

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**EFEITO DA SALINIDADE, TEMPERATURA E COMPETIÇÃO
INTERESPECÍFICA SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE TRÊS ESPÉCIES DE
MACRÓFITAS AQUÁTICAS TROPICAIS**

Rachel Santini Paulino

Bióloga

Jaboticabal, São Paulo

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**EFEITO DA SALINIDADE, TEMPERATURA E COMPETIÇÃO
INTERESPECÍFICA SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE TRÊS ESPÉCIES DE
MACRÓFITAS AQUÁTICAS TROPICAIS**

Rachel Santini Paulino

Oreintador: Antonio Fernando Monteiro Camargo

Co-orientadora: Priscila Lupino Gratão

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor.

Jaboticabal, São Paulo
2022

P328e Paulino, Rachel Santini
Efeito da salinidade, temperatura e competição interespecífica sobre a distribuição de três espécies de macrófitas aquáticas tropicais / Rachel Santini Paulino. -- Jaboticabal, 2022
87 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2022

Orientador: Antonio Fernando Monteiro Camargo

Coorientadora: Priscila Lupino Gratão

Banca examinadora: Irineu Bianchini Junior, Rogério Falleiros Carvalho, Lucia Helena Sipaubá Tavares, Marcela Bianchessi da Cunha Santino

Bibliografia

1. Plantas aquáticas. 2. Ecossistemas aquáticos costeiros. 3. Estuários. 4. Estresse salino. 5. Mudanças climáticas. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: Efeito da salinidade, temperatura e competição interespecífica sobre a distribuição de três espécies de macrófitas aquáticas tropicais

AUTORA: RACHEL SANTINI PAULINO

ORIENTADOR: ANTONIO FERNANDO MONTEIRO CAMARGO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANTONIO FERNANDO MONTEIRO CAMARGO (Participação Virtual)
Departamento de Ecologia / IB/Unesp, Rio Claro-SP



Prof. Dr. IRINEU BIANCHINI JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Hidrobiologia / Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, São Carlos-SP




Prof. Dra. LÚCIA HELENA SIPAUBÁ TAVARES (Participação Virtual)
Laboratório de Limnologia / Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal-SP

Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV/Unesp, Jaboticabal-SP



Prof. Dra. MARCELA BIANCHESSI DA CUNHA SANTINO (Participação Virtual)
Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, Ufscar, São Carlos-SP



Jaboticabal, 19 de agosto de 2022

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou
o que era antes”.*

(Martin Luther King)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha saúde e de minha família, permitindo que eu sempre pudesse me manter focada neste projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antônio, que mesmo a distância sempre esteve presente. Agradeço por todos os ensinamentos, gentileza, paciência durante as correções e por ser um profissional exemplar.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Priscila por todo carinho, amizade e por toda ajuda dedicada nas análises do estresse.

A Dra. Laís Samira Nunes, pela parceria no desenvolvimento do experimento, por todo o ensinamento a respeito da metodologia do projeto. Também agradeço imensamente pela amizade construída neste período e, principalmente, por me acolher tantas vezes em sua casa. Com certeza foram estas gentilezas que possibilitaram o desenvolvimento desta tese.

Ao professor Ramiro O. Bustamante e sua aluna Estefany Goncalves, em nome da Universidad de Chile (UCHile), por colaborar com a realização dessa tese.

Aos técnicos de laboratório Carlos Fernando Sanches e Sônia Maria R. Carregari por todo apoio em campo e nas análises laboratoriais, além da amizade, ensinamentos e profissionalismo que levarei para sempre.

À minha amada família que sempre esteve torcendo pelo meu sucesso, mesmo que isso me levasse para longe.

Ao meu marido Baltasar que me apoiou de inúmeras formas. Obrigada pelo amor, amizade e paciência que sempre me dedica.

À Silvana, Baltasar Filho, Carol e Dona Maria, sendo minha família aqui. Obrigada por todo apoio, amizade e carinho que sempre me dedicam.

Ao programa de Pós Graduação do CAUNESP, pela oportunidade de realizar meu projeto de doutorado.

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

APRESENTAÇÃO

Trajetória de elaboração do projeto de pesquisa e de desenvolvimento da tese

Sou graduada em ciências biológicas e no meu último ano de faculdade comecei a acompanhar um mestrando no laboratório de Fisiologia Vegetal, minha intenção, naquele momento, era conhecer uma área da biologia voltada para fisiologia de plantas. Neste laboratório tive meu primeiro contato com estresse oxidativo de plantas cultivadas, no entanto, buscava uma linha de pesquisa mais focada em ecologia. Conheci o Programa de Pós-graduação em Aquicultura da UNESP (CAUNESP) e a linha de pesquisa com macrófitas aquáticas, sendo o Prof. Dr. Antonio um dos responsáveis por essa linha pesquisa, que me aceitou prontamente como aluna. Em 2016, após ingressar no mestrado pelo programa do CAUNESP tivemos nossa primeira reunião. O professor explicou que estava desenvolvendo um projeto referente à distribuição de *S. alterniflora* e *C. americanum* no estuário do rio Itanhaém. Decidimos unir a área do estresse oxidativo de plantas com ecologia de macrófitas aquáticas. Então, o professor sugeriu um projeto que avaliasse a resposta bioquímica de *S. alterniflora* e *C. americanum* no estuário, o que complementaria o projeto em andamento. Foi a partir disso que a linha de pesquisa com estresse oxidativo de espécies estuarinas foi criada. Assim, no mestrado, nós desenvolvemos um experimento de campo para avaliar o estresse oxidativo de *S. alterniflora* e *C. americanum* que estão distribuídas no gradiente de salinidade e disponibilidade de nutrientes. Os resultados deste experimento foram bem interessantes, mas algumas questões ainda ficaram sem respostas, como qual seria o efeito isolado da salinidade na distribuição destas espécies?

Em 2018, com a possibilidade da seleção contínua no doutorado, nós elaboramos o projeto de doutorado. A ideia inicial foi de realizar um experimento manipulativo em casa de vegetação. Assim, poderíamos controlar a variável de interesse que, no caso, seria a salinidade. A partir disso, elaboramos um projeto de pesquisa intitulado de “Distribuição de macrófitas aquáticas: crescimento e estresse oxidativo de duas espécies nativas presentes no gradiente de salinidade”. Inicialmente nosso projeto foi composto apenas pelo primeiro capítulo, com as espécies *S. alterniflora* e *C. americanum*. No entanto, após algumas viagens de campo para o estuário (Itanhaém/SP), observei que no alto estuário (região de maior salinidade) ocorria a distribuição de uma espécie exótica invasora com grande potencial de expansão. Esta espécie forma densos tapetes flutuantes, e isso, impossibilitava nossa passagem com o

barco. Com as observações realizadas me questioneei se esta espécie conseguiria invadir áreas do médio (salinidade intermediária) e baixo estuário (maior salinidade). Dessa forma, após o experimento com *S. alterniflora* e *C. americanum* nós iniciamos o experimento com *Urochloa arrecta*, seguindo a mesma metodologia do primeiro capítulo. Tivemos sucesso na pesquisa e publicamos um artigo na revista Hydrobiologia com o título “Evaluation of growth and oxidative stress as indicative of salinity tolerance by the invasive tropical aquatic macrophyte tanner grass”. Foi durante a pandemia (COVID-19) que mais me dediquei à escrita deste segundo capítulo, porém, continuamos curiosos para compreender melhor a capacidade de invasão desta espécie. Ao pesquisar mais sobre a distribuição de espécies exóticas invasoras, encontrei que o uso de modelos de distribuição poderia ser uma ferramenta ideal para estimar a capacidade de invasão de *U. arrecta* em escala regional, mas também global. Dessa forma, entrei em contato com o professor Ramiro O. Bustamante que prontamente aceitou a colaboração. Este professor desenvolve projetos com o uso de modelo de distribuição com espécies de plantas exóticas invasoras no Laboratorio de Ecología Geográfica, Instituto de Ecología y Biodiversidad da Universidad de Chile. Essa parceria foi realizada durante a pandemia. Assim o terceiro capítulo desta tese foi desenvolvido com o título “Implicações das mudanças climáticas na distribuição global do capim aquático invasor”. Embora esta pesquisa seja inovadora, trabalhar com uma metodologia nova e remotamente foi muito desafiador.

Durante meu doutorado pude testar meus limites, encontrar soluções para os problemas que inevitavelmente apareceram, tornando-me cada vez mais responsável e confiante no trabalho a ser desenvolvido.

Resumo: *Crinum americanum* e *Spartina alterniflora* são as espécies nativas mais frequentes presentes no gradiente de salinidade presente em um estuário do sudeste do Brasil, enquanto que *Urochloa arrecta* é a espécie exótica invasora mais abundante na região de água doce neste estuário, mas também de outros ecossistemas aquáticos. Avaliamos os efeitos da salinidade no crescimento (ganho de biomassa), teor de nitrogênio total (NT) na biomassa do vegetal e no estresse oxidativo (peróxido de hidrogênio e malondialdeído) das três espécies distribuídas no estuário, além de estimar as implicações do aumento da temperatura (mudanças climáticas) na adequabilidade climática de *U. arrecta* em uma escala global. Para isso, nós dividimos a tese em três capítulos. No capítulo I nós desenvolvemos um experimento com dois fatores que foram constituídos por 3 culturas (monocultura de *S. alterniflora*, monocultura de *C. americanum* e cultura mista com às duas espécies), 3 salinidades (0, 20 e 30 ppt) e 5 réplicas, totalizando 45 unidades experimentais. O teor de NT foi semelhante em todas as unidades experimentais. Nós encontramos que a salinidade não afetou o crescimento das culturas de *S. alterniflora*, porém a monocultura em salinidade de 0 ppt foi mais estressante para a espécie em relação a cultura mista (na mesma salinidade). Na monocultura de *S. alterniflora* (0 ppt), o teor de nitrogênio total (fração emergente) foi menor e o estresse oxidativo (fração subterrânea) maior. Em *C. americanum*, no geral, a competição reduziu o teor de nitrogênio total (fração emergente) nas salinidades e promoveu maior estresse oxidativo (fração subterrânea) em 20 e 30 ppt. No entanto, o crescimento (ganho de biomassa emergente) foi reduzido apenas em 30 ppt. Nós concluímos que o tratamento na ausência de salinidade foi mais estressante para a monocultura de *S. alterniflora*. Porém, como o crescimento da espécie não foi reduzido, indicado que o estresse foi leve é possível que ausência da espécie em alto estuário esteja relacionada com as características do sedimento natural. O maior estresse de *C. americanum* em maior salinidade provavelmente se deve a menor habilidade competitiva da espécie nesta salinidade, reduzindo sua aptidão em combater os efeitos do estresse oxidativo neste tratamento. Isto explicaria a ausência de *C. americanum* na região do baixo estuário. No capítulo II nós desenvolvemos um experimento de um fator que foi constituído por 1 cultura (monocultura de *U. arrecta*), 3 salinidades (0, 20 e 30 ppt) e 5 réplicas, totalizando 15 unidades experimentais. O teor NT foi semelhante em todas as unidades experimentais. Nós encontramos que o crescimento da parte emergente de *U. arrecta* foi reduzido com o aumento da salinidade, mas o estresse oxidativo só foi maior em 30 ppt. Nós concluímos que a espécie provavelmente

apresenta ajustes fisiológicos que permitem sua sobrevivência em salinidade intermediária no estuário. No capítulo III nós utilizamos dados de distribuição global de *U. arrecta* e de variáveis bioclimáticas na projeção histórica e futura (2080) e aplicamos em um modelo de distribuição de espécies. Nós encontramos que as variáveis climáticas de temperatura foram as variáveis mais importantes para estimar a adequabilidade climática da espécie nas projeções estudadas. Nós concluímos que as áreas úmidas de clima quente (clima tropical) estão mais susceptíveis a invasão da espécie no contexto do aumento da temperatura devido as mudanças climáticas.

Palavras-chave: *Crinum americanum*, *Spartina alterniflora*, *Urochloa arrecta*, estresse salino, mudanças climáticas.

Abstract: *Crinum americanum* and *Spartina alterniflora* are the most frequent native species present in the salinity gradient present in an estuary in southeastern Brazil, while *Urochloa arrecta* is the most abundant invasive species in the freshwater region of this estuary, but also in other aquatic ecosystems. We evaluated the effects of salinity on growth (biomass gain), total nitrogen content in plant biomass and oxidative stress (hydrogen peroxide and malondialdehyde) of the three species distributed in the estuary, in addition to estimating the implications of the increase in temperature (climate change) on the climate suitability of *U. arrecta* on a global scale. For this, we divided the thesis into three chapters. In the chapter I we developed an experiment with two factors that consisted of 3 cultures (monoculture of *S. alterniflora*, monoculture of *C. americanum* and mixed culture with both species), 3 salinities (0, 20 and 30 ppt) and 5 replicates, totaling 45 experimental units. Nutrient concentrations were similar in all experimental units. We found that salinity and cultures did not affect the growth of *S. alterniflora*, but monoculture at 0 ppt salinity was more stressful for the species than mixed culture (at the same salinity). In the monoculture of *S. alterniflora* (0 ppt), the total nitrogen content (emergent fraction) was lower and the oxidative stress (underground fraction) was higher. In *C. americanum*, in general, competition reduced the total nitrogen content (emergent fraction) in salinities and promoted higher oxidative stress (underground fraction) at 20 and 30 ppt. However, growth (emerging biomass gain) was reduced by only 30 ppt. We concluded that treatment in the absence of salt was more stressful for the monoculture of *S. alterniflora*. However, as the growth of the species was not reduced, indicating that the stress was light, it is possible that the

absence of the species in the high estuary is related to the characteristics of the natural sediment. The greater stress of *C. americanum* in high salinity is probably due to the lower competitive capacity of the species in high salinity, reducing its ability to combat the effects of oxidative stress in this treatment. This would explain the absence of *C. americanum* in the lower estuary region. In the chapter II we developed a one-factor experiment that consisted of 1 culture (monoculture of *U. arrecta*), 3 salinities (0, 20 and 30 ppt) and 5 replicates, totaling 15 experimental units. Nutrient concentrations were similar in all experimental units. We found that emergent growth of *U. arrecta* was reduced with increasing salinity, but oxidative stress was only greater at 30 ppt. We conclude that the species probably presents physiological adjustments that allow its survival in intermediate salinity in the estuary. In the chapter III we used data from the global distribution of *U. arrecta* and from bioclimatic variables in the historical and future projection (2080) and applied it to a species distribution model. We found that the climatic variables of temperature were the most important variables to estimate the environmental suitability of the species in the projections studied. We conclude that humid areas with a warm climate (tropical climate) are more susceptible to invasion by the species in a context of global warming.

Keywords: *Crinum americanum*, *Spartina alterniflora*, *Urochloa arrecta*, saline stress, climate change.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	14
CAPÍTULO I: Como a distribuição de macrófitas emergentes de região estuarina pode ser explicada pelo crescimento e estresse oxidativo	24
Resumo.....	24
Abstract.....	25
Introdução.....	26
Material e Métodos.....	29
Resultados.....	33
Discussão.....	39
Referências.....	43
Material Suplementar.....	48
CAPÍTULO II: Avaliação do crescimento e estresse oxidativo como indicativos de tolerância à salinidade pela macrófita aquática tropical invasora (Evaluation of growth and oxidative stress as indicative of salinity tolerance by the invasive tropical aquatic macrophyte tanner).....	50
Abstract.....	50
Resumo.....	50
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	54
Resultados.....	58
Discussão.....	60
Referências.....	64
Material Suplementar.....	70

CAPÍTULO III: Implicações das mudanças climáticas na distribuição global do capim aquático invasor <i>Urochloa arrecta</i>.....	71
Resumo.....	71
Abstract.....	72
Introdução.....	73
Material e Métodos.....	77
Resultados e Discussão.....	83
Referências.....	85
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86

INTRODUÇÃO GERAL

As macrófitas aquáticas são amplamente distribuídas em diversos ecossistemas do planeta, possuem grande diversidade filogenética, taxonômica e, em sua maioria, são pertencentes a um grupo de vegetais terrestres que foram, ao longo do processo evolutivo, retornando ao ambiente aquático (THOMAZ; CUNHA, 2010). No decorrer deste processo evolutivo, algumas espécies, adaptaram-se aos ambientes salobros e conquistaram os ecossistemas costeiros (estuários). As espécies localizadas nestes ecossistemas estão distribuídas de acordo com gradientes ambientais que se formam através da disponibilidade de nutrientes, tipo de sedimento, velocidade de corrente, nível de água e salinidade (RIBEIRO *et al.*, 2009; CANCIAN, 2011). Estes são fatores que geralmente determinam os padrões de distribuição das macrófitas, pois proporcionam diferentes características habitats para a ocupação da vegetação aquática (BARENDREGT; BIO, 2003; BEGON *et al.*, 2007). As comunidades de macrófitas aquáticas também são afetadas por interações biológicas, como competição e herbivoria (CRAIN *et al.*, 2004; NUNES; CAMARGO, 2018). Além disso, a introdução de espécies exóticas de macrófitas aquáticas pode ser um fator importante para a estrutura e dinâmica destas comunidades, visto que estas espécies podem se tornar invasoras. Espécies invasoras frequentemente promovem a homogeneização de habitats, reduzindo a diversidade de espécies de macrófitas nativas (AMORIM *et al.*, 2015; THOMAZ *et al.*, 2015).

Dentre os fatores ambientais, a salinidade é uma variável limitante para o crescimento e a produtividade das plantas (ESTEVES; SUZUKI, 2009; UDDIN; URAIMI, 2013; PARIHAR *et al.*, 2015), pois tende a afetar negativamente mesmo espécies tolerantes a salinidade (CRAIN *et al.*, 2004; GUO; PENNING, 2012; KOYRO *et al.*, 2013). Sob o efeito da salinidade, as plantas podem sofrer estresse abiótico e ter alguns dos seus processos bioquímicos e metabólicos alterados, o que pode levar ao estresse oxidativo e redução na absorção de nutrientes (KOYRO *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2019).

Evolutivamente o estresse oxidativo nos organismos aeróbios se iniciou com a respiração celular devido ao acúmulo de oxigênio molecular (O₂) na atmosfera da Terra. Durante a respiração aeróbica, estes organismos passaram a utilizar o O₂ comoceptor final de elétrons, proporcionando assim um rendimento de energia maior em

comparação com a fermentação e respiração anaeróbica (SCANDALIOS, 1993). Assim, no metabolismo celular, mais precisamente na mitocôndria, cloroplastos e peroxissomos (BHATTACHARJEE, 2010; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011), durante a redução de O₂ à água (H₂O) pode haver transferência de elétrons para O₂, formando as espécies reativas de oxigênio (ERO), como os radicais superóxidos (O₂^{•-}), hidroxila (OH[•]) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (BARREIROS *et al.*, 2006). Para controlar a produção exacerbada de ERO a planta conta com o mecanismo antioxidante enzimático e não-enzimático que atuam para impedir que ocorram danos mais severos à célula vegetal (GRATÃO *et al.*, 2005; HAFSI *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2010). Sob condições mais intensas de estresse, a taxa de geração de EROs pode exceder o potencial de eliminação do sistema de defesa celular, resultando em estresse oxidativo e danos celulares (AHANGER *et al.*, 2017). Assim, o estresse oxidativo é um importante indicador de estresse salino, visto que a planta sob efeito de salinidade pode aumentar a produção de ERO (KOYRO *et al.*, 2013; GIL *et al.*, 2020).

Dentre as EROs, o H₂O₂ é muito importante, porque em níveis não tóxicos à célula pode atuar como um importante sinalizador no metabolismo de defesa celular (GILL; TUTEJA, 2010; HUSSAIN *et al.*, 2015; FOYER *et al.*, 2017) e assemelha-se aos fitormônios (ČERNÝ *et al.*, 2018). No entanto, embora o H₂O₂ seja pouco reativo frente às moléculas orgânicas, a sua transformação no radical OH[•] é tóxico à célula e pode conseguir transpor e desintegrar as membranas celulares resultando na formação de pequenos fragmentos, como, por exemplo, o malondialdeído (MDA) que é um indicativo de peroxidação lipídica, levando a degradação celular, desnaturação de proteínas, danos ao DNA e morte celular (BARREIROS *et al.*, 2006; GARG e MANCHANDA, 2009; HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2015; ČERNÝ *et al.*, 2018). Assim, durante o estresse salino pode ser observado uma relação entre o acúmulo de H₂O₂ na célula com a produção de MDA em vegetais (KOYRO *et al.*, 2013; PARIHAR *et al.*, 2015; Gil *et al.*, 2020).

Nas folhas, o aumento das concentrações de H₂O₂, durante o estresse salino, geralmente é devido à redução do potencial hídrico causando o fechamento estomático e a diminuição da taxa fotossintética (PARIDA; DAS, 2005; AHMAD *et al.*, 2009; KOYRO *et al.*, 2012). Nas raízes, a deficiência de oxigênio devido ao estresse salino leva à respiração anaeróbica e à produção e acúmulo de metabólitos como etanol, lactato e H₂O₂ (CRAWFORD; BRAENDLE, 1996; LI *et al.*, 2019). O estresse salino também tende a reduzir a absorção de água e nutrientes pelas raízes levando à menor

incorporação de nutrientes pelas plantas (HOULE *et al.*, 2001; ROGERS *et al.*, 2003) o que, conseqüentemente, pode afetar seu mecanismo antioxidante (BROADLEY *et al.*, 2007; HIPPLER *et al.*, 2015).

Diante disso, o fator salinidade e, por consequência, a disponibilidade de nutrientes influenciam a distribuição espacial e as interações entre espécies de macrófitas aquáticas nos ecossistemas costeiros (RIBEIRO *et al.*, 2011; NUNES; CAMARGO, 2018; NUNES *et al.*, 2019). Nesse sentido, é provável que esta dinâmica entre salinidade e disponibilidade de nutrientes também tenha papel importante na composição de comunidade de plantas emergentes frente às mudanças climáticas.

O termo “mudança climática” se refere à variação do clima em escala global ou dos climas regionais da Terra ao longo do tempo, afetando o equilíbrio de sistemas e ecossistemas já estabelecidos por muito tempo. Estas variações dizem respeito a mudanças de temperatura, precipitação, entre outros fenômenos climáticos em relação às médias históricas. A mudança climática pode ser causada por processos naturais, e realmente no passado da Terra houve variações importantes no clima, como, por exemplo, os períodos glaciais. Contudo, a mudança recente tem sua causa nas atividades humanas, principalmente pela elevação da temperatura que é resultante da liberação de gases causadores do efeito estufa (IPCC, 2021). Atualmente, os ecossistemas costeiros e suas comunidades biológicas vêm se destacando pelo cenário de mudanças climáticas, principalmente pela elevação do nível do mar (SIMAS *et al.*, 2001). Nas últimas décadas foi estimado que os níveis globais do mar aumentaram em 3,2 mm por ano (CHURCH; WHITE, 2011) e podem ultrapassar 1 metro até 2100 (IPCC, 2021). Como conseqüências disso, nos estuários são esperadas alterações nas frequências de inundação, provocando maior intrusão salina, entre outros impactos. Os efeitos combinados das mudanças na salinidade e inundações de maré alteram o ambiente biogeoquímico de solos de zonas úmidas, aumentando a concentração de íons de sal, disponibilidade de nutrientes, tornando a região de mangue tóxico às plantas (HUGHES *et al.*, 2012; DERKSEN-HOOIJBERG, 2019)

No estuário do rio Itanhaém (sudeste do Brasil) há um marcado gradiente longitudinal de salinidade, sendo a disponibilidade de nutrientes no sedimento, maior no médio estuário (salinidade intermediária), seguidas pelo baixo estuário (menor salinidade) e alto estuário (maior salinidade) (NUNES; CAMARGO, 2018). Neste estuário, as macrófitas aquáticas emergentes *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae) e *Spartina alterniflora* Loisel (Poaceae) são as espécies nativas mais abundantes e

frequentes. *C. americanum* ocorre em bancos monoespecíficos em áreas de alto estuário, *S. alterniflora* ocorre em bancos monoespecíficos no baixo estuário, e no médio estuário estas duas espécies formam bancos mistos. Nunes e Camargo (2018) sugeriram que a ausência de *S. alterniflora* em alto estuário do rio Itanhaém se deve ao estresse abiótico (principalmente devido à menor disponibilidade de nutrientes e menor salinidade), e que a ausência de *C. americanum* em baixo estuário é resultado da competição com *S. alterniflora*.

Crinum americanum e *S. alterniflora*, entre outras espécies de macrófitas aquáticas, exercem um papel importante na dinâmica dos ecossistemas aquáticos, pois são fundamentais na ciclagem de nutrientes, nas cadeias tróficas, aumentam a complexidade estrutural de habitats e a diversidade biológica, fornecendo *habitat* para diversas espécies de animais aquáticos (SCREMIN-DIAS *et al.*, 1999; THOMAZ; ESTEVES, 2011). Em particular, *S. alterniflora* também é uma espécie bioengenhreira que pode ser utilizada na recuperação de ambientes de marismas e manguezais degradados por atividades antrópicas (MENDONÇA; COSTA, 2008), bem como no controle da ação erosiva do mar e na estabilização de sedimentos dragados depositados em regiões estuarinas e costeiras (AZEVEDO *et al.*, 2016).

