

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

MARIA GORETI DE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE ADENSAMENTO EM POPULAÇÕES
DE *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (PONTEDERIACEAE)
SOBRE O POTENCIAL ALELOPÁTICO DA ESPÉCIE**

**Alfenas – MG
2014**

MARIA GORETI DE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE ADENSAMENTO EM POPULAÇÕES
DE *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (PONTEDERIACEAE)
SOBRE O POTENCIAL ALELOPÁTICO DA ESPÉCIE**

Trabalho de Dissertação apresentado como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL-MG. Área de concentração: Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Barbosa

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Hansen Madail

Colaboradores: Prof. Dr. Luís Alberto Beijo (ICEX-UNIFAL-MG), Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo (FCF/DACT - UNIFAL-MG) e Dra. Nádia Alves Campos (Bolsista PRODOC/CAPES)

Oliveira, Maria Goreti de.

Influência das condições de adensamento em populações de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (PONTEDERIACEAE) sobre o potencial alelopático da espécie / Maria Goreti de Oliveira – Unifal – MG, 2014.
80 f. -

Orientador: Sandro Barbosa

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2014.

Bibliografia.

1. Aguape. 2. Compostos Aleloquímicos. 3. Compostos fitoquímicos. I.
Barbosa, Sandro. II. Título.

CDD 581.7



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG
Programa de Pós-graduação – Ecologia e Tecnologia Ambiental

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas - MG CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1419 (Coordenação) / (35) 3299-1392 (Secretaria)
www.unifal-mg.edu.br/ppgecoambiental/



MARIA GORETI DE OLIVEIRA

“INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE ADENSAMENTO DE POPULAÇÕES DE *Eichhornia crapiss* (Mart.) Solms (PONTEDERIACEAE) SOBRE O POTENCIAL ALELOPÁTICO DA ESPÉCIE.”

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Pesquisa: Tecnologia Ambiental.

Aprovado em: 29/07/2014

Prof. Dr. Sandro Barbosa
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:  _____

Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:  _____

Prof. Dr. Marcelo Henrique dos Santos
Instituição: UFV

Assinatura:  _____

Dedico este trabalho a meus Pais Antonia e Sebastião.
Ao meu avô Vitor Francisco (*in Memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus: Energia e Luz que nos move e nos mantém, mesmo diante das intempéries do caminho.

Ao meu orientador Sandro Barbosa, agradeço por me abrir as portas de seu Laboratório e pela oportunidade que mudaria minha vida. Por todo o incentivo, conselhos e ensinamentos ao longo desses dois anos. Obrigada.

Ao meu coorientador Rafael Hansen Madail, todos os agradecimentos por estar comigo, me auxiliar nas dúvidas e nas dificuldades, por me apontar os erros e pelos sábios conselhos.

Aos meus pais Sebastião e Antonia que me proporcionaram chegar até aqui, ensinando valores morais e éticos e servindo de amparo e porto seguro nos momentos mais difíceis da minha vida.

Aos meus sogros Dulciana e Manoel e meus queridos cunhados Ana Carolina, Ivan e Isamara. Aos meus avós Vitor (in Memoriam) e Maria Augusta, exemplo de vida e perseverança que levarei para sempre comigo.

Ao João Henrique, companheiro de todas as horas e para todas as lutas, por ter me apontado esse caminho e caminhar ao meu lado. Agradeço pelo incentivo, força, paciência, ensinamentos... Esta vitória também é sua.

Às queridas e lindas Gabriela e Dona Ciomara por cuidar tão bem de nosso laboratório e por nos acolherem com tanto carinho e atenção. Pelos sorrisos e conversas ao longo desses dois anos... Jamais serão esquecidas!

Aos demais técnicos: Sílvia e Ana Flávia (Laboratório de Plantas Medicinais), Marina (Laboratório de Fisiologia), Gustavo (Laboratório de Processos Fermentativos), Vinícius Politi (Herbário) André (GC-MS) e tantos outros que me auxiliaram nas análises e me ajudaram nas horas de dúvidas.

Aos colegas de luta que caminharam comigo, agradeço pelas conversas pelos trabalhos de grupo, pela acolhida, e em especial a querida amiga Hetiene Marques, pela grande força e apoio na minha chegada ao BIOGEN!

Agradeço a Cleide, Paulo Thiago, por tudo. As queridas: Janice, Daniela, Tania e Marinete por manterem o setor sempre arrumado a nossa disposição e pelo café cheiroso que inunda o corredor e renova nossas forças.

Agradeço também ao Professor Luiz Alberto Beijo pela imensa paciência e por tudo que aprendi em suas aulas. É um verdadeiro Mestre.

Agradeço a todo corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Tecnologia Ambiental, em especial aos Professores Marcelo Polo, Breno Régis, Fábio Kummrow e Thiago Corrêa: o que aprendi com vocês não tem preço!

A CAPES pelo fomento por meio do AUX-PE-PRODOC 2646/2010.

Aos que por ventura eu tenha me esquecido neste momento e não estão aqui listados, meus sinceros pedidos de desculpas.

(...) “Terra, Terra és tão delicada.
Os teus homens não têm juízo
Esqueceram tão grande amor
Ofereces os teus tesouros
Mas ninguém dá o teu valor
Terra, Terra eu sou teu filho
Como as plantas e os animais
Só ao teu chão eu me entrego
Com amor, firmo tua paz.”

Milton Nascimento

RESUMO GERAL

Macrófitas são formas macroscópicas de vegetação aquática, importantes produtoras primárias, indispensáveis a homeostase dos ambientes em que estão inseridas. No entanto, a ocorrência de superpopulações dessas plantas em reservatórios vem se tornando um problema relevante no Brasil, especialmente em relação ao comprometimento dos usos econômicos desses ambientes, como pelos desequilíbrios ocasionados em decorrência do aumento de suas populações. Aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms] uma macrófita aquática flutuante apresenta alta capacidade de colonização de novos ambientes e facilidade na formação de superpopulações, e esta vantagem pode estar relacionada ao fato de esta espécie apresentar compostos alelopáticos, capazes de influenciar negativamente no desenvolvimento de plantas e microorganismos do ambiente vizinho. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial alelopático de extratos aquosos e etanólicos de folhas e rizomas/raízes de Aguapé, ocorrente no Reservatório de Furnas, região de Alfenas-MG. Para tanto, foram coletadas plantas de duas populações com diferentes condições de adensamento que foram divididas entre folhas e rizomas/raízes. Foram preparados extratos aquosos e etanólicos a 5% (p/v), que foram diluídos em 2,5% e 1,25%, para realização dos bioensaios de germinação e crescimento inicial, durante sete dias, utilizando-se como biotestes, sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). Foram avaliados: porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, número de plântulas normais, alongamento de raiz, biomassa fresca e biomassa seca. O efeito dos extratos sobre o índice mitótico e presença de anormalidades no material genético induzidas pelos extratos nos biotestes, foram analisados em bioensaios de 48 h. Foram observadas as fases de divisão celular, bem como anormalidades cromossômicas. A partir dos extratos etanólicos, foi realizada análise cromatográfica com o intuito de identificar compostos, que possam estar relacionados ao sucesso na colonização da espécie. Os resultados demonstraram que ambos os extratos apresentam efeito inibitório sobre germinação, crescimento inicial e proliferação celular e esse efeito foi dependente da concentração para a maioria dos parâmetros avaliados. Populações consideradas muito adensadas e rizomas/raízes de ambas as populações apresentaram maior efeito inibitório para o extrato etanólico. A análise cromatográfica identificou compostos como ácido alfa-linoleico, ácido margárico, ácido adípico, entre outros, reconhecidos na literatura por apresentar efeito alelopático contra o fitoplâncton. Diferenças entre estruturas vegetais e populações foram encontradas, sendo a maior quantidade de compostos identificados em rizomas/raízes e na população considerada adensada. Os resultados sugerem a existência do efeito alelopático em Aguapé e este efeito pode ocorrer também na natureza e estar relacionado as condições de adensamento.

