

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/08/2023.

ANDERSON LOURENÇÃO

**Atividade algicida e estresse oxidativo de extratos e frações de *Pistia stratiotes*,
Salvinia auriculata e *Emilia sonchifolia* no metabolismo de *Microcystis aerugi-*
*nosa***

**ARARAQUARA
2021**

ANDERSON LOURENÇÃO

**ATIVIDADE ALGICIDA E ESTRESSE OXIDATIVO DE EXTRATOS E
FRAÇÕES DE *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* E *Emilia sonchifolia* NO
METABOLISMO DE *Microcystis aeruginosa***

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Bittencourt de Oliveira

**ARARAQUARA
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA

L892a Lourenção, Anderson
Atividade algicida e estresse oxidativo de extratos e frações de *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* e *Emília sonchifolia* no metabolismo de *Microcystis aeruginosa* / Anderson Lourenção. – Araraquara : [s.n.], 2021
94 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Coorientador: Maria do Carmo Bittencourt de Oliveira

1. Alelopatia. 2. Superóxido dismutase. 3. Fitoquímicos.
4. Cianobactéria. 5. Antioxidantes. I. Título.

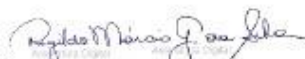
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Atividade algicida e estresse oxidativo de extratos e frações de *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* e *Emilia sonchifolia* no metabolismo de *Microcystis aeruginosa*

AUTOR: ANDERSON LOURENÇÃO

ORIENTADOR: REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA

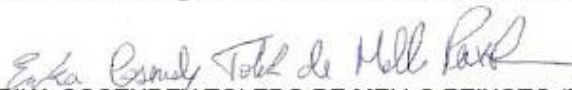
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras - UNESP - Assis



Prof.ª Dr.ª PATRICIA SOARES SANTIAGO (Participação Virtual)
Campus Experimental de Registro / Universidade Estadual Paulista - UNESP - Registro



Prof.ª Dr.ª ERIKA COSENDEY TOLEDO DE MELLO PEIXOTO (Participação Virtual)
Centro de Ciências Agrárias / Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP - Bandeirantes



Prof. Dr. VALTER HENRIQUE MARINHO DOS SANTOS (Participação Virtual)
Atina Ativos Naturais / Atina Ativos Naturais - Pouso Alegre



Prof. Dr. RONALDO PAVARINI (Participação Virtual)
Campus Experimental de Registro / Engenharia Agrônômica e Engenharia de Pesca - UNESP - Registro

Araraquara, 30 de agosto de 2021

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Anderson Lourenção

Nome em citações bibliográficas: Anderson Lourenção; LOURENÇÃO, A.; LOURENÇÃO, Anderson.

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Rua Engenheiro Mario Stefani, 501, Centro. Pedrinhas Paulista - SP.

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade estadual Paulista – UNESP (2013). Mestrado em Biociências pela Universidade Estadual Paulista – UNESP (2017). Doutorado em Biotecnologia pela Universidade Estadual Paulista – UNESP (2021).

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

Professor Educação Básica II.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Lourenção, A., Mecina, G.F., Cordeiro-Araújo, M.K. et al. Characterization of allelochemicals from *Pistia stratiotes* extracts and their effects on the growth and physiology of *Microcystis aeruginosa*. Environ Sci Pollut Res (2021). <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14658-z>

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

LOURENCAO, A.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; OLIVEIRA, M. C. B.; MECINA, G. F.; SILVA, R. M. G. Physiological response of *Microcystis aeruginosa* exposed to extracts of *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* e *Emilia sonchifolia*. In: 7th Brazilian Biotech Congress and 2nd Biotech Ibero-American Congress, 2018, Brasília. 7th Brazilian Biotech Congress and 2nd Biotech Ibero-American Congress, 2018. p. 1.