A distribuição destas espécies, dentre outras nativas, pode ser afetada com a introdução de uma espécie exótica que pode alterar a estrutura do habitat, bem como o fluxo de energia e matéria, comprometendo as comunidades em equilíbrio nos ecossistemas costeiros (ERVIN; WETZEL, 2002; ERIKSSON *et al.*, 2006). Nas últimas décadas, a introdução do capim aquático *Urochloa arrecta* (Hack. Ex. Durand & Schinz) Morrone & Zuloag (Poacea) tem sido relacionada com a perda de biodiversidade de comunidades subtropicais (GALVANESE *et al.*, 2022). Nos ecossistemas brasileiros *U. arrecta* foi introduzida como pastagens e em regiões alagadas tem afetado negativamente os ambientes aquáticos (POTT *et al.*, 2011). Esta espécie exótica é um capim aquático perene, que possui raízes fixas na margem e se distribuem formando grandes tapetes flutuantes na superfície da água (MICHELAN *et al.*, 2010). *U. arrecta* possui alto potencial de regeneração e têm demonstrado alto potencial competitivo para com espécies emergentes, apresentando efeitos negativos sobre a riqueza de espécies nativas e sobre a diversidade funcional (MICHELAN *et al.*, 2010; AMORIM *et al.*, 2015; GALVANESE *et al.*, 2022). Além disso, esta espécie possui crescimento e alocação de recursos, como os nutrientes, relativamente altos em comparação às demais espécies pertencentes ao gênero (BIANCO *et al.*, 2015).

A distribuição de *U. arrecta* em regiões alagadas de água doce foi registrada no bioma amazônico (FARES *et al.*, 2020), pantanal (POTT; POTT 2011) e mata atlântica (NUNES *et al.*, 2019; BORA *et al.*, 2020). Neste último bioma, a distribuição da espécie ocorre em rios de região litorânea, e no estuário do rio Itanhaém a espécie ocorre em locais exclusivos de água doce na área do alto estuário. No entanto, recentemente Bora *et al.* (2020) observaram bancos desta espécie em região com salinidade intermediária no estuário do rio Guaraguaçu (sul do Brasil).

Sendo assim, o conhecimento da distribuição geográfica de uma espécie exótica invasora é fundamental para embasar estudos que visam identificar áreas que estão mais ameaçadas. Tendo em vista essa problemática, os métodos de Modelagem de Distribuição de Espécies (MDE) surgiram como uma grande contribuição para os estudos na área da ecologia. Os MDEs nos permitem fazer uma modelagem preditiva de distribuição de espécies, que através de dados catalogados de distribuição geográfica da espécie e das variáveis de clima histórico e futuro nos permite estimar a adequabilidade ambiental da espécie em um determinado ano e condição climática. Dessa forma, a adequabilidade climática pode ser estimada com base nas condições climáticas do cenário histórico ou projetada para décadas futuras (PAGLIA *et al.*, 2012).

Assim, compreender os fatores que conferem sucesso na adaptação/distribuição das macrófitas aquáticas nativas *S. alterniflora*, *C. americanum* e da espécie exótica invasora *U. arrecta* também é compreender o ambiente em que elas estão inseridas. Desse modo, esta tese de doutorado teve como objetivo geral estudar o efeito da salinidade em três espécies de macrófitas aquáticas distribuídas em um estuário de região neotropical e identificar as áreas de maior adequabilidade climática de *U. arrecta* projetada para o ano 2080 frente as mudanças climáticas. Para isso, levantamos os seguintes questionamentos:

- i) Quais são os efeitos da salinidade sobre o crescimento, teor de nitrogênio na biomassa vegetal e promoção do estresse oxidativo em monocultura e cultura mista de *S. alterniflora* e *C. americanum*?
- ii) Quais são os efeitos da salinidade sobre o crescimento, teor de nutrientes na biomassa vegetal e promoção do estresse oxidativo em *U. arrecta*?
- iii) Quais serão os efeitos do aumento da temperatura na distribuição global de *U. arrecta*?

Para melhor compreensão destes temas nós dividimos esta tese em três capítulos:

- Capítulo 1. Como a distribuição de macrófitas emergentes de região estuarina pode ser explicada pelo crescimento e estresse oxidativo.
- Capítulo 2. Avaliação do crescimento e estresse oxidativo como indicativos de tolerância à salinidade pela macrófita aquática tropical invasora (Evaluation of growth and oxidative stress as indicative of salinity tolerance by the invasive tropical aquatic macrophyte tanner grass). Este capítulo foi formato (principalmente citações e lista de referências) conforme as normas específicas da *Hydrobiologia* para qual foi publicado (doi.org/10.1007/s10750-021-04787-4).
- Capítulo 3. Implicações do aumento de temperatura na distribuição global do capim aquático invasor *Urochloa arrecta*.

Referências

AHMAD, P. *et al.* Generation of ROS and Non-Enzymatic Antioxidants During Abiotic Stress in Plants. *Botany Research International* 2: 11–20, 2009.

AMORIM, S.R. *et al.* Effects of a non native species of Poaceae on aquatic macrophyte community composition: A comparison with a native species. *Journal of Aquatic Plant Management* 53: 191–196, 2015.

AZEVEDO, A. *et al.* Efeitos da densidade de plantio e da adição de nutrientes na produção de mudas de gramas halófitas em recipientes. *Revista Ceres*, v. 63, n.1, p. 076–085, 2016.

BARENDREGT, A.; BIO, A. M. F. Relevant variables to predict macrophytes communities in running waters. *Ecological Modelling* 160: 205-217, 2003.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. *Quimica Nova* 29: 113–123, 2006.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. *Ecology: from individuals to ecosystems*. Bhattacharjee, S. 2010. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Enfeld: Science Publishers, p 1-30, 2006.

BIANCO, S. *et al.* Crescimento e nutrição mineral de *Urochloa arrecta*. *Planta Daninha* 33: 33-40, 2015.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Enfeld: Science Publishers, p 1-30, 2010.

BORA, L. S.; THOMAZ, S. M.; PADIAL, A. A. Evidence of rapid evolution of an

- invasive poaceae in response to salinity. *Aquatic Sciences* 82: 1-16, 2020.
- BROADLEY, M.R. *et al.* Zinc in plants. *New Phytologist* 173: 1–69, 2007.
- CANCIAN, L. F.; CAMARGO, A. F. M. Utilização de Sistemas de Informações Geográficas, softwares e algoritmos de modelagem para geração de modelos de distribuição geográfica potencial de espécies de macrófitas aquáticas em bacias hidrográficas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia* 39: 1-10, 2011.
- CARVALHO, R. F.; QUECINI, V.; PERES, L. E. P. Hormonal modulation of photomorphogenesis-controlled anthocyanin accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv Micro-Tom) hypocotyls: Physiological and genetic studies. *Plant Science* 178: 258–264, 2010.
- ČERNÝ, M. *et al.* Hydrogen peroxide: Its role in plant biology and crosstalk with signalling networks. *International Journal of Molecular Sciences* 19: 1-30, 2018.
- CHEN, X. *et al.* Influence of salt stress on propagation, growth and nutrient uptake of typical aquatic plant species. *Nordic Journal of Botany* 37: 1–12, 2019.
- CHURCH, J.; WHITE, N. Sea-level rise from the late 19th to the early 21st century. *Surveys in Geophysics* 32: 585–602, 2011.
- CRAIN, C. M. *et al.* Physical and biotic drivers of plant distribution across estuarine salinity gradients. *Ecology* 85: 2539–2549, 2004.
- CRAWFORD, R. M. M.; BRAENDLE, R. Oxygen deprivation stress in a changing environment. *Journal of experimental botany* 47: 145–159, 1996.
- DERKSEN-HOOIJBERG, M. *et al.* Repetitive desiccation events weaken a salt marsh mutualism. *J. Ecol.* 2415–2426, 2019.
- ERIKSSON, B. K.; RUBACH, A.; HILLEBRAND, H. Biotic habitat complexity controls species diversity and nutrient effects on net biomass production. *Ecology* 87:246-254, 2006.
- ERVIN, G. N.; WETZEL, R. G. Influence of a dominant macrophyte, *Juncus effuses*, on wetland plant species richness, diversity, and community composition. *Oecologia* 130:626-636, 2002.
- ESTEVEES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito Da Salinidade Sobre As Plantas. *Oecologia Australis* 12: 662–679, 2009.
- FARES, A. L. B.; NONATO, F. A. D. S.; MICHELAN, T. S. New records of the invasive macrophyte, *Urochloa arrecta* extend its range to eastern Brazilian Amazon altered freshwater ecosystems. *Acta Amazonica*, 50, 133-137, 2020.
- FOYER, C. H.; RUBAN, A. V.; NOCTOR, G. Viewing oxidative stress through the lens of oxidative signalling rather than damage. *Biochemical Journal* 474: 877–883, 2017.
- GALVANESE, E. F. *et al.* Community stability and seasonal biotic homogenisation

emphasize the effect of the invasive tropical tanner grass on macrophytes from a highly dynamic neotropical tidal river. *Aquatic sciences*, 84(2), 1-16, 2022.

GARG, N.; MANCHANDA, G. ROS generation in plants: Boon or bane? *Plant Biosystems* 143: 81–96, 2009.

GIL, L. *et al.* Salt variation induces oxidative stress response in aquatic macrophytes: The case of the Eurasian water-milfoil *Myriophyllum spicatum* L. (Saxifragales: Haloragaceae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 239: 1–6, 2020.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909–930, 2010.

GRATÃO, P. L. *et al.* Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32: 481-494, 2005.

GUO, H.; PENNING, S. C. Mechanisms mediating plant distributions across estuarine landscapes in a low-latitude tidal estuary. *Ecology* 93: 90–100, 2012.

HAFSI, C. *et al.* Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 69: 129–136, 2010.

HALLIWEL, B.; GUTTERIDGE, J. M. No Free radicals in biology and medicine. 5th. edn. Oxford University Press, USA, 2015.

HIPPLER, F. W. R. *et al.* Towards soil management with Zn and Mn: Estimates of fertilisation efficacy of Citrus trees. *Annals of Applied Biology* 166: 484–495, 2015.

HOULE, G. *et al.* The Effect of Salinity on Different Developmental Stages of an Endemic Annual Plant, *Aster laurentianus* (Asteraceae). *Botanical Society of America* 88: 62–67, 2001.

HUGHES, A. L. H.; WILSON, A. M.; MORRIS, J. T. Hydrologic variability in a salt marsh: assessing the links between drought and acute marsh dieback. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 111, 95–106, 2012.

HUSSAIN, T. *et al.* Eco-physiological adaptations of *Panicum antidotale* to hyperosmotic salinity: Water and ion relations and anti-oxidant feedback. *Flora* 212: 30–37, 2015.

IPCC, 2021: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press. In Press.

KARUPPANAPANDIAN, T. *et al.* Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science* 5:709-725, 2011.

- KOYRO, H. W.; AHMAD, P.; PRASAD, M. N. V. Abiotic Stress Responses in Plants: An Overview. In: AHMAD, P.; PRASAD, M. (eds) Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change. New York, Springer Science & Business Media 1-28, 2012.
- KOYRO, H. W. *et al.* Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass *Panicum turgidum* to increasing NaCl concentrations. *Environmental and Experimental Botany* 91: 22–29, 2013.
- LI, Y. *et al.* Effect of soil aeration on root morphology and photosynthetic characteristics of potted tomato plants (*Solanum lycopersicum*) at different NaCl salinity levels. *BMC Plant Biology* 19: 1–15, 2019.
- MENDONÇA, P. T. M.; COSTA, C. S. B. Efeitos da disponibilidade de nitrogênio e fósforo no estabelecimento de *Spartina alterniflora* em um plano entre marés irregularmente alagado. *Neotropical Biology and Conservation*, v.3, p.135-148, 2008.
- MICHELAN, T. S. *et al.* Regeneration and colonization of an invasive macrophyte grass in response to desiccation. *Natureza & Conservação* 8: 133–139, 2010.
- NUNES, L. S. C.; CAMARGO, A. F. M. Do interspecific competition and salinity explain plant zonation in a tropical estuary? *Hydrobiologia* 812: 67–77, 2018.
- NUNES, L. S. C. *et al.* Inventory of aquatic macrophyte species in coastal rivers of the São Paulo state, Brazil. *Oecologia Australis* 23: 829–845, 2019.
- PAGLIA, A. P. *et al.* Modelos de distribuição de espécies em estratégias para a conservação da biodiversidade e para adaptação baseada em ecossistemas frente a mudanças climáticas. *Natureza & Conservação*, Curitiba, 10: 231-234, 2012.
- PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety* 60: 324–49, 2005.
- PARIHAR, P. *et al.* Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review 22: 4056-4075, 2015.
- POTT, V. J. *et al.* Aquatic macrophyte diversity of the Pantanal wetland and upper basin. *Brazilian Journal of Biology* 71: 255–263, 2011.
- RIBEIRO, J. P. N. *et al.* Spatial distribution of *Crinum americanum* L. in tropical blind estuary: Hydrologic, edaphic and biotic drivers. *Environmental and Experimental Botany* 71: 287–291, 2011.
- RIBEIRO, J. P. N. *et al.* Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. *Revista Brasileira de Botânica* 32: 183–188, 2009.
- ROGERS, M. E.; GRIEVE, C. M.; SHANNON, M. C. Plant growth and ion relations in lucerne (*Medicago sativa* L.) in response to the combined effects of NaCl and P. *Plant and Soil* 253: 187-194, 2003.
- SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology* 101: 7–12, 1993.

SIMAS, T.; NUNES, J. P.; FERREIRA, J. G. Effects of global climate change on coastal salt marshes. *Ecological Modelling*, 139, 1–15, 2001.

THOMAZ, S. M, CUNHA, E. R. D. The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. *Acta Limnol Bras* 22: 218–236, 2010.

THOMAZ, S. M.; MORMUL, R. P.; MICHELAN, T. S. Propagule pressure, invasibility of freshwater ecosystems by macrophytes and their ecological impacts: a review of tropical freshwater ecosystems. *Hydrobiologia* 746: 39-59, 2015.

UDDIN, M. D.; JURAIMI, A. S. Salinity tolerance turfgrass: history and prospects. *The Scientific World Journal* 2013: 1-6, 2013.

CAPÍTULO I

Como a distribuição de macrófitas emergentes de região estuarina pode ser explicada pelo crescimento e estresse oxidativo

Resumo: Em um estuário neotropical a salinidade parece ser um dos principais fatores que determinam a distribuição de macrófitas aquáticas. Nosso objetivo foi de avaliar o efeito da salinidade em *Spartina alterniflora* e *Crinum americanum* para entender a distribuição destas espécies no gradiente de salinidade presente no estuário. Para isso, avaliamos os efeitos da salinidade (0, 20 e 30 ppt) no teor de nitrogênio total (NT) na biomassa vegetal, crescimento e nos indicadores de estresse oxidativo (H_2O_2 e MDA) na ausência (monocultura) e presença (cultura mista) de interação interespecífica. Desenvolvemos um experimento de dois fatores (3 culturas x 3 salinidades x 5 réplicas = 45 unidades experimentais) com duração de 185 dias em casa de vegetação. Cultivamos monoculturas e culturas mistas das espécies em salinidades 0, 20 e 30 ppt e em substrato inerte e com solução nutritiva de mesma concentração em todas as unidades experimentais. Nossos resultados mostraram que a salinidade e as culturas não afetaram o crescimento de *S. alterniflora*. No entanto, a monocultura em salinidade de 0 ppt apresentou menor teor de NT (fração emergente) e maior estresse oxidativo (fração subterrânea) em relação à cultura mista na mesma salinidade. O crescimento da (fração emergente) em *C. americanum* foi afetado apenas na cultura mista em 30 ppt, enquanto o teor de NT desta espécie foi reduzido na cultura mista em todas as salinidades. O estresse oxidativo foi maior nos tratamentos com salinidade de 20 e 30 ppt na cultura mista de *C. americanum*. Concluimos que o tratamento na ausência de salinidade foi mais estressante para a monocultura de *S. alterniflora*. No entanto, o estresse oxidativo foi pouco severo, visto que o crescimento da espécie não foi reduzido, indicando que a ausência de *S. alterniflora* no alto estuário provavelmente se deve a outros fatores abióticos do sedimento natural. *C. americanum* em maior salinidade apresentou maior estresse oxidativo em maior salinidade provavelmente devido à interação com *S. alterniflora*. Desta forma a capacidade da espécie em combater os efeitos do estresse oxidativo foi reduzida, o que explicaria a ausência de *C. americanum* na região do baixo estuário.

Palavras-chave: *Spartina alterniflora*, *Crinum americanum*, estresse salino, gradiente de salinidade.

Abstract: In a neotropical estuary, salinity seems to be one of the main factors that determine the distribution of aquatic macrophytes. Our objective was to evaluate the effect of salinity on *Spartina alterniflora* and *Crinum americanum* to understand the distribution of these species in the salinity gradient present in the estuary. For this, we evaluated the effects of salinity (0, 20 and 30 ppt) on total nitrogen (TN) content in plant biomass, growth and oxidative stress indicators (H₂O₂ and MDA) in absence (monoculture) and presence (mixed culture) of competition. We developed a two-factor experiment (3 cultures x 3 salinities x 5 replicates = 45 experimental units) lasting 185 days in a greenhouse. We cultivated monocultures and mixed cultures of the species at salinities of 0, 20 and 30 ppt and in an inert substrate and with a nutrient solution of the same concentration in all experimental units. Our results showed that salinity and cultures did not affect the growth of *S. alterniflora*. However, the monoculture at salinity of 0 ppt showed lower TN content (emergent fraction) and higher oxidative stress (underground fraction) compared to mixed culture at the same salinity. In *C. americanum* the growth (emerging fraction) of the species was affected only in the mixed culture at 30 ppt, while the TN content was reduced in the mixed culture at all salinities. Overall, oxidative stress was higher in saline treatments (20 and 30 ppt) in the mixed culture of *C. americanum*. We concluded that the treatment in the absence of salt was more stressful for the monoculture of *S. alterniflora*. However, the stress was not very severe, since the growth of the species was not reduced, indicating that the absence of *S. alterniflora* in the upper estuary is probably due to other factors present in the natural sediment. The greater stress of *C. americanum* at high salinity was probably due to competition with *S. alterniflora* at high salinity, reducing the species' ability to combat the effects of oxidative stress in this treatment. This would explain the absence of *C. americanum* in the lower estuary region.

Keywords: *Spartina alterniflora*, *Crinum americanum*, saline stress, salinity gradient.

Introdução

A salinidade é um fator limitante para a produtividade e crescimento das plantas (ESTEVEZ; SUZUKI, 2009; UDDIN; URAIMI, 2013; PARIHAR *et al.*, 2015), porque afeta negativamente mesmo espécies tolerantes à salinidade (CRAIN *et al.*, 2004; GUO; PENNINGS, 2012; KOYRO *et al.*, 2013). Sob o efeito da salinidade, as plantas estão sob estresse e alguns de seus processos bioquímicos e metabólicos podem ser alterados levando ao estresse oxidativo e redução da absorção de nutrientes (KOYRO *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2019). Além disso, a salinidade também pode mediar indiretamente à competição e, conseqüentemente, os padrões de organização da comunidade de macrófitas aquáticas em ecossistemas costeiros, afetando seu crescimento e absorção de nutrientes (PENNINGS; CALLAWAY, 1992). A capacidade de uma planta em tolerar a salinidade é determinada pela aptidão em manter a homeostase iônica, acúmulo de metabólitos osmorreguladores, fotossíntese, desintoxicação de radicais livres (ESTEVEZ; SUZUKI, 2008; FLOWERS *et al.*, 2015) e manter a habilidade competitiva (CRAIN *et al.*, 2004; GUO; PENNINGS, 2012).

As plantas, durante o estresse salino podem produzir em excesso espécies reativas de oxigênio (ERO), que são formadas por processos metabólicos dependentes do oxigênio, como a respiração aeróbica, fotossíntese e fotorrespiração (FOYER *et al.*, 2017). A ERO compreende os radicais superóxido ($O_2^{\bullet -}$), oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\bullet}), que são produzidas continuamente pela célula em condições normais ou estressantes (BARREIROS *et al.*, 2006; PETERS *et al.*, 2014). Porém, sob condições mais intensas de estresse, a taxa de geração de ERO pode exceder o potencial de eliminação destes pelo sistema de defesa celular, aumentando os níveis de radicais na célula e conseqüentemente no estresse oxidativo (AHANGER *et al.*, 2017). Dentre as ERO, o H_2O_2 é um dos principais metabólitos celulares, que em menores concentrações atua como um importante oxidante relacionado com processos de sinalização celular (FOYER *et al.*, 2017), desempenhando função semelhante aos fitohormônios (ČERNÝ *et al.*, 2018). No entanto, maiores concentrações de H_2O_2 podem induzir danos oxidativos às biomoléculas (ČERNÝ *et al.*, 2018), dado que, durante a redução do H_2O_2 é produzido OH^{\bullet} , que é tóxico a célula (BARREIROS *et al.*, 2006). O radical OH^{\bullet} é uma molécula capaz de transpor e desintegrar as membranas celulares, promovendo a peroxidação lipídica e formar compostos como o malondialdeído (MDA), desnaturar proteínas e causar danos ao DNA, levando a célula à morte (BARREIROS *et al.*, 2006; GARG;

MANCHANDA, 2009; HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2015). Para mediar os efeitos da ERO, um complexo mecanismo de reparo é acionado para impedir danos mais severos à célula vegetal (GRATÃO *et al.*, 2005; HAFSI *et al.*, 2010). Esses mecanismos compreendem as enzimas antioxidantes (FOYER, 2005; ROYCHOUDHURY *et al.*, 2012; HIPPLER *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015) e os mecanismos não-enzimáticos que incluem a produção de vitaminas, flavonoides, alcaloides, carotenoides, carotenos e fitohormônios (GRATÃO *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2010; FOYER; NOCTOR, 2013).

Nos estuários, a salinidade tende a diminuir a absorção de nutrientes pelas plantas, especialmente de macronutrientes como o nitrogênio (N) (CHAMBERS *et al.*, 1998; BROWN *et al.*, 2006). A deficiência de N na planta pode reduzir rapidamente seu crescimento (HU; SCHMIDHALTER, 2005), acelerar a senescência, aumentar as concentrações de H₂O₂ e MDA, diminuir as concentrações de pigmentos cloroplásticos (TEWARI *et al.*, 2007) e reduzir o estoque de N utilizado para sua osmorregulação durante o estresse salino (CAVALIERI; HUANG, 1981; CRAIN, 2007). No caso do fósforo (P), por exemplo, mesmo que ele não seja limitante nos estuários, o estresse salino também pode reduzir sua absorção pelas plantas, afetar a fotossíntese e promover maior produção de ERO nos cloroplastos (ASADA, 1996). Por outro lado, o enxofre (S) não é limitado pela salinidade, no entanto, sua disponibilidade nos estuários tende a reduzir com a redução da influência marinha (STRIBLING, 1997). Além de importante para o crescimento, o S é um importante componente do mecanismo antioxidante da planta (FOYER; NOCTOR, 2011) e por isso, é muito utilizado em culturas como atenuador do estresse abiótico (GILL; TUTEJA, 2010; RABÊLO *et al.*, 2017). Assim, a menor absorção de nutrientes pelos diversos fatores encontrados no ambiente pode afetar o metabolismo de defesa e levar a planta ao estado de estresse oxidativo (ASADA, 1996; TEWARI *et al.*, 2007). No entanto, quando as plantas se encontram submetidas ao estresse salino as interações interespecíficas também podem se tornar mais severas, limitando o crescimento das macrófitas, principalmente das espécies menos tolerantes à salinidade (ENGELS; JENSEN, 2010; GUO; PENNING, 2012).

Spartina alterniflora Loisel (Poaceae) e *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae) são as espécies mais abundantes e frequentes em estuários do sudeste do Brasil. *S. alterniflora* ocorre em bancos monoespecíficos no baixo estuário (maior salinidade), *C. americanum* ocorre em bancos monoespecíficos no alto estuário (menor salinidade) e no médio estuário (salinidade intermediária) estas duas espécies formam

bancos mistos. Em estudo experimental com sedimento natural, Nunes e Camargo (2018) observaram que em condições do médio estuário do rio Itanhaém, *S. alterniflora* apresentou maior habilidade competitiva que *C. americanum*. Esses autores sugeriram que no médio estuário a salinidade, a concentração de nutrientes e a variação do nível da água lateralmente nestes bancos podem ser os fatores responsáveis pela coexistência das duas espécies. A salinidade e a competição parecem estar relacionadas com a distribuição espacial destas espécies. No entanto, outros fatores tais como, as características dos sedimentos, concentração de O₂, composição granulométrica, teor e disponibilidade de nutrientes podem ter um efeito conjunto sobre o crescimento e a competição interespecífica das macrófitas aquáticas (HUCKLE *et al.*, 2000; GUO; PENNING, 2012). Segundo Nunes e Camargo (2018), a ausência de *S. alterniflora* no alto estuário provavelmente se deve às menores concentrações de nutrientes e na maior porcentagem de areia no sedimento, enquanto a competição entre as duas espécies é responsável pela ausência de *C. americanum* no baixo estuário, pois nesta região *S. alterniflora* é melhor competidora. No entanto, diferente destes autores Guo e Pennings (2012) observaram que o crescimento de *S. alterniflora* no estuário do rio Altamaha (Geórgia, EUA) foi estimulado pela menor salinidade e na ausência de competição.

