade e prontidão em ajudar.

À minha coorientadora, a professora Dr<sup>a</sup>. Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira, por toda sua contribuição no desenvolvimento da pesquisa.

Aos colegas de laboratório, pela troca de experiências e ensinamentos.

Aos funcionários da universidade, Natália, Gilberto, Allan, Amabile, Rose e Dani, pela amizade, ajuda e companhia.

Aos meus amigos, que sempre me encorajaram e sempre estiveram ao meu lado.

À agência de fomento CAPES.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim, meus sinceros agradecimentos.

*“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação.  
Mas se você não fizer nada,  
não existirão resultados.”  
(Mahatma Gandhi, 1869 – 1948)*

LOURENCAO, Anderson. **RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* KÜTZING (KÜTZING) PRODUTORA DE MICROCISTINA, EXPOSTA AOS EXTRATOS DE *PISTIA STRATIOTES* L.** 2017. 44 f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2017.

## RESUMO

Os estudos de plantas candidatas a fornecedoras de compostos algicidas tornam-se de suma importância, visto o impacto das cianotoxinas frente à saúde das populações assim como a possível contaminação de alimentos e do ambiente. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo avaliar as respostas fisiológicas de *Microcystis aeruginosa* (Kützinger) Kützinger (cepa BCCUSP232), contra ação algicida dos extratos aquoso e etanólico de *Pistia stratiotes* L. Para tanto, uma seleção de compostos e enzimas relacionadas ao estresse oxidativo foram analisadas, além de determinar o conteúdo polifenólico presente nos extratos. A exposição da *M. aeruginosa* as diferentes concentrações dos extratos (100, 250 e 500 mg/L) resultou em uma redução significativa na densidade celular da cepa. Essa redução pôde ser observada para as diferentes concentrações do extrato aquoso a partir do 2º dia de exposição, sendo estes diferentes estatisticamente quando comparados com o controle. Para o extrato etanólico, perfil semelhante foi observado, sendo que para a maior concentração utilizada (500 mg/L), a densidade celular foi reduzida a 0 a partir do 4º dia de exposição. Além disso, *P. stratiotes* reduziu a concentração de proteínas totais, aumentou a produção interna de peróxido de hidrogênio e malondialdeído nas cianobactérias, e no geral a produção da peroxidase, catalase e glutathione-S-transferase relacionadas com o metabolismo de defesa antioxidante da cianobactéria. Houve um declínio acentuado nos níveis da superóxido dismutase (SOD), causando assim a acumulação de radicais e peróxidos livres, sugerindo que este seja o fator mais importante relacionado à ação algicida dos extratos de *P. stratiotes*. Não foi possível verificar atividade pró-oxidativa para ambos os extratos no teste de degradação da albumina sérica bovina. Para os resultados da determinação de fenóis e flavonoides totais, verificou-se para o extrato etanólico concentração de 93.36 µg para o teste de polifenóis totais e 217.33 µg para o teste de flavonoides. Já para o extrato aquoso foi verificado 5.19 µg para o teste de fenóis totais e 11.02 µg para o teste de flavonoides. Diante destes resultados foi possível concluir que *P. stratiotes* apresenta potencial para controle de populações de cianobactérias, sugerindo que esta ação pode estar correlacionada com o estresse oxidativo causado à mesma.

**Palavras-chaves:** Cianobactéria. Alelopatia. Fenóis. Flavonoides.

LOURENCAO, Anderson. **PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* KÜTZING (KÜTZING) MICROCYSTIN PRODUTOR'S, EXPOSED TO EXTRACTS OF *PISTIA STRATIOTES* L.** 2017. 44 f. Dissertation (Master of Biosciences). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2017.