SANTOS, P. C.; LOURENCAO, A.; MECINA, G. F.; ARAUJO, M. K. C.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; SILVA, R. M. G. Control of cell density in culture of *Microcystis aeruginosa* using extract of *Pistia stratiotes*. In: 6th BCNP Brazilian Conference on Natural Products/XXXII RESEM, 2017, Vitória-ES. 6th BCNP Brazilian Conference on Natural Products/XXXII RESEM. v. 1. p. x-x.

Dedico esse trabalho a toda minha família, sobretudo minha mãe, por sempre me apoiar, incentivar e acreditar em mim.

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, toda a atenção, compreensão, disponibilidade e prontidão em ajudar.

À minha coorientadora, a professora Dr^a. Maria do Carmo Bittencourt de Oliveira, por toda sua contribuição no desenvolvimento da pesquisa.

Aos colegas, técnicos de laboratório e funcionários das universidades em que desenvolvi minha pesquisa, por toda ajuda, troca de experiências e ensinamentos.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES - Brasil, pela bolsa de estudos a mim concedida (Código de Financiamento 001).

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

Lourenção, Anderson. **Atividade algicida e estresse oxidativo de extratos e frações de *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* e *Emilia sonchifolia* no metabolismo de *Microcystis aeruginosa***. 2021. Tese (Doutorado em Biotecnologia). – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2021.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial dos extratos e frações de *Pistia stratiotes* L., *Salvinia auriculata* Aubl. e *Emilia sonchifolia* L. para controle de *Microcystis aeruginosa* (Kützinger) Kützinger (cianobactéria) em condições laboratoriais, investigar o potencial oxidativo dos extratos e frações no metabolismo de defesa antioxidante de *Microcystis aeruginosa*, elucidar fitoquimicamente os componentes dos diferentes extratos e frações, além de avaliar a atividade citotóxica e genotóxica da água resultante dos bioensaios por meio do teste de *Allium cepa*. A exposição da *M. aeruginosa* aos extratos e frações das plantas utilizadas resultou em redução significativa na densidade celular da cepa. O extrato etanólico das três plantas apresentou maior redução da densidade celular da cepa de cianobactéria após seis dias de bioensaio. O extrato etanólico de *S. auriculata* e *E. sonchifolia*, juntamente com a fração F6 de *S. auriculata* e F5 de *E. sonchifolia*, apresentaram a maior atividade algicida entre os tratamentos, também aumentaram a produção interna de peróxido de hidrogênio, malondialdeído e das enzimas do metabolismo de defesa antioxidante na cianobactéria. O extrato etanólico e fração F6 de *P. stratiotes* apresentaram perfil semelhante, diferindo apenas no declínio acentuado nos níveis da superóxido dismutase, sugerindo que este seja o fator mais importante relacionado à ação algicida de *P. stratiotes*. As análises de cromatografia gasosa/espectrometria de massa dos extratos etanólico e aquoso de *P. stratiotes* apresentaram o éster etílico do ácido palmítico como principal aleloquímico. 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 conclusão, extratos e frações das plantas estudadas apresentaram atividade algicida, sugerindo que os mesmos são fontes de compostos que promovem estresse oxidativo e peroxidação lipídica nas cianobactérias, resultando na redução de sua população.

Palavras-chave: alelopatia; superóxido dismutase; fitoquímicos; cianobactéria; antioxidantes.