Os estudos em campo nos trazem indicações de fatores responsáveis pela ocorrência e abundância de espécies, porém não respondem especificamente como se dá a influência de variáveis abióticas isoladas sobre as comunidades biológicas. Ao longo do gradiente ambiental de um estuário, as características dos sedimentos variam em termos de salinidade, bem como disponibilidade de nutrientes, matéria orgânica, capacidade de retenção de água, aeração e granulometria. Todas essas características do sedimento podem ter um efeito conjunto no crescimento e na competição interespecífica das macrófitas (HUCKLE *et al.*, 2000; GUO; PENNING, 2012). Assim, o uso de substratos artificiais em experimentos manipulativos é muito útil para avaliarmos qual a atuação de uma determinada variável na fisiologia e crescimento das plantas.

Sendo assim, nosso objetivo foi de avaliar o efeito da salinidade em *S. alterniflora* e *C. americanum* para entender a distribuição das espécies no estuário. Para isso, cultivamos monoculturas e cultura mistas de *S. alterniflora* e *C. americanum*, em substrato artificial, em três níveis de salinidade (0, 20 e 30 ppt) e avaliamos o crescimento, teor de nitrogênio total (NT) na biomassa vegetal e os indicadores de estresse oxidativo (H₂O₂ e MDA). Nossas hipóteses iniciais foram: (i) *S. alterniflora* em monocultura apresentará na ausência de salinidade (0 ppt) maior teor de NT, ganho de

biomassa e menor estresse oxidativo, devido à ausência do estresse salino e da interação interespecífica; (ii) *S. alterniflora* em cultura mista apresentará menor teor de NT, ganho de biomassa e maior estresse oxidativo na ausência de salinidade; (iii) *C. americanum* em monocultura apresentará intermediário teor de NT, ganho de biomassa e estresse oxidativo na presença de salinidade (20 e 30 ppt), devido ao estresse salino; (iv) *C. americanum* em cultura mista apresentará menor teor de NT, ganho de biomassa e maior estresse oxidativo na presença de salinidade (20 e 30 ppt), visto que *S. alterniflora* têm maior habilidade competitiva em presença de salinidade.

Material e Métodos

Descrição e distribuição das espécies

Spartina alterniflora e *C. americanum* são espécies de macrófitas aquáticas emergentes, ou seja, possuem folhas emersas e raízes fixadas no sedimento. Ambas as espécies são clonais e rizomatosas (NUNES; CAMARGO, 2017) e formam densos bancos nas bordas de florestas de mangue e de restinga em estuários do estado de São Paulo (SCHAEFFER-NOVELLI *et al.*, 1990). *S. alterniflora* é uma espécie halófito que possui glândulas para excreção de sais (ESTEVES; SUZUKI, 2009; CÉCCOLI *et al.*, 2015) e controle osmótico (WILLADINO; CAMARA, 2010; FLOWERS *et al.*, 2015). As halófitas são capazes de tolerar condições de salinidade semelhantes à da água do mar (COURTNEY *et al.*, 2016). No entanto, seu crescimento pode ser favorecido por níveis baixos a intermediários de salinidade (CRAIN *et al.*, 2004; GUO; PENNING, 2012) ou até mesmo pela ausência de salinidade (KACHOUT *et al.*, 2009). *C. americanum* é espécie comum em ambientes de água doce, no entanto, também ocorre em ambiente salobros (de 5 a 20 ppt) de lagos e rios costeiros no Brasil (RIBEIRO *et al.*, 2011; NUNES; CAMARGO, 2018).

No estuário do rio Itanhaém (Sudeste do Brasil) as macrófitas aquáticas emergentes *S. alterniflora* e *C. americanum* são as espécies mais abundantes e frequentes. Bancos monoespecíficos de *S. alterniflora* estão localizados no baixo estuário, desde a foz do estuário até aproximadamente 5 km a montante em sedimento com alta salinidade, teores intermediários de N e menor porcentagem de areia. Bancos mistos de *C. americanum* e *S. alterniflora* localizam-se na porção intermediária entre 5 e 6 km da foz do estuário em sedimento com salinidade e porcentagem de areia intermediário e maior teor de N. Bancos monoespecíficos de *C. americanum* ocorrem no

alto estuário entre 6 e 12 km da foz do estuário em sedimento com baixa salinidade, teores de N e maior porcentagem de areia.

Experimento

Desenvolvemos um experimento totalmente aleatorizado de dois fatores (3 culturas x 3 salinidades x 5 repetições = 45 unidades experimentais) para avaliar o crescimento e teor de NT e estresse oxidativo de *C. americanum* e *S. alterniflora*. As culturas consistiram da monocultura de *S. alterniflora*, *C. americanum* e cultura mista com as duas espécies cultivadas em três níveis de salinidade (0, 20 e 30 ppt). O experimento teve duração de 185 dias e foi desenvolvido em casa de vegetação localizada na Universidade Estadual Paulista, campus Rio Claro/SP (Fig. 1). A densidade inicial foi de 8 indivíduos por unidade experimental, sendo que nossos tratamentos consistiram em monoculturas (8 indivíduos) e cultura mistas (4 indivíduos de cada espécie, totalizando 8 indivíduos) em três níveis de salinidade, como proposto no trabalho realizado por Nunes e Camargo (2020). Nós consideramos cada haste de *S. alterniflora* e cada roseta de *C. americanum* como indivíduo, ou seja, cada emergência clonal acima do substrato (NUNES; CAMARGO, 2017).

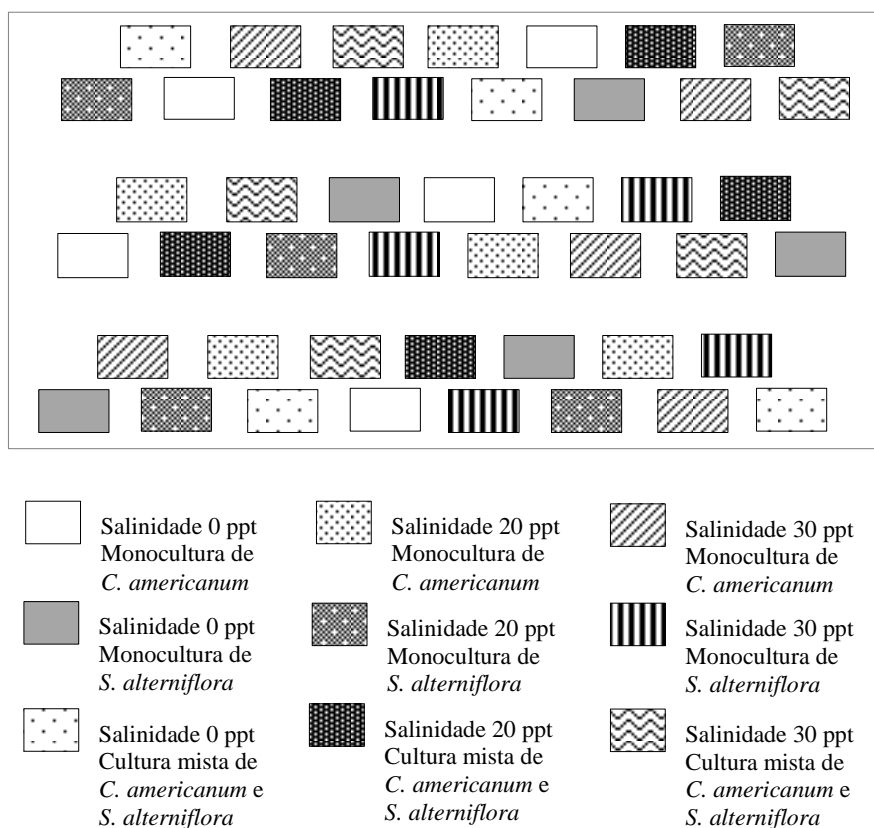


Figura 1. Esquema da disposição das unidades experimentais em casa de vegetação.

Coletamos indivíduos adultos de *S. alterniflora* e *C. americanum* de tamanho ($\geq 0,50$ m) e aparência semelhantes nos bancos mistos no médio estuário do rio Itanhaém que é área onde as duas espécies ocorrem juntas. As plantas foram lavadas para remover sedimentos e materiais aderidos às folhas, raízes e rizomas para serem posteriormente plantadas em substrato artificial nas unidades experimentais. Para cada unidade experimental (caixas plásticas), utilizamos como substrato 13 litros de vermiculita expandida de granulometria fina (grãos de 0,30 a 0,50 mm). A vermiculita expandida consiste em flocos sanfonados de minerais micáceos. Os flocos atuam como um substrato artificial quimicamente ativo, biologicamente inerte (UGARTE *et al.*, 2008), possuem uniformidade na composição química e grande capacidade de retenção de água e aeração (MARTINS *et al.*, 2009). Após o plantio as plantas foram mantidas em aclimatação por 109 dias com adição semanal de 700 mL de solução nutritiva de Hoagland modificada (HOAGLAND; ARNON, 1950; MENDELSSOHN *et al.*, 2001) em cada unidade experimental para garantir que os nutrientes não fossem limitados durante o experimento. A partir do dia 109 foram adicionados a cada 3 semanas 2 litros de solução salina e 700 mL de solução nutritiva nas unidades experimentais. Para as soluções salinas utilizamos sal marinho formulado (Aquaforest Sea Salt) que, além do cloreto de sódio, contém sulfatos, cálcio, potássio, magnésio e outros minerais encontrados na água do mar. As soluções salinas consistiram de 20 gL⁻¹ e 30 gL⁻¹ de sal nos tratamentos com salinidade de 20 e 30 ppt, respectivamente. As concentrações de sal foram baseadas no nível de salinidade do sedimento do médio e baixo estuário do rio Itanhaém. No tratamento de 0 ppt em substituição à solução salina foram adicionados 2 litros de água de torneira. A casa de vegetação é abastecida por água captada de poço artesiano, desta forma a água não contém cloro ou flúor. Além disso, acrescentamos água de torneira quando necessário para manter o nível de água das caixas. Monitoramos o nível de salinidade no sedimento a cada 3 semanas, colocando 3 g de uma amostra de substrato fresco em 100 mL de água destilada e medimos a salinidade (ppt) da solução usando um medidor digital de sal (Instrutemp Nutra-Wand Combo). Os valores médios e desvio padrão em cada tratamento ao longo do experimento foram de: 0 ppt (sem variação), 20 ppt (desvio padrão = 2,29) e 30 ppt (desvio padrão = 3,52). A salinidade se manteve significativamente diferente ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Crescimento e teor de NT na biomassa do vegetal

Para estimar o crescimento através do ganho de biomassa emergente (GBE) e

ganho de biomassa subterrâneo (GBS) das macrófitas, usamos o método não destrutivo e suas equações de regressão desenvolvidas por Nunes e Camargo (2017) e modificado por Nunes e Camargo (2020). Esses autores geraram as equações através de regressões lineares simples entre a altura do indivíduo e a massa seca da fração emergente (Equação 1 e 2) e entre o volume e a massa seca da fração subterrânea (Equação 3 e 4). Assim, seguindo este método, antes do plantio calculamos a biomassa acima e abaixo do solo de *S. alterniflora* e *C. americanum* de cada unidade experimental. Para estimar o crescimento da fração emergente durante o experimento realizamos medições da altura das plantas nos dias 1, 39, 68, 95, 109, 116, 123, 130, 136, 143, 150, 157, 164, 171, 178 e 185, que foi quando os indivíduos atingiram biomassa constante. Consideramos o GBE do dia 109 ao 185 e o GBB do dia 1 ao 185.

$$S. \textit{alterniflora} \text{ massa seca da fração emergente} = 10.64 * (\text{altura individual (m)} - 0.5451) \quad (1)$$

($R^2 = 0.8279$)

$$C: \textit{americanum} \text{ massa seca da fração emergente} = 16.03 * (\text{altura individual (m)} - 6.0077) \quad (2)$$

($R^2 = 0.7532$)

$$S. \textit{alterniflora} \text{ massa seca da fração subterrânea} = 0.0932 * (\text{volume subterrâneo (mL)} + 0.3244) \quad (3)$$

($R^2 = 0.7965$)

$$C. \textit{americanum} \text{ massa seca da fração subterrânea} = 0.0504 * (\text{volume subterrâneo (mL)} + 1.241) \quad (4)$$

($R^2 = 0.9315$)

Ao final do experimento, separamos a fração emergente (folhas e hastes) e a fração subterrânea (raízes e rizomas) dos indivíduos de *S. alterniflora* e *C. americanum* de cada unidade experimental e lavamos para retirada de qualquer material aderido. Após a lavagem, coletamos amostras com 10 gramas da fração emergente e subterrânea que foram envolvidas em papel alumínio e inseridas imediatamente em nitrogênio líquido no local de coleta. Posteriormente, estas amostras foram armazenadas em freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para as análises dos conteúdos de MDA e H_2O_2 em laboratório. As frações acima do solo e abaixo do solo restantes foram secas em estufa a 60°C e trituradas em moinho. A partir do material vegetal triturado, determinamos o teor NT (ALLEN *et al.*, 1974) das espécies.

Indicadores do estresse oxidativo

O conteúdo de H₂O₂ foi medido conforme o método de Alexieva *et al.* (2001). Utilizamos as amostras previamente congeladas da fração emergente e subterrânea (0,5g) das espécies para extração. A absorbância foi lida a 560 nm e os resultados foram expressos em µmol/g de matéria fresca.

A peroxidação lipídica foi determinada através da produção de metabólitos reativos ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), principalmente o MDA, segundo o método de Heath e Packer (1968). A extração seguiu o mesmo protocolo para H₂O₂. A concentração de equivalentes de MDA foi medida em espectrofotometria entre 535 e 600 nm; os dados foram calculados usando um coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e os resultados foram expressos em nmol/g de matéria fresca (GRATÃO *et al.*, 2012).

Análise estatística

Os níveis de salinidade (0, 20 e 30 ppt) e culturas (monocultura e cultura mista) foram utilizados como variáveis preditoras e as variáveis de GBE, GBS, teor de NT e indicadores do estresse oxidativo (H₂O₂ e MDA) como variáveis respostas. Primeiramente, submetemos os dados (GBE, GBS, NT, H₂O₂ e MDA) ao teste de Cramer-Von-Misses e Bartlett, para verificação da normalidade do resíduo e homocedasticidade da variância dos dados, respectivamente. Após o atendimento destas premissas, foi utilizada a análise de variância de dois fatores (two-way ANOVA) para diferenças significativas no crescimento, teor de nutrientes e estresse oxidativo das espécies nas diferentes culturas e salinidade. Quando esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0.05$) foi aplicado o teste de Tukey para comparação múltipla das médias com um intervalo de confiança de 95%. As análises estatísticas foram realizadas usando o software R, versão 3.4 (2017) e os gráficos foram elaborados utilizando o Microsoft Excel® (2010).

Resultados

Teor de NT na biomassa vegetal e crescimento

O teor de NT da fração emergente de *S. alterniflora* não foi significativamente diferente entre os níveis de salinidade e culturas. No entanto, na fração subterrânea, o teor de NT foi significativamente menor na menor salinidade (0 ppt) e na monocultura

em relação ao teor de NT em outras salinidades (20 e 30 ppt) e na cultura mista a 0 ppt (Tabela 1, Tabela S1).

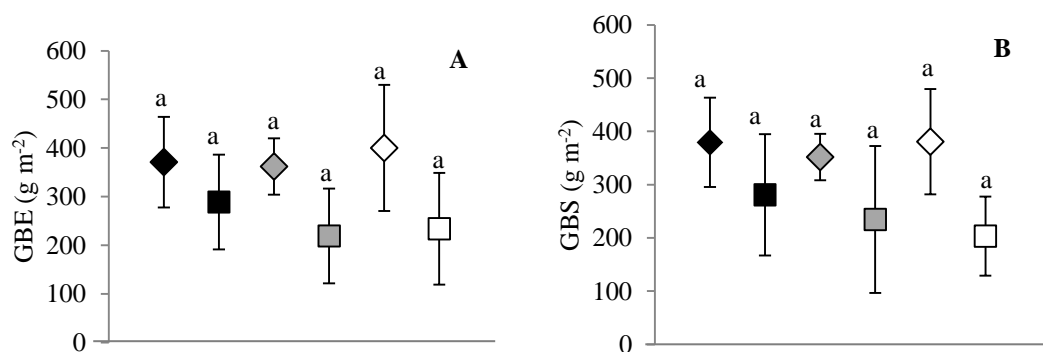
O teor de NT na fração emergente de *C. americanum* foi significativamente menor na monocultura a 0 ppt do que em monocultura com 20 e 30 ppt. No entanto, em todos os níveis de salinidade, o teor de NT na fração emergente de *C. americanum* foi significativamente menor em cultura mista do que na monocultura. O teor de NT na fração subterrânea de *C. americanum* foi significativamente menor na menor salinidade (0 ppt) e na cultura mista em relação ao teor de NT em outras salinidades (20 e 30 ppt) e na monocultura a 0 ppt (Tabela 1, Tabela S1).

Tabela 1. Valores médios (desvio padrão) do teor de nitrogênio total (NT) na fração emergente e subterrânea de *S. alterniflora* e *C. americanum* em monocultura e cultura mista nos diferentes níveis de salinidade.

NT (% massa seca)	Salinidade 0		Salinidade 20		Salinidade 30	
	Monocultura	Cultura mista	Monocultura	Cultura mista	Monocultura	Cultura mista
<i>S. alterniflora</i>						
Fração emergente	0,98 (0,10) a	1,04 (0,13) a	0,91 (0,3) a	0,88 (0,08) a	0,93 (0,18) a	1,08 (0,13) a
Fração subterrânea	0,54 (0,06) b	0,56 (0,07) ab	0,55 (0,21) ab	0,59 (0,03) ab	0,67 (0,06) ab	0,76 (0,09) a
<i>C. americanum</i>						
Fração emergente	1,29 (0,05) b	1,00 (0,07) d	1,45 (0,06) ab	1,16 (0,04) c	1,54 (0,03) a	1,2 (0,10) c
Fração subterrânea	0,78 (0,05) ab	0,7 (0,04) b	0,92 (0,09) a	0,75 (0,16) ab	0,91 (0,06) a	0,81 (0,1) ab

O crescimento de *S. alterniflora* observado através do GBE e GBS não foi significativamente diferente entre os níveis de salinidade e as culturas (Fig. 2 A e B, Tabela S2), indicando que a salinidade e a interação com *C. americanum* não afetaram o crescimento da espécie. O GBS de *C. americanum* também não foi significativamente diferente entre os níveis de salinidade e as culturas. No entanto, o GBE de *C. americanum* foi significativamente menor na maior salinidade (30 ppt) e na cultura mista em relação ao GBE em outras salinidades (0 e 20 ppt) e na monocultura a 30 ppt (Fig. 2 C e D, Tabela S2), indicando que a maior salinidade e a interação com *S. alterniflora* reduziu o crescimento da espécie.

Spartina alterniflora



Crinum americanum

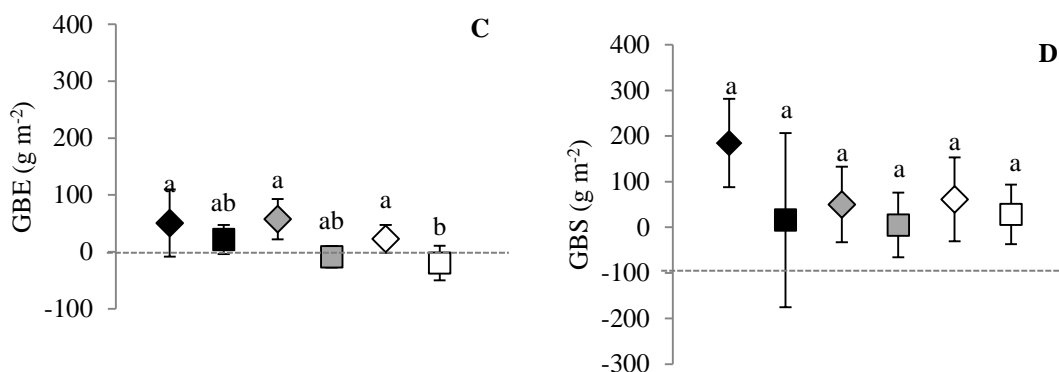
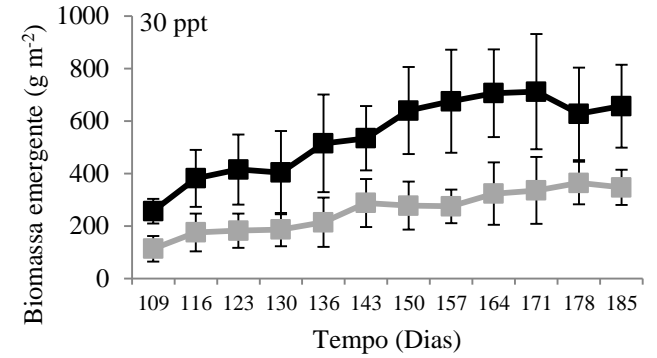
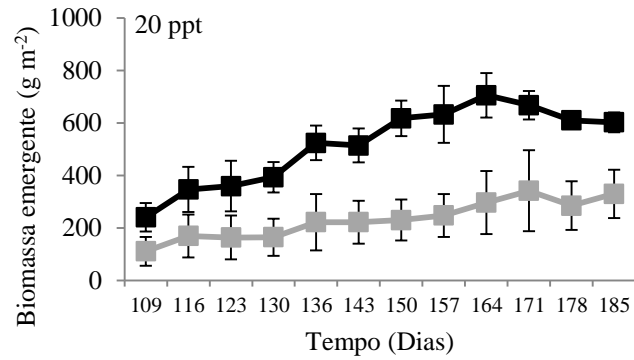
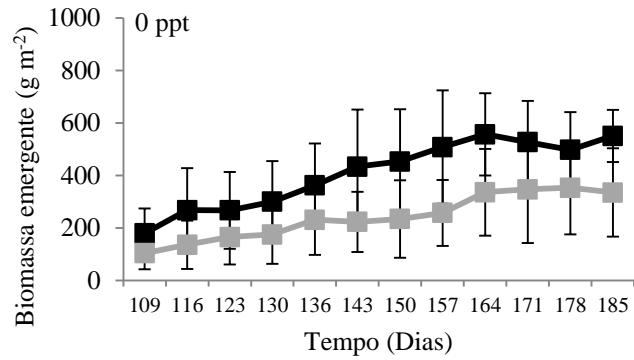


Figura 2. Valores médios e desvio padrão do ganho de biomassa emergente (GBE) e ganho de biomassa subterrâneo (GBS) de *S. alterniflora* (A e B) e *C. americanum* (C e D) em monocultura (losango) e cultura mista (quadrado) em salinidade de 0 (preto), 20 (cinza) e 30 ppt (branco). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

As curvas de crescimento da fração emergente de *S. alterniflora* e *C. americanum* mostraram que as espécies tiveram diferentes comportamentos de crescimento durante o experimento (Fig. 3). *S. alterniflora* apresentou maior crescimento nas três salinidades, principalmente em monocultura, enquanto que o crescimento de *C. americanum* se manteve constante nas diferentes culturas e salinidades (Fig. 3).

Spartina alterniflora



Crinum americanum

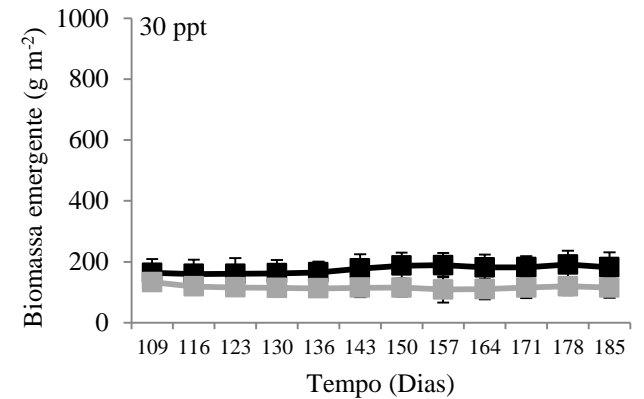
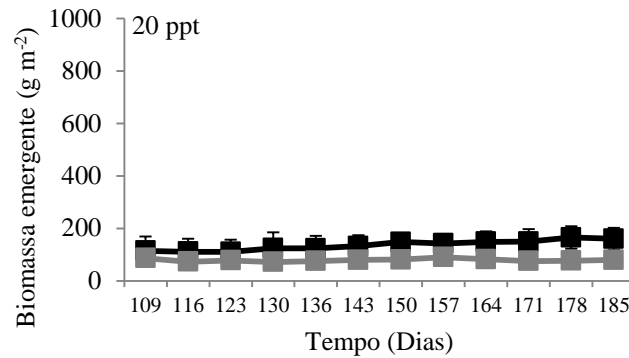
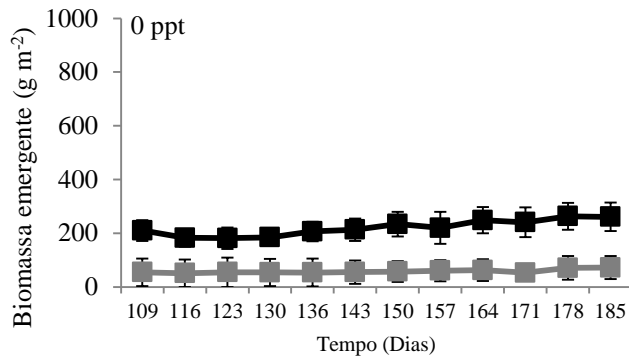


Figura 3. Valores médios e desvio padrão da biomassa emergente (g m^{-2}) de *S. alterniflora* e *C. americanum* ao longo do experimento em monocultura (linha preta) e cultura mista (linha cinza) nos diferentes níveis de salinidade.