### ABSTRACT

Studies of candidate plants to suppliers of algaecides compounds become very important, as the impact of cyanotoxins front of the health of populations as well the possible contamination of food and the environment. Therefore, this study aimed to evaluate the physiological responses of *Microcystis aeruginosa* (Kützinger) Kützinger (BCCUSP232 strain) against algaecide action of *Pistia stratiotes* L. extracts. Therefore, a selection of compounds and enzymes related to oxidative stress were analyzed, in addition to also determine the content polyphenol present in the extracts. *M. aeruginosa* exposure to different concentrations of the extracts (100, 250 and 500 mg L<sup>-1</sup>) resulted in a significant reduction in cell density of the strain. This reduction was observed for the different concentrations of the aqueous extract from the 2nd day of exposure, which are statistically different when compared with control. To the ethanolic extract, a similar profile was observed, and for the highest concentration used (500 mg L<sup>-1</sup>), cell density was reduced to 0 from the 4th day of exposure. In addition, *P. stratiotes* reduced total protein concentration, increased internal production of hydrogen peroxide and malondialdehyde in cyanobacteria, and not the production of peroxidase, catalase and glutathione-S-transferase related to the antioxidant defense metabolism of cyanobacteria. There was a marked decline in the levels of superoxide dismutase (SOD), thus causing an accumulation of free radicals and peroxides, suggesting that this most important factor related to the algicidal action of extracts of *P. stratiotes*. Could not verify pro-oxidative activity of both extracts in the bovine serum albumin degradation test. For the results of the determination of total phenols and flavonoids, it was found for the ethanol extract concentration of 93.36 ug to total polyphenols test and 217.33 ug for flavonoid test. As for the aqueous extract was found 5.19 ug for total phenols test and 11.02 ug for flavonoid test. In view of these results it was concluded that *P. stratiotes* has the potential to control populations of cyanobacteria, suggesting that this action can be correlated with oxidative stress it.

**Keywords:** Cyanobacteria. Allelopathy. Phenols. Flavonoids.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO GERAL .....                                                                                                | 8  |
| REFERÊNCIAS .....                                                                                                     | 12 |
| CAPÍTULO ÚNICO .....                                                                                                  | 18 |
| RESUMO.....                                                                                                           | 19 |
| 1 INTRODUÇÃO .....                                                                                                    | 20 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                             | 22 |
| 2.1 Material vegetal e preparo dos extratos .....                                                                     | 22 |
| 2.2 Avaliação do potencial Algicida e / ou Algistático.....                                                           | 22 |
| 2.3 Avaliação do mecanismo de ação dos extratos de <i>P. Stratiotes</i> em <i>M. aeruginosa</i> BCCUSP232.....        | 23 |
| 2.3.1 Peroxidação lipídica.....                                                                                       | 23 |
| 2.3.2 Espécies reativas de oxigênio: formação do peróxido de hidrogênio interno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )..... | 23 |
| 2.3.3 Determinação de proteínas totais.....                                                                           | 24 |
| 2.3.4 Determinação da atividade das enzimas antioxidantes.....                                                        | 24 |
| 2.3.5 Análises estatísticas.....                                                                                      | 25 |
| 2.4 Quantificação de fenóis e flavonoides totais.....                                                                 | 26 |
| 2.5 Degradação oxidativa da albumina sérica bovina.....                                                               | 26 |
| 3 RESULTADOS.....                                                                                                     | 27 |
| 3.1 Bioensaios com <i>Microcystis aeruginosa</i> BCCUSP232 .....                                                      | 27 |
| 3.2 Determinação da Peroxidação Lipídica .....                                                                        | 29 |
| 3.3 Determinação de Peróxido Hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....                                        | 31 |
| 3.4 Proteínas totais e atividade das enzimas antioxidantes.....                                                       | 33 |
| 3.5 Determinação de Fenóis e Flavonoides .....                                                                        | 39 |
| 3.6 Avaliação da atividade pró-oxidativa pela degradação da albumina sérica bovina (BSA).....                         | 40 |
| 4 DISCUSSÃO .....                                                                                                     | 40 |
| 5 CONCLUSÃO .....                                                                                                     | 43 |
| REFERÊNCIAS.....                                                                                                      | 44 |
| CONCLUSÕES GERAIS .....                                                                                               | 51 |

## INTRODUÇÃO GERAL

### 1 CIANOBACTÉRIAS

As cianobactérias também chamadas de cianofíceas ou algas azuis são micro-organismos procarióticos, autótrofos fotossintetizantes, fixadores de nitrogênio atmosférico, apresentando clorofila a e b, porém suas células não possuem cloroplastos como nos vegetais superiores (SANCHES et al., 2012). As cianobactérias podem ser encontradas na forma unicelular (por exemplo, gêneros *Synechococcus* e *Aphanothece*), em colônias unicelulares (por exemplo, gêneros *Microcystis*, *Gomphospheria* e *Merismopedium*) e em filamentos (por exemplo, gêneros *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Cylindrospermopsis* e *Nostoc*) (MORENO et al., 2005; FERNANDES et al., 2009).