Palavras chave: Aguapé. Adensamento populacional. Aleloquímicos. Citotoxicidade.

Fitotoxicidade. Perfil fitoquímico

ABSTRACT

Macrophytes are the macroscopic forms of aquatic vegetation, important primary producers, and essential for homeostasis of the environments where they are inserted. However, the occurrence of overpopulations of these plants in reservoirs is becoming an important problem in Brazil, especially in relation to impairment of economic uses of these environments, as caused by imbalances due to the increase of their populations. Water hyacinth [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms] a floating macrophyte has high ability to colonize new habitats and ease overpopulations in training, and this benefit may be related to the fact that this species present allelopathic compounds capable of negatively influencing the development plants and microorganisms from the surrounding environment. The aim of this study was to evaluate the allelopathic potential of aqueous and ethanol extracts of leaves and rhizomes / roots Aguapé, occurring in Furnas Reservoir, Alfenas, Minas Gerais State. For this purpose, plants of two populations with different density conditions were divided between leaves and roots / rhizomes were collected. Aqueous and ethanolic extracts were prepared at 5% (w / v), which were diluted in 2.5% and 1.25%, for the realization of germination bioassays and initial growth for seven days, using bioassays as seeds lettuce (*Lactuca sativa* L.). The germination percentage, germination velocity index, number of normal seedlings, root elongation, fresh weight and dry weight were evaluated. The effect of the extracts on the mitotic index and the presence of abnormalities in the genetic material induced by the extracts in bioassays, bioassays were analyzed in 48 h. Phases of cell division were observed, as well as chromosomal abnormalities. From the ethanol extracts, chromatographic analysis was performed in order to identify compounds that may be related to success in colonizing species. The results showed that both extracts have inhibitory effect on germination, early growth and cell proliferation and this effect was concentration dependent for most of the parameters evaluated. Populations considered very densely packed and rhizomes/roots of both populations showed greater inhibitory effect on the ethanol extract. Chromatographic analysis identified the compounds as alpha-linolenic acid, margaric acid, adipic acid, among others, known in the literature for presenting allelopathic effect against phytoplankton. Differences between plant populations and structures were found, the largest amount of compounds identified in rhizomes / roots and densely population considered. The results suggest the existence of allelopathic effect on water hyacinth and this effect may also occur in nature and is related conditions density.

Keywords: Water hyacinth. Population density. Alelochemical. Cytotoxicity. Phytotoxicity; Phytochemical profile.

LISTA DE TABELAS

Artigo I

- Tabela 1- Summary of ANOVA, Mean Square, the effects of aqueous and ethanol extracts in different concentrations, from the various plant structures of two populations of water hyacinth. (Pp-Population; Vs-Vegetable structure; Cc-Concentration)..... 40
Resumo da ANAVA, Quadrados médios, dos efeitos dos extratos aquosos e etanólicos, em diferentes concentrações, provenientes das diferentes estruturas vegetais de duas populações de Aguapé. (Pp-População; Ev-Estrutura vegetal; Cc-Concentração).
- Tabela 2- Means germination percentage (G%) and root elongation (AR) submitted the concentrations of aqueous extract in relation to P1 (high density) and P2 (low density) and plant structure leaf (L) and rhizome/root (RR) of water hyacinth..... 41
Médias de porcentagem de germinação-G e alongamento de raiz-AR nas concentrações de extrato aquoso em relação as populações P1-muito adensadas e P2- pouco adensadas e estruturas vegetais Folha- F e rizoma/raiz- RR de Aguapé.
- Tabela 3- Mean Germination velocity index (GVI); Germination percentage (G%); Number of seedlings (PN); Root elongation (RA); Fresh biomass (FB) and Dry biomass (DB), the concentrations of ethanolic extract in relation to populations at high density (P1) and low density (P2) and plant structure: Leaf (L) and rhizome/root (RR) of water hyacinth..... 42
Médias de Índice de Velocidade de Germinação-IVG; Porcentagem de Germinação-G.; Número de Plântulas-NP; Alongamento de Raíz-AR; Biomassa Fresca-BF e BiomassaSeca- BS, nas concentrações de extrato etanólico em relação as populações P1-muito adensadas e P2 –pouco adensadas e estruturas vegetais -Ev , Folha- F e Rizoma/raiz -RR de Aguapé.
- Tabela 4- Means square of the relating interactions compared to control for mitotic index (MI) and frequency of abnormalities (AF) for aqueous and ethanolic extracts..... 44
Quadrados médios das interações relativas em relação ao controle para Índice Mitótico (IM) e Anormalidades cromossômicas (AN) em relação aos extratos.
- Tabela 5- Mean frequency of abnormalities (FA) and mitotic index (MI) in relation to plant structures (Vs) and populations (P1) and high density (P2) low density compared to the control..... 45
Médias de frequência de anormalidades (FA) e Índice Mitótico (IM) em relação asestruturas vegetais (Ev) e populações (P1) Adensada e (P2) não adensada comparadas com o controle.

Artigo I

Tabela 1-	Compostos identificados nas diferentes populações e partes vegetais de Aguapé por GC-MS, em relação ao tempo de retenção (min).....	62
Tabela 2-	Tabela 2. Compostos identificados em extratos etanólicos de Aguapé com propriedades alelopáticas descritas na literatura.....	66

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1- Fotografia de Aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms]; Primeira coleta-Campo do Meio-MG. (1) Limbo (2) Pecíolo; (3) Rizoma/raiz. Fonte: OLIVEIRA, M.G. (2012)..... 19

SEGUNDA PARTE

Artigo I

- Figura 2- Graphics (a)-Germination velocity Index (GVI); (b)-Percentage of germination (G); (c)-Number of seedlings (SN); (d)-Root elongation (RE); (e)-Fresh biomass (FB) and (f)-Dry biomass (DB) compared concentrations of aqueous extract of leaf (LE) rhizome/root (RR) water hyacinthy. 42
Gráficos: (a)-Índice de velocidade de germinação (GVI); (b)-Porcentagem de germinação (G); (c)-Número de plântulas (SN); (d)-Alongamento de raiz (RE); (e)-Biomassa fresca (FB) e (f)-Biomassa seca (DB) em relação as concentrações de extratos aquoso de folha e rizoma/raízes de Aguapé.
- Figura 3- Graphics (a)-Germination velocity Index (GVI); (b)-Percentage of germination (G); (c)-Number of seedlings (SN); (d)-Root elongation (RE); (e)-Fresh biomass (FB) and (f)-Dry biomass (DB) compared concentrations ethanolic extract of leaves (LE) and rhizome/root (RR) water hyacinthy..... 43
Gráficos: (a)-Índice de velocidade de germinação (GVI); (b)-Porcentagem de germinação (G); (c)-Número de plântulas (SN); (d)-Alongamento de raiz (RE); (e)-Biomassa fresca (FB) e (f)-Biomassa seca (DB) em relação as concentrações de extratos etanólico de folha e rizoma/raízes de Aguapé.
- Figura 4- Phases of the cell cycle and chromosomal abnormalities analyzed and identified in meristematic cells of lettuce: a-interphase; b-prophase; c-metaphase; d-anaphase; e-telophase; f-micronucleus; chromosome g-bridge; h-C-metaphase; i lost-chromosome; and j-stickness (sticky chromosome). Bar: 5 μ m..... 44
Fases do ciclo celular e anormalidades cromossômicas analisadas e identificadas em células meristemáticas de alface. a-interfase; b-profase; c-metáfase; d-anáfase; e-telofase; f-micronucleos; g-ponte cromossômica; h-C-metáfase; i-cromossomo perdido; and j-stickness (cromossomo pegajoso). Bar: 5 μ m.