Indicadores do estresse oxidativo

O conteúdo de H_2O_2 na fração emergente e subterrânea de *S. alterniflora* foi significativamente maior em menor salinidade (0 ppt) e na cultura mista em relação ao conteúdo de H_2O_2 em outras salinidades (20 e 30 ppt) e na monocultura a 0 ppt (Fig. 4 A e B, Tabela S3), indicando que a monocultura em ausência de salinidade foi mais estressante para *S. alterniflora*. O conteúdo de MDA na fração emergente não foi significativamente diferente entre os níveis de salinidade e as culturas (Fig. 4 C, Tabela S3). Na fração subterrânea de *S. alterniflora*, o conteúdo de MDA não foi significativamente diferente entre os níveis de salinidade. No entanto, em todos os níveis de salinidade, o conteúdo de MDA de *S. alterniflora* foi significativamente menor na cultura mista do que na monocultura (Fig. 4 D, Tabela S3), indicando que o estresse oxidativo desta espécie foi maior na monocultura independentemente da salinidade.

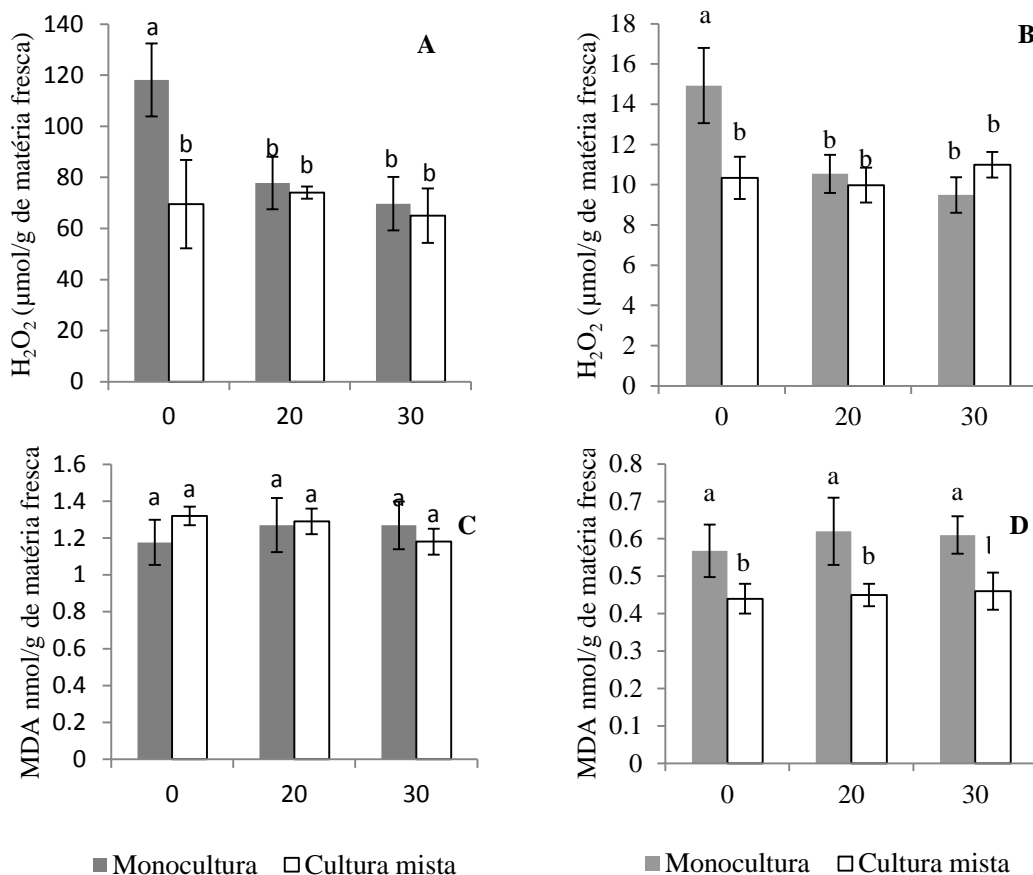


Figura 4. Valores médios e desvio padrão do conteúdo de H_2O_2 ($\mu\text{mol/g}$ de matéria fresca) na fração emergente (A) e subterrânea (B); conteúdo de MDA (nmol/g de matéria fresca) na fração emergente (C) e subterrânea (D) em monocultura e cultura mista de *S. alterniflora* nos diferentes níveis de salinidade. Letras diferentes indicam uma diferença significativa em $p < 0,05$.

Os conteúdos de H₂O₂ e MDA na fração emergente de *C. americanum* não foram significativamente diferentes entre os níveis de salinidades e as culturas (Fig. 5 A e C, Tabela S3). Os conteúdos de H₂O₂ e MDA na fração subterrânea de *C. americanum* foram significativamente maiores nas salinidades (20 e 30 ppt) na cultura mista em relação a menor salinidade (0 ppt) e na monocultura (20 ppt). No entanto, *C. americanum* em monocultura (fração subterrânea) também apresentou maiores conteúdos de H₂O₂ e MDA na salinidade de 30 ppt (Fig. 5 B e D, Tabela S3), indicando que a maior salinidade foi mais estressante para a espécie.

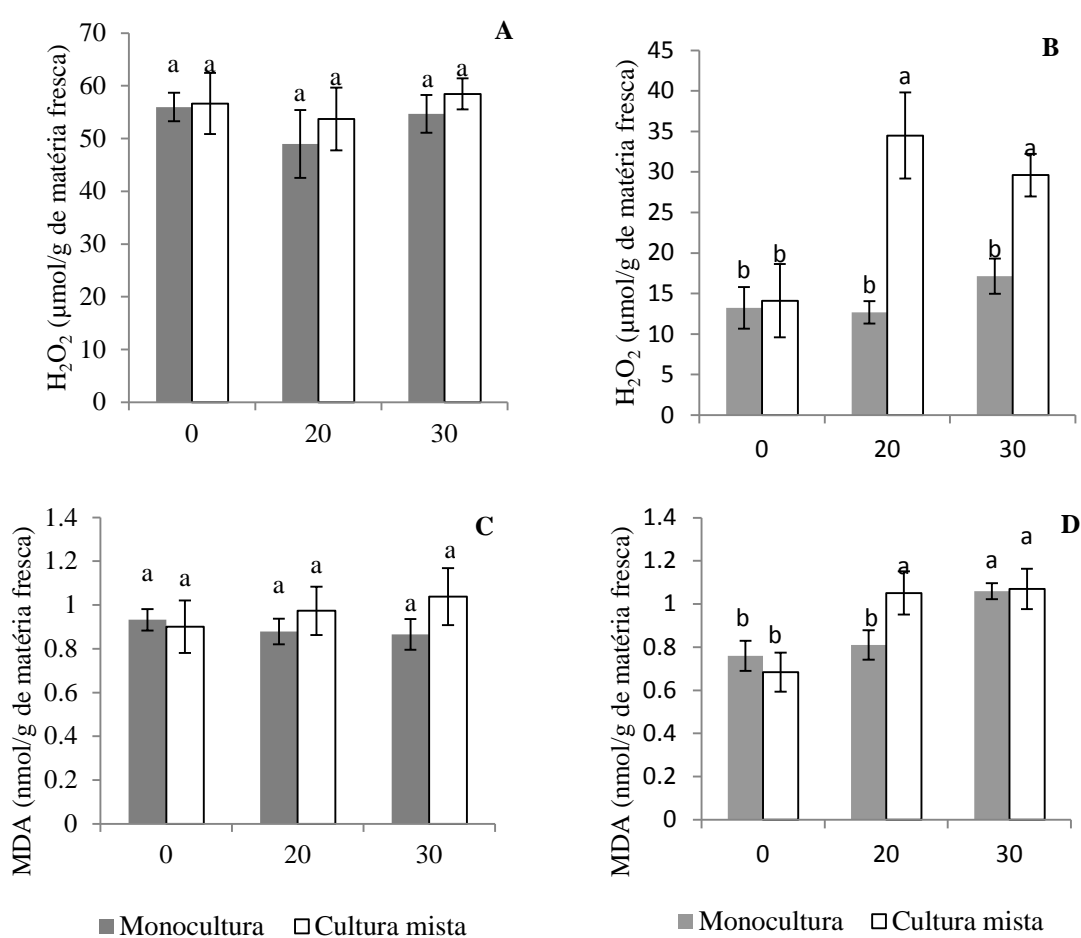


Figura 5. Valores médios e desvio padrão do conteúdo de H₂O₂ (µmol/g de matéria fresca) na fração emergente (A) e subterrânea (B); conteúdo de MDA (nmol/g de matéria fresca) na fração emergente (C) e subterrânea (D) em monocultura e cultura mista de *C. americanum* nos diferentes níveis de salinidade. Letras diferentes indicam uma diferença significativa em p < 0,05.

Discussão

Os resultados de nosso experimento mostraram que o teor de NT na biomassa de *S. alterniflora* foi reduzido em monocultura na ausência de salinidade (0 ppt), o que não corroborou nossa hipótese. No entanto, em *C. americanum* o teor de NT foi reduzido na biomassa dos indivíduos em cultura mista nas três salinidades, corroborando nossa hipótese para as salinidades de 20 e 30 ppt. O GBE e GBS de *S. alterniflora* não diferiram nos tratamentos, mostrando que a salinidade e a interação interespecífica não limitaram o crescimento da espécie. Este resultado não corrobora nossa hipótese de que *S. alterniflora* em monocultura apresentaria menor estresse oxidativo e maior crescimento na ausência de salinidade. O GBE de *C. americanum* foi reduzido apenas em cultura mista e na salinidade de 30 ppt, corroborando nossa hipótese de que *C. americanum* tem menor habilidade competitiva do que *S. alterniflora* em maior salinidade. As curvas de crescimento ao longo do experimento mostraram que *S. alterniflora* e *C. americanum* apresentaram diferentes comportamentos de crescimento. Segundo Nunes e Camargo (2018) estas diferenças ocorrem porque *S. alterniflora* apresenta maior aumento na biomassa devido ao elevado investimento na produção clonal, aumentando o número de indivíduos. Enquanto *C. americanum* apresenta crescimento moderado, pois prioriza o aumento da biomassa dos próprios indivíduos. Em relação ao estresse oxidativo, nossas hipóteses foram corroboradas, com exceção à *S. alterniflora* em monocultura na ausência de salinidade que apresentou maior estresse oxidativo neste tratamento.

Observamos que o menor teor de NT (fração subterrânea) em *S. alterniflora* na monocultura e na salinidade de 0 ppt não era esperado, já que os nutrientes neste tratamento não são limitados pela salinidade como ocorre no sedimento natural do alto estuário. Na verdade, Crain (2007) encontrou que a relação entre salinidade e porcentagem de N na biomassa vegetal é independente da disponibilidade de nutrientes no sedimento natural. Este autor observou que os indivíduos de *S. patens* Muhl. presentes em *salt marches* com menor salinidade apresentaram menor porcentagem de N nos tecidos quando comparado aos indivíduos presentes em pântanos de maior salinidade, onde a disponibilidade deste nutriente é limitada pela salinidade. Assim, a maior porcentagem de N em indivíduos presentes em pântanos de maior salinidade está relacionada com a alta demanda de planta por N para auxiliar na tolerância à salinidade. Desse modo, é possível que a ausência de salinidade em nosso tratamento tenha reduzido a necessidade de N por *S. alterniflora* (monocultura) e por isso o teor de NT na

biomassa subterrânea do vegetal foi menor, gerando uma condição mais estressante para a espécie, como indicado pelo maior teor de H_2O_2 na planta, neste tratamento.

O acúmulo de H_2O_2 relacionado a praticamente qualquer estresse ambiental pode ser potencialmente prejudicial ao desenvolvimento da planta (CHEESEMAN, 2007). Contudo, nossos resultados indicam que o teor de H_2O_2 não foi prejudicial a *S. alterniflora*, visto que o crescimento da monocultura em salinidade de 0 ppt não foi reduzido, indicando que o estresse não foi severo o suficiente para afetar o crescimento da espécie. Estes resultados ainda diferem dos obtidos por Guo e Pennings (2012), de que o crescimento *S. alterniflora* pode ser favorecido pela menor salinidade em ausência de competição. Em nosso experimento, as curvas de crescimentos das culturas de *S. alterniflora* foram semelhantes em todas as salinidades, indicando que o crescimento da espécie não é limitado pela salinidade.

O teor NT na fração subterrânea de *S. alterniflora* em cultura mista foi semelhante à monocultura em todas as salinidades (exceto na monocultura em salinidade de 0 ppt). Porém, foi apenas em cultura mista (três níveis de salinidades), que o conteúdo de MDA (fração subterrânea) foi menor. Segundo Hodge (2004), algumas espécies de plantas quando em interação interespecífica podem adotar estratégias que as permitam a rápida exploração de recursos abaixo do solo. Nos tratamentos mistos, observamos que *S. alterniflora* limitou N para *C. americanum* nos três níveis de salinidade, provavelmente devido a maior habilidade competitiva. No entanto, além do N, sugerimos que esta rápida exploração por recursos também tenha aumentado o conteúdo de outros nutrientes importantes para o metabolismo antioxidante da planta, reduzindo o conteúdo de MDA de *S. alterniflora* em cultura mista.

Nossos resultados para as culturas de *S. alterniflora* diferiram dos encontrados por outros autores. No estuário do rio Itanhaém, Nunes e Camargo (2018) encontraram que a ausência de *S. alterniflora* no alto estuário (menor salinidade) provavelmente se deve a maior porcentagem de areia e menor disponibilidade de nutrientes no sedimento. Estes autores relacionaram esta última variável, principalmente, com a baixa concentração de S no sedimento, visto que os compostos de S são reduzidos em sedimento do alto estuário devido à menor influência da maré (STRIBLING, 1997). Por outro lado, no estuário do rio Altamaha, Guo e Pennings (2012), observaram que as condições do sedimento natural de pântanos de menor salinidade favoreceu o crescimento de *S. alterniflora* quando em monocultura. Diferente do encontrado nos estuários, em nosso experimento, *S. alterniflora* e *C. americanum* foram cultivadas no

mesmo tipo de substrato artificial e concentração de nutrientes, eliminando diferenças nas características dos sedimentos naturais. Nossos resultados não mostraram limitação das culturas de *S. alterniflora* em ausência de salinidade como observado por Nunes e Camargo (2018), porém o crescimento da espécie em monocultura não foi estimulado como observado por Guo e Pennigs (2012). Sendo assim, é possível que as diferentes repostas encontradas para *S. alterniflora* nos estuários do rio Itanhaém e Altamaha se deve as características particulares do sedimento natural de cada estuário.

Com relação a *C. americanum*, os maiores teores de NT (fração emergente e subterrânea) nas culturas em 20 e 30 ppt não era esperado. Todavia, se considerarmos que as exigências fisiológicas da planta por N aumentam com a salinidade (CRAIN; 2007; NUNES; CAMARGO, 2020b), é provável que o maior teor de NT nas culturas de *C. americanum* nas salinidades de 20 e 30 ppt, seja em resposta à salinidade. De fato, para as plantas crescerem em solo salino é preciso que realizem constantes ajustes osmóticos com a finalidade de manter uma pressão de turgescência positiva. Com isso, as células devem conter uma concentração total de soluto maior do que a da solução externa (FLOWERS *et al.*, 2015). Nesse caso, os compostos nitrogenados são solutos importantes para adequar o balanço iônico nos vacúolos e promover os ajustes osmóticos durante o estresse salino (ESTEVES; SUZUKI, 2009). Além disso, o maior teor de N na planta sob estresse salino também pode estar relacionado com a maior atividade de enzimas antioxidantes (AHANGER *et al.*, 2019). Assim, é provável que em nosso experimento a monocultura de *C. americanum* tenha tolerado melhor a salinidade de 20 ppt, visto que os conteúdos de H₂O₂ e MDA (fração subterrânea) nesta salinidade foram semelhantes ao tratamento com 0 ppt de salinidade. Estes resultados apoiam o observado por alguns autores de que *C. americanum* é tolerante a salinidade intermediária (RIBEIRO *et al.*, 2009; NUNES; CAMARGO, 2018). Em compensação, na salinidade de 30 ppt, o maior conteúdo de MDA (fração subterrânea) em *C. americanum* (monocultura) indicou que o estresse oxidativo nesta salinidade foi maior, porém, pouco severo, considerando que o crescimento da espécie não foi reduzido.

Na cultura mista de *C. americanum*, o menor teor de NT na fração emergente confirma que *C. americanum* possui habilidade competitiva inferior a *S. alterniflora* em presença de salinidade. Além disso, diferente da monocultura, em cultura mista os maiores conteúdos de H₂O₂ e MDA (fração subterrânea) em *C. americanum* nas salinidades de 20 e 30 ppt indicam que, a competição reduziu a capacidade da espécie em acumular N e combater os efeitos da ERO. *C. americanum* e *S. alterniflora* formam

bancos mistos no médio estuário (salinidade intermediária). No entanto, estes bancos mistos são organizados com *C. americanum* ocorrendo na parte próxima à vegetação arbórea e *S. alterniflora* na parte mais próxima ao canal do rio (NUNES; CAMARGO, 2018). Esta organização tende a evitar a interação das espécies nos bancos, o que provavelmente não ocorreu em nosso experimento.

Na salinidade de 30 ppt (cultura mista) o GBE foi reduzido, provavelmente devido à competição com *S. alterniflora*, mas também aos efeitos do estresse oxidativo que foram mais severos nesta salinidade. De fato, Koyro *et al.* (2013) observaram uma estreita relação da salinidade com aumento de H₂O₂ reduzindo a biomassa emergente da planta. Dessa forma, é possível que, a capacidade de *C. americanum* (cultura mista) em combater o estresse salino tenha sido reduzida na salinidade de 30 ppt, afetando o crescimento da espécie. Nossos resultados corroboram os obtidos por Nunes e Camargo (2018). Segundo estes autores, *C. americanum* não ocorre no baixo estuário (maior salinidade) devido à competição com *S. alterniflora* que é mais adaptada e melhor competidora em maior salinidade.

Com base nos resultados do nosso experimento concluímos que a salinidade de 0 ppt foi mais estressante para *S. alterniflora* em monocultura. É possível que, o menor teor de NT (fração subterrânea) neste tratamento provavelmente foi devido à menor exigência fisiológica da planta por N em ausência de salinidade, mas também da competição. Durante a competição, a rápida exploração de N do sedimento por *S. alterniflora* provavelmente está relacionada com o maior teor NT e menor estresse oxidativo da espécie em cultura mista na salinidade de 0 ppt. Neste caso, como o crescimento de *S. alterniflora* não foi reduzido, indicado que o estresse não foi severo, é possível que a ausência da espécie no alto estuário esteja relacionada com as características do sedimento natural. Nas culturas de *C. americanum*, o maior teor de NT (fração emergente) nos tratamentos com 20 e 30 ppt de salinidade, possivelmente se deve ao acúmulo de N em resposta à salinidade. No entanto, o menor teor de NT de *C. americanum* na cultura mista indica que a espécie foi limitada por *S. alterniflora*. Embora a biomassa de *C. americanum* em monocultura não tenha sido reduzida, indicando que a espécie tolerou a salinidade de 20 e 30 ppt. Quando em cultura mista, *C. americanum* foi menos tolerante a salinidade e apresentou maior estresse oxidativo. No entanto, foi em salinidade de 30 ppt que a GBE de *C. americanum* (cultura mista) diminuiu, provavelmente devido à competição por N, reduzindo a capacidade da espécie em combater os efeitos da ERO nesta salinidade. Esta resposta confirmou que *C.*

americanum possui habilidade competitiva inferior a *S. alterniflora* em maior salinidade e, provavelmente são estes os fatores responsáveis pela ausência da espécie no baixo estuário.

Agradecimentos

Agradecemos a Carlos Fernando Sanches, Sonia Maria R. Carregari e Laís Samira Correia Nunes por toda a ajuda no desenvolvimento do experimento; Baltasar Fernandes Garcia Neto por toda assistência com a análise estatística.

Apoio financeiro

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

Referências

ALEXIEVA, V. *et al.* The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat Plant Cell. Environ 24: 1337-134, 2001.

AHANGER, M. A. *et al.* Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. Physiology and Molecular Biology of Plants 1-14, 2017.

AHANGER, M. A. *et al.* Nitrogen availability prevents oxidative effects of salinity on wheat growth and photosynthesis by up-regulating the antioxidants and osmolytes metabolism, and secondary metabolite accumulation. BMC plant biology, 19(1), 1-12, 2019.

ALLEN, S. E. *et al.* Chemical Analysis of Ecological Materials. Blackwell, Oxford. 565p, 1974.

ASADA, K. Radical Production and Scavenging in the Chloroplasts. In: Baker N.R. (eds) Photosynthesis and the Environment. Advances in Photosynthesis and Respiration. Dordrecht, Springer. p 123-150, 1996.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense [Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo]. Quimica Nova 29: 113–123, 2006.

BROWN, C. E.; PEZESHKI, S. R.; DELAUNE, R. D. The effects of salinity and soil drying on nutrient uptake and growth of *Spartina alterniflora* in a simulated tidal system. Environmental and Experimental Botany 58: 140–148, 2006.

- CARVALHO, R. F.; QUECINI, V.; PERES, L. E. P. Hormonal modulation of photomorphogenesis-controlled anthocyanin accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv Micro-Tom) hypocotyls: Physiological and genetic studies. *Plant Science* 178: 258–264, 2010.
- CAVALIERI, A. J.; HUANG, A. H. Accumulation of proline and glycinebetaine in *Spartina alterniflora* Loisel. in response to NaCl and nitrogen in the marsh. *Oecologia* 49: 224–228, 1981.
- CÉCCOLI, G. *et al.* Salt glands in the Poaceae family and their relationship to salinity tolerance. *The Botanical Review* 81: 162–178, 2015.
- ČERNÝ, M. *et al.* Hydrogen peroxide: Its role in plant biology and crosstalk with signalling networks. *International Journal of Molecular Sciences* 19: 1–30, 2018.
- CHAMBERS, R. M.; MOZDZER, T. J.; AMBROSE, J. C. Effects of salinity and sulfide on the distribution of *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora* in a tidal saltmarsh. *Aquatic Botany* 62: 161–169, 1988.
- CHEESEMAN, J. M. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship. *Plant stress*, 1(1), 4–15, 2007.
- CHEN, X. *et al.* Influence of salt stress on propagation, growth and nutrient uptake of typical aquatic plant species. *Nordic Journal of Botany*, 37(12), 2019.
- COURTNEY, A. J.; XU, J.; XU, Y. Responses of growth, antioxidants and gene expression in smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) to various levels of salinity. *Plant Physiology and Biochemistry* 99: 162–170, 2016.
- CRAIN, C. M. *et al.* Physical and biotic drivers of plant distribution across estuarine salinity gradients. *Ecology* 85: 2539–2549, 2004.
- CRAIN, C. M. Shifting nutrient limitation and eutrophication effects in marsh vegetation across estuarine salinity gradients. *Estuaries and Coasts* 30: 26–34, 2007.
- ENGELS, J. G.; JENSEN, K. Role of biotic interactions and physical factors in determining the distribution of marsh species along an estuarine salinity gradient. *Oikos* 119: 679–685, 2010.
- ESTEVEZ, B.; SUZUKI, M. S. Efeito Da Salinidade Sobre As Plantas. *Oecologia Australis* 12: 662–679, 2009.
- FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in 334 halophytes. *Annals of Botany* 115: 419–431, 2015.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17: 1866–1875, 2005.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant physiology*, 155, 2–18. 2011.

- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox Signaling in Plants. *Antioxidants & Redox Signaling* 18: 2087–2090, 2013.
- FOYER, C. H.; RUBAN, A. V.; NOCTOR, G. Viewing oxidative stress through the lens of oxidative signalling rather than damage. *Biochemical Journal* 474: 877–883, 2017.
- GARG, N.; MANCHANDA, G. ROS generation in plants: Boon or bane?. *Plant Biosystems* 143: 81–96, 2009.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909–930, 2010.
- GRATÃO, P. L. *et al.* Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32: 481–494, 2005.
- GRATÃO, P. L. *et al.* Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. *Annals of Applied Biology* 153: 321–333, 2008.
- GRATÃO, P. L. *et al.* Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 56: 79–96, 2012.
- GUO, H.; PENNING, S. C. Mechanisms mediating plant distributions across estuarine landscapes in a low-latitude tidal estuary. *Ecology* 93:90–100, 2012.
- HAFSI, C. *et al.* Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. *Environ Exp Bot* 69: 129–136, 2010.
- HALLIWEL, B.; GUTTERIDGE, J. M. No Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA, 2015.
- HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation *Arch. Biochem. Biophys* 125: 2141–2145, 1968.
- HIPPLER, F. W. R. *et al.* Towards soil management with Zn and Mn: Estimates of fertilisation efficacy of Citrus trees. *Annals of Applied Biology* 166: 484–495, 2015.
- HOAGLAND, D. C.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plant without soil. California Agricultural Experiment. Circular 337. The College of Agriculture University of California. Berkeley, 1950.
- HODGE, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New phytologist* 162: 9–24, 2004.
- HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J Plant Nutr Soil Sci* 168, 541–549, 2005.
- HUCKLE, J. M.; POTTER, J A.; MARRS, R. H. Influence of environmental factors on the growth and interactions between salt marsh plants: effects of salinity, sediment and waterlogging. *J Ecol* 88: 492–505, 2000.

HUSSAIN, T. *et al.* Eco-physiological adaptations of *Panicum antidotale* to hyperosmotic salinity: Water and ion relations and anti-oxidant feedback. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* Elsevier GmbH 212: 30–37, 2015.

KACHOUT, S. *et al.* Efeito da salinidade no crescimento da halófito *Atriplex hortensis* (Chenopodiaceae). *Ecologia Aplicada e Pesquisa Ambiental* 7: 319-332, 2009.

KOYRO, H. W. *et al.* Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass *Panicum turgidum* to increasing NaCl concentrations. *Environmental and Experimental Botany* 91: 22–29, 2013.

LIU, S. L. *et al.* Effects of exogenous NO on the growth, mineral nutrient content, antioxidant system, and ATPase activities of *Trifolium repens* L. plants under cadmium stress. *Acta Physiol Plant* 37:1721, 2015.

MARTINS, C. C. *et al.* Umedecimento do substrato na emergência e vigor de plântulas de pupunheira. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal* 31: 224 - 230, 2009.

MENDELSSOHN, I. A.; MCKEE, K. L.; KONG, T. A comparison of physiological indicators of sublethal cadmium stress in wetland plants. *Environmental and Experimental Botany*, 46: 263-275, 2001.

NUNES, L. S. C.; CAMARGO, A. F. M. A simple non-destructive method for estimating aboveground biomass of emergent aquatic macrophytes. *Acta Limnol Bras* 29:1–6, 2017.

NUNES, L. S. C.; CAMARGO, A. F. M. Do interspecific competition and salinity explain plant zonation in a tropical estuary? *Hydrobiologia* 812: 67–77, 2018.

NUNES, L. S. C.; CAMARGO, A. F. M. The interspecific competition of tropical estuarine macrophytes is not density-dependent. *Aquatic Botany*, v. 164: 103233, 2020a.

NUNES, L. S. C.; CAMARGO, A. F. M. Effects of salinity on growth, competitive interaction and total nitrogen content of two estuarine macrophyte species cultivated on artificial substrate. *Aquatic Ecology*, 54: 973-983, 2020b.

PARIHAR, P. *et al.* Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review 22: 4056-4075, 2015.

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

PETERS, L. P. *et al.* Differential responses of the antioxidant system of ametryn and clomazone tolerant bacteria. *Plos ONE* 9: e112271, 2014.

RABÊLO, F. H. S.; AZEVEDO, R. A.; MONTEIRO, F. A. Proper supply of S increases GSH synthesis in the establishment and reduces tiller mortality during the regrowth of Tanzania guinea grass used for Cd phytoextraction. *Journal of soils and sediments*, 17(5), 1427-1436, 2017.

RIBEIRO, J. P. N. *et al.* Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum*

americanum L. Revista Brasileira de Botânica 32: 183–188, 2009.

RIBEIRO, J. P. N. *et al.* Spatial distribution of *Crinum americanum* L. in tropical blind estuary: Hydrologic, edaphic and biotic drivers. Environmental and Experimental Botany Elsevier B.V. 71: 287–291, 2011.

ROYCHOUDHURY, A.; BASU S.; SENGUPTA, D. N. Antioxidants and stress-related metabolites in the seedlings of two indica rice varieties exposed to cadmium chloride toxicity. Acta Physiologiae Plantarum 34: 835–847, 2012.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. *et al.* Variability of mangrove ecosystems along the Brazilian coast. Estuaries 13: 204–218, 1990.

STRIBLING, J. M. The relative importance of sulfate availability in the growth of *Spartina alterniflora* and *Spartina cynosuroides*. Aquatic Botany, v. 56, p. 131-143, 1997.

TEWARI, R. K.; KUMAR, P.; SHARMA, P. N. Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Young Leaves of Mulberry Plants Grown Under Nitrogen, Phosphorus or Potassium Deficiency. Journal of Integrative Plant Biology 49: 313-322, 2007.

UDDIN, M. D.; JURAIMI, A. S. Salinity tolerance turfgrass: history and prospects. The Scientific World Journal 2013: 1-6, 2013.

UGARTE, J. F. O.; SAMPAIO, J. A.; FRANÇA, S. C. A. Vermiculita. In: LUZ, A. B.; LINS, F. A. F (eds) Rochas & minerais industriais: usos e especificações, 2nd edn. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, pp 865–888, 2008.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer 6: 1–23, 2010.

Material Suplementar

Tabela S1. Resultado da ANOVA fatorial no teor de NT na fração emergente e subterrânea de *S. alterniflora* e *C. americanum* nos tratamentos.

TN*	dF	F	P
<i>Spartina alterniflora</i>			
Fração emergente			
Cultura	1	1.165	0.291
Salinidade	2	1.232	0.309
Cultura*Salinidade	2	0.406	0.671
Fração subterrânea			
Cultura	1	3.068	0.093
Salinidade	2	5.492	<0.05
Cultura*Salinidade	2	0.083	0.921
<i>Crinum americanum</i>			
Fração emergente			
Cultura	1	0.050	0.024
Salinidade	2	1.090	0.012
Cultura*Salinidade	2	0.895	0.037
Fração subterrânea			
Cultura	1	0.010	0.902
Salinidade	2	0.101	0.904
Cultura*Salinidade	2	0.410	0.668

*NT – Nitrogênio Total

Tabela S2. Resultados da ANOVA fatorial aplicada ao GBE e GBS das culturas de *S. alterniflora* e *C. americanum* salinidade 0, 20 e 30 ppt.

Variáveis*	dF	F	P
<i>Spartina alterniflora</i>			
GBE			
Cultura	1	10.379	0.258
Salinidade	2	0.468	0.365
Cultura*Salinidade	2	0.672	0.549
GBS			
Cultura	1	9.226	<0.01
Salinidade	2	0.238	0.082
Cultura*Salinidade	2	0.352	0.491
<i>Crinum americanum</i>			
GBE			
Cultura	1	14.543	<0.01
Salinidade	2	2.246	0.067
Cultura*Salinidade	2	0.515	0.202
GBS			
Cultura	1	1.724	0.451
Salinidade	2	1.498	0.424
Cultura*Salinidade	2	24.941	0.179

*GBE – ganho de biomassa emergente; GBS – ganho de biomassa subterrânea.

Tabela S3. Resultados da ANOVA fatorial aplicada aos indicadores de estresse na fração emergente e subterrânea das culturas de *S. alterniflora* e *C. americanum* presente em salinidade 0, 20 e 30 ppt

Variáveis*	dF	F	P
<i>S. alterniflora</i>			
Fração emergente			
MDA			
Cultura	1	0.012	0.915
Salinidade	2	1.073	0.358
Cultura*Salinidade	2	1.023	0.375
H₂O₂			
Cultura	1	41.666	<0.01
Salinidade	2	10.098	<0.01
Cultura*Salinidade	2	5.075	0.015*
Fração subterrânea			
MDA			
Cultura	1	3.131	0.031
Salinidade	2	1.472	0.251
Cultura*Salinidade	2	1.204	0.318
H₂O₂			
Cultura	1	1.338	0.061
Salinidade	2	26.058	<0.01
Cultura*Salinidade	2	3.45	0.051

*MDA – malondialdeído; H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio.

CAPÍTULO II*

Evaluation of growth and oxidative stress as indicative of salinity tolerance by the invasive tropical aquatic macrophyte tanner grass

Avaliação do crescimento e estresse oxidativo como indicativos de tolerância à salinidade pela macrófita aquática tropical invasora

Abstract: In an estuary of a neotropical region located in Brazil, *Urochloa arrecta* occurs only in the area of freshwater. Nonetheless, information about the capacity of this population to invade areas considered inhospitable, i.e., saltwater, is scarce. In this sense, the aim of this study was to evaluate the effect of intermediate (20 ppt) and high (30 ppt) salinity on individuals from a population of *U. arrecta* located in the freshwater region of an estuarine ecosystem. Analyses of plant biomass, nitrogen, phosphorus, malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide content were evaluated as possible indicators of tolerance to salt stress. Our results showed that salinity reduced growth and increased oxidative stress. However, under conditions of intermediate salinity, *U. arrecta* individuals showed a biomass gain greater than 60%, MDA content similar to that in freshwater, and higher nitrogen absorption and assimilation. We conclude that *U. arrecta* probably presents physiological adjustments that allow its survival at intermediate salinity. Thus, the ability of this species to expand in this area alerts to the importance of studies that seek to adopt policies for the control or management of the species in saline ecosystems.

Keywords: *Urochloa arrecta*, invasive species, aquatic macrophyte, oxidative stress, saline stress.

Resumo: Em um estuário de uma região neotropical localizada no Brasil, *Urochloa arrecta* ocorre apenas na área de água doce. No entanto, informações sobre a capacidade dessa população de invadir áreas consideradas inóspitas, ou seja, de água salgada, são escassas. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da salinidade intermediária (20 ppt) e alta (30 ppt) em indivíduos de uma população de *U. arrecta* localizada na região de água doce de um estuário. Análises de biomassa vegetal,

nitrogênio, fósforo, malondialdeído (MDA) e teor de peróxido de hidrogênio foram avaliados como possíveis indicadores de tolerância ao estresse salino. Nossos resultados mostraram que a salinidade reduziu o crescimento e aumentou o estresse oxidativo. No entanto, em condições de salinidade intermediária, os indivíduos de *U. arrecta* apresentaram ganho de biomassa superior a 60%, teor de MDA semelhante ao da água doce e maior absorção e assimilação de nitrogênio. Concluímos que *U. arrecta* provavelmente apresenta ajustes fisiológicos que permitem sua sobrevivência em salinidade intermediária. Assim, a capacidade de expansão desta espécie nesta área é um alerta para a importância de estudos que busquem adotar políticas para o controle ou manejo da espécie em ecossistemas salinos.

Palavras-chave: *Urochloa arrecta*, exótica invasora, macrófita aquática, estresse oxidativo, estresse salino.

Introduction

Invasive species of aquatic macrophytes often promote the homogenization of habitats, reduction the diversity species and life forms (submerged, free floating, emergent) of aquatic macrophytes (Amorim et al., 2015; Thomaz et al., 2015). These invaders may also negatively affect other aquatic communities, reducing the richness of fish species (Carniatto et al., 2013), modifying the composition of the associated fauna (Houston & Duivenvoorden, 2002; Midgley et al., 2006; Mormul et al., 2010; Coetzee, 2014) and decreasing the abundance of phytoplankton (Villamagna & Murphy, 2010).

In estuaries, the introduction of exotic species is of major concern, since these ecosystems have high biodiversity and are important nursery grounds for several species (Odum, 1988; Levin et al., 2001). The great diversity and richness of species in these ecosystems derive from the longitudinal gradients of salinity, flooding and nutrient concentration due to the influence of seawater (Ribeiro et al., 2011; Nunes et al., 2019). These longitudinal gradients are decisive in the distribution of aquatic macrophyte species. In tropical estuaries, there is a marked longitudinal salinity gradient, with low salinity in the upper estuary (predominance of fresh water), intermediate salinity in the middle estuary, and high salinity in the lower estuary (predominance of salt water) (Nunes & Camargo, 2018). Thus, salinity is an important variable to determine the distribution of aquatic macrophytes and the colonization by invasive macrophytes (Nunes & Camargo, 2018). For instance, conditions of high salinity may prevent the expansion of freshwater macrophytes (Thouvenot & Thiébaud, 2018), while selecting individuals and increasing the possibility of invasion by species adapted to saline environments (Xue et al., 2018). Furthermore, the increase in salinity in response to sea level rise due to climatic changes can affect coastal plant communities to a greater or lesser extent, depending on location, conditions and plant tolerances (Short et al., 2016), which increases the importance of studies on estuarine regions. Salinity is the main abiotic factor that limits the development and primary production of plants (Houle et al., 2001; Esteves & Suzuki, 2009), since it may cause ionic disequilibrium and oxidative stress (Esteves & Suzuki, 2009). However, some species have the ability to adapt and/or tolerate salinity, as a result of different types of adjustments, such as osmotic (Flowers & Colmer, 2008), morphological (Esteves & Suzuki, 2009), physiological (Larcher, 2000) and biochemical (Gratão et al., 2005).

Oxidative stress is an important indicator of salt stress, since the plant under the

effect of salt may increase the production of reactive oxygen species (ROS) and suffer cell damage (Koyro et al., 2013; Gil et al., 2020). Among the ROS, hydrogen peroxide (H_2O_2) is one of the main cellular metabolites that, when at low concentrations, acts as an important signaling factor in the cell defense metabolism (Gill & Tuteja, 2010; Hussain et al., 2015; Foyer et al., 2017). On the other hand, H_2O_2 at high concentrations and in the presence of transition metals may generate the hydroxyl radical ($OH\bullet$) that is capable of transposing and disintegrating cell membranes (Barreiros et al., 2006), forming small fragments of hydrocarbons, such as ketones, malondialdehydes (MDA), among other products related to lipid peroxidation (Garg & Manchanda, 2009; Halliwell & Gutteridge, 2015). In order to deal with the effects of ROS, an enzymatic complex (Foyer & Noctor, 2005; Gratão et al., 2012) and a non-enzymatic antioxidant mechanism (Carvalho et al., 2010; Foyer & Noctor, 2013) act in cell detoxification, preventing severe cell damage (Gratão et al., 2005; Hafsi et al., 2010), allowing the plant to grow in places with greater salinity.

Urochloa arrecta (Hack. Ex. Durand & Schinz) Morrone & Zuloaga is an invasive plant species originally from Africa, which occurs in all regions of Brazil (Flora of Brazil, 2020) and has been observed in different aquatic ecosystems, such as in the wetlands of the State of Mato Grosso (Pott et al., 2011), reservoirs (Michelan et al., 2010b; Rodrigues et al., 2017), coastal rivers and lakes (Amorim et al., 2015; Ferreira et al., 2017). Although this species has a preference for freshwater environments, *U. arrecta* forms dense and extensive stands in estuaries in the south and southeast of Brazil (Reinert et al., 2007). *U. arrecta*, like other Poaceae species, has salt glands (Bora et al, 2020), which explains its occurrence in estuarine areas.

Despite its importance, only two studies have evaluated the distribution of *U. arrecta* in estuaries and obtained salinity data at their place of occurrence. Nunes et al., (2019) observed this species in the upper estuary, in places of freshwater, while Bora et al., (2020) observed stands of this species in a middle estuary with salinity of approximately 3 ppt. These latter authors observed that this species grows at intermediate levels of salinity and develops roots and shoots also at 4.0 ppt of salinity, in which mangrove vegetation occurs. This demonstrates that populations of *U. arrecta* exposed to salinity are more resistant to high salinity. In the southeastern and southern estuaries of Brazil, the native aquatic macrophytes *Spartina alterniflora* Loisel (Poaceae) and *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae) are the main species that occur along a longitudinal salinity gradient (lower to upper estuary). In general, *S. alterniflora*

occurs in the lower estuary (salinity from 20 to 30 ppt), *C. americanum* occurs in the upper estuary (salinity from 0 to 5 ppt) and both species form mixed stands in the middle estuary (salinity from 5 to 20 ppt). Our question is: Can *U. arrecta* expand to the middle and lower estuary areas, occupying the space of the native species and affecting areas critical for conservation?

Understanding the distribution and potential expansion of an invasive species depends on the adaptation and response mechanisms to a stressful condition. Since the increase in oxidative stress and the reduction in growth are effects that the plant may present in the presence of salt stress, we made an experiment with the aim of evaluating the effect of the salinity in low estuary areas (20 and 30 ppt) on biomass gain and on the H₂O₂ and MDA contents of *U. arrecta*. Our hypotheses regarding the responses of *U. arrecta* at the three levels of salinity tested are that: (i) at the salinity of 0 ppt *U. arrecta* will present greater biomass gain and less production of H₂O₂ and MDA; (ii) at 20 ppt *U. arrecta* will present reduced biomass gain and H₂O₂ production, and intermediate MDA; (iii) at 30 ppt *U. arrecta* will not grow and will have a large production of H₂O₂ and MDA.

Methods

Species and sampling area

The species *U. arrecta* is an emergent aquatic macrophyte belonging to the Poaceae family. This species is originally from Africa and has been previously described as *U. subquadripara* (Thomaz et al., 2009; Michelan et al., 2010b; Alves et al., 2017). It is invasive and common in several areas of humid ecosystems (Pott et al., 2011; Amorim et al., 2015). *U. arrecta* has roots fixed on the margins and floating stems (nodes + internodes + leaves = stems) that extend to limnetic regions (Michelan et al., 2017). It is a perennial and stoloniferous aquatic macrophyte, with insignificant seminiferous propagation, and fast growing from fragments (Michelan et al., 2010a). On the Itanhaém River, which is located on the South coast of the State of São Paulo (Brazil) (23° 50' and 24° 15'S; 46° 35' and 47° 00'W), the stands of *U. arrecta* are distributed in the upper and middle area of the estuary (Umetsu et al., 2018).

Experiment

From September to December 2019 we conducted an experiment at the Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences, UNESP – São Paulo State University,

Jaboticabal, SP, Brazil (21° 14' 05" S, 48° 17' 09" W, and 615.01 meters of altitude). The climate classification is Aw (tropical) according to Köppen and Geiger. The minimum and maximum temperatures in the period of the experiment were respectively 19.5°C and 32.6°C. The intensity of light (hours) and global solar radiation (Wh/m²) was respectively 220.6 and 20.6 (FCAV/UNESP Agroclimatological Station – Jaboticabal Campus, Brazil).

We performed a completely randomized single-factor experiment (1 species x 3 salinities x 5 repetitions = 15 experimental units) to assess *U. arrecta* growth and oxidative stress at different levels of salinity (0, 20 and 30 ppt). The experiment lasted 121 days and was conducted in a greenhouse (Fig. 1). The initial density was 8 macrophytes per experimental unit, based on Nunes & Camargo (2018, 2020). We considered each *U. arrecta* stem as an individual, that is, each clonal emergence above the substrate.

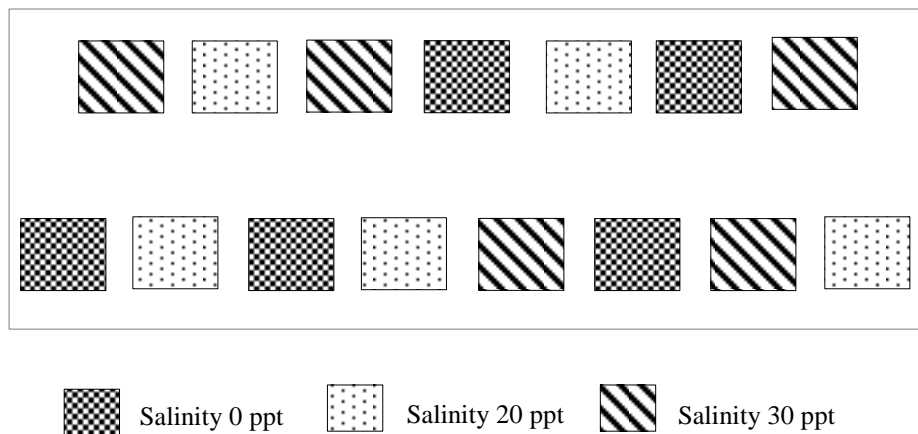


Fig. 1 Representative scheme of the experimental units distribution in a greenhouse

The *U. arrecta* individuals used in this experiment were composed of stem fragments with three nodes (approximately 15 cm) that were taken from a population of a monospecific stand of *U. arrecta* in the upper estuary of the Itanhaém River. The individuals were washed to remove materials adhered to the fragments and planted (approximately 3 cm deep inside the substrate) in the experimental units. As the substrate for the development of the aquatic macrophyte, we used a volume of 13 L of fine-grained washed sand (grains from 0.05 to 0.42 mm) in plastic boxes with a volume of 26 L and an area of 0.13 m². After planting, the aquatic macrophytes were kept in

acclimatization for 31 days with addition of 700 mL of modified Hoagland nutrient solution (Hoagland & Arnon, 1950; Mendelsohn et al., 2001) in each experimental unit every 15 days. From the 31st day, 2 liters of saline solution and 700 mL of the same nutrient solution were added to the experimental units. The saline solutions consisted in 20 g.L⁻¹ and 30 g.L⁻¹, respectively, in the treatments with salinity of 20 and 30 ppt. The salt concentrations we used were based on the salinity of the sediments of the middle and lower estuary of the Itanhaém River, places where the native species *S. alterniflora* and *C. americanum* occur. For the saline solutions we used formulated sea salt (Aquaforest Sea Salt) which, in addition to sodium chloride, contains sulfates, calcium, potassium, magnesium and other minerals found in seawater (Nunes & Camargo, 2020). In the treatment of 0 ppt, in substitution to the saline solution, 2 liters of tap water were added. In addition, we added tap water whenever necessary to maintain the water level of the boxes. We controlled the salinity level in the sediment every 15 days by placing 15 g of fresh substrate in 500 mL of distilled water, and measuring the salinity (ppt) of the solution using the Horiba equipment, model U-50. The salinity mean values and standard deviation (SD) in each treatment throughout the experiment were: 0 ppt (without variation), 19.6 ppt (SD = 2.81) and 29.8 ppt (SD = 3.78). The salinity remained significantly different ($p < 0.05$) among all treatments throughout the experiment.

Biomass and nutrient concentration

At the beginning of the experiment and at intervals of 15 days, we performed measurements of the length (meter) of the emergent fraction of each individual to estimate the aboveground biomass (AB) during the experiment and obtain the growth curves of the emergent fraction of *U. arrecta*. To obtain AB values, we used the non-destructive method proposed by Nunes & Camargo (2017). We estimated the aboveground fraction dry weight by a simple linear regression equation between height and dry mass (Eq. 1). The models we found were:

$$\text{Equation 1} \quad AB = (2.286 * h) - 0.4773 \quad (R^2 = 0.7974)$$

Where *AB* is the aboveground biomass and *h* is the height of each individual in meters. The numbers in the equation correspond to the slope of the line and the Y-intercept. We calculated the gain of aboveground biomass - GAB (biomass of day 121 minus biomass

of day 1) in each experimental unit and applied an analysis of variance (ANOVA) to verify the occurrence of significant differences among the treatments. We considered the initial biomass of the belowground fraction equal to zero. Thus, the gain of belowground biomass (GBB) was calculated from the dry mass obtained at the end of the experiment. At the end of the experiment, we separated the aboveground fraction (stems) and the belowground fraction (roots) of *U. arrecta* individuals from each experimental unit and washed them to remove any adhered material. After washing, we collected approximately 10 grams of leaves (green and healthy) and roots (healthy) that were then wrapped in aluminum foil and immediately inserted in liquid nitrogen at the collection site. Subsequently, these samples were stored in a freezer at -80 °C for subsequent analysis of the content of MDA and H₂O₂ in the laboratory. The remaining aboveground and belowground fractions were dried in an oven at 60° C and ground in a mill. From the powdered plant material, we determined the total nitrogen (TN) content by the Kjeldahl method and total phosphorus (TP) (Allen et al., 1974) in aboveground and belowground fractions in the laboratory.

Oxidative stress indicators

The content of hydrogen peroxide (H₂O₂) was measured according to the method of Alexieva et al., (2001). We used the leaves (0.8 g) and roots (1 g) stored at -80 °C for the extraction. The absorbance was read at 560 nm and the results were expressed in µmol/g of fresh matter.

Lipid peroxidation was determined by the production of metabolites that are reactive to 2-thiobarbituric acid (TBARS), mainly MDA, according to the method of Heath & Packer (1968). The extraction followed the same protocol for H₂O₂. The concentration of MDA equivalents was measured by spectrophotometry between 535 and 600 nm; the results were obtained using an extinction coefficient of $1.55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Gratão et al., 2012).

Statistical analysis

The salinity levels (0, 20 and 30 ppt) were used as predictor variables and the variables of GAB, GBB, TN, TP levels and stress indicators (H₂O₂ and MDA) as response variables. First, we submitted the data (GAB, GBB, TN, TP, H₂O₂ and MDA) to the Cramer-Von-Misses and Bartlett test, to verify the normality of the residual and the homoscedasticity of data variance, respectively. After meeting these premises, the

analysis of variance (ANOVA) was used to verify the occurrence of significant differences among the treatments. When this difference was statistically significant ($p < 0.05$), the Tukey's test was applied for the multiple comparison of the means with a 95% confidence interval. Statistical analyses were performed using the software R, version 3.4 (2017), and the graph and figures were prepared using Microsoft Excel® (2010).