Ontologicamente, as cianobactérias são indivíduos antigos e os seus fósseis são datados do período pré-cambriano (CARMICHAEL, 1994). Esta existência se deve principalmente à flexibilidade genotípica e fenotípica, somado as adaptações bioquímicas, fisiológicas, genéticas e reprodutivas, que garantiram a estes organismos sua perpetuação e distribuição em diversos ambientes terrestres, aquáticos e na interface úmida da terra com o ar (KAEBERNICK e NEILAN, 2001; STEWART et al., 2006). Esta grande flexibilidade também permite isolá-las e mantê-las em cultivos com certa facilidade (KAEBERNICK e NEILAN, 2001).

As cianobactérias possuem grande importância econômica. Alguns gêneros são diazotróficos (fixadores de nitrogênio molecular) e contribuem para a fertilização da água e do solo (RAI, 1990). Algumas espécies são usadas na indústria alimentícia por apresentarem alto valor nutricional (BOROWITSKA e BOROWITSKA, 1988). Elas também são uma rica fonte de novas substâncias com potencial interesse farmacêutico, já que produzem uma grande variedade de metabólitos secundários com atividade biológica (PATTERSON et al., 1994).

Em condições ambientais favoráveis às cianobactérias, estas tem seu crescimento populacional elevado, seja de uma espécie ou várias, sendo este evento denominado de floração ou “bloom” (CARMICHAEL, 2001).

### 2 CIANOBACTÉRIAS PRODUTORAS DE CIANOTOXINAS

Vários gêneros e espécies de cianobactérias que formam florações produzem toxinas, estas são denominadas de cianotoxinas (CARMICHAEL, 1992). Tais organismos constituem uma grande fonte de produtos naturais tóxicos e, embora ainda não estejam devidamente

esclarecidas as causas da produção dessas toxinas, têm-se atribuído várias funções a esses compostos como mecanismo de defesa (herbivoria), auxílio na melhor captação da luz solar e como moléculas de sinalização que colaboram na comunicação entre as cianobactérias (CARMICHAEL, 1992; CHORUS e BARTRAM, 1999; LYCK, 2004). De acordo com sua ação farmacológica, as cianotoxinas são classificadas como hepatotoxinas, neurotoxinas, citotoxinas, dermatotoxinas e irritantes gastrointestinais (KAEBERNICK e NEILAN, 2001, BRIAND et al., 2003; FALCONER, 2008). Cianotoxinas são diferentes em estrutura química e toxicidade, são produzidas no interior das células de cianobactérias, e sua liberação ocorre durante a vida da célula, mas na maior parte, após a morte das células através de um fluxo passivo para fora do conteúdo celular ou quando a célula é lisada (CARMICHAEL, 1992; LAM et al., 1995; CHORUS, 2001; BRIAND et al., 2003; HAIDER et al., 2003; PEARSON et al., 2004; DE LA CRUZ et al., 2011). A liberação súbita de cianotoxinas na água circundante pode apresentar um risco para os animais e os seres humanos que utilizam a água, especialmente quando usadas como fonte de água potável (FALCONER, 1998; OBERHOLSTER et al., 2004). Cianotoxinas podem causar doença em humanos, principalmente após a ingestão por via oral, através da água potável ou o consumo de alimentos que poderiam ter acumulado as mesmas, ou até mesmo a morte quando exposta através de hemodiálise (JOCHIMSEN et al., 1998; POURIA et al., 1998; KUIPER-GOODMAN et al., 1999; CARMICHAEL et al., 2001; ZHOU et al., 2002; SVIRČEV et al., 2007; SVIRČEV et al., 2009).

Hepatotoxicose e Neurotoxicose são as síndromes mais comuns causados pela ingestão destas toxinas (HAIDER et al., 2003). Após contato agudo com água de fontes que contenham florações de cianobactérias pode ocorrer dor abdominal, vômitos, diarreia, fraqueza, irritação da pele e membranas mucosas dos olhos, nariz e garganta, ataques de asma, tremores musculares, náuseas, formigamento na ponta dos dedos das mãos e pés, visão turva, dor de cabeça, tonturas, febre, hipóxia, cianose, paralisia respiratória ou cardíaca, resultando em morte (CHORUS e BARTRAM, 1999; SVIRČEV et al., 2009). Devido a isto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu uma orientação onde, por exemplo, o nível máximo aceitável de microcistina-LR em água potável é de 1µg/L (WHO, 2004), sendo este mesmo limite o estabelecido na legislação brasileira (BRASIL, 2004).