Figura 5a/b-	Mean mitotic index (MI) and frequency of abnormalities (AF) with the increase of concentration of aqueous extract..... Médias de índice mitótico (MI) e frequência de anormalidades (AF) em relação a concentração dos extratos aquosos.	46
Figura 6a/b-	Mean mitotic index (MI) and frequency of abnormalities (AF) with the increase of concentration of ethanolic extract..... Médias de índice mitótico (MI) e frequência de anormalidades (AF) em relação a concentração dos extratos etanólicos	46
 Artigo II		
Figura 1-	Graphical abstract.....	57
Figura 2-	Sobreposição de cromatogramas obtidos por GC-MS de extratos etanólicos de folhas de população em alto adensamento (vermelho) e em baixo adensamento (azul).....	64
Figura 3-	Sobreposição de cromatogramas obtidos por GC-MS de extratos etanólicos de rizoma/raízes de população em alto adensamento (vermelho) e em baixo adensamento (azul).....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF-	Abnormalities frequency
AF _C -	Chromosomal abnormalities frequency of the control
AF _R -	Relative frequency of chromosomal abnormalities
AF _T -	Chromosomal abnormalities frequency of the treatment
ANOVA-	Analysis of variance
B.O.D.-	Biochemical Oxygen Demand
COV _s -	Compostos Orgânicos Voláteis
DB-	Dry biomass
FB-	Fresh biomass
G%-	Germination percentage
GEIB-	Grupo Especialista em Invasiones Biológicas- León - España
GVI-	Germination velocity index
HCN-	Ácido Cianídrico
IUCN-	International Union for Conservation fo Nature
L-	Leaves-Leaf
RR-	Root/rhizome- Roots/rhizomes
MI-	Mitotic index
MI _C -	Mitotic index of the control
MI _R -	Relative mitotic index
MI _T -	Mitotic index of the treatment
NS-	Number of seedlings
RE-	Root elongation
RR-	Root/rhizome
UHE-	Usina hidrelétrica de estreito

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	DESENVOLVIMENTO	17
2.1	MACRÓFITAS AQUÁTICAS	17
2.2	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) SOLMS	19
2.3	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS OU METABÓLITOS ESPECIAIS	21
2.4	ALELOPATIA EM AMBIENTES AQUÁTICOS	22
2.5	RESERVATÓRIO DE UHE (USINA HIDRELÉTRICA DE ESTREITO) FURNAS GD	24
3	JUSTIFICATIVA	25
4	OBJETIVOS	26
4.1	OBJETIVO GERAL	26
4.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	26
	REFERÊNCIAS	27

SEGUNDA PARTE

35

Artigo I: Influence of denser planting in the allelopathic potential of <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms (Pontederiaceae)		35
	ABSTRACT	36
1	INTRODUCTION	37
2	MATERIAL AND METHODS	37
2.1	Identification and sample collection	37
2.2	Preparing and obtaining of extracts	38
2.3	Bioassay of phytotoxicity	38
2.4	Mitotic index and cytogenotoxic effect	39
2.5	Data analysis.....	39
3	RESULTS	40
3.1	Physical and chemical characteristics of the extracts	40
3.2	Phytotoxicity	40
3.3	Cytogenotoxic effect	45
4	DISCUSSION	47
5	CONCLUSIONS	51
6	REFERENCES	52

Artigo II: Prospecção de compostos orgânicos voláteis com potencial alelopático em estruturas de <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms.....		61
	ABSTRACT	63
1	INTRODUÇÃO	64
2	PARTE EXPERIMENTAL	65
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	66
4	CONCLUSÃO	74
5	MATERIAL SUPLEMENTAR	75
6	REFERÊNCIAS	77
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

1 INTRODUÇÃO

Macrófitas aquáticas são formas macroscópicas de vegetação, importantes produtoras primárias e, segundo Tundisi e Tundisi (2008), apresentam diversas formas biológicas de vida, podendo variar de anfíbias até epífitas.

A ocorrência de explosões populacionais de macrófitas em reservatórios artificiais vem se tornando um problema relevante no Brasil, especialmente em relação ao comprometimento da eficiência energética em algumas UHEs (Usina hidrelétrica de estreito); bem como pelos desequilíbrios ocasionados nos ecossistemas aquáticos em decorrência deste desequilíbrio (THOMAZ; BINI, 2002). No entanto as macrófitas possuem grande importância ecológica e sua manutenção nos ecossistemas depende obrigatoriamente da aquisição de conhecimentos que possibilitem o seu manejo correto, capazes de promover a sua preservação e o controle de suas populações (THOMAZ, 2002). Nesse contexto, o estudo da atividade alelopática dessas espécies como estratégia ecológica de competição pode ser de grande valia no entendimento da sua dinâmica e no manejo.

Aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms], macrófita aquática flutuante livre é uma espécie que pode apresentar crescimento excessivo em corpos d'água. Abundante em todo Brasil e em quase todas as regiões do mundo, é capaz de se estabelecer em vários ambientes, formando superpopulações (ALVES; SANTOS, 2002); e uma vasta literatura tem a apresentado como um potencial invasor, causador de sérios danos ecológicos e econômicos, fazendo com que ela esteja hoje, entre as 100 mais perigosas plantas invasoras do mundo pela IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) (TELLEZ et al. 2008).

Estudos realizados com Aguapé também demonstraram seu potencial alelopático em relação a diversos tipos de algas (JIN et al. 2003; SHANAB et al. 2010), porém poucos trabalhos demonstram esse potencial em vegetais terrestres ou que o relacione as condições de adensamento da espécie.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade alelopática e os compostos orgânicos voláteis envolvidos nessa atividade, de aguapés de existentes no Reservatório de Furnas, na região de Alfenas - MG, bem como investigar se esta capacidade está relacionada às condições de adensamento da espécie.

2 DESENVOLVIMENTO

Os textos que se seguem referem-se à revisão da literatura atualizada acerca dos temas abordados nesse projeto, com intuito de gerar embasamento teórico para a análise e discussão dos resultados.

2.1 MACRÓFITAS AQUÁTICAS

Macrófitas aquáticas ou hidrófitas são vegetais vasculares originalmente terrestres, visíveis a olho nu, cujas partes fotossinteticamente ativas podem apresentar-se permanentemente, ou por alguns períodos do ano, parcial ou totalmente submersas; ou ainda flutuantes em corpos d'água dulciaquícolas ou salobros (IRGANG; GASTAL JR, 1996; BORNETTE; PUIJALON, 2011).

Esses vegetais apresentam adaptações anatômicas, originadas de seu retorno ao ambiente aquático, como a redução da cutícula e dos sistemas de sustentação, bem como alterações estruturais das folhas e presença de aerênquima o que lhes permitem crescimento em um gradiente que compreende desde solos saturados até submersos na coluna d'água e sua distribuição no ambiente aquático depende do grau da adaptação da espécie, podendo estar a diferentes distâncias da superfície da água (IRGANG; GASTAL JR, 1996).