Results

The GAB of *U. arrecta* was significantly higher at 0 ppt, intermediate at 20 ppt and lower at 30 ppt, while the GBB was significantly higher at 0 ppt and lower at 20 and 30 ppt (Fig. 2; Table S1). The growth curve of the aboveground fraction of *U. arrecta* was similar for the different treatments up to day 46, and on day 121 of the experiment, the growth was higher at 0 ppt, intermediate at 20 ppt and lower at 30 ppt (Fig. 3).

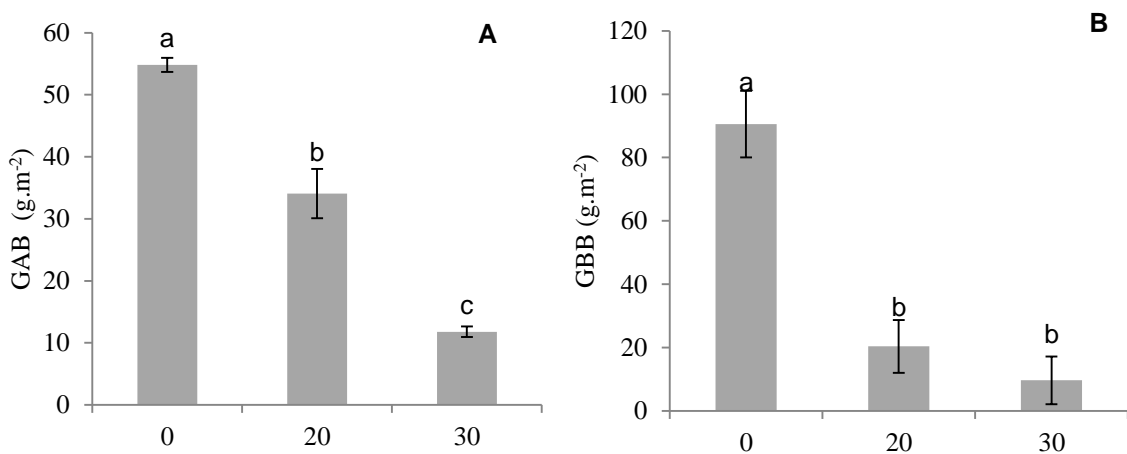


Fig. 2 Mean and standard deviation values of (A) gain of aboveground biomass (GAB), and (B) gain of belowground biomass (GBB) of *U. arrecta* in salinities of 0, 20 and 30 ppt. Bars followed by different letters are statistically different $p \leq 0.05$ (Tukey's test)

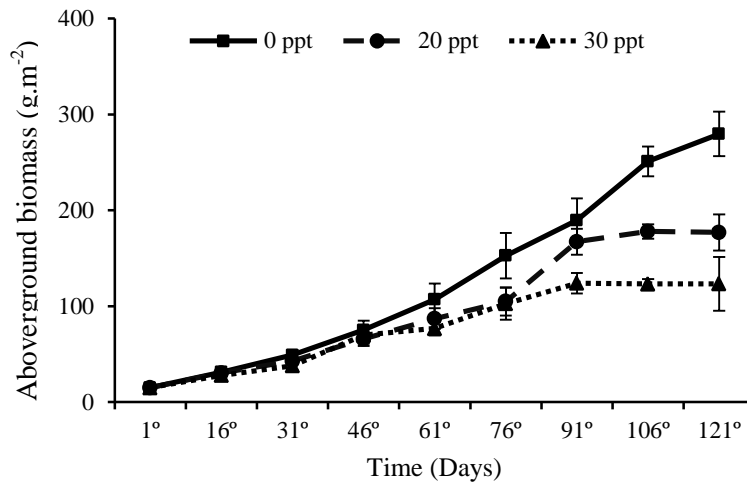


Fig. 3 Growth curves of the aboveground fraction of *U. arrecta* (bars = standard deviation values) in salinities of 0 (continuous line), 20 (dashed line) and 30 (dotted line) ppt.

The content of TN (%) in the aboveground fraction of *U. arrecta* showed no significant difference among the treatments. Nonetheless, in the belowground fraction, the TN content was greater at 20 and 30 ppt than at 0 ppt. The TP content (%) of the aboveground fraction was significantly higher at 0 ppt and lower at 30 ppt. However, in the belowground fraction the TP content was significantly higher at 20 and 30 ppt and lower at 0 ppt (Table 1).

Table 1 Mean values (standard deviation) and results of the ANOVA for TN and TP in the aboveground and belowground of *U. arrecta* in 0, 20 and 30 ppt salinities

Variables*	Salinity 0	Salinity 20	Salinity 30	F	P valor
Aboveground					
TN (%Dry mass)	0.85±0.15a	0.89±0.17a	0.86±0.07a	0.13	0.881
TP (%Dry mass)	0.08±0.01a	0.07±0.00 ab	0.06±0.01 b	4.53	0.039
Belowground					
TN (%Dry mass)	0.3±0.04b	0.42±0.07a	0.45±0.07a	7.91	0.006
TP (%Dry mass)	0.03±0.01b	0.05±0.01 a	0.05±0.01a	5.56	0.024

Numbers followed by different letters are statistically different $p \leq 0.05$ (Tukey's test)

*TN – total nitrogen; TP – total phosphorus

The H₂O₂ content (μmol/g of fresh mass) was higher in the aboveground fraction of *U. arrecta* in the treatments with salinity of 20 and 30 ppt than at 0 ppt. Nevertheless, the MDA content (nmol g⁻¹ of fresh mass) was higher in the treatment with salinity of 30 ppt than at 0 and 20 ppt, indicating that salinity induces a greater production of reactive oxygen species (ROS) at both concentrations, leading to lipid peroxidation in aquatic macrophytes submitted to higher salinity. However, in the belowground fraction of *U. arrecta*, there was no significant difference in the contents of H₂O₂ and MDA among the salinity levels (Fig. 4; Table S2), indicating that salinity did not induce oxidative stress in the belowground fraction.

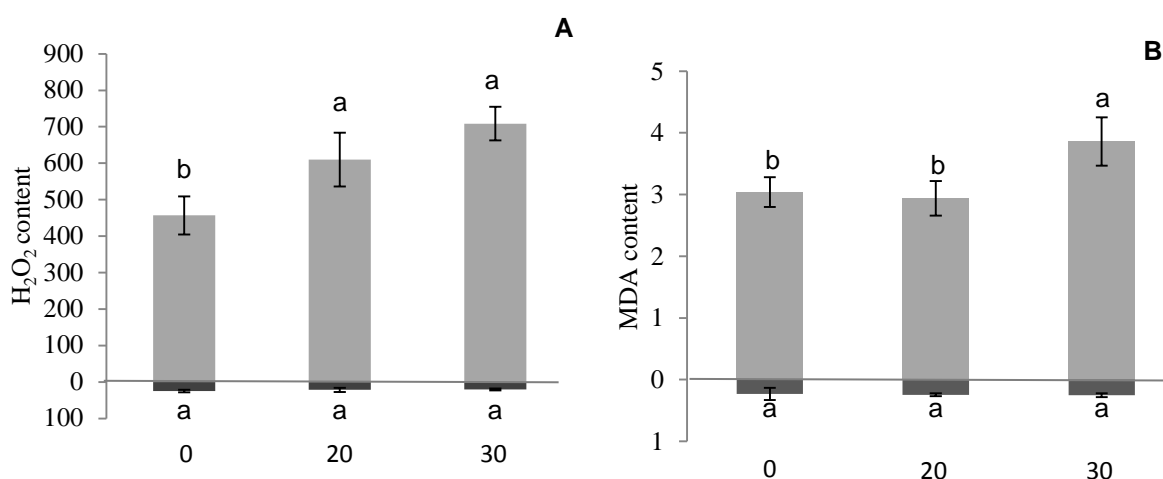


Fig. 4 Mean and standard deviation values of (A) H₂O₂ (μmol/g of fresh mass) and (B) MDA (nmol g⁻¹ fresh weight) contents in aboveground (light gray) and belowground (dark gray) of *U. arrecta* in salinities of 0, 20 and 30 ppt. Bars followed by different letters are statistically different p ≤ 0.05 (Tukey's test)

Discussion

The results of our experiment showed that salinity limits the growth and biomass gain of *U. arrecta*, which corroborates our initial hypothesis. This result is similar to those obtained by other authors. Bora et al., (2020) observed that salinity was stressful for *U. arrecta*, reducing the growth and biomass gain of individuals from both freshwater and brackish water populations. Other emerging species tolerant to salinity, such as *Distichlis spicata* (L.) Greene (Poaceae) and *Scirpus robustus* Pursh (Cyperaceae), also had a reduction in aerial biomass in response to salinity (Crain et al., 2004).

A possible explanation for this response could be related to the high loads of energy expended by the plant to adjust to salt stress (Esteves & Suzuki, 2009). In fact, mangrove species need to maintain continuous water absorption, in addition to regulating ionic absorption and compartmentalization against a strong external salt gradient (Ball, 1996; Krauss et al., 2008). To maintain water absorption during salt stress, plants do not only need to reduce water loss by morphological and physiological adaptations, but they also need to keep water potentials sufficiently low (Krauss et al., 2008). In Poaceae species, the excretion of salt through the salt glands plays an important role in the regulation of ionic balance, contributing to tolerance to salinity (Manousaki & Kalogerakis, 2011; Cécicoli et al., 2015; Atia et al., 2019). Nevertheless, salt excretion is an energy-dependent process that moves ions against large electrochemical potentials within the leaves (Lüttge, 2007). The removal of excessive salt also occurs by the translocation of ions to older leaves, which consequently promotes leaf senescence (Cram et al., 2002; Munns & Tester, 2008).

Therefore, a shorter life expectancy may accelerate leaf renewal, increasing the proportion of young leaves with a high photosynthetic rate and reducing the cost associated with maintaining older leaves. In addition, under natural conditions, variations in sediment salinity over time contribute to reactivate growth after prolonged periods of hypersaline conditions, preventing plant death (Suárez & Medina, 2005). In this sense, it is possible to assume that the lower growth and GAB of *U. arrecta* in treatments with 20 and 30 ppt derives from factors such as higher energy demand for mechanisms of salt tolerance, high rate of leaf senescence and absence of variation in salinity throughout the experiment.

Plant species tolerant to salinity also need a well-adjusted mechanism to combat the effects of oxidative stress promoted by salinity (Esteves & Suzuki, 2009; Koyro et al., 2013; Gil et al., 2020). In our experiment, salinity promoted increased ROS production, observed by the higher H₂O₂ contents, which corroborates our hypothesis. Nonetheless, regarding lipid peroxidation in the treatments with salinity of 20 and 30 ppt, our hypothesis was corroborated for individuals at salinity of 30 ppt, but not for individuals at salinity of 20 ppt. This answer shows us that, at high salinity, stress was greater, and the antioxidant mechanism was less efficient.

At intermediate salinity, the antioxidant mechanism of the aquatic macrophyte was more efficient in combating the effects of H₂O₂ in the cell. There is a close relationship between ROS production and reduced plant growth during salt stress.

Koyro et al., (2013) identified, in the species *Panicum turgidum* Forssk. (Poaceae) exposed to salinity, an increase in H₂O₂, reducing the activity of the Calvin cycle, as well as carbon fixation and the aerial biomass of the aquatic macrophyte. Salinity affects photosynthesis because, during saline stress, the plant's ability to absorb water from the sediment is reduced and stomatal closure is triggered to reduce water losses in the form of evaporated water (Ahanger et al., 2017). Stomatal closure promotes a series of reactions that facilitate the formation of ROS, a reduction in the photosynthetic rate that compromises CO₂ availability for carboxylation reactions (Munns & Tester, 2008; Esteves & Suzuki, 2009; Parihar et al., 2015) and plant growth (Li et al., 2019). Thus, contrarily to *U. arrecta* individuals under 30 ppt of salinity, individuals present at 20 ppt are probably exposed to lower selective pressure and less stress, which could be attributed to the greater efficiency of the mechanism responsible for the elimination of ROS, allowing the growth and lower biomass gain of this species under this condition.

In the belowground fraction, the absence of difference in the contents of MDA and H₂O₂ among the treatments indicates that the oxidative stress in this fraction was lower than in the aboveground fraction and, probably, this was not one of the factors responsible for the reduction in GBB. Although salinity promotes hypoxia in the soil, reducing transpiration, nutrient absorption and, consequently, plant growth (Morard & Silvestre, 1996), in the present study, the N and P contents of the individuals were not affected by salinity. A possible explanation for the reduction in biomass in the belowground fraction may be related to the strategy that some species adopt to combat salinity, and it may be due to root elongation. Root elongation at a higher salinity may assist in sediment aeration and minimize the negative effects of salt stress (Li et al., 2019), and consequently facilitate nutrient uptake by the roots. Although root length was not assessed in our study, Bora et al., (2020) observed that in treatments with higher salinity, *U. arrecta* showed greater root elongation at the expense of biomass allocation, probably as a salt tolerance strategy.

The adoption of strategies that also help the plants in nutrient absorption are important, because when a species is under saline stress, the physiological requirement for N is usually higher (Crain, 2007; Nunes & Camargo, 2020). Crain (2007) observed that *Spartina patens* Muhl. (Poaceae) present in swamps with high salinity levels showed a higher percentage of N in their tissues, which may be related to the increasing demand for N to help with salinity tolerance and not due to the availability of N in the sediment, since these environments tend to have less availability of this nutrient. Nunes

& Camargo (2020) observed that *C. americanum*, when cultivated in sediments with a salinity of 20 ppt, has a higher N content in the emerging fraction. One explanation for this higher N content is the result of an osmotic adjustment to maintain a positive turgor pressure (Flowers et al., 2015). Nitrogen compounds are an important and efficient solute to adjust ion balance in vacuoles and promote the osmotic adjustment of the plant (Esteves & Suzuki, 2009). In this sense, it is possible that the higher absorption and concentration of N in *U. arrecta*, in the treatments with salinity of 20 and 30 ppt, is also a strategy of the aquatic macrophyte to adjust osmotically and tolerate the salt.

Although in our experiment *U. arrecta* tolerated the stress and grew in 20 ppt of salinity, in the Itanhaém river estuary, this does not occur in the area with this salinity in the sediment. Probably, other biotic factors, e.g. competition, are responsible for the absence of this invasive species in the middle estuary area. Some studies attribute the absence of freshwater species in salt swamp regions to salt stress (Crain et al., 2004; Engels & Jensen, 2010). However, Nunes & Camargo (2018) demonstrated that competition in saline environments may also be a limiting factor for a freshwater species. In addition, the lower areas of the estuaries are more subject to variations in the water level because of their proximity to the ocean, which can also be a stress factor for some emerging species (Deegan et al., 2007; Ribeiro et al., 2011).

Rising water levels in the oceans due to climate change will affect the distribution of aquatic macrophytes in estuaries. In fact, the sixth report by the IPCC Working Group I shows that there will be a temperature increase of at least 1.5 °C over the next two decades. Between the years 1901 and 2018, the global mean sea level increased by 0.20 meter and by 2100 it is estimated that these levels may exceed 1 meter if carbon emissions are not reduced (IPCC, 2021). According to Callaway et al., (2007), the increase, however small, in salinity due to sea level rise can lead to changes in the distribution of estuarine species, with freshwater swamps being replaced by brackish swamps and brackish swamps converted to salt marsh communities. This will imply the reduction of freshwater areas (high estuary) and may increase the competition of *U. arrecta* with native species. The saline intrusion in the freshwater areas of the upper estuary may select salinity-tolerant populations of *U. arrecta* that will occupy areas currently colonized by native species tolerant to brackish waters, such as *C. americanum* and *S. alterniflora*.

Based on the results of our experiment, we conclude that *U. arrecta* develops physiological adjustments that allow its survival in a salinity of 20 ppt (medium

estuarine sediment salinity), as the cell stress is controlled and the GAB was greater than 60% with the increase in salinity. It is important to note that only biomass gain and oxidative stress responses of *U. arrecta* in two salinities are not sufficient to predict the invasiveness of the species. Other abiotic and biotic factors are also important with regard to the successful invasion of a particular species. Thus, this study is only an indication that *U. arrecta* is probably able to adjust to new environmental conditions, complementing what was observed by Bora et al., (2020). Although the invasion status of this species in the middle and lower estuary area is low, our results show the possibility of expansion of colonization in areas colonized by native species. These areas are very critical for conservation and, therefore, more complex studies are needed to better estimate the invasiveness of *U. arrecta* in saline ecosystems and to promote control or management policies for this species in these areas.

Acknowledgment

We thank Carlos Fernando Sanches, Sonia Maria R. Carregari and Baltasar Fernandes Garcia Neto for all assistance with the experiment and analysis.

Funding

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brazil (CAPES) – Finance Code 001.

References

- Ahanger, M. A., N. S. Tomar, M. Tittal, S. Argal & R. M. Agarwal, 2017. Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23: 731–744.
- Alexieva, V., I. Sergiev, S. Mapelli & E. Karanov, 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment* 24: 1337–1344.
- Allen, S. E., H. M. Grimshaw, J. A. Parkinson & C. Quarmby, 1974. *Chemical analysis of ecological materials*. Blackwell, Oxford.
- Alves, R. M. A., M. B. Albuquerque & L. G. Barbosa, 2017. Status of the invasion of a Poaceae species in tropical semiarid reservoirs. *Planta Daninha* 35: 1–8.
- Amorim, S. R., C. A. Umetsu, D. Toledo & A. F. M. Camargo, 2015. Effects of a non

native species of Poaceae on aquatic macrophyte community composition: A comparison with a native species. *Journal of Aquatic Plant Management* 53: 191–196.

Atia, A., A. Debez, M. Rabhi, Z. Barhoumi, C. C. Haouari, H. Gouia, C. Abdelly & A. Smaoui, 2019. Salt Tolerance and Potential Uses for Saline Agriculture of Halophytes from the Poaceae. 223–237.

Ball, M. C., 1996. Comparative Ecophysiology of Mangrove Forest and Tropical Lowland Moist Rainforest. *Tropical Forest Plant Ecophysiology* 461–462.

Barreiros, A. L. B. S., J. M. David & J. P. David, 2006. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quimica Nova* 29: 113–123.

Bora, L. S., S. M. Thomaz & A. A. Padial, 2020. Evidence of rapid evolution of an invasive poaceae in response to salinity. *Aquatic Sciences* 82: 1-16.

Callaway, J. C., V.T. Parker, M. C. Vasey & L. M. Schile, 2007. Emerging issues for the restoration of tidal marsh ecosystems in the context of predicted climate change. *BioOne* 54: 234-248.

Carniatto, N., S. M. Thomaz, E. R. Cunha, R. Fugi & R. R. Ota, 2013. Effects of an invasive alien Poaceae on aquatic macrophytes and fish communities in a neotropical reservoir. *Biotropica* 45: 747–754.

Carvalho, R. F., V. Quecini & L. E. P. Peres, 2010. Hormonal modulation of photomorphogenesis-controlled anthocyanin accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv Micro-Tom) hypocotyls: Physiological and genetic studies. *Plant Science* 178: 258–264.

Céccoli, G., J. Ramos, V. Pilatti, I. Dellaferrera & J. C. Tivano, 2015. Salt Glands in the Poaceae Family and Their Relationship to Salinity Tolerance. *The Botanical Review*, 81: 162-178.

Coetzee, J. A., 2014. Water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae), reduces benthic macroinvertebrate diversity in a protected subtropical lake in South Africa. *Biodiversity and Conservation* 23: 1319–1330.

Crain, C. M., 2007. Shifting nutrient limitation and eutrophication effects in marsh vegetation across estuarine salinity gradients. *Estuaries and Coasts* 30: 26–34.

Crain, C. M., B. R. Silliman, S. L. Bertness & M. D. Bertness, 2004. Physical and biotic drivers of plant distribution across estuarine salinity gradients. *Ecology* 85: 2539–2549.

Cram, J. W., P. G. Torr & D. A. Rose, 2002. Salt allocation during leaf development and leaf fall in mangroves. *Trees - Structure and Function* 16: 112–119.

Deegan, B. M., S. D. White & G. G. Ganf, 2007. The influence of water level fluctuations on the growth of four emergent macrophyte species. *Aquatic Botany* 86: 309–315.

Engels, J. G. & K. Jensen, 2010. Role of biotic interactions and physical factors in determining the distribution of marsh species along an estuarine salinity gradient. *Oikos* 119: 679–685.

- Esteves, B. S. & M. S. Suzuki, 2009. Efeito da salinidade sobre as plantas. *Oecologia Australis* 12: 662–679.
- Ferreira, J. P. R., G. Hassemer & R. Trevisan, 2017. Aquatic macrophyte flora of coastal lakes in Santa Catarina, southern Brazil. *Iheringia - Serie Botanica* 72: 409–419.
- Flora do Brasil, 2020. Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>
- Flowers, T. J. & T. D. Colmer, 2008. Salinity tolerance in halophytes 179: 945–963.
- Flowers, T. J., R. Munns & T. D. Colmer, 2015. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of Botany* 115: 419–431.
- Foyer, C. H. & G. Noctor, 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17: 1866–1875.
- Foyer, C. H. & G. Noctor, 2013. Redox Signaling in Plants. *Antioxidants & Redox Signaling* 18: 2087–2090.
- Foyer, C. H., A.V. Ruban & G. Noctor, 2017. Viewing oxidative stress through the lens of oxidative signalling rather than damage. *Biochemical Journal* 474: 877–883.
- Garg, N. & G. Manchanda, 2009. ROS generation in plants: Boon or bane? *Plant Biosystems* 143: 81–96.
- Gil, L., X. Capó, S. Tejada, G. Mateu-Vicens, P. Ferriol, S. Pinya & A. Sureda, 2020. Salt variation induces oxidative stress response in aquatic macrophytes: The case of the Eurasian water-milfoil *Myriophyllum spicatum* L. (Saxifragales: Haloragaceae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 239: 1–6.
- Gill, S. S. & N. Tuteja, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909–930.
- Gratão, P. L., C. C. Monteiro, R. F. Carvalho, T. Tezotto, F. A. Piotto, L. E. P. Peres & R. A. Azevedo, 2012. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. *Plant Physiology and Biochemistry Elsevier Masson SAS* 56: 79–96.
- Gratão, P. L., A. Polle, P. J. Lea & R. A. Azevedo, 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32: 481.
- Hafsi, C., M. C. Romero-Puertas, D. K. Gupta, L. A. del Río, L. M. Sandalio & C. Abdelly, 2010. Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 69: 129–136.
- Halliwell, B. & J. M. Gutteridge, 2015. No Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA.
- Heath, R. L. & L. Packe, 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*

125, 189–198.

Hoagland, D. C. & D. I. Arnon, 1950. The water culture method for growing plant without soil. California Agricultural Experiment. Circular 337. The College of Agriculture University of California. Berkeley.

Houle, G., L. Morel, C. E. Reynolds & J. Siegel, 2001. The Effect of Salinity on Different Developmental Stages of an Endemic Annual Plant, *Aster laurentianus* (Asteraceae). Botanical Society of America 88: 62–67.

Houston, W. A. & L. J. Duivenvoorden, 2002. Replacement of littoral native vegetation with the ponded pasture grass *Hymenachne amplexicaulis*: effects on plant, macroinvertebrate and fish biodiversity of backwaters in the Fitzroy River, Central Queensland, Australia. Marine and Freshwater Research 53: 1235–1244.

Hussain, T., H. W. Koyro, B. Huchzermeyer & M. A. Khan, 2015. Eco-physiological adaptations of *Panicum antidotale* to hyperosmotic salinity: Water and ion relations and anti-oxidant feedback. Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 212: 30–37

IPCC, 2021: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press. In Press.

Koyro, H. W., T. Hussain, B. Huchzermeyer & M. A. Khan, 2013. Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass *Panicum turgidum* to increasing NaCl concentrations. Environmental and Experimental Botany 91: 22–29.

Krauss, K. W., C. E. Lovelock, K. L. McKee, L. López-Hoffman, S. M. L. Ewe & W. P. Sousa, 2008. Environmental drivers in mangrove establishment and early development: A review. Aquatic Botany 89: 105–127.

Larcher., 2000. Ecofisiologia vegetal. São Carlos. Rima.

Levin, L. A., D. F. Boesch, A. Covich, C. Dahm, C. Erséus, K. C. Ewel, R. T. Kneib, A. Moldenke, M. A. Palmer, P. Snelgrove, D. Strayer & J. M. Weslawski, 2001. The function of marine critical transition zones and the importance of sediment biodiversity. Ecosystems 4: 430–451.

Li, Y., W. Niu, X. Cao, J. Wang, M. Zhang, X. Duan & Z. Zhang, 2019. Effect of soil aeration on root morphology and photosynthetic characteristics of potted tomato plants (*Solanum lycopersicum*) at different NaCl salinity levels. BMC Plant Biology 19: 1–15.

Lüttge, U., 2007. Physiological ecology of tropical plants. Germany: Springer.

Manousaki, E. & N. Kalogerakis, 2011. Halophytes-an emerging trend in phytoremediation. International Journal of Phytoremediation 13: 959–969.