Lourenção, Anderson. **Algicidal activity and oxidative stress of *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* and *Emilia sonchifolia* extracts and fractions in *Microcystis aeruginosa* metabolism.** 2021. Tese (Doutorado em Biotecnologia). – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2021.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the potential of extracts and fractions of *Pistia stratiotes* L., *Salvinia auriculata* Aubl. and *Emilia sonchifolia* L. to control *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing (cyanobacteria) under laboratory conditions, investigate the oxidative potential of extracts and fractions in the antioxidant defense metabolism of *Microcystis aeruginosa*, phytochemically elucidate the components of different extracts and fractions, in addition to evaluate the cytotoxic and genotoxic activity of the water resulting from the bioassays using the *Allium cepa* test. The exposure of *M. aeruginosa* to the extracts and fractions of the plants used resulted in a significant reduction in the cell density of the strain. The ethanol extract of the three plants showed a greater reduction in cell density of the cyanobacteria strain after 6 days of bioassay. The ethanolic extract of *S. auriculata* and *E. sonchifolia*, together with the F6 fraction of *S. auriculata* and F5 of *E. sonchifolia*, showed the highest algicidal activity among the treatments, also increasing the internal production of hydrogen peroxide, malondialdehyde and enzymes of antioxidant defense metabolism in cyanobacteria. The ethanol extract and F6 fraction of *P. stratiotes* presented a similar profile, differing only in the sharp decline in superoxide dismutase levels, suggesting that this is the most important factor related to the algicidal action of *P. stratiotes*. Gas chromatography/mass spectrometry analyzes of ethanolic and aqueous extracts of *P. stratiotes* showed palmitic acid ethyl ester as the main allelochemical. The polyphenolic content found in the extracts may be responsible for the inhibitory activity on the growth of cyanobacteria, due to the phytotoxic potential found in the literature for the presence of these plant compounds. In conclusion, the extracts and fractions of the studied plants showed algicidal activity, suggesting that they are sources of compounds that promote oxidative stress and lipid peroxidation in cyanobacteria, resulting in a reduction in their population.

Keywords: allelopathy; superoxide dismutase; phytochemicals; cyanobacteria; antioxidants.

SUMÁRIO

	REVISÃO DE LITERATURA	10
	REFERÊNCIAS	13
	CAPÍTULO 1	15
1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVO	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1	MATERIAL VEGETAL E PREPARO DOS EXTRATOS	20
3.2	BIOENSAIOS COM <i>Microcystis aeruginosa</i> BCCUSP232	21
3.3	AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE <i>P. striatotes</i> EM <i>M. aeruginosa</i> BCCUSP 232	22
3.3.1	Extrações bioquímicas	22
3.3.2	Peroxidação lipídica	23
3.3.3	Espécies reativas de oxigênio: formação do peróxido de hidrogênio intracelular (H₂O₂)	23
3.3.4	Determinação de proteínas totais e atividade das enzimas do metabolismo de defesa antioxidante	23
3.4	FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS EM SÍLICA C18	25
3.5	QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS E FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS	25
3.6	DETERMINAÇÃO DA CITOXICIDADE E GENOTOXICIDADE EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE <i>Allium cepa</i>	26
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
4	RESULTADOS	27
4.1	<i>Salvinia auriculata</i>	27
4.1.1	Efeito do extrato e fração de <i>S. auriculata</i> no crescimento de <i>Microcystis aeru- ginosa</i> BCCUSP232	27
4.1.2	Peroxidação lipídica	29
4.1.3	Espécies reativas de oxigênio (ROS): determinação de Peróxido Hidrogênio (H₂O₂) intracelular	30
4.1.4	Proteínas totais e atividade das enzimas antioxidantes	31
4.1.5	Determinação de polifenóis e flavonoides totais	36
4.1.6	Determinação da citotoxicidade e genotoxicidade em células meristemáticas de raiz de <i>Allium cepa</i>	36