Irgang et al., (1984), sugeriu uma classificação onde as plantas aquáticas foram divididas em sete formas biológicas: (1) *submersas fixas*: fixas no substrato; (2) *submersas livres*: não fixa ao substrato; (3) *flutuantes fixas*: com alguma ou todas as estruturas flutuantes na superfície e raízes fixas ao substrato; (4) *flutuantes livres*: não fixa ao substratos; (5) *anfíbias*: geralmente fixas em margens e tolerantes a períodos de seca; (6) *emergentes*: fixa, com parte vegetativa e reprodutiva emergendo parcialmente na superfície, e (7) *epífitas*: se desenvolve sobre outra planta aquática e é a mais aceita dentre os estudiosos da área (POT; POT, 2000; HENRY-SILVA et al. 2005; PIVARI et al. 2008).

Em macrófitas, a produção primária pode ser controlada por diversos fatores limitantes, dentre os quais se destacam radiação solar, temperatura, velocidade e variação nos níveis de água, além da disponibilidade de nutrientes e de carbono inorgânico. Tais fatores agem conjuntamente e influenciam as características fotossintéticas das macrófitas, tanto em

escalas diárias como sazonais fazendo com que, em condições ambientais limitantes, a fotossíntese seja suficiente apenas à sobrevivência do indivíduo, enquanto em condições consideradas ótimas, passa a ser observada alta produtividade e conseqüentemente, grande proliferação desses vegetais (CAMARGO et al. 2003; BIUDES; CAMARGO, 2008; POMPÊO, 2008).

Macrófitas possuem importantes funções ecológicas sendo capazes de promover o aumento da heterogeneidade espacial, possibilitando habitats favoráveis a diversos organismos como aves, peixes e macroinvertebrados (ESTEVES; CAMARGO, 1986); na proteção e estabilidade das margens (THOMAZ; BINI, 2002) bem como no armazenamento de nutrientes, influenciando características físico-químicas dos corpos d'água onde se instalam (PAGIORO; THOMAZ, 1999). Em regiões tropicais, esses vegetais atuam como fornecedores de matéria orgânica para a cadeia detritívora (PERET; BIANCHINI, 2004).

O processo de colonização do ambiente por macrófitas se dá por sucessão natural e, ocorrerá na maioria dos ambientes lênticos. No entanto nos reservatórios, onde as mudanças se processam mais rapidamente que em ambientes naturais em virtude do envelhecimento precoce ocasionado por processos mais rápidos de assoreamento e atividades humanas como desmatamento e atividade agrícola, o desenvolvimento de bancos de macrófitas ocorre mais rapidamente (THOMAZ, 2002).

Devido ao grande potencial para formação de superpopulações, as macrófitas podem influenciar negativamente na dinâmica dos ecossistemas e dentre os problemas mais frequentemente observados encontram-se a redução da biodiversidade, prejuízos à prática de esportes náuticos, obstrução de tubulações e canais de irrigação e, mais recentemente, prejuízos à produção de energia em usinas hidrelétricas de estreito (UHEs). Como conseqüência, o termo “daninha” vem sendo empregado com bastante frequência na literatura ao se tratar de macrófitas (THOMAZ, 2002; ROTTA et al. 2010).

Martins et al. (2009) relatam que aguapés (gênero *Eichhornia*) têm sido motivo de constante preocupação para Companhia Light no Estado do Rio de Janeiro, devido a formação de superpopulações. Explosões populacionais de macrófitas flutuantes foram observadas também nos Lagos Kariba (THOMAZ; BINI, 2002) e Vitória (KATEREGGA; STERNER, 2009) na África e no Reservatório de Tucuruí, no Brasil (THOMAZ; BINI, 2002).

Estudos envolvendo macrófitas aquáticas no Brasil têm sido realizados de forma crescente, notadamente nas duas últimas décadas, impulsionados principalmente pelo interesse na biodiversidade e manejo de ecossistemas aquáticos, em especial os alterados pela ação antrópica (THOMAZ; BINI, 2002; PIVARI et al. 2011).

2.2 *Eichhornia crassipes* (Mart.) SOLMS

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms, popularmente conhecida por Aguapé, Gigoga e Jacinto d'água é uma macrófita aquática pertencente à família Pontederiaceae (MEHRA; FARAGO, BANERJEE, 2000; SHANAB; SHALABY, 2012).

Foi descrita pela primeira vez em 1823, pelo naturalista alemão Carl Friedrich Philipp Von Martius enquanto estudava a flora do Brasil, que a denominou como *Pontederia crassipes*. Seis anos mais tarde, o pesquisador Solms a incluiu no gênero *Eichhornia*, descrito por Kuntz em 1829 (PEREIRA et al. 2011). Atualmente encontra-se distribuída em todo Brasil e em várias regiões do mundo, disseminada nos trópicos e subtropicais entre 39° N e 39° S, desenvolvendo-se em múltiplos ambientes com diferentes características climáticas (PERNA; BURROWS, 2005; MILNE et al. 2006; REN; ZANG, 2007).

E. crassipes é definida como uma angiosperma monocotiledônea de até 1 metro de altura, com sistemas de raízes fibrosas com uma grande quantidade de pêlos; folhas dispostas em rosetas, espongiiformes com aproximadamente 10 cm, geralmente largas e de coloração verde escura; possui bainha, limbo e pecíolos que apresentam grande quantidade de aerênquima, o que possibilita sua forma biológica flutuante (SIMPSON; SANDERSON, 2002). As flores possuem pétalas em tons que variam do lilás claro ao azul escuro, com o centro da pétala superior em tom amarelado, dispostas em densas espigas projetadas para fora da planta. Os caules aquáticos são tenros com aerênquima bem desenvolvido; são clorofilados e, assim sendo, realizam fotossíntese (THOMAZ, 2003) (FIGURA 1).

Figura 1- Fotografia de Aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms]; Primeira coleta-Campo do Meio-MG.



Fonte: OLIVEIRA, M.G. (2012).

Aguapé pode reproduzir tanto por propagação vegetativa, como sexuadamente. A primeira, adotada pela espécie em climas mais quentes, ocorre mais rapidamente, com a formação de um estolão na base do pecíolo, de onde surge uma nova planta, que após algum

tempo se desprende da mãe (MARTINS et al. 2005). Já a reprodução sexuada ocorre, sobretudo onde o Aguapé é nativo. No Brasil, a floração ocorre no verão e as flores permanecem abertas por um ou dois dias. Quando todas as flores murcham, a haste floral se inclina para dentro d' água e as sementes são liberadas em direção ao fundo, permanecendo vivas por até 15 anos (FRANÇA et al. 2012).

Aguapé constitui uma das principais produtoras primárias em ambientes lênticos, adquirindo extrema importância inclusive, como abrigo natural para organismos aquáticos (PETRUCIO; ESTEVES, 2000; LOPES et al. 2006) e pode ser destinada para o aproveitamento em várias atividades tais como: fonte de biocombustíveis (KIVAIASI; MTELA, 1997; SINGHAL; RAI, 2003; GAO et al. 2013; SAPRATIV et al. 2013); tratamento de efluentes de esgotos industriais e domésticos (ROQUETTE PINTO, 1987; SINKALA et al. 2002; PALMA-SILVA, et al. 2012; SILVA, et al. 2014); fonte de fertilizantes para uso na agricultura (GAJALAKSHIMI et al. 2002) e meio para remoção de metais tóxicos da água (SOLTAN; RASHED, 2003; GIRI; PATEL; MANDAL, 2012).