Mendelssohn, I. A., K. L. McKee & T. Kong, 2001. A comparison of physiological

indicators of sublethal cadmium stress in wetland plants. *Environmental and Experimental Botany* 46: 263–275.

Michelan, T., M. Dainez Filho & S. Thomaz, 2017. Aquatic macrophyte mats as dispersers of one invasive plant species. *Brazilian Journal of Biology* 78: 5–8.

Michelan, T. S., S. M. Thomaz, P. Carvalho, R. B. Rodrigues & M. J. Silveira, 2010a. Regeneration and colonization of an invasive macrophyte grass in response to desiccation. *Natureza & Conservação* 8: 133–139.

Michelan, T. S., S. M. Thomaz, R. P. Mormul & P. Carvalho, 2010b. Effects of an exotic invasive macrophyte (tropical signalgrass) on native plant community composition, species richness and functional diversity. *Freshwater Biology* 55: 1315–1326.

Midgley, J. M., M. P. Hill & M. H. Villet, 2006. The effect of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach (Pontederiaceae), on benthic biodiversity in two impoundments on the New Year's River, South Africa. *African Journal of Aquatic Science* 31: 25–30.

Morard, P. & J. Silvestre, 1996. Plant injury due to oxygen deficiency in the root environment of soilless culture: A review. *Plant and Soil* 184: 243–254.

Mormul, R. P., S. M. Thomaz, J. Higuti & K. Martens, 2010. Ostracod (Crustacea) colonization of a native and a non-native macrophyte species of Hydrocharitaceae in the Upper Paraná floodplain (Brazil): An experimental evaluation. *Hydrobiologia* 644: 185–193.

Munns, R. & M. Tester, 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651–681.

Nunes, L. S. C. & A. F. M. Camargo, 2020. Effects of salinity on growth, competitive interaction and total nitrogen content of two estuarine macrophyte species cultivated on artificial substrate. *Aquatic Ecology* 54: 973–983.

Nunes, L. S. C., C. A. Umetsu, M. E. F. Rodrigues, V. J. Pott & A. F. M. Camargo, 2019. Inventory of aquatic macrophyte species in coastal rivers of the São Paulo state, Brazil. *Oecologia Australis* 23: 829–845.

Nunes, L. S. C. & A. F. M. Camargo, 2018. Do interspecific competition and salinity explain plant zonation in a tropical estuary? *Hydrobiologia* 812: 67–77.

Nunes, L. S. C. & A. F. M. Camargo, 2017. A simple non-destructive method for estimating aboveground biomass of emergent aquatic macrophytes. *Acta Limnologica Brasiliensia* 49: 1–9.

Odum, W. E., 1988. Comparative ecology of tidal freshwater and salt marshes. *Annual review of ecology and systematics* 19: 147–176.

Parihar, P., S. Singh, R. Singh, V. P. Singh & S. M. Prasad, 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 4056–4075.

- Pott, V. J., A. Pott, L. C. P. Lima, S. N. Moreira & A. K. M. Oliveira, 2011. Aquatic macrophyte diversity of the Pantanal wetland and upper basin. *Brazilian Journal of Biology* 71: 255–263.
- Reinert, B. L., M. R. Bornschein & C. Firkowski, 2007. Distribuição, tamanho populacional, hábitat e conservação do bicudinho-do-brejo *Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert e Teixeira, 1995 (Thamnophilidae). *Revista Brasileira de Ornitologia* 15: 493–519.
- Ribeiro, J. P. N., R. S. Matsumoto, L. K. Takao, A. C. Peret & M. I. S. Lima, 2011. Spatial distribution of *Crinum americanum* L. in tropical blind estuary: Hydrologic, edaphic and biotic drivers. *Environmental and Experimental Botany* 71: 287–291.
- Rodrigues, M. E. F., V. C. Souza & M. L. M. Pompêo, 2017. Levantamento florístico de plantas aquáticas e palustres na Represa Guarapiranga, São Paulo, Brasil. *Boletim de Botânica* 35: 1-64.
- Suárez, N. & E. Medina, 2005. Salinity effect on plant growth and leaf demography of the mangrove, *Avicennia germinans* L. *Trees* 19: 721–727.
- Short, F. T., S. Kosten, P. A. Morgan, S. Malone & G. E. Moore, 2016. Impacts of climate change on submerged and emergent wetland plants. *Aquatic Botany* 135: 3-17.
- Thomaz, S. M., R. P. Mormul & T. S. Michelin, 2015. Propagule pressure, invasibility of freshwater ecosystems by macrophytes and their ecological impacts: a review of tropical freshwater ecosystems. *Hydrobiologia* 746: 39-59.
- Thomaz, S. M., P. Carvalho, A. A. Padial & J. T. Kobayashi, 2009. Temporal and spatial patterns of aquatic macrophyte diversity in the Upper Paraná River floodplain. *Brazilian Journal of Biology* 69: 617–625.
- Thouvenot, L. & G. Thiébaud, 2018. Regeneration and colonization abilities of the invasive species *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* under a salt gradient: implications for freshwater invasibility. *Hydrobiologia* 817: 193–203.
- Umetsu, C. A., F. C. Aguiar, M. T. Ferreira, L. F. Cancian & A. F. M. Camargo, 2018. Addressing bioassessment of tropical rivers using macrophytes: The case of Itanhaém Basin, São Paulo, Brazil. *Aquatic Botany Elsevier* 150: 53–63.
- Villamagna, A. M. & B. R. Murphy, 2010. Ecological and socio-economic impacts of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): A review. *Freshwater Biology* 55: 282–298.
- Xue, L., X. Li, Z. Yan, Q. Zhang, W. Ding, X. Huang, B. Tian, Z. Ge & Q. Yin, 2018. Native and non-native halophytes resiliency against sea-level rise and saltwater intrusion. *Hydrobiologia Springer International Publishing* 806: 47–65.

Supplementary Material

Table S1 Results of the ANOVA applied to the GAB and GBB of *U. arrecta* at different salinities

Variables*	dF	F	P
GAB	2	189.21	< 0.00
GBB	2	18.92	< 0.00

*GAB - aboveground biomass gain; GBB - belowground. biomass gain

Table S2 Results of the ANOVA for H₂O₂ and MDA content in the aboveground and belowground fraction of *U. arrecta* at different salinities

Variables*	dF	F	P
Aboveground fraction			
H ₂ O ₂	2	13.69	< 0.00
MDA	2	4.79	0.038
Belowground fraction			
H ₂ O ₂	2	2.14	0.168
MDA	2	0.24	0.786

*H₂O₂ – hydrogen peroxide; MDA – malondialdehyde

CAPÍTULO III

Implicações do aumento da temperatura na distribuição global do capim aquático invasor *Urochloa arrecta*

Resumo: A introdução de espécies exóticas de plantas aquáticas vem se tornando cada vez mais preocupante devido aos riscos que promovem na biodiversidade dos ecossistemas aquáticos. O objetivo deste estudo foi de estabelecer a distribuição histórica de *Urochloa arrecta* em escala mundial e estimar a adequabilidade climática da espécie na projeção histórica e futura em dois cenários de mudanças climáticas. Para isso, usamos modelos de distribuição de espécies. As áreas de ocorrência desta espécie foram definidas por meio das coordenadas geográficas das localidades onde foi registrada. Foram consideradas sete variáveis bioclimáticas obtidas a partir da base de dados do WorldClim. Estas variáveis foram escolhidas segundo os valores da matriz de correlação de Pearson ($R^2 > 0,7$). Para previsões futuras, foram considerados cenários de mudança climática otimista (SSP 4.5) e pessimista (SSP 8.5), com base no sexto relatório do IPCC. Nossos resultados mostraram que as variáveis de temperatura foram as que mais contribuíram para construção do modelo. A área relativa de adequabilidade climática (ARAC) por continente na projeção histórica foi, respectivamente, maior na América Central, Oceania e América do Sul, do que na região onde a espécie é nativa, na África tropical. Na projeção futura, no cenário mais otimista, os continentes apresentaram perda de ARAC. No entanto, no cenário mais pessimista ocorre aumento na ARAC de *U. arrecta*, principalmente na América Central. Assim, concluímos que as áreas úmidas de clima quente apresentam maior adequabilidade climática para *U. arrecta*. No entanto, foi no continente da América Central, precisamente na Costa Rica, que a adequabilidade climática de *U. arrecta* aumentou com a elevação da temperatura no cenário mais pessimista.

Palavras-chave: *Urochloa arrecta*, exótica invasora, mudanças climáticas, distribuição de espécies.

Abstract: The introduction of exotic species has become increasingly worrisome due to the risk they pose to biodiversity. The objective of this study was to establish the historical distribution of *Urochloa arrecta* on a world scale and to estimate the climatic suitability of the species in the historical and future projection in two climate change scenarios. For this, we use species distribution models. The occurrence areas were defined using the geographic coordinates of the locations where the species was recorded. Seven bioclimatic variables obtained from the WorldClim database were considered. These variables were chosen according to the values of Pearson's correlation matrix ($R^2 > 0.7$). For future predictions, optimistic (SSP 4.5) and pessimistic (SSP 8.5) climate change scenarios were considered based on the sixth IPCC report. Our results showed that the temperature variables were the ones that most contributed to the construction of the model. The relative area of climate suitability (ARAC) by continent in the historical projection was, respectively, greater in Central America, Oceania, South America, than in the region where the species is native, in tropical Africa. In the future projection, in the most optimistic scenario, the continents showed a loss of ARAC. However, in the most pessimistic scenario, there is an increase in the ARAC of *U. arrecta*, mainly in Central America. Thus, we conclude that the humid areas of warm climate have greater environmental suitability for *U. arrecta*. However, it was in the Central American continent, precisely in Costa Rica, that the environmental suitability of *U. arrecta* increased with the rise in temperature in the scenario more pessimistic.

Keywords: *Urochloa arrecta*, invasive species, climate changes, species distribution.

Introdução

Atualmente, os estudos sobre macrófitas aquáticas têm se tornando cada vez mais importantes, principalmente porque estabelecem forte ligação entre o sistema aquático e o ambiente terrestre. As comunidades de macrófitas aquáticas são importantes na dinâmica dos ecossistemas aquáticos, com papel fundamental na ciclagem de nutrientes, nas cadeias de herbivoria e detritivoria, proporcionando aumento da complexidade estrutural de *habitats*, e assim da diversidade biológica. (SCREMIN-DIAS *et al.*, 1999; THOMAZ; ESTEVES, 2011). A introdução de espécies de macrófitas aquáticas exóticas pode alterar a composição das comunidades vegetais nativas e a diversidade de diversos outros grupos aquáticos (DOUGLAS; O'CONNOR 2003; AMORIM *et al.*, 2015), alterando o comportamento alimentar de alguns organismos (CARNIATTO *et al.*, 2020). No caso dos peixes, a homogeneidade que as espécies de plantas exóticas invasoras causam podem influenciar os níveis tróficos mais baixos e afetar a qualidade dos recursos alimentares (THOMAZ; CUNHA, 2010).

Os sérios problemas ambientais que a introdução de espécies exóticas invasoras causam no mundo (PARKER *et al.*, 1999; MACK *et al.*, 2000) podem ser potencialmente influenciados pelos efeitos das mudanças climáticas, embora a força e a direção desse impacto variem entre as espécies e grupos taxonômicos (MAINKA; HOWARD, 2010; BELLARD *et al.*, 2013; GILLARD *et al.*, 2017). Nesse caso, entender o comportamento do clima temporalmente se torna fundamental para compreender a distribuição geográfica das espécies em escala espacial (SOBERÓN, 2007; PETERSON, 2011), o que nos permite focar nas regiões geográficas que são mais susceptíveis a invasão.

Na região subtropical, a Poaceae *Urochloa arrecta* (Hack. ex T. Durand & Schinz) Morrone & Zuloaga é originária da África tropical e foi introduzida nos ecossistemas neotropicais como pastagem e hoje se tornou uma espécie exótica invasora e comum em várias regiões úmidas do mundo (AMORIM *et al.*, 2015; LATINI *et al.*, 2016; CARNIATTO *et al.*, 2020; POTT *et al.*, 2011). *U. arrecta* é um capim aquático perene, enraizada/flutuante, que forma grandes tapetes flutuantes entre as comunidades de macrófitas aquáticas (MICHELAN *et al.*, 2010). O rápido crescimento através de fragmentos e seu alto potencial de regeneração à torna muito competitiva em relação a outras espécies de macrófitas nativas (MICHELAN *et al.*, 2010; AMORIM *et al.*, 2015). Em um estuário neotropical (sudeste do Brasil) foi observado que a dominância de *U. arrecta* em região de água doce parece afetar os atributos da comunidade de

macrófitas aquáticas, principalmente as submersas, reduzindo a riqueza e diversidade de espécies, em comparação com os locais onde ocorrem as espécies nativas emergentes (AMORIM *et al.*, 2015). Assim, a capacidade de *U. arrecta* em alterar a composição da assembleia de macrófitas pode representar uma ameaça para comunidades nativas de ecossistemas tropicais de água doce.

O controle e erradicação de espécies de plantas exóticas e invasoras são conhecidos por ser mais eficiente durante as fases iniciais da invasão, bem como nos primeiros estágios do ciclo de vida vegetal. Assim, o desafio dos gestores de ecossistemas é detectar a presença de organismos invasores para evitar a colonização destes em novos ambientes e limitar sua área de alcance (GILLARD *et al.*, 2017). Para isso, o uso de modelos de distribuição de espécies (SDMs) são ferramentas adequadas para investigar a potencial distribuição especial das espécies (ELITH; LEATHWICK, 2009) e sua relação com o clima, estimando assim a adequabilidade climática de uma determinada espécie. Os SDMs nos permitem estabelecer cenários preditivos, auxiliando na identificação precoce de áreas de adequabilidade climática da espécie, ou seja, áreas mais susceptíveis as invasões biológicas (GUISAN *et al.*, 2013; GONCALVES *et al.*, 2014; STEPHENS *et al.*, 2016) e na tomada de decisão para conservação e recuperação de ecossistemas (SILVA *et al.*, 2018). Ao aplicar métodos de modelagem, objetivamos (i) estabelecer a distribuição histórica de *U. arrecta* em escala mundial (ii) e estimar a área de adequabilidade climática de *U. arrecta* em uma projeção histórica e futura (2080). Nossa hipótese foi de que o aumento da temperatura devido à produção antrópica de gases de efeito estufa ampliará as áreas de ocorrência de *Urochloa arrecta* em escala global.

Material e Métodos

Dados da espécie

As coordenadas da distribuição geográfica de *U. arrecta* foram adquiridos por dados catalogados no Global Biodiversity Information Facility (GBIF) e de dados obtidos em campo. Utilizamos dados históricos catalogados a partir do ano de 2000, dessa forma assumimos que os dados após esse período foram obtidos pelo sistema de GPS. Após a filtragem dos dados obtivemos um total de 216 pontos de coordenadas geográficas para serem utilizados na construção do modelo de distribuição da espécie na projeção histórica (do ano 2000 até hoje) e futura (estimado para o ano de 2080).

Dados climáticos

Utilizamos dados climáticos do WorldClim v.1.4 porque incluem condições climáticas históricas e futuras (HIJMANS *et al.*, 2005). O WorldClim conta com 19 variáveis bioclimáticas (Tabela. 1), em que selecionarmos as principais variáveis conforme os valores da Matriz de correlação de Pearson (variáveis altamente correlacionadas foram eliminadas $R^2 > 0,7$). Utilizamos dados bioclimáticos na resolução espacial de 2.5 minutos de arco (aproximadamente 2,5 km²).

Tabela 1. Variáveis bioclimáticas do WorldClim.

Sigla	Variáveis bioclimáticas
Bio1	Temperatura média anual
Bio2	Temperatura média diurna
Bio3	Isotermalidade
Bio4	Temperatura sazonal
Bio5	Temperatura máxima do mês mais quente
Bio6	Temperatura mínima do mês mais frio
Bio7	Faixa anual de temperatura
Bio8	Temperatura média do trimestre mais úmido
Bio9	Temperatura média do trimestre mais seco
Bio10	Temperatura média do trimestre mais quente
Bio11	Temperatura média do trimestre mais frio
Bio12	Precipitação anual
Bio13	Precipitação do mês mais úmido
Bio14	Precipitação do mês mais seco
Bio15	Sazonalidade de precipitação
Bio16	Precipitação do trimestre mais úmido
Bio17	Precipitação do trimestre mais seco
Bio18	Precipitação do quarto mais quente
Bio19	Precipitação do trimestre mais frio

Para a predição do impacto de mudanças climáticas o sexto relatório do IPCC considera 5 possíveis cenários para o futuro. São eles: SSP 1.9 e SSP 2.6, cenários com baixa emissão de gases de efeito estufa e CO₂; SSP 4.5, cenário intermediário de emissão de gases de efeito estufa e CO₂; SSP 7.0 e SSP 8.5, cenários com alta emissão de gases de efeito estufa e CO₂. Nós selecionamos os cenários SSP 4.5, por ser o cenário mais realista entre os três cenários mais otimistas, e o SSP 8.5, por ser o mais pessimista. No cenário otimista (SSP 4.5), assume-se a adoção, a nível global, de políticas de mitigação de emissão de gases causadores do aquecimento global. No cenário pessimista (SSP 8.5), considera-se que a humanidade não adotará estratégias

para a redução das emissões dos gases causadores do aquecimento global e que estas continuarão crescentes (SILVA *et al.*, 2018). Para as projeções destes cenários, utilizamos o modelo de circulação atmosfera-oceano totalmente acoplado, sob o nome IPSL-CM6A-LR (BOUCHER *et al.*, 2018) que faz parte do Coupled Model Intercorporation Project Phase 6 (CMIP6) (EYRING *et al.*, 2016).

Adequabilidade climática

Utilizamos o programa MaxEnt versão 3.3.3 K (PHILLIPS *et al.*, 2006) para gerar modelos preditivos para distribuição histórica e futura (mapas de adequação climática) de *U. arrecta*. Maxent é um *software* utilizado para modelar nichos e distribuições de espécies, aplicando uma técnica de aprendizado de máquina chamada modelagem de máxima entropia. A partir de um conjunto de grades ambientais (por exemplo, climáticas) e localidades de ocorrência georreferenciadas, o modelo expressa uma distribuição de probabilidade em que cada célula da grade possui uma adequação prevista das condições para as espécies (PHILLIPS *et al.*, 2006). Para executar o *software* atribuímos 75% dos dados de ocorrência da espécie para o treinamento e os 25% restantes para o teste do modelo. Nesta execução o programa verifica qual a taxa de acerto do modelo gerado no treino (75%), com outro conjunto de pontos de ocorrência (25%). Para cada modelo foi medida a variabilidade no desempenho com 10 réplicas de subamostragem e com parâmetro de interação de 10000 (DALAPICOLLA, 2016).

Para avaliar a capacidade do modelo em prever a presença da espécie em uma célula de grade específica foi usada a área sob a curva AUC. Esta curva nos permite a validação ou avaliação da qualidade dos modelos finais gerados (PHILLIPS *et al.*, 2006; BEAUMONT *et al.*, 2009). Para uso da curva AUC levamos em consideração a seguinte classificação: $AUC \leq 0.80$ é um modelo pobre ou nulo; $0.81 \leq AUC \leq 0.90$ é adequado; $0.90 < AUC \leq 0.95$ é bom e $0.95 < AUC \leq 1.00$ é um excelente modelo (THUILLER *et al.*, 2006). Usando um pacote R desenvolvido por B. Petitpierre, também estimamos o Índice Boyce, ou seja, estimador de precisão independente de limiar com base no coeficiente de correlação de classificação de Spearman entre os pontos previstos e as áreas previstas para os conjuntos de dados (HIRZEL *et al.*, 2006). Após o atendimento das premissas os mapas de adequabilidade climática obtidos após a modelagem foram editados no programa QGIS Desktop v.2.18.19. Estimamos as áreas de adequabilidade climática utilizando o pacote raster (HIJMANS, 2015) do programa

estatístico RStudio. Através da Área Continental (AC) e Área de Ocorrência da Espécie (AOE) calculamos a Área Relativa de Adequabilidade Climática (ARAC) ($ARAC = AC/AOE \cdot 100$) da distribuição da espécie em cada continente.

Resultados e Discussão

O modelo selecionado mostrou o ajuste adequado dos dados. A curva AUC e o índice de Boyce contínuo foram bons para os conjuntos de dados de treinamento/calibração e teste/avaliação (Tabela 2).

Tabela 2. Valores dos índices de avaliação (AUC e Índice de Boyce) para os modelos obtidos. Os valores para treinamento e avaliação do teste são mostrados na tabela.

Modelo	AUC _{training}	AUC _{test}	Boyce _{training}	Boyce _{test}
Histórico	0,9545	0,9485	0,9821	0,9229
SSP 4.5 (2080)	0,9559	0,9479	0,9868	0,9235
SSP 8.5 (2080)	0,9581	0,952	0,9904	0,9238

As variáveis climáticas que mais contribuíram para construção do modelo na projeção histórica e no cenário SSP 4.5 (2080) foram as variáveis de temperatura mínima do mês mais frio (Bio6) e temperatura média anual (Bio1). Enquanto no cenário SSP 8.5 (2080), as variáveis climáticas que mais contribuíram foram as de temperatura mínima do mês mais frio (Bio6) e sazonalidade da temperatura (Bio4), como observado na (Tabela 3). Estes resultados indicam que as variáveis de temperatura foram as mais importantes na determinação da adequabilidade climática de *U. arrecta* para as projeções estudadas.

Tabela 3: Valores de porcentagem de contribuição de cada variável bioclimática para a construção do modelo de distribuição.

Variáveis Bioclimáticas*	Porcentagem de contribuição		
	Histórico	SSP 4.5	SSP 8.5
Bio1	27,4	23,3	7,2
Bio4	9,5	17,1	15,3
Bio5	1,5	1,3	3,9
Bio6	37,9	30,8	52,2
Bio12	12,3	11,4	11,1
Bio14	6,8	6,3	2,6
Bio16	4,6	9,8	8,1

*Conforme correlação de Pearson com valores R^2 entre 0.7 e 0.8.

A distribuição geográfica mundial histórica da espécie é mostrada na figura 1, a adequabilidade climática da espécie na projeção histórica e para o ano de 2080 nos

cenários SSP 4.5 (baixa emissão de CO₂) e SSP 8.5 (alta emissão de CO₂) são apresentados na figura 2. Nossos resultados mostram que a adequabilidade climática baseada nos dados de distribuição de *U. arrecta* foi maior na América Central (Costa Rica), América do Sul (Brasil), com relevância nas regiões sul e sudeste do país e Oceania (Austrália). Na Oceania, precisamente na Austrália, a distribuição da espécie ocorre em praticamente todo o país. Assim, considerando a classificação climática de Köppen-Geiger (1931) podemos observar que a distribuição de *U. arrecta*, em áreas úmidas, está mais bem relacionada com temperaturas quentes dos climas tropical e subtropical, com ampla distribuição nos continentes da América Central, América do Sul e Oceania.

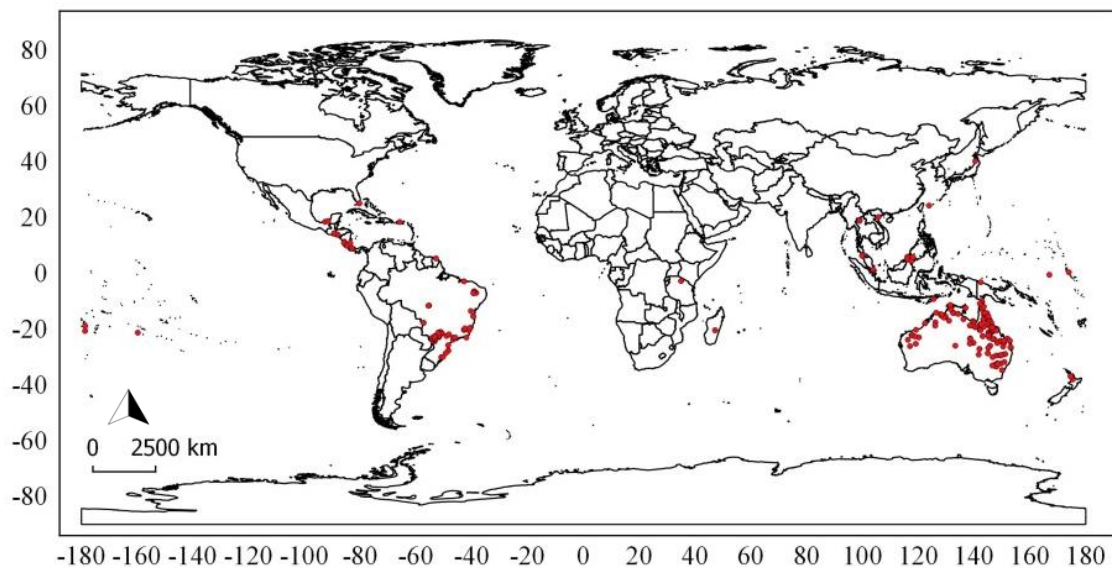
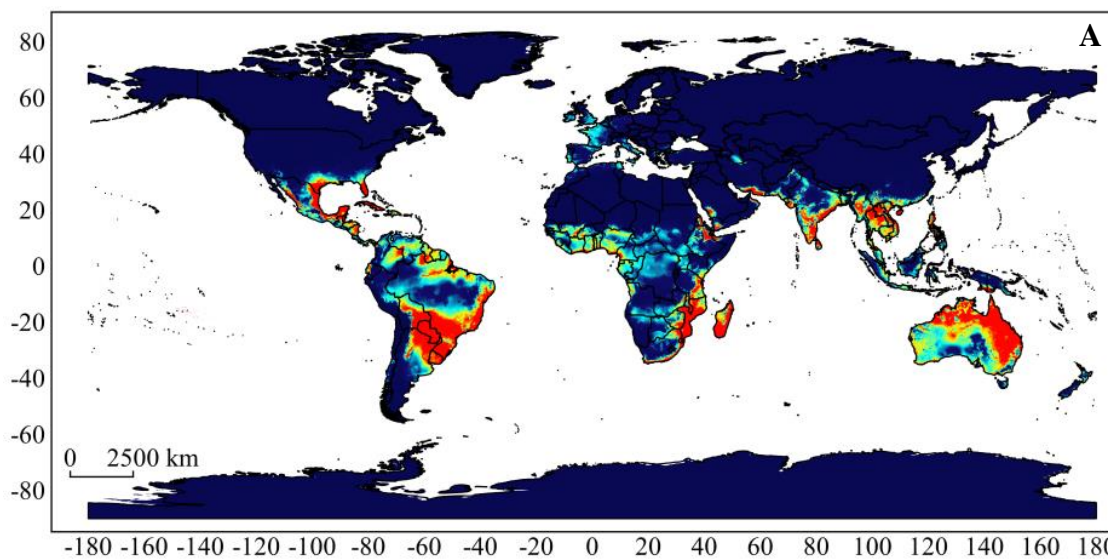


Figura 1. Distribuição geográfica global histórica da macrófita aquática *Urochloa arrecta*.