4.2	<i>E. sonchifolia</i>	37
4.2.1	Efeito do extrato e fração de <i>E. sonchifolia</i> no crescimento de <i>Microcystis aeruginosa</i> BCCUSP232	37
4.2.2	Peroxidação lipídica	39
4.2.3	Espécies reativas de oxigênio (ROS): determinação de Peróxido Hidrogênio (H₂O₂) intracelular	40
4.2.4	Proteínas totais e atividade das enzimas antioxidantes	41
4.2.5	Determinação de polifenóis e flavonoides totais	46
4.2.6	Determinação da citotoxicidade e genotoxicidade em células meristemáticas de raiz de <i>Allium cepa</i>	46
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	51
	CAPÍTULO 2	59
	CAPÍTULO 3	72
1	INTRODUÇÃO	74
2	OBJETIVO	74
3	MATERIAIS E MÉTODOS	74
3.1	MATERIAL VEGETAL E PREPARO DOS EXTRATOS	74
3.2	FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS EM SÍLICA C18	75
3.3	BIOENSAIOS COM <i>Microcystis aeruginosa</i> BCCUSP232	75
3.4	AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DAS FRAÇÕES DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>P. stratiotes</i> EM <i>M. aeruginosa</i> BCCUSP 232	76
3.4.1	Extrações bioquímicas	76
3.4.2	Peroxidação lipídica	76
3.4.3	Espécies reativas de oxigênio: formação do peróxido de hidrogênio intracelular (H₂O₂)	77
3.4.4	Determinação de proteínas totais e atividade das enzimas do metabolismo de defesa antioxidante de <i>M. aeruginosa</i> BCCUSP 232	77
3.5	QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS E FLAVONOIDES TOTAIS DA FRAÇÃO MAIS ATIVA	77
3.6	DETERMINAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE <i>Allium cepa</i>	77
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	78

4	RESULTADOS	78
4.1	Efeito das frações de <i>P. stratiotes</i> no crescimento de <i>Microcystis aeruginosa</i> BCCUSP232	78
4.2	Peroxidação lipídica	79
4.3	Espécies reativas de oxigênio (ROS): determinação de Peróxido Hidrogênio (H₂O₂) intracelular	80
4.4	Proteínas totais e atividade das enzimas antioxidantes	81
4.5	Determinação de polifenóis e flavonoides totais	86
4.6	Determinação da citotoxicidade e genotoxicidade em <i>Allium cepa</i>	86
5	DISCUSSÃO	87
6	CONCLUSÃO	89
	REFERÊNCIAS	89
	CONCLUSÕES GERAIS	93

REVISÃO DE LITERATURA

O fenômeno alelopático foi descoberto há muito tempo. Registros sobre interações entre plantas podem remontar ao século 3 a.C., enquanto o termo “alelopatia” foi proposto pela primeira vez na década de 1930 (MOLISCH, 1937). Alelopatia, proposta inicialmente por Molish (1937), era definida como as interações bioquímicas entre várias plantas (incluindo microrganismos). Em seguida, os metabólitos secundários, secretados no meio ambiente pelas plantas e exibindo efeito alelopático em outras plantas, foram denominados aleloquímicos por Whittaker e Feeny (WHITTAKER e FEENY, 1971). A essência dos aleloquímicos (ou seja, uma planta afeta outras plantas vizinhas ao liberar produtos químicos fora de seus corpos) foi elucidada pela primeira vez no livro *Allelopathy* (CIPOLLINI e BOHRER, 2016). Em 1996, a Sociedade Internacional de Alelopatia ampliou a definição de alelopatia, ou seja, metabólitos secundários secretados por plantas e microrganismos afetam o crescimento e o desenvolvimento de qualquer processo de sistemas agrícolas e biológicos (CHENG e CHENG, 2015). Além disso, os doadores e os receptores alelopáticos também devem incluir animais (MORROW *et al.*, 2017; PECKOL e PUTNAM, 2017), uma vez que metabólitos secundários secretados por plantas aquáticas ou algas eram conhecidos por contribuir para os mecanismos de defesa contra competidores e predadores. O termo alelopatia foi sugerido para uso generalizado a fim de descrever a interação entre predador e presa (LEGRAND *et al.*, 2003).

A deterioração do ecossistema aquático pela proliferação de algas prejudiciais têm sido um problema crítico em todo o mundo (Laughinghouse IV *et al.*, 2012). A inibição alelopática de algas por plantas aquáticas foi descoberta observando o crescimento e o declínio do número de plantas e algas no ambiente aquático natural (WU, 2016). Pesquisadores observaram que a densidade de algas plâncticas era significativamente mais baixa em corpos d'água onde a *Elodea canadensis* cresceram em maior número, quando comparado às áreas ausentes de plantas aquáticas; após observações durante quatro anos consecutivos (WU, 2016). Hasler e Jones (1949) descobriu, pela primeira vez, que as plantas aquáticas tinham um efeito restritivo sobre as algas aquáticas. Em 1969, Fitzgerald descobriu que aleloquímicos de plantas submersas podiam inibir o crescimento de algas, o que despertou amplo interesse (FITZGERALD, 1969). Na década de 1970, Aubert descobriu que as interações químicas desempenhavam papel importante na formação de comunidades e estruturas fitoplanctônicas, além da competição nutricional (AUBERT e GAUTHIER, 1977). Mais tarde, descobriu-se que plantas terrestres também tinham efeitos inibitórios sobre as algas (LI *et al.*, 2020).