Diante disso, algumas medidas são utilizadas para mitigar os efeitos do crescimento de cianobactérias e seus danos ao meio ambiente, entre estas compreendem às físicas e as químicas. As físicas são a filtração, a separação por centrifuga, ultrassom e radiação UV, já os tratamentos químicos utilizam sulfato de cobre e peróxido de hidrogênio (DRABKOVA et al.,

2007; OU et al., 2012). Outra alternativa viável é o controle biológico, que utiliza a introdução de organismos previamente selecionados como peixes e zooplânctons (KOTOPOULIS et al., 2009; LIANG e NAN, 2009). Entretanto essas medidas apresentam sucesso limitado, pois são muito dispendiosas, sendo utilizadas apenas como soluções emergenciais, demonstrando assim a necessidade de novas pesquisas para a elaboração de novas técnicas menos onerosas e mais eficazes, que gerem menor impacto ambiental e maior durabilidade, refletindo também na sustentabilidade (FERRIER et al., 2005).

### **3 CONTROLE DE CIANOBACTÉRIA POR MEIO DE COMPOSTOS NATURAIS**

O controle de poluentes ambientais de origem sintética e/ou natural pode ser realizado por meio de associação com compostos de origem vegetal e animal. No caso da utilização de plantas ou derivados destas, este processo é denominado de fitorremediação. Esta tecnologia emergente pôde nas ultimas décadas oferecer uma alternativa mais rentável (econômica), não intrusiva e segura para técnicas convencionais de despoluição de água (RASKIN e ENSLEY, 2000; TERRY e BANUELOS, 2000; GLICK, 2010). Dentro deste conceito, diversos estudos vem mostrando as possíveis aplicações de plantas nesta área, o que inclui a detoxificação de metais, remoção de produtos de cuidado pessoal, remédios, tratamento de esgoto e ainda, a inibição do crescimento de algas (ZIMMELS et al., 2006; TEWARI et al., 2008; ZHU et al., 2014; PUTRA et al., 2015; LIN e LI, 2016).

Diante disso, uma gama de metabolitos secundários (aleloquímicos) de origem vegetal vem sendo estudada com a finalidade de fitorremediação. Plantas aquáticas vêm demonstrando a presença de compostos com efeito inibitório sobre o crescimento de algas, e isto vem representando um novo conceito no desenvolvimento de tecnologias de controle destes organismos. Esta utilização de aleloquímicos compreende uma tecnologia biológica algicida cujas vantagens incluem alta eficácia, baixo custo, materiais naturais e facilmente obtidos e uma ausência de poluição secundária (YU et al., 1992; NAKAI et al., 2000; VYVYAN, 2002; GROSS, 2003; BAUER et al., 2009; GROSS e GENE, 2009).

Aleloquímicos são propensos à degradação e dificilmente se acumulam em um ecossistema e seus efeitos inibitórios sobre o crescimento de algas são significativamente espécie-específico, exibindo uma inibição significativa de apenas certas algas (MEN et al., 2007). Rice (1984) acredita que aleloquímicos poderiam, eventualmente, ser utilizados para substituir os reagentes químicos para eliminar algas, reduzindo assim grandemente a utilização de produtos químicos.

Os aleloquímicos produzidos por plantas aquáticas são reagentes naturais na eliminação de algas, e, portanto, a adição de aleloquímicos extraídos de plantas aquáticas para controlar o crescimento de algas é uma técnica promissora (NAKAI et al., 1996; BALL et al., 2001; NI et al., 2012). Além disso, o desperdício dos resíduos pós-extração pode ser tratado com uma combinação de métodos de reciclagem, tal como a fabricação de papel e na produção de biogás através de fermentação (MULDERIJ et al., 2005a, b; ERHARD e GROSS, 2006).

#### **4 *PISTIA STRATIOTES***

A espécie *Pistia stratiotes* L., conhecida popularmente como alface d'água, flor-d'água, erva-de-santa-luzia, lentilha-d'água, mururé, golfo, muréré-pagé, pagé ou pasta, é uma planta aquática flutuante, amplamente distribuída por todo o mundo, cuja origem ainda não foi totalmente definida, sendo atribuída à África ou América do Sul (LORENZI, 1982; CARDOSO et al., 2005). É também considerada espécie ornamental, por auxiliar na estética de ambientes aquáticos artificiais (LORENZI, 1982).