No entanto, devido à alta capacidade de multiplicação e sucesso na competição com outras espécies, Aguapé vem tomando caráter invasor, causando sérios danos ecológicos e econômicos tais como entupimento de canais, prejuízos a navegação e a produção de energia, obstrução da entrada da luz solar, com prejuízos a fotossíntese, sendo responsável por mudanças drásticas em comunidades vegetais e animais de água doce; alterações nas propriedades físico-químicas da água como diminuição de temperatura, pH, demanda biológica de oxigênio (carga orgânica) e de nutrientes; além de servirem como criatórios de insetos e outros vetores de doenças em humanos (DANTAS et al. 2001; NEVES; FOLONI, PITELLI, 2002; TÉLLEZ, et al. 2008).

Aguapé é capaz de aumentar sua massa verde em 15% ao dia acumulando 800 kg por hectare, dobrando-a a cada seis ou sete dias e em condições ótimas pode produzir até 480 toneladas de massa verde por hectare/ano (ALVES et al., 2002). Ainda segundo o autor, um lago cuja superfície é coberta por aguapés pode perder de duas a oito vezes mais água por evapotranspiração do que se estivesse com a superfície livre.

Diante de tais problemas, Aguapé é considerada como a mais séria planta daninha aquática flutuante e está listada entre as 100 mais perigosas plantas invasoras pela IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) e entre as 20, pela GEIB (*Grupo Especialista em Invasiones Biológicas*) da Espanha (TELLEZ, et al. 2008).

Diversos estudos vêm sendo realizados com Aguapé (JIN et al. 2003; SHANAB et al. 2010), que demonstram efeito inibitório sobre o crescimento de diversos tipos de algas, no entanto pouco se sabe sobre seus efeitos em vegetais de ambientes terrestres.

2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS OU METABÓLITOS ESPECIAIS

Metabólitos secundários, também conhecidos como metabólitos especiais ou princípios bioativos, são compostos orgânicos produzidos pelas plantas, que não estão diretamente envolvidos em seu crescimento, desenvolvimento ou reprodução; tendem a ser mais complexos que os metabólitos primários e apresentam importância econômica para indústria de medicamentos, cosmética e para fins nutritivos, além de exercerem importante papel ecológico (BARTWAL et al. 2013).

Os metabólitos secundários podem ser genericamente agrupados em 4 grandes classes: (1) *terpenos*, onde encontramos hormônios, pigmentos e os óleos essenciais; (2) *compostos fenólicos*: cumarinas, flavonoides, taninos e ligninas; (3) *glicosídeos*: saponinas, glicosídeos cardíacos, cianogênicos e glucosinalatos, e (4) *alcalóides* (GARCIA; CARRIL, 2009; COLOMA et al. 2011).

Os terpenos ou terpenóides constituem o grupo mais numeroso dos metabólitos secundários com uma variedade de mais de 4000 moléculas diferentes. Podem ser insolúveis em água e derivam-se da união de unidades de isoprenos (cinco átomos de carbono) e sua classificação deriva-se do número de unidades de isopreno que se formam: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, dentre outros (SANTOS 2004).

Os compostos fenólicos, fenilpropanóides ou polifenóis são compostos que apresentam um anel aromático e um radical hidroxilo. É um grupo amplamente variado que abrange os ácidos fenólicos e os polímeros taninos e ligninas, bem como os flavonóides (CARVALHO; GOSMANN, SCHENKEL, 2004).

Os glicosídeos são metabólitos que possuem ao menos uma molécula de açúcar ligada a um grupo hidroxila e atuam na defesa vegetal. São divididos em três grupos: as saponinas, onde se encontram os glicosídeos esteroides, glicosídeos esteróides alcalóides e os glicosídeos triterpenos (HENRIQUES et al. 2004).

Os alcalóides constituem um grupo de mais de 15.000 compostos e têm em comum a solubilidade em água e apresentam ao menos um átomo de nitrogênio em sua

molécula, sendo a maioria heterocíclicas e alguns nitrogenados alifáticos ou cíclicos (GARCIA; CARRIL, 2009).

Os metabólitos secundários são capazes de executar ampla gama de funções de proteção, inclusive antimicrobiana, fotoprotetora, de estabilização e sinalização, em situações de estresse biótico (mediados por microorganismos patogênicos, ervas daninhas, fungos e outros predadores); e abióticos como o contato com poluentes do ar, temperaturas extremas, incluindo o congelamento, seca, alta intensidade luminosa, salinidade e danos mecânicos. Além disso, os metabólitos secundários que denotam cor e odor são responsáveis por atrair polinizadores e dispersores (ALBURQUERQUE; VELÁZQUEZ, VASCONCELLOS NETO, 2006).

Em muitas plantas, os metabólitos secundários também podem reduzir a disponibilidade de proteínas para herbívoros, bem como promover defesa química contra pragas e patógenos; os alcalóides, terpenóides e glicosídeos podem facilitar ou dificultar a preferência alimentar de formigas (MELO; SILVA-FILHO, 2002). Compostos fenólicos, principalmente taninos, apresentam reconhecida função inibitória contra ação de herbívoros (MONTEIRO et al. 2005) e podem apresentar ação fungitóxica, antibacteriana e antivirótica (STANGARLIN et al. 2011) podendo estar envolvidos em mecanismos tanto bioquímicos quanto estruturais de resistência em plantas (NICHOLSON, 1995). Saponinas também podem estar relacionadas à defesa de plantas contra fitopatógenos (OSBOURN, 1996). Do mesmo modo, devido à toxicidade do HCN (Acido cianídrico), composto originado da degradação de glicosídeos cianogênicos por enzimas hidrolíticas da plantas, este tem sido relacionado com a defesa contra herbívoros e fitopatógenos (STANGARLIN et al. 2011).

2.4 ALELOPATIA EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Alelopatia é definida como a habilidade de uma planta influenciar no desenvolvimento de outra planta ou microorganismos, por meio da produção e liberação de compostos químicos (CHENGXU et al. 2011; BRITO; SANTOS, 2012; GROVE et al. 2012). Esta habilidade é considerada importante fator na determinação das interações bióticas podendo influenciar na sucessão vegetal, na formação clímax, nas composições das comunidades e na produtividade; sendo importante em ambientes naturais e agroecossistemas (AN, 2005; BLANCO, 2007).

Dentre as substâncias com atividades alelopáticas destacam-se os taninos, glicosídeos cianogênicos, alcalóides, sesquiterpenos, flavonóides, ácidos fenólicos, dentre outros, podendo ser sintetizados em diferentes órgãos das plantas, como raízes, folhas, flores e frutos; entretanto, suas concentrações nos tecidos vão depender dos aspectos nutricionais do solo, temperatura e quantidade de água disponível (DELACHIAVE; RODRIGUES, ONO, 1999; BORELLA et al. 2009). Muitos autores, buscando investigar o potencial alelopático de espécies utilizaram desde folhas, caules e rizomas e raízes; gemas florais e frutos (HONG et al. 2003; HAN et al., 2008); folhas secas (MARASCHIN-SILVA; ÁQUILA, 2006) e frescas (SOUZA FILHO et al. 2006) e até plantas inteiras (KATO-NOGUCHI, 2003).

A produção de metabólitos está intimamente relacionada à autodefesa da planta ocasionada pela liberação dos aleloquímicos por diversas rotas como volatilização, lixiviação, exsudação radicular e decomposição microbiana, e as taxas de liberação destes compostos dependerão da rota de liberação, concentração nos tecidos bem como das condições ambientais (MACÍAS et al. 2007).