Para resolver problemas de proliferação de algas prejudiciais, pesquisadores começaram a investigar a interação entre plantas aquáticas e microalgas. Por muito tempo, os pesquisadores se concentraram principalmente na revelação dos efeitos alelopáticos das plantas aquáticas sobre as algas de água doce (ZHU *et al.*, 2021). O isolamento de aleloquímicos inibidores de algas foi iniciado na década de 1980 (STEVENS e MERRILL, 1980). A partir daí centenas de aleloquímicos inibidores de algas foram extraídos e identificados, como pirogalol, ácido hexanóico, berberina, entre outros (ZHANG *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2016; DONG *et al.*, 2019).

Na década de 1990, os estudos sobre o mecanismo alelopático em microalgas foi iniciando gradualmente, no entanto, a pesquisa e o desenvolvimento eram limitados na época devido à restrição na extração e identificação de aleloquímicos antes da ampla utilização de instrumentos de alto desempenho como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (ZHU *et al.*, 2021). Beneficiando-se do rápido progresso da purificação química e da tecnologia de detecção, uma grande quantidade de aleloquímicos de plantas aquáticas até então desconhecidos foram descobertos, relatórios relevantes sobre seus efeitos alelopáticos foram surgindo e os mecanismos de inibição de algas tornaram-se melhor elucidados (ZHU *et al.*, 2021).

Macrófitas são cruciais para estabilizar o estado de águas claras em lagos rasos, mesotróficos e eutróficos, pois podem reduzir o crescimento de microalgas (HILT *et al.*, 2006). Os mecanismos envolvidos incluem sombreamento de luz, ressuspensão de sedimentos, competição de nutrientes e alelopatia (MULDERIJ *et al.*, 2007). Quanto à alelopatia, as macrófitas excretam de forma sustentável aleloquímicos inibidores de algas para o meio ambiente, resultando em reduções da biomassa fitoplanctônica (PARK *et al.*, 2006). A utilização de alelopatia para inibir o crescimento de microalgas pode ser alcançada cultivando plantas aquáticas diretamente no ambiente. Entretanto, a maior parte das pesquisas existentes foram realizadas em laboratórios, usando extratos de plantas, exsudatos ou compostos purificados (LI *et al.*, 2020). Estudos anteriores demonstraram que pelo menos 40 espécies de grandes plantas aquáticas produzem aleloquímicos que podem inibir o crescimento de algas, e os tipos mais comuns de aleloquímicos são compostos fenólicos, terpenóides e ácidos graxos (MOHAMED, 2017). Alguns desses aleloquímicos inibitórios sobre algas foram extraídos de plantas aquáticas, como *Acorus gramineus* (NAKAI *et al.*, 2010), *Phragmites australis* (GAO *et al.*, 2011), *Potamogeton pusillus* (TAKEDA *et al.*, 2011).

Pistia stratiotes L., conhecida popularmente como alface d'água, é uma planta aquática flutuante, amplamente distribuída por todo o mundo (CARDOSO *et al.*, 2005). *P. stratiotes* apresenta porte herbáceo, caule, estolonífera, com propagação sexuada e assexuada por meio de seus estolões. Possui folhas sésseis, esponjosas, espatuladas, obtusas e densamente pubescentes, dispostas em rosetas, coloração verde, com inflorescência composta por espádice cercada por uma espata

pilosa (COELHO *et al.*, 2005). Esta espécie 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 (COELHO *et al.*, 2005). Esta macrófita tem sido utilizada para a remoção de mercúrio de efluentes de mineração, pela capacidade de acumular o metal em suas raízes, melhorando conseqüentemente a qualidade dos sistemas aquáticos. No tratamento de esgoto urbano, é demonstrado seu potencial de utilização na fitorremediação (LIN e LI, 2016). Pesquisas também demonstraram que *P. stratiotes* apresenta efeitos alelopáticos, podendo controlar o crescimento de microrganismos como as cianobactérias (WU *et al.*, 2015).