*P. stratiotes* é uma espécie pertencente à família Araceae, de porte herbáceo, caule, estolonífera, com propagação sexuada e assexuada por meio de seus estolões, cuja via preferencial de reprodução é a vegetativa (LORENZI, 1982; CARDOSO et al., 2005). Possui folhas sésseis, esponjosas, espatuladas, obtusas e densamente pubescentes, dispostas em rosetas, em que as radicais têm o pecíolo maior e mais largo do que as outras, de coloração verde aveludada na face adaxial e verde pálida esbranquiçada na face abaxial. A inflorescência é pequena e de cor branca e creme, composta por espádice cercada por uma espata pilosa, característica das aráceas, encontradas no centro da roseta (LORENZI, 1982; COELHO et al., 2005).

Por sua alta capacidade de reprodução vegetativa e rápido crescimento, *P. stratiotes* geralmente é responsável pela formação de densos tapetes de plantas sobre a superfície aquática, sendo considerada como uma espécie daninha, afetando o aproveitamento econômico dos sistemas aquáticos, como por exemplo, a proliferação desta espécie em viveiros de criação de peixes na África, em canais de irrigação em Gâmbia e em um braço do reservatório da usina de Itaipu no Brasil (TERRY, 1981; LORENZI, 1982; THOMAZ et al., 1999; PETR, 2000; COELHO et al., 2005). Além disso, esta macrófita aquática também tem sido utilizada para a remoção de mercúrio de efluentes de mineração, por esta acumular o metal em suas raízes, indicada para remoção de nitrogênio (N), fósforo (P) e sólidos suspensos na água, melhorando a qualidade dos sistemas aquáticos, e para o tratamento de

esgoto urbano, por sua elevada taxa de crescimento, demonstrando seu potencial de utilização na fitorremediação, como medida mitigadora da contaminação de efluentes (ZIMMELS et al., 2006; SKINNER et al., 2007; ESPINOZA-QUÍÑONES et al., 2009; TEWARI et al., 2008; LU et al., 2010; PUTRA et al., 2015; LIN e LI, 2016).

Além de sua utilização na fitorremediação e bioindicação, estudos científicos vêm demonstrando para este gênero ações farmacológicas como, antioxidante e cicatrizante (JHA et al., 2012), pesquisas também demonstraram que *P. stratiotes* pode interferir e controlar o crescimento de microrganismos e algas em sistemas de água doce, sendo que alguns trabalhos mostram que o controle ocorre nas principais divisões de algas e incluem também a ação sobre cianobactérias, porém não existem dados sobre o mecanismo de ação dos componentes ativos desta espécie sobre estes microrganismos (ALIOTTA et al., 1991; BICH e NOGUCHI, 2012; WU et al., 2013). Estas características tornam esta espécie alvo de estudos para novas e importantes pesquisas no controle de cianobactérias produtoras de cianotoxinas.

## REFERÊNCIAS

- ALIOTTA, G.; MONACO, P.; PINTO, G.; POLLIO, A. Previtera, L. Potential Allelochemicals From *Pistia Stratiotes* L. **Journal Of Chemical Ecology**, v. 17, n. 11, p. 2223–2234, nov. 1991.
- BALL, A. S.; WILLIAMS, M.; VINCENT, D.; ROBINSON, J. Algal growth control by a barley straw extract. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 2, p. 177–181, abr. 2001.
- BAUER, N.; BLASCHKE, U.; BEUTLER, E.; GROSS, E. M.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; HILT, S. Seasonal and interannual dynamics of polyphenols in *Myriophyllum verticillatum* and their allelopathic activity on *Anabaena variabilis*. **Aquatic Botany**, v. 91, n. 2, p. 110–116, ago. 2009.
- BICH, T. T. N.; KATO-NOGUCHI, H. Allelopathic potential of two aquatic plants, duckweed (*Lemna minor* L.) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.), on terrestrial plant species. **Aquatic Botany**, v. 103, p. 30–36, out. 2012.
- BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZKA, L. J. (eds). **Micro-algal biotechnology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 477 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518/2004, de 25 de Março de 2004. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, nº 59, 26 de março de 2004. Seção I. p. 266-270.

BRIAND, J. F.; JACQUET, S.; BERNARD, C.; HUMBERT, J.-F. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. **Veterinary Research**, v. 34, p. 361–377, jul.-ago. 2003.

CARDOSO, L. R.; MARTINS, D.; MORI, E. S.; TERRA, M. A. Variabilidade genética entre populações de *Pistia Stratiotes*. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 181-185, abr.-jun. 2005.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites – The Cyanotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 72, p. 445-459, jun. 1992.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of Cyanobacteria. **Scientific American**, v. 270, n. 1, p. 78-86, jan. 1994.

CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M. F. O.; AN, J.; MOLICA, R. J. R.; JOCHIMSEN, E. M.; LAU, S.; RINEHART, K. L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 7, p. 663–668, jul. 2001.

CHORUS, Ingrid (Ed.). **Cyanotoxins – Occurrence, Causes, Consequences**. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2001. 357 p.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Eds.). **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring, and Management**. London: E & FN Spon, 1999. 440 p.

COELHO, F. F.; DEBONI, L.; LOPES, F. S. Density-dependent reproductive and vegetative allocation in the aquatic plant *Pistia Stratiotes* (Araceae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 53, n. 3-4, p. 369-376, set. 2005.

DE LA CRUZ, A. A.; ANTONIOU, M. G.; PELAEZ, M.; HISKIA, A.; SONG, W.; O'SHEA, K. E.; HE, X.; DIONYSIOU, D. D. Can we effectively degrade microcystins? – implications for impact on human health status. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 19-37, jan. 2011.

DRABKOVA, M.; MATTHIJS, H. C. P.; ADMIRAAL, W.; MARSLEK, B. Selective effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on cyanobacterial photosynthesis. **Photosynthetica**, v. 45, n. 3, p. 363-369, set. 2007.

ERHARD, D.; GROSS E. M. Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. **Aquatic Botany**, v. 85, n. 3, p. 203–211, out. 2006.

ESPINOZA-QUINONES, F. R.; MARTIN, N.; STUTZ, G.; TIRAO, G.; PALÁCIO, S. M.; RIZZUTTO, M. A.; MÓDENES, A. N.; SILVA Jr., F. G.; SZYMANSKI, N.; KROUMOV, A. D. Root uptake and reduction of hexavalent chromium by aquatic macrophytes as assessed by high-resolution X-ray emission. **Water Research**, v. 43, n. 17, p. 4159-4166, set. 2009.

FALCONER, I. R. Algal toxins and human health. HRUBEC J. (Ed.). **The Handbook of Environmental Chemistry**, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, v. 5 (Part C), p. 53–82, 1998.

FALCONER, I. R. Health effects associated with controlled exposures to cyanobacterial toxins. HUDNELL, H. K. (Ed.). **Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs**. Springer-Verlag, New York, v. 619, p. 607–612, 2008.

FERNANDES, V. O.; CAVATI, B.; OLIVEIRA, L. B.; SOUZA, B. D. A. Ecologia de cianobactérias: fatores promotores e consequências das florações. **Oecologia Australis**, v. 13, n. 2, p. 247-58, jun. 2009.

FERRIER, M. D.; BUTLER, B. R.; TERLIZZI, D. E.; LACOUTURE, R. V. The effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on the growth of freshwater algae. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 16, p. 1788–1795, nov. 2005.

GLICK, B. R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 367–374, maio-jun. 2010.

GROSS, E. M. Allelopathy of aquatic autotrophs. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 3-4, p. 313–339, maio 2003.

GROSS, E. M.; GENE, E. L. Allelochemical reactions. LIKENS GE (ed.) **Encyclopedia of inland waters**, Oxford: Academic Press, p. 715–726, 2009.

HAIDER, S.; NAITHANI, V.; VISWANATHAN, P. N.; KAKKAR, P. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern. **Chemosphere**, v. 52, n. 1, p. 1–21, jul. 2003.

JHA, M.; SHARMA, V.; GANESH, N. Antioxidant and wound healing potential of *Pistia stratiotes* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, p. 579-584, dez. 2012.

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, M. D.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E. M.; ANTUNES, M. B. C.; MELO FILHO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO, S. M. F. O.; JARVIS, W. R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **The New England Journal of Medicine**, v. 338, n. 13, p. 873–878, mar. 1998.

KAEBERNICK, M.; NEILAN, B. A. Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 35, n. 1, p. 1–9, mar. 2001.

KOTOPOULIS, S.; SCHOMMARTZ, A.; POSTEMA, M. Sonic cracking of blue-green algae. **Applied Acoustics**, v. 70, n. 10, p. 1306–1312, out. 2009.

KUIPER-GOODMAN, T.; FALCONER, I. R.; FITZGERALD, J. Human health aspects. CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Eds.). **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management**. London: E & FN Spon, p. 113–153, 1999.

LAM, A. K. Y.; PREPAS, E. E; SPINK, D.; HRUDEY, S. E. Chemical control of hepatotoxic phytoplankton blooms: implications for human health. **Water Research**, v. 29, n. 8, p. 1845–1854, ago. 1995.