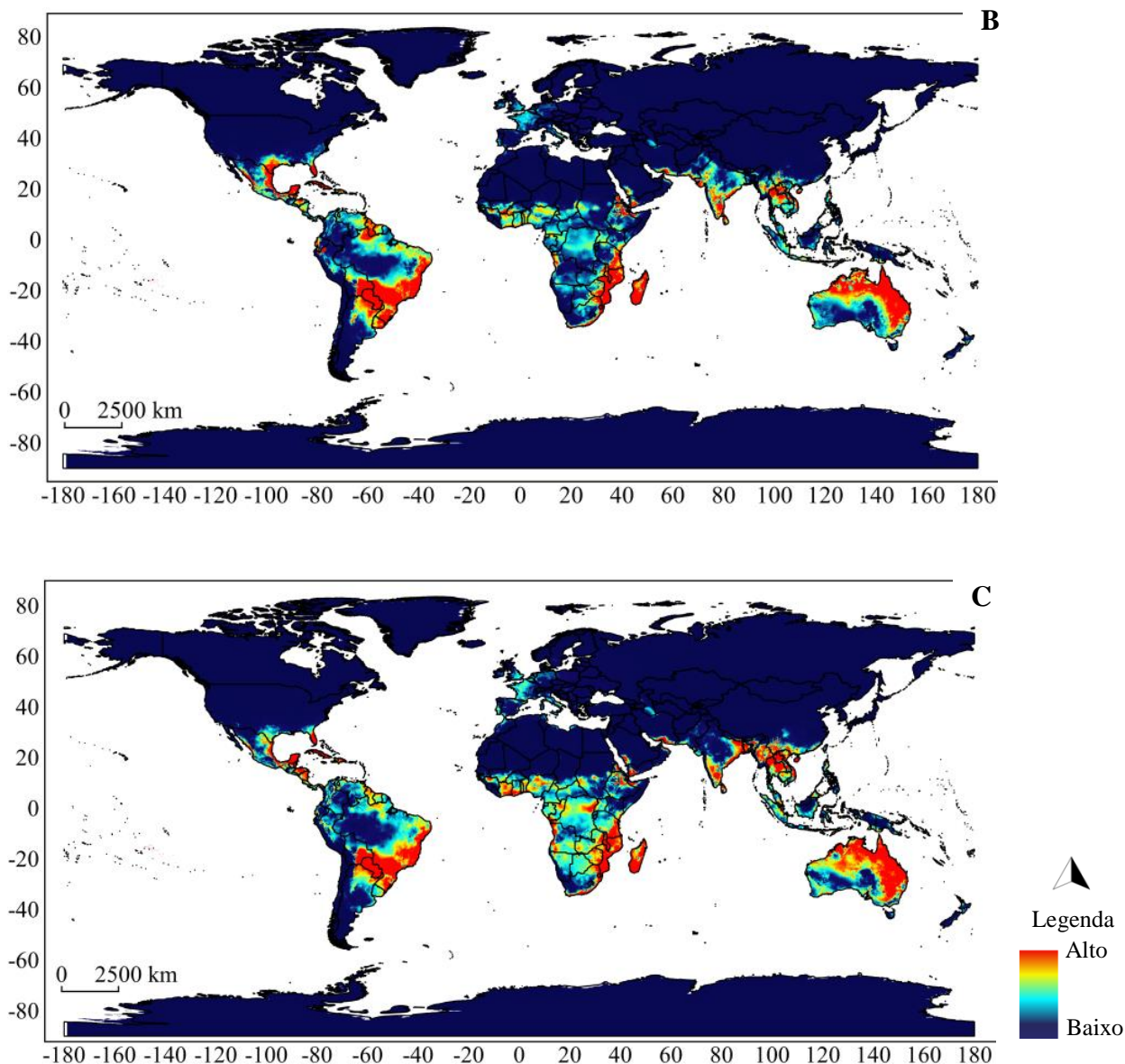


Figura 2. Adequabilidade climática global da macrófita aquática *Urochloa arrecta* na projeção histórica (A) e para o ano de 2080 nos cenários SSP 4.5 (B) e SSP 8.5 (C). Áreas em vermelho indicam regiões que são climaticamente mais adequadas para o estabelecimento da espécie, enquanto áreas em azul indicam regiões que são menos adequadas.

Nossos resultados também mostram que a ARAC de *U. arrecta* na projeção histórica (Fig. 3) foi respectivamente maior na América Central (83,6%), Oceania (61,6%), América do Sul (37%), do que na região onde a espécie é nativa, na África tropical (10,8%). Por outro lado, no geral, quando comparado à projeção histórica, o cenário mais otimista (SSP 4.5), projetado para o ano de 2080, apresentou redução da ARAC nestes continentes. No entanto, no cenário mais pessimista (SSP 8.5), ocorre aumento na ARAC de *U. arrecta*, principalmente na América Central.

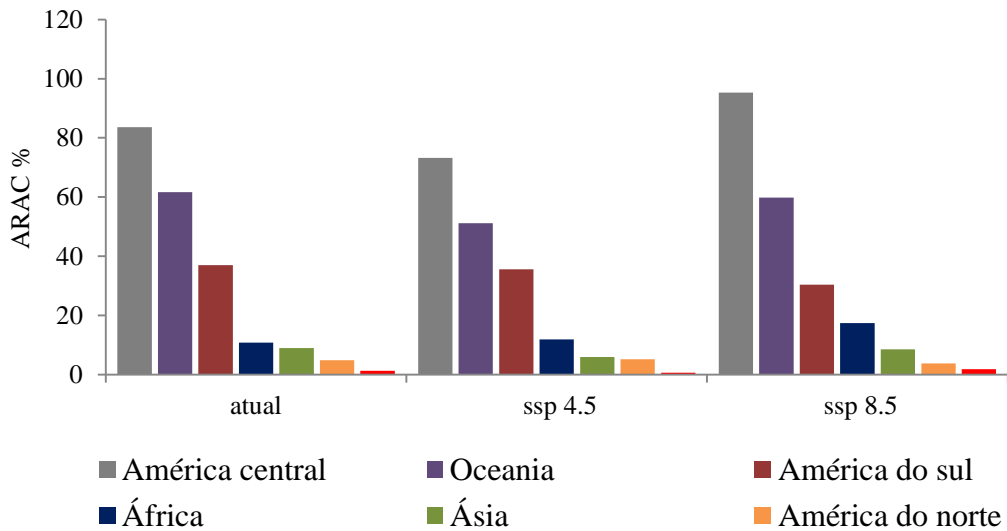


Figura 3. Área relativa da adequabilidade climática (ARAC) global da macrófita aquática *Urochloa arrecta* na projeção histórica e nos cenários SSP 4.5 e 8.5 projetados para o ano de 2080.

As SSPs são usadas para estimar possíveis cenários resultantes das mudanças climáticas e, nesse caso, o cenário mais pessimista mostra que a adequabilidade climática de *U. arrecta* crescerá em decorrência da elevação da temperatura. Segundo Liu *et al.* (2017) as espécies de plantas exóticas invasoras se beneficiam da elevação da temperatura média e das concentrações atmosféricas de CO₂ mais do que as plantas nativas. Para estes autores, apesar de variável, em geral, as condições atmosféricas geradas pela mudança global aumentarão a probabilidade da invasão de plantas exóticas no futuro.

Além disso, nossos resultados mostraram que as áreas úmidas mais adequadas para a distribuição de *U. arrecta* e, possivelmente, sujeitas a maior perda de biodiversidade, são as mesmas que estão nas condições climáticas da sua região de origem, na África tropical. Na América Central, mais precisamente na região da Costa Rica, muitas espécies exóticas invasoras que são pertencentes à família Poaceae também são originárias da África tropical, como, por exemplo, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) e estrela africana (*Cynodon nlemfuensis*). Estas espécies foram introduzidas intencionalmente para forragem bovina, mas se tornaram um problema para biodiversidade local (CHACÓN; SABORÍO, 2006). Embora não haja relato em literatura a respeito da invasão de *U. arrecta* na Costa Rica, a distribuição desta espécie já ocorre e, segundo o modelo apresentado (presente estudo), há uma tendência no

aumento da adequabilidade climática de *U. arrecta* no continente em resposta ao aquecimento global, o que poderia se tornar um problema para a biodiversidade local.

Na Oceania, em especial na Austrália, a distribuição de *U. arrecta* varia entre as regiões de clima úmido e quente (tropical), climas secos e quentes (Climas secos) e climas úmidos e temperatura amena (temperado). A presença de outras espécies exóticas invasoras na Austrália que mudaram para biomas diferentes de sua zona nativa é muito comum (GALLAGHER *et al.*, 2010). Assim, no caso de *U. arrecta*, pode ser possível que a variedade de climas se torne, temporalmente, um importante filtro biológico na seleção de indivíduos mais resistente à climas diferentes de sua faixa nativa. Na verdade, *U. arrecta* parece apresentar uma elevada plasticidade fenotípica, podendo suportar ambientes que até então eram considerados impróprios para a espécie.

Na América do Sul, por exemplo, especialmente no Brasil, a invasão de *U. arrecta* parece ter iniciado em ecossistemas de água doce (POTT *et al.*, 2011; AMORIM *et al.*, 2015, MICHELAN *et al.*, 2017), mas nos últimos anos também foi relatado a formação de bancos densos e extensos nos ecossistemas costeiros da região sul e sudeste do Brasil (REINERT *et al.*, 2007). No estuário do rio Itanhaém (Sudeste de São Paulo) *U. arrecta* está presente em região de água doce (NUNES *et al.*, 2019). No entanto, Santini *et al.* (2022) observou que em condições experimentais a espécie pode tolerar a salinidade intermediária deste estuário. No estuário do rio Guaraguaçu (Sul do Brasil), Bora *et al.* (2020) relatou a ocorrência de *U. arrecta* em regiões com salinidade intermediária. Segundo estes autores, isso é muito preocupante ao considerarmos que esta espécie pode mostrar respostas adaptativas rápidas para lidar com o aumento da salinidade e estender sua invasão para outros trechos fluviais como o manguezal. Além disso, de acordo com Galvanese *et al.* (2022) os efeitos negativos de *U. arrecta* no estuário podem ser influenciados pela estação do ano, sendo seus efeitos mais evidentes no inverno (período de seca), quando as comunidades de macrofitas estão em condições mais limitantes, e as características específicas locais tornam-se mais importantes, favorecendo maior diferenciação entre as comunidades.

Estes comportamentos apresentados por *U. arrecta*, como resistência ao aumento da temperatura, mas também à salinidade e seca são muito preocupantes, já que em resposta as mudanças climáticas, estima-se que estuários sofram com a elevação dos níveis dos mares, mas também com as secas frente as mudanças no regime das chuvas, aumentando o estresse fisiológico nas plantas dos pântanos devido à elevação nas concentrações de salinidade nos estuários (BUFFINGTON *et al.*, 2020).

Assim, considerando que *U. arrecta* se mostrou resistente as flutuações ambientais, é possível que a espécie no ambiente introduzido apresente vantagem adaptativa com relação às espécies nativas frente as mudanças climáticas.

Em relação ao continente africano, na região tropical, podemos observar que a ARAC também cresce na projeção futura para o cenário mais pessimista. No entanto, considerando que *U. arrecta* é uma espécie nativa desta região da África, é provável que encontre maior resistência em se tornar invasora, provavelmente porque a competição com outras espécies nativas equilibrem a população de *U. arrecta* neste ecossistema.

Este trabalho teve o intuito de prever a capacidade de distribuição mundial de *U. arrecta* através da adequabilidade climática. No entanto, maiores estudos sobre os fatores que influenciam na distribuição da espécie são importantes para compreender seu potencial de invasão em novos ecossistemas aquáticos. Em nosso estudo pudemos observar que a temperatura parece ser a principal variável para a adequabilidade climática de *U. arrecta* em uma escala global, indicando que as áreas úmidas de clima quente estão mais susceptíveis a invasão da espécie, principalmente na América Central. No geral, embora a projeção futura nos cenários SSP 4.5 e SSP 8.5 não tenha aumentando a ARAC da maioria dos continentes, é possível que o aumento da temperatura favoreça a propagação de *U. arrecta* em locais em que estas já estão estabelecidas.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Baltasar Fernandes Garcia Neto por toda assistência com programa RStudio, Prof. Dr. Ramiro O. Bustamante e a Dra. Estefany Goncalves por toda a ajuda com a metodologia deste trabalho.

Apoio financeiro

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

Referências

- AMORIM, S. R.; UMETSU, C. A.; CAMARGO, A. F. M. Effects of a non-native species of Poaceae on aquatic macrophyte community composition: a comparison with a native species. *Journal of Aquatic Plant Management*, 53, 191-196, 2015.
- ARAÚJO E. S.; VITULE, J. R. S.; PADIAL, A. A. A checklist of aquatic macrophytes of the Guaraguaçu River basin reveals a target for conservation in the Atlantic rainforest. *Acta scientiarum. Biol Sci* 43(1):e50542, 2021.
- BEAUMONT, L. J. *et al.* Modelling the impact of *Hieracium* spp. on protected areas in Australia under future climates. *Ecography*, v. 32, p. 757-764, 2009.
- BELLARD, C. *et al.* Will climate change promote future invasions? 1–9, 2013.
- BORA, L. S.; THOMAZ, S. M.; PADIAL, A. A. Evidence of rapid evolution of an invasive poaceae in response to salinity. *Aquatic Sciences*, 82(4), 1-16, 2020.
- BOUCHER, O.; DENVIL, S.; CAUBEL, A.; FOUJOLS, M. A. IPSL IPSL-CM6A-LR model output prepared for CMIP6 CMIP, 2018.
- BUFFINGTON, K. J. *et al.* Testing the interactive effects of flooding and salinity on tidal marsh plant productivity. *Aquatic Botany*, 164, 103231, 2020.
- CARNIATTO, N. *et al.* Feeding of fish inhabiting native and non-native macrophyte stands in a Neotropical reservoir. *Hydrobiologia* 847:1553–1563, 2020.
- CHACÓN, E.; SABORÍO, G. Análisis taxonómico de las especies de plantas introducidas en Costa Rica. *Lankesteriana* 6: 139–147, 2006.
- DOUGLAS, M M.; O’CONNOR, R. A. Effects of the exotic macrophyte, para grass (*Urochloa mutica*), on benthic and epiphytic macroinvertebrates of a tropical floodplain. *Freshw Biol* 48:962–971, 2003.
- ELITH, J.; LEATHWICK. J. R. Species distribution models: Ecological explanation and prediction across space and time. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 40:677–697, 2009.
- EYRING, V. *et al.* Overview of the Coupled Model Intercomparison Project Phase 6 (CMIP6), 2016.
- GALLAGHER, R. *et al.* Evidence for climatic niche and biome shifts between native and novel ranges in plant species introduced to Australia. *Journal of ecology*, 98(4), 790-799, 2010.
- GALVANESE, E. F. *et al.* Community stability and seasonal biotic homogenisation emphasize the effect of the invasive tropical tanner grass on macrophytes from a highly dynamic neotropical tidal river. *Aquatic sciences*, 84(2), 1-16, 2022.
- GILLARD, M. *et al.* Present and future distribution of three aquatic plants taxa across the world: decrease in native and increase in invasive ranges. *Biol Invasions* 19: 2159–2170, 2017.
- GONCALVES, E. *et al.* Global invasion of *Lantana camara*: Has the climatic niche been conserved across continents? *PLoS ONE* 9(10): e111468, 2014.

- GUISAN, A. *et al.* Predicting species distributions for conservation decisions. *Ecol Lett* 16: 1424–1435, 2013.
- HIJMANS, R. J. *et al.* Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965–1978, 2005.
- HIRZEL, A. H. *et al.* Randin and A. Guisan. 2006. Evaluating the ability of habitat suitability models to predict species presences. *Ecological Modelling*, 199(2): 142–152, 2006.
- KÖPPEN, W. *Grundriss der Klimakunde: Outline of climate science.* Berlin: Walter de Gruyter, P.388. 1931.
- LATINI, A. O. *et al.* Espécies Exóticas Invasoras de Águas Continentais no Brasil. Brasília: MMA, 791, 2016.
- LIU, Y. *et al.* Do invasive alien plants benefit more from global environmental change than native plants? *Glob Chang Biol* 23: 3363–3370, 2017.
- MACK, R. N. *et al.* Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological applications*, 10(3), 689–710, 2000.
- MAINKA, S. A.; HOWARD, G. W. Climate change and invasive species: double jeopardy. 102–111, 2010.
- MICHELAN, T. S. *et al.* Effects of an exotic invasive macrophyte (tropical signalgrass) on native plant community composition, species richness and functional diversity. *Freshw Biol* 55: 1315–1326, 2010.
- MICHELAN, T. S.; DAINEZ FILHO, M. S.; THOMAZ, S. M. Aquatic macrophyte mats as dispersers of one invasive plant species. *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, p. 169–171, 2017.
- NUNES, L. S. C. *et al.* Inventory of aquatic macrophyte species in coastal rivers of the São Paulo state, Brazil. *Oecologia Australis* 23: 829–845, 2019.
- PARKER, I. M. *et al.* Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. 3–19, 1999.
- PETERSON, A. T. Ecological niche conservatism: A time-structured review of evidence. *J Biogeogr* 38:817–827, 2011.
- PHILLIPS, S. J.; ANDERSON, R. P.; SCHAPIRE, R. E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190:231–259, 2006.
- POTT, V. J. *et al.* Aquatic macrophyte diversity of the Pantanal wetland and upper basin | Diversidade de macrófitas aquáticas do Pantanal e alta bacia. *Brazilian J Biol* 71:255–263, 2011.
- REINERT, B. L.; BORNSCHEIN, M. R.; FIRKOWSKI, C. Distribuição, tamanho populacional, hábitat e conservação do bicudinho-do-brejo *Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert e Teixeira, 1995 (Thamnophilidae). *Rev Bras Ornitol* 15:493–519, 2007.

SANTINI, R.; de LIMA, J. P.; GRATÃO, P. L.; CAMARGO, A. F. M. Evaluation of growth and oxidative stress as indicative of salinity tolerance by the invasive tropical aquatic macrophyte tanner grass. *Hydrobiologia*, 849 (5), 1261-1271, 2022.

SILVA, M. A. F. D.; HIGUCHI, P.; SILVA, A. C. D. Impacto de mudanças climáticas sobre a distribuição geográfica potencial de *Ilex paraguariensis*. *Rodriguésia*, 69(4), 2069-2079, 2018.

SCREMIN-DIAS, E.; Pott, V. J.; HORA, R. C. Nos jardins submersos da Bodoquena: guia para identificação de plantas aquáticas de Bonito e região. *ECOIA-Ecologia e Ação*, 1999.

SOBERÓN, J. Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecol Lett* 10:1115–1123, 2007.

STEPHENS, P. A. *et al.* Consistent response of bird populations to climate change on two continents. *Science* (80-) 352:84–87, 2016.

THOMAZ, S. M, CUNHA, E. R. D. The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. *Acta Limnol Bras* 22: 218–236, 2010.

THOMAZ, S.M.; ESTEVES, F.A. Comunidade de macrófitas aquáticas. In: Esteves, F.A. (Ed.), *Fundamentos de Limnologia*. Interciência, Rio de Janeiro 3: 101-132, 2011.

THUILLER, W. *et al.* Vulnerability of African mammals to anthropogenic climate change under conservative land transformation assumptions. *Global Change Biology* 12: 424-440, 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAS

A presente tese mostrou a importância da união de grandes áreas do conhecimento como a ecologia e fisiologia para compreender melhor a distribuição espacial de espécies estuarinas. A salinidade é um fator abiótico muito importante e está geralmente relacionada com disponibilidade de nutrientes no sedimento e consequentemente na distribuição de macrófitas aquáticas nos ecossistemas costeiros. Atualmente, estima-se que a elevação do nível dos mares (em decorrência da elevação da temperatura nas regiões polares) somada a maior intrusão de sal nos manguezais impulsionem distintamente a tolerância fisiológica das comunidades de macrófitas aquáticas nestes ambientes (BUFFINGTON *et al.*, 2020). Compreender como as plantas de estuários responderão às mudanças climáticas será importante para avaliar a resiliência futura dos pântanos, bem como desenvolver planos para gerenciamento e restauração de estuários que considerem os efeitos das mudanças climáticas.

Com base nisso, ao isolarmos o fator salinidade em nosso trabalho não encontramos efeitos pontuais da salinidade sobre a disponibilidade de nutrientes e no crescimento de *S. alterniflora* e *C. americanum*. Porém, encontramos que a salinidade pode ser importante na interação interespecífica. Em maior salinidade, houve uma limitação do crescimento de *C. americanum* por *S. alterniflora* e maior estresse oxidativo também em cultura mista de *C. americanum*, mostrando que a espécie foi menos resistente que *S. alterniflora* à interação interespecífica em alta salinidade. Para próximos projetos é possível que outras variáveis como, por exemplo, conteúdo de prolina também seja importante avaliar para quantificar o estresse salino na planta, considerando que a planta sob estresse pode apresentar aumento no conteúdo de prolina de até 100 vezes, em comparação ao observado em plantas cultivadas sob condições normais (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008).

Diferente do observado no experimento com *C. americanum* e *S. alterniflora*, nós encontramos que a salinidade reduziu o crescimento e aumentou o estresse oxidativo de *U. arrecta*, principalmente em alta salinidade. Contudo, a taxa de mortalidade inferior a 40% na salinidade intermediária pode ser um indicativo que a espécie apresenta ajustes fisiológicos que permite sua sobrevivência a esta salinidade. No capítulo III, também vimos que o aumento da temperatura pode favorecer a ocupação de *U. arrecta* nas áreas dos continentes com clima tropical. Assim, as respostas encontradas no capítulo II e III alertam para a capacidade de *U. arrecta* resistir aos impactos previstos em consequência das mudanças climáticas, como elevação da salinidade e temperatura. Por outro lado, embora seja bem documentado que *U. arrecta* domina leitões de macrófitas aquáticas e substitui espécies de plantas nativas (AMORIM *et al.*, 2015), seu sucesso durante a invasão também pode depender da riqueza e biomassa das espécies nativas do local invadido (MICHELAN *et al.*, 2013). Com isso, pode-se esperar que diferentes aspectos da biodiversidade sejam distintamente afetados pela ocorrência e dominância de *U. arrecta* nos ambientes aquáticos (GALVANESE *et al.*, 2022). Desse modo, estudos que avaliam outras variáveis nos ambientes naturais podem ser importantes no que diz respeito a estimar com maior precisão a capacidade de invasão/adaptação da espécie frente às alterações ambientais.

Referências

AMORIM, S.R. *et al.* Effects of a non native species of Poaceae on aquatic macrophyte community composition: A comparison with a native species. *Journal of Aquatic Plant*

Management 53: 191–196, 2015.

BUFFINGTON, K. J. *et al.* Testing the interactive effects of flooding and salinity on tidal marsh plant productivity. *Aquatic Botany*, 164: 103231, 2020.

GALVANESE, E. F. *et al.* Community stability and seasonal biotic homogenisation emphasize the effect of the invasive tropical tanner grass on macrophytes from a highly dynamic neotropical tidal river. *Aquatic sciences*, 84(2): 1-16, 2022.

MICHELAN, T. S.; THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. Native macrophyte density and richness affect the invasiveness of a tropical poaceae species. *PLoS ONE* 8(3):1–8, 2013.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35: 753-759, 2008.