Salvinia auriculata Aubl. é uma monilófita livre e flutuante, muito comum em água doce, com ampla distribuição geográfica, de rápida disseminação por propagação vegetativa, sendo considerada como planta daninha (HENRY-SILVA e CAMARGO, 2006). Apresenta nós e entre-nós nítidos, em cada nó se originam três folhas, sendo duas verdes e flutuantes em cuja superfície ocorrem inúmeros tricomas hidrofóbicos. Uma terceira folha apresenta-se submersa, modificada e adaptada à absorção de água e íons, desenvolvendo basicamente a função de raiz (FORNO e HARLEY, 1979). Estudos científicos demonstram seu potencial bioindicador, fitorremediador e bactericida, o que torna essa planta candidata para controle de cianobactérias e suas toxinas (LIMA *et al.*, 2013).

Além das plantas aquáticas, muitas plantas terrestres produzem compostos alelopáticos com a capacidade de inibir o crescimento de algas (MENG *et al.*, 2015; MECINA *et al.*, 2017, 2019). *Emilia sonchifolia* L. da família Asteraceae, conhecida por flor pincel, destaca-se por ser uma espécie daninha com capacidade de inibir a germinação de sementes e crescimento inicial de espécies adjacentes (USUAH *et al.*, 2013). Esta espécie caracteriza-se por ser uma erva anual, ereta, pouco ramificada, de 30 a 60 cm de altura, com folhas membranáceas dispostas de maneira rosulada e com flores vermelhas dispostas em capítulos. É uma planta originária da Ásia tropical que se adaptou plenamente às condições ambientais de todo o território brasileiro (LORENZI e MATOS, 2008).

Diante da premente necessidade de controle da proliferação de algas nocivas em corpos d'água, principalmente por meio de novas tecnologias e compostos mais eficientes, duradouros, sustentáveis e ecologicamente corretos, os estudos de plantas candidatas a fornecedoras de compostos algicidas e/ou algistáticos torna-se de suma importância, visto o impacto das cianotoxinas frente à saúde das populações, assim como a possível contaminação de alimentos e do meio ambiente.

Diante do contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial dos extratos e frações de *Pistia stratiotes* L., *Salvinia auriculata* Aubl. e *Emilia sonchifolia* L. para controle de

Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing (cianobactéria) em condições laboratoriais, investigar o potencial oxidativo dos extratos e frações no metabolismo de defesa antioxidante de *Microcystis aeruginosa*, elucidar fitoquimicamente os componentes dos diferentes extratos e frações, além de avaliar a atividade citotóxica e genotóxica da água resultante dos bioensaios por meio do teste de *Allium cepa*.

REFERÊNCIAS

AUBERT, M.; GAUTHIER, M. J. Biological interactions between microorganisms in sea. **Marine Chemistry**, v. 5, n. 4-5, p. 553–555, Nov. 1977.

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, 2005.

CHENG, F.; CHENG, Z. H. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, Nov. 2015.

CIPOLLINI, K.; BOHRER, M. G. Comparison of allelopathic effects of five invasive species on two native species. **The Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 143, n. 4, p. 427-436, Oct. 2016.

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, Sep. 2005.

DONG, J.; CHANG, M.; LI, C.; DAI, D.; GAO, Y. Allelopathic effects and potential active substances of *Ceratophyllum demersum* L. on *Chlorella vulgaris* Beij. **Aquatic Ecology**, v. 53, n. 6, p. 651–663, Aug. 2019.