Uma vez liberados no meio ambiente, os aleloquímicos podem atuar sobre a planta alvo tanto de forma direta, provocando alterações em níveis celulares e metabólicos, incluindo modificações no funcionamento de membranas, na absorção de água e nutrientes bem como na atividade fotossintética, respiratória, fitohormonal, dentre outras; quanto indireta: provocando alterações nas características nutricionais do solo e também nas populações ou nas atividades dos organismos que o habitam (FERREIRA; AQUILA, 1999; BORELLA et al. 2009).

Em ambientes aquáticos todos os grupos de produtores primários possuem espécies capazes de produzir e liberar compostos alelopáticos, no entanto os processos ocorrem de forma diferenciada, uma vez que a movimentação desses aleloquímicos em meio aquosos ocorre à maior velocidade que no solo (GROSS, 2003; TAKAO; RIBEIRO, LIMA, 2012). Ainda para Gross (2003), a presença da água pode também limitar a efetividade de ação de alguns aleloquímicos, uma vez que para atingir o organismo-alvo de forma efetiva, estes compostos devem ser hidrofílicos e apresentarem-se em concentrações efetivas, pois a diluição nesses ecossistemas exerce grande influência sobre o efeito dessas substâncias.

Os estudos de alelopátia em ambientes aquáticos tornaram-se mais abrangentes a partir da primeira metade do Século XX, com relatos que relacionavam interações alelopáticas entre macrófitas e fitoplâncton, e desde então, diversas espécies já foram identificadas, como produtoras de compostos alelopáticos contra algas e cianobactérias (HU; HONG, 2008). Estudo com *Pistia stratiotes* (repolho d'água) realizado por Greca et al. (1999) verificou a

ação inibitória no crescimento de algas e identificou na espécie vários metabólitos secundários com alguma atividade alelopática; Takao; Ribeiro, Lima (2011) ao avaliar o efeito inibitório de 25 espécies macrófitas, identificou em 11 delas, possível efeito alelopático.

2.5 RESERVATÓRIO DE UHE (USINA HIDRELÉTRICA DE ESTREITO) FURNAS GD3

O Reservatório de Furnas, que abastece a UHE Furnas compreende uma área de aproximadamente 16.507 km² e abrange 48 municípios com uma população estimada de 842.260 de habitantes. A UHE Furnas tem sua barragem localizada no curso médio do Rio Grande, no trecho denominado “Corredeiras das Furnas”, entre os municípios de São José da Barra e São João Batista do Gloria (MG).

Abrange dentre outros municípios, as cidades de Aguanil, Alfenas, Boa Esperança, Botelhos, Campo do Meio, Campos Gerais e Fama. Sua construção iniciou-se em julho de 1958, tendo a primeira unidade entrada em operação em setembro de 1963 (ALAGO, 2014).

O clima predominante é o tropical de altitude, com temperaturas médias anuais entre 21 °C e 23 °C, com temperaturas na primavera e verão chegando a 28 °C e 30 °C diárias (BRASIL, 2014).

Dos 48 municípios que formam a bacia hidrográfica, 15 (31,3%) tem nas atividades agropecuárias sua principal fonte de riqueza, e os demais dedicam suas atividades ao setor de serviços. O setor de turismo é bem desenvolvido, bem como a piscicultura (BRASIL, 2014).

3 JUSTIFICATIVA

Estudos ecológicos relacionados à macrófitas aquáticas em ecossistemas brasileiros demonstram a contribuição dessas comunidades para a homeostase dos ecossistemas, atuando como produtores, servindo de alimento e abrigo para diferentes espécies. No entanto, quando ocorrem explosões populacionais dessas espécies, principalmente em reservatórios de abastecimento e geração de energia, pode haver perda de diversidade de espécies e prejuízos aos usos econômicos e turísticos destes ambientes, principalmente no que se refere ao comprometimento da eficiência energética.

Aguapé notadamente vem ocasionando problemas devido a alta capacidade de formação de superpopulações em diversos reservatórios do Brasil e do mundo. No UHE Furnas, região de Alfenas, vem-se observando formações deste tipo nessa espécie, no entanto pouco ainda se sabe sobre seu comportamento nesse ambiente.

Assim, o conhecimento da atividade alelopática, bem como a caracterização de grupos de metabólitos secundários presentes em Aguapé e sua relação com a capacidade de desenvolvimento de superpopulações é de grande interesse, visto que estudos como esses geram importantes informações sobre a biologia da espécie além de fornecerem subsídios para tomada de decisões quanto ao seu manejo e controle.

4 OBJETIVOS

A sessão a seguir trata dos objetivos gerais e específicos pretendidos neste projeto.

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade alelopática correlacionando com o perfil cromatográfico de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Aguapé) em populações com diferentes condições de adensamento, ocorrentes no Reservatório de Furnas, na região de Alfenas - MG, bem como investigar se as condições de adensamento influenciam na atividade alelopática da espécie.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o potencial alelopático de diferentes concentrações de extratos etanólico e aquoso de folhas, rizomas e raízes de Aguapé provenientes de populações em diferentes condições de adensamento, ocorrentes no Reservatório de Furnas, em bioensaios de germinação e crescimento inicial utilizando como biotestes alface (*Lactuca sativa* L.);
- ✓ Avaliar índice mitótico e o efeito citogenotóxico no tecido meristemático de pontas de raiz de alface exposta aos tratamentos com extratos de folhas, rizomas e raízes de Aguapé provenientes das diferentes populações;
- ✓ Realizar o perfil cromatográfico dos extratos etanólicos de folhas e rizomas/raízes de plantas de Aguapé de diferentes condições de adensamento, e que possam oferecer vantagens competitivas a espécie.

REFERÊNCIAS

Associação dos Municípios do Lago de Furnas. ALAGO. Disponível em: <<http://www.alago.org.br/>>. Acesso em: 20 jun. 2014

ALBURQUERQUE, L.B. et al. Composición florística de Solanaceae y sus síndromes de polinización y dispersión de semillas em bosques mesófilos neotropicales. **Revista de Ciencia y Tecnología de América**, v. 31, n. 11, p. 807- 816. 2006.

ALVES, S.M.; SANTOS, L.S. Natureza química dos agentes alelopáticos. *In*: SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. **Alelopátia princípios básicos e aspectos gerais**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 2002. 260 p.

AN, M. Mathematical modelling of dose-response relationship (*Hormesis*) in allelopathy and its application. **Nonlinearity in Biology, Toxicology and Medicine**, v. 3, p. 153- 172. 2005.

BARTWAL, A. et al. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal Plant Growth Regulation**, v. 32, p. 216- 232. 2013.

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

BRASIL, MINISTÉRIO DE MINAS E ENEGERIA. Comitê da Bacia Hidrográfica CBH grande. Disponível em: <<http://www.grande.cbh.gov.br/GD3.aspx>>. Acesso em: 20 jun. 2014

BIUDES, J.F.V.; CAMARGO, A.F.M. Estudos dos fatores limitantes à produção primária por macrófitas aquáticas no Brasil. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 1, p. 7- 19. 2008.

BLANCO, J.A. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. **Ecological Modelling**, v. 209, n. 2- 4, p. 65-77. 2007.

BRITO, I.C.A.; SANTOS, D.R. Allelopathy of Savanna tree species on germination and vigor of bean seeds (*Vigna unguiculata* (L) walp.). **Revista Verde**, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 129-140. 2012.

BORELLA, J. C. et al. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. Sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 729, n. 9. 2009.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P.. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Ed.). **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2004. p. 519- 535.

CAMARGO, M. S. et al. Fatores limitantes a produção primária de macrofitas aquáticas.. In: S.M. THOMAZ; L. M. BINI, (eds.). **Ecologia e manejo de macrofitas aquáticas**. EDUEM. Maringá, 2003. p. 85- 126.

CHENGXU, W. et al. Review on allelopathy of exotic invasivep. **Procedia Engineering**, v. 18, p. 240- 246. 2011.

COLOMA, A. G. et al. Triterpene-based plant defenses. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 245- 260. 2011

DANTAS, B.F. et al. Cálcio e o desenvolvimento de aerênquimas e atividades de células e em plântulas de milho submetidos a hipóxia. **Scientia Agrícola**, v. 58, p. 251- 257. 2001.

DELACHIAVE, M.E.A., RODRIGUES, J.D.; ONO, E.O. Efeitos alelopáticos de losna (*Artemisia absinthium* L.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 265- 269. 1999.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. ed. Interciência/FINEP. Rio de Janeiro, 1998. 602 p.

FERREIRA, A.; ÁQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da Ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, supl., p. 175-204. 2000.

FRANÇA, J.B.A. et al. Eficiência das macrófitas *Eichhornia crassipes* (Aguapé) e *Pistia stratiotes* L.(alface d`água) cultivadas em diferentes materiais no tratamento de efluente sanitário bruto. **Reveng**, Viçosa, v. 20, n. 6, p. 554- 563. 2012.

GAJALAKSHIMI, S. et al. High-rate composting vermicomposting of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* [Mart.] Solms). **Bioresource Technology**, v. 83, p. 235- 239. 2002.

GARCIA, A.A.; CARRIL, E.P.U. Metabolismo secundário das plantas. **Reduca (Biología)**, v. 2, n. 3, p. 145- 209. 2008.

GAO, J. et al. Effect of ionic liquid pretreatment on the composition, structure and biogas production of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Bioresource Technology**, v. 132, p. 3611- 364. 2013.

GIRI, A.K.; PATEL, R.; MANDAL, S. Removal of Cr (VI) from aqueous solution by *Eichhornia crassipes* root biomass-derived activated carbon. **Chemical Engineering Journal**, v. 185- 186, p. 71-81. 2012.

GRECA, M.D. et al. Release of potential allelochemical from aquatic plants. In MACIAS, F.A.et al. **Recent Advances in Allelopathy**, v. 1, p. 255- 262. 1999.

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

GROVE, S. et al. Direct and indirect effects of allelopathy in the soil legacy of an exotic plant invasion. **Plant Ecology**. 2012. DOI 10.1007/s11258-012-0079-4.

HENRY-SILVA, G.G.; CAMARGO, A.F.M. Interações ecológicas entre macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes*. **Hoehnea**, v. 32, n. 1, p. 445- 452. 2005.

HENRIQUES, A.T. et al. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Ed.). **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2004. p. 765- 791

HONG, N.H.et al. Screening for allelopathic potential of higher plants from Southeast Asia. **Crop Protection**, v. 22, p. 829- 836. 2003.

HU, H.; HONG, Y. Algal-bloom control by allelopathy of aquatic macrophytes –a review. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 2, p. 421- 438. 2008.

IRGANG, B.E. et al. Macrófitas da estação ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. **Rossléria**, v. 6, n. 1, p. 395- 404. 1984.

IRGANG, B.E.; GASTAL JR. C.V.S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 1996. 290 p.

JIN, Z.H. et al. Isolation on identification of stracts of *Eichhornia crassipes* and their allelopathic effects on algae. **Bulletin Environmental**, v. 71, p. 1048- 1052. 2003.

KATO-NOGUCHI, H. Assessment of allelopathic potential of shoot powder of lemon balm. **Scientia Horticulturae**, v. 97, p. 419- 423. 2003.

KATEREGGA, E.; STERNER, T. Lake Victoria fish stocks and the effects of Water Hyacinth. **The Journal of Environment & Development**, v. 18, n. 1, p. 62- 78. 2009.

KIVAISI, A.K.; MTILA, M. Production of biogas from water hyacinth [*Eichhornia crassipes* (Mart) Solms] in a two-stage bioreactor. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, London, v. 14, n. 1, p. 125- 131. 1997.

LOPES, C.A. et al. Caloric density of aquatic macrophytes in different environments of the Baía River subsystem, Upper Paraná River Floodplain, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 5, p. 835- 842. 2006.

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

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

MARTINS, F.B. et al. Zoneamento ambiental da sub-bacia hidrográfica do arroio Cadena. **Revista Cerne**, v. 11, p. 315- 322. 2005.

MARTINS, D. et al. Levantamento da infestação de plantas aquáticas em Porto Primavera antes do enchimento final do reservatório. **Planta Daninha**, v. 27, p. 879- 886. 2009.

MEHRA, A.; FARAGO, M.E.; BANERJEE, D.K. A Study of *Eichhornia crassipes* growing in the overbank and floodplain soils of the River Yamuna in Delhi, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 60, p. 25- 45. 2000.

MELO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interaction: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, p. 71- 81. 2002.

MILNE, J.M. et al. Morphological variation in *Eichhornia azurea* (Kunth) and *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms in relation to aquatic vegetation type and the environment in the floodplain of the Rio Parana, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 570, p. 19- 25. 2006.

MONTEIRO, J.M.M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892- 896. 2005.

NEVES, T.; FOLONI, L.L.; PITELLI, R.A. Controle químico do aguapé (*Eichhornia crassipes*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, p. 89- 97. 2002.

NICHOLSON, R.L. Events in resistance expression in maize and sorghum: Molecular and biochemical perspectives. **Summa Phytopathologica**, v. 21, p. 95- 99. 1995.

OSBOURN, A.E. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1821- 1831, 1996.

PAGIORO, T.A.; THOMAZ, S.M. Decomposition of *Eichhornia azurea* from limnologically different environments of the Upper Parana River floodplain. **Hydrobiologia**, v. 411, p. 45- 51. 1999.

PALMA-SILVA, C. Uso de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms para a fitorremediação de ambientes eutrofizados subtropicais no sul do Brasil. **Perspectiva**, v. 36, n. 133, p. 73-81. 2012.

PEREIRA, F.J. et al. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância a contaminação por arsênio. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, p. 259- 267. 2011.

PERET, A. BIANCHINI, I. Stoichiometry of aerobic mineralization (O/C) of aquatic macrophytes leachate from a tropical lagoon (São Paulo - Brazil). **Hydrobiologia**, v. 528, n. 1-3, p. 167- 178. 2004.

PERNA, C.; BURROWS, D. Improved dissolved oxygen status following removal of exotic weed mats in important fish habitat lagoons of the tropical Burdekin River floodplain, Australia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 51, p. 138- 148. 2005.

PETRUCIO, M.M.; ESTEVES, F.A. Uptake of nitrogen and phosphorus in the water by *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata*. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 2, p. 229- 236. 2000.

PIVARI, M.O.D. et al. Macrófitas aquáticas da Lagoa Silvana, Vale do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia. Série Bot**, v. 63, n. 2, p. 321- 327. 2008.

PIVARI, M.O. et al. Aquatic macrophytes of the Rio Doce valley lacustrine system, Minas Gerais, Brazil. **Rodriguesia**, v. 62, n. 4, p. 759- 770. 2011.

POMPÊO, M.L.M. Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas. **Revista Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 406- 424. 2008.

POTT, V.J.; POTT, A. **Plantas aquáticas do Pantanal**. EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal. (Corumbá, MS). Brasília: Embrapa, Comunicação para Transferência de Tecnologia. 2000. 404 p.

REN, M.X.; ZHANG, Q.G. Clonal diversity and structure of the invasive aquatic plant *Eichhornia crassipes* in China. **Aquatic Botany**, v. 87, p. 242- 246. 2007.

ROTTA, L.H.S. et al. Análise espacial de macrófitas submersas no reservatório do Porto Colômbia. In: III Simpósio Brasileiro de Ciências Geodésicas e Tecnologias da Geoinformação. (27- 30 de Julho de 2010, Recife – PE). **Anais...** p. 001- 006, Recife, 2010.

ROQUETE PINTO, C.L. Utilization of water hyacinth for removal and recovery of silver from industrial wastewater. **Water Science Technology**, Kindlington, v. 19, n. 10, p. 89- 101. 1987.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2004. p. 403- 434.

SAPRATIV, P. et al. Efficient Pretreatment for Bioethanol Production from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Involving Naturally Isolated and Recombinant Enzymes and Its Recovery. **Environmental Progress & Sustainable Energy**. DOI: 10.1002/ep.

SHANAB, S.M.M. et al. Allelopathic effects of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Plos One**, v. 5, n. 10. DOI: e13200. 2010.

SHANAB, S.M.M.; SHALABY, E.A. Biological activities and anticorrosion efficiency of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n.23, p. 3950- 3962. 2012.

SILVA, L. et al. Eficiência de aguapé sobre variáveis limnológicas em canais de abastecimento utilizados no cultivo de tambaqui. **Acta Amazonica**, v. 44, p. 255- 262, 2014.

SINGHAL, V.; RAI, J.P.N. Biogas production from Water Hyacinth and channel grass used for phytoremediation of industrial effluents. **Bioresource Technology**, v. 86, n. 3, p. 221-225. 2003.

STANGARLIN, J.R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18- 46. 2011.

SIMPSON, D.; SANDERSON, H. *Eichhornia crassipes*, Pontederiaceae - Royal Botanic Garden, Kew, **Blackwell Publishig Ltda.** p. 28- 34. 2002.

SINKALA, T. et al. Control of aquatic weeds through pollutant reduciton and weed utilization: a weed management approach in the lower Kafue River of Zambia. **Physicsv and Chemistry the Earth**, v. 27, p. 983- 991. 2002.

SOLTAN, M.E.; RASHED, M.N. Laboratory study on the survival of Water Hyacinth under several conditions of heavy metal concentrations. **Advanced Environmental Research**, v. 7, p. 321- 334. 2003.

SOUZA FILHO, A.P.S. et al. Allelophatic potential of *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, v. 24, p. 649- 656. 2006.

TAKAO, L.K., RIBEIRO, J. P.N., LIMA, M.I.S. Potencial Alelopático de Macrófitas aquáticas de um estuário cego. **Acta Botanica Brasílica**, v. 25, n. 2, p. 324- 330. 2011.

THOMAZ, S.M. Fatores Associados à Colonização e ao desenvolvimento de Macrófitas Aquáticas e desafios de manejo. **Revista Planta Daninha**, v. 20, p. 21- 33. 2002.

THOMAZ, D.O. **Plantas aquáticas: O que são Macrófitas Aquáticas?** Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá – IEPA. 2003. Disponível em:<http://www.iepa.ap.gov.br/pnprog/Oficinas/Macrofitas%20Aquaticas/macrofitas_aquatica_s1.htm>. Acesso em 20 jan.2012.

THOMAZ, S. M.; BINI, L.M. Analise crítica dos estudos sobre Macrófitas Aquaticas desenvolvidos no Brasil. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L.M. (Ed.). Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquaticas, **Eduem**, Maringá. Ed. Especial, p. 19- 35. 2002.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos. 2008. 632 p.

TÉLLEZ, T.R. et al. The Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in Guadiana River Basin, (Spain). **Aquatic Invasions**, v. 3, n. 1, p. 42- 53. 2008.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO I

Influence of denser planting in the allelopathic potential of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae)

AUTORES: Maria Goreti de Oliveira, Rafael Hansen Madail, Vytória Piscitelli Cavalcanti, Luiz Alberto Beijo, Sandro Barbosa.

*Artigo SUBMETIDO ao periódico **Acta Botanica Brasilica**, classificado como Qualis A2 na área de Ciências Ambientais de acordo com a CAPES.*

1 **Influence of denser planting in the allelopathic potential of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms**
2 **(Pontederiaceae)**
3
4

5 Maria Goreti de Oliveira^a, Rafael Hansen Madail^b, Vytória Piscitelli Cavalcanti^c, Luiz Alberto Beijo^d,
6 Sandro Barbosa^e
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

20 ^aMasters student of the Postgraduate Program in Ecology and Environmental Technology, PPEET. Federal
21 University of Alfenas, State of Minas Gerais, Brazil.

22 ^bProfessor in the Federal Institute of the South of Minas - University Campus of Poços de Caldas. State of
23 Minas Gerais, Brazil.

24 ^cBiologist. Institute of Natural Sciences of Federal University of Alfenas, State of Minas Gerais, Brazil.

25 ^dProfessor of the PPEET. Institute of Exact Sciences of the Federal University of Alfenas, State of Minas
26 Gerais, Brazil.

27 ^eProfessor of the PPEET. Institute of Natural Sciences of the Federal University of Alfenas, State of Minas
28 Gerais, Brazil.

29
30 **Mailing Address**

31 Sandro Barbosa, PhD

32 Institute of Natural Sciences

33 700 Gabriel Monteiro da Silva St. Downtown Alfenas, State of MG. PO Box: 37.130-000. Brazil.

34 **E-mail:** sandrobiogen@gmail.com
35
36

ABSTRACT

[Influence of denser planting in the allelopathic potential of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae)]. Through this study, we assessed the allelopathic potential of extracts obtained from leaves and rhizomes/roots of two populations of *Eichhornia crassipes*. Samples were collected in different denser planting conditions, in the affluent of Furnas reservoir, and applied at experiments with lettuce. We obtained aqueous and ethanolic extracts of two structures. Lettuce seeds were exposed to 0, 1.25%, 2.5% and 5% of each treatment and the rate of germination rate, germination percentage, number of seedlings, the elongation of root, fresh and dry biomass were evaluated. The cytogenotoxic effect was obtained by accessing mitotic index and chromosomal abnormalities. The water and ethanol extracts caused negative effect on seed germination and early growth. This showed the concentration dependence effect for all parameters, except for ethanolic extract obtained from leaves collected in areas less densely populated. In addition, we also found differences between ethanolic extracts obtained from leaves and rhizomes/roots. The reduction of cellular divisions and the occurrence of chromosomal abnormalities, however, showed the cytogenotoxic effect of the specie. Therefore, these suggest the presence of chemical inhibitors in the extracts, revealing the allelopathic effect, especially in the densest plant communities.

Key-words: Water hyacinth; Allelopathy; Lettuce; Cytotoxicity; Mitotic index.

1. INTRODUCTION

Aquatic macrophytes are important plants for maintaining the equilibrium of aquatic environments, since they act in the protection and stabilizing of banks of rivers and reduce erosion effects, as well as are also essential in the food chain, water oxygenation and nutrients absorption (Domingos *et al.* 2011). However, the excessive growth of these plant species, in supply and hydroelectric reservoirs, have been becoming a major problem in Brazil over recent decades. This occurs by compromising the energy efficiency, ie, blockage of turbines and protection grids of hydroelectrics, obstruction to