LIANG, H.; NAN J. Algae removal by ultrasonic irradiation–coagulation. **Desalination**, v. 239, n. 1-3, p. 191–197, abr. 2009.

LYCK, S. Simultaneous changes in cell quotas of microcystin, chlorophyll a, protein and carbohydrate during different growth phases of a batch culture experiment with *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Plankton Research**, v. 26, n. 7, p. 727-736, mar. 2004.

LIN, Y.-L.; LI, B.-K. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 58, p. 318-323, jan. 2016.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. São Paulo: Nova Odessa, 1982. 425p.

LU, Q.; HE, Z. L.; GRAETZ, D. A.; STOFFELLA, P. J.; YANG, X. Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). **Environmental Science Pollution Research**, v. 17, n. 1, p. 84-96, jan. 2010.

MEN, Y. J.; HU, H. Y.; LI, F. M. Effects of the novel allelochemical ethyl 2-methylacetoacetate from the reed (*Phragmites australis* Trin) on the growth of several common species of green algae. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 5, p. 521-527, ago. 2007.

MORENO, I.; REPETTO, G.; CARBAL, E.; GAGO, A.; CARMEÁN, A. M. Cyanobacteria and microcystins occurrence in the Guadiana River (SW Spain). **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 85, n. 7, p. 461-474, jun. 2005.

MULDERIJ, G.; MOOIJ, W. M.; SMOLDERS, A. J. P. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*. **Aquatic Botany**, v. 82, n. 4, p. 284-296, ago. 2005a.

MULDERIJ, G.; MOOIJ, W. M.; VAN DONK, E. Allelopathic growth inhibition and colony formation of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the aquatic macrophyte *Stratiotes aloides*. **Aquatic Ecology**, v. 39, n. 1, p. 11-21, mar. 2005b.

NAKAI, S.; HOSOMI, M.; OKADA, M.; MURAKAMI, A. Control of algal growth by macrophytes and macrophyte-extracted bioactive compounds. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 7-8, p. 227-235, jan. 1996.

NAKAI, S.; INOUE, Y.; HOSOMI, M.; MURAKAMI, A. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. **Water Research**, v. 34, n. 11, p. 3026-3032, ago. 2000.

NI, L. X.; ACHARYA, K.; HAO, X. Y.; LI, S. Y. Isolation and identification of an anti-algal compound from *Artemisia annua* and mechanisms of inhibitory effect on algae. **Chemosphere**, v. 88, n. 9, p. 1051-1057, ago. 2012.

OBERHOLSTER, P. J.; BOTHA, A.-M.; GROBBELAAR, J. U. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 3, p. 159-168, mar. 2004.

OU, N.; GAO, Y.; DENG, Y.; QIAO, J. L.; WANG, H. Immediate and long-term impacts of UV-C irradiation on photosynthetic capacity, survival and microcystin-LR release risk of *Microcystis aeruginosa*. **Water Research**, v. 46, n. 4, p. 1241–1250, mar. 2012.

PATTERSON, G. M. L.; LAISEN, L. K.; MOORE, R. E. Bioactive natural products from blue-green algae. **Journal of Applied Phycology**, v. 6, n. 2, p. 151-157, abr. 1994.

PEARSON, L. A.; HISBERGUES, M.; BÖRNER, T.; DITTMANN, E.; NEILAN, B. A. Inactivation of an ABC transporter gene, *mcyH*, results in loss of microcystin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 6370–6378, nov. 2004.

PETR, T. Interactions between fish and aquatic macrophytes in inland waters. A review. **FAO Fishers Technical Paper**, Rome: FAO, n. 396, 2000. 185 p.

POURIA, S.; ANDRADE, A.; BARBOSA, J.; CAVALCANTI, R.; BARRETO, V.; WARD, C.; PREISER, W.; POON, G.; NEILD, G.; CODD, G. A. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. **Lancet**, v. 352, p. 21–26, jul. 1998.

PUTRA, R. S.; CAHYANA, F.; NOVARITA, D. Removal of Lead and Copper from Contaminated Water Using EAPR System and Uptake by Water Lettuce (*Pistia Stratiotes* L.). **Procedia Chemistry**, v. 14, p. 381–386, 2015.

RAI, A. N. (ed.). **Handbook of Symbiotic Cyanobacteria**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 253 pp.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. D. (eds.) **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. New York: John Wiley, 2000.

RICE, E. L. **Allelopathy**, 2 ed. London: Academic Press, p. 119–139, 1984.

SANCHES, S. M.; PRADO, E. L.; FERREIRA, I. M.; BRAGA, H. F.; VIEIRA, E. M. Presença da toxina microcistina em água, impactos na saúde pública e medidas de controle. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 33, n. 2, p. 181-187, 2012.

SKINNER, K.; WRIGHT, N.; PORTER-GOFF, E. Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 1, p. 234-237, jan. 2007.

STEWART, I.; WEBB, P. M.; SCHLUTER, P. J.; SHAW, G. R. Recreational and occupational field exposure to freshwater cyanobacteria – a review of anecdotal and case reports, epidemiological studies and the challenges for epidemiologic assessment. **Environmental Health**, v. 5, n. 6, mar. 2006.

SVIRČEV, Z.; KRSTIĆ, S.; MILADINOV-MIKOV, M.; BALTIĆ, V.; VIDOVIĆ, M. Freshwater cyanobacterial blooms and primary liver cancer epidemiological studies in Serbia. **Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 36–55, fev. 2009.

SVIRČEV, Z.; SIMEUNOVIĆ, J.; SUBAKOV-SIMIĆ, G.; KRSTIĆ, S.; VIDOVIĆ, M. Freshwater cyanobacterial blooms and cyanotoxin production in Serbia in the past 25 years. **Geographica Pannonica**, v. 11, p. 32–38, 2007.

TERRY, N.; BANUELOS, G. S. Phytoremediation of contaminated soil and water. **Boca Rotan: Lewis Publisher**, 2000. 408 p.

TERRY, P. J. Weeds and their control in the Gambia. **Tropical Pest Management**, v. 27, n. 1, p. 44–52, mar. 1981.

TEWARI, A.; SINGH, R.; SINGH, N. K.; UN, R. A. I. Amelioration of municipal sludge by *Pistia stratiotes* L.: Role of antioxidant enzymes in detoxification of metals. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8715–8721, dez. 2008.

THOMAZ, S. M.; BINI, L. M.; SOUZA, M. C.; KITA, K. K.; CAMARGO, A. F. M. Aquatic macrophytes of Itaipu Reservoir, Brazil: survey of species and ecological considerations. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, n. 1, p. 15–22, 1999.

VYVYAN, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, v. 58, n. 9, p. 1631–1646, fev. 2002.

World Health Organization. **Guidelines for Drinking Water Quality**, vol. 1, 3 ed., Geneva, 2004.

WU, X.; WU, H.; CHEN, J.; YE, J. Effects of allelochemical extracted from water lettuce (*Pistia stratiotes* Linn.) on the growth, microcystin production and release of *Microcystis aeruginosa*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 11, p. 8192–8201, maio 2013.

YU, Z. W.; SUN, W. H.; GUO, K. Q.; YU, S. W. Allelopathic effects of several aquatic plants on algae. **Acta Hydrobiologica Sinica**, v. 16, n. 1, p. 1–7, 1992.

ZHOU, L.; YU, H.; CHEN, K. Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 15, n. 2, p. 166–171, jun. 2002.

ZHU, Z.; LIU, Y.; ZHANG, P.; ZENG, G.; HU, X.; LI, H.; GUO, Y.; GUO, X. Co-culture with *Cyperus alternifolius* induces physiological and biochemical inhibitory effects in *Microcystis aeruginosa*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p. 118–124, out. 2014.

ZIMMELS, Y.; KIRZHNER, F.; MALKOVSKAJA, A. Application of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* for treatment of urban sewage in Israel. **Journal of Environmental Management**, v. 81, n. 4, p. 420–428, dez. 2006.

## CONCLUSÕES GERAIS

Considerando os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- Ambos os extratos de *Pistia stratiotes* inibiram o crescimento da cepa de *Microcystis aeruginosa* BCCUSP232 produtora de cianotoxina, principalmente nas maiores concentrações utilizadas.
- As alterações observadas para os compostos e enzimas relacionadas ao metabolismo de respostas ao estresse oxidativo da cianobactéria, demonstraram que os extratos de *Pistia stratiotes* agiram como estressores no metabolismo da mesma.
- O conteúdo polifenólico encontrado nos extratos pode ser o responsável pela atividade inibitória no crescimento de cianobactérias, devido ao potencial fitotóxico encontrado na literatura para a presença destes compostos vegetais.
- Em suma, ambos os extratos apresentaram atividade algistática, dentro das concentrações avaliadas, sugerindo que os mesmos são fontes de compostos que proporcionam estresse oxidativo e a peroxidação lipídica as cianobactérias, processos estes de interesse ao controle populacional destes microrganismos.