FITZGERALD, G. P. Some factors in the competition or antagonism among bacteria, algae and aquatic weeds. **Journal of Phycology**, v. 5, n. 4, p. 351-359, Dec. 1969.

FORNO, I. W.; HARLEY, K. L. S. The occurrence of *Salvinia molesta* in Brazil. **Aquatic Botany**, v. 6, n. 2, p. 185-187, 1979.

GAO, Y.; LIU, B.; XU, D.; ZHOU, Q.; HU, C.; GE, F.; ZHANG, L.; WU, Z. Phenolic compounds exuded from two submerged freshwater macrophytes and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 20, n. 5, p. 1153–1159, 2011.

HASLER, A. D.; JONES, E. Demonstration of the antagonistic action of large aquatic plants on algae and rotifers. **Ecology**, v. 30, p. 359-364, Jul. 1949.

HENRY-SILVA, G.G.; CAMARGO, A. F. M. Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 21-28, Jan. 2006.

HILT, S.; GROSS, E.M.; HUPFER, M.; MORSCHEID, H.; MÄHLMANN, J.; MELZER, A.; POLTZ, J.; SANDROCK, S.; SCHARF, E.-M.; SCHNEIDER, S.; van de WEYER, K. Restoration of submerged vegetation in shallow eutrophic lakes—a guideline and state of the art in Germany. **Limnologia**, v. 36, n. 3, p. 155–171, Sep. 2006.

LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; PRÁ, D.; SILVA-STENICO, M. E.; RIEGER, A.; FRESCURA, V. D.-S.; FIORE, M. F.; TEDESCO, S. B. Biomonitoring genotoxicity and cytotoxicity of *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria) using the *Allium cepa* test. **Science of The Total Environment**, v. 432, p. 180-188, Aug. 2012.

LEGRAND, C.; RENGEFORS, K.; FISTAROL, G. O.; GRANALI, E. Allelopathy in phytoplankton - biochemical, ecological and evolutionary aspects. **Phycologia**, v. 42, p. 406-419, Sep. 2003.

LI, B.; YIN, Y.; KANG, L.; FENG, L.; LIU, Y.; DU, Z.; TIAN, Y.; ZHANG, L. A review: application of allelochemicals in water ecological restoration-algal inhibition. **Chemosphere**, v. 267, n. 128869, Nov. 2020.

LIMA, S.; DIAZ G.; DIAZ, M. A. N. Antibacterial chemical constituent and antiseptic herbal soap from *Salvinia auriculata* Aubl. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, Dec. 2013.

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.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum, 2008. 161 p.

MECINA, G. F.; CHIA, M. A.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; VARELA, R. M.; TORRES, A.; MOLINILLOD, J. M. G.; MACÍAS, F. A.; SILVA, R. M. G. Effect of flavonoids isolated from *Tridax procumbens* on the growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. **Aquatic Toxicology**, v. 211, p. 81–91, Jun. 2019.

MECINA, G. F.; DOKKEDAL, A. L.; SALDANHA, L. L.; CHIA, M. A.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; do CARMO BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.; da SILVA, R. M. G. Response of *Microcystis aeruginosa* BCCUSP 232 to barley (*Hordeum vulgare* L.) straw degradation extract and fractions. **Science of the Total Environment**, v. 599-600, p. 1837-1847, Dec. 2017.

MENG, P.; PEI, H.; HU, W.; LIU, Z.; LI, X.; XU, H. Allelopathic effects of *Ailanthus altissima* extracts on *Microcystis aeruginosa* growth, physiological changes and microcystins release. **Chemosphere**, v. 141, p. 219–226, Dec. 2015.

MOHAMED, Z. A. Macrophytes-cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management – a review. **Limnologia**, v. 63, p. 122–132, Mar. 2017.

MOLISH, H. B. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere, Allelopathie**. Jena: Gustav Fischer, 1937. 106 p.

MORROW, K. M.; BROMHALL, K.; MOTTI, C. A.; MUNN, C. B.; BOURNE, D. G. Allelochemicals produced by the brown macroalga, *Lobophora sp.*, are active against coral larvae and

associated bacteria, supporting pathogenic shifts to *Vibrio* dominance. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 1, Jan. 2017.

MULDERIJ, G.; VAN NES, E. H.; VAN DONK, E. Macrophyte-phytoplankton interactions: the relative importance of allelopathy versus other factors. **Ecological Modelling**, v. 204, n. 1-2, p. 85–92, May 2007.

NAKAI, S.; ZOU, G.; OKUDA, T.; TSAI, T. Y.; SONG, X.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Anti-cyanobacterial allelopathic effects of plants used for artificial floating islands. **Allelopathy Journal**, v. 26, p. 113-121, 2010.

PARK, M. H.; HAN, M. S.; AHN, C. Y.; KIM, H. S.; YOON, B. D.; OH, H. M. Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 307–312, May 2006.

PECKOL, P.; PUTNAM, A. B. Differential toxic effects of *Ulva lactuca* (Chlorophyta) on the herbivorous gastropods, *Littorina littorea* and *L. obtusata* (Mollusca). **Journal of Phycology**, v. 53, n. 2, p. 361-367, Apr. 2017.

STEVENS, K. L.; MERRILL, G. B. Growth inhibitors from spikerush. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 644–646, May 1980.

TAKEDA, F.; NAKANO, K.; NISHIMURA, O.; SHIMADA, Y.; FUKURO, S.; TANAKA, H.; HAYASHI, N.; INAMORI, Y. Allelopathic potential of *Potamogeton pusillus* community against *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Water and Environment Technology**, v. 9, n. 1, p. 21–28, Mar. 2011.

USUAH, P. E.; UDOM, G. N.; EDEM, I. D. Allelopathic effect of some weeds on the germination of seeds of selected crops grown in Akwa Ibom State Nigeria. **Global Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 1, p. 23-33, Jun. 2013.

WANG, J.; LIU, Q.; FENG, J.; LV, J.; XIE, S. Effect of high-doses pyrogallol on oxidative damage, transcriptional responses and microcystins synthesis in *Microcystis aeruginosa* TY001 (Cyanobacteria). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 134, p. 273–279, Dec. 2016.

WHITTAKER, R. H.; FEENY, P. P. Allelochemicals: Chemical Interactions between Species. **Science**, v. 171, p. 757-770, 1971.

WU, X.; WU, H.; YE, J.; ZHONG, B. Study on the release routes of allelochemicals from *Pistia stratiotes* Linn., and its anticyanobacteria mechanisms on *Microcystis aeruginosa*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 18994–19001, Aug. 2015.

WU, Z. B. Allelopathy of Aquatic Macrophytes on Phytoplankton. **Science Press**, p. 120-140, 2016.

ZHANG, S.; ZHANG, M.; DAI, W.; BI, X.; YANG, P.; ZHANG, D. Evaluation of berberine's algicidal effects on toxic *Microcystis aeruginosa* growth using a double fluorescein staining method. **The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh**, v. 66, p. 940–945, 2014.

ZHU, X.; DAO, G.; TAO, Y.; ZHAN, X.; HU, H. A review on control of harmful algal blooms by plant-derived allelochemicals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, n. 123403, Jan. 2021.

CONCLUSÕES GERAIS

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

Extratos e frações de *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* e *Emilia sonchifolia* interferem no 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*, *Salvinia auriculata* e *Emilia sonchifolia* agiram como estressores no metabolismo da mesma.

Pistia stratiotes inibiu a atividade da enzima superóxido dismutase durante o período de testes, demonstrando ser esse um importante mecanismo de ação dos compostos desta planta sobre o metabolismo da cianobactéria.

As análises de cromatografia gasosa (CG)/espectrometria de massa (MS) dos extratos etanólico e aquoso de *Pistia stratiotes* apresentaram o éster etílico do ácido palmítico como principal aleloquímico.

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.

Os extratos e as frações mais ativas nos bioensaios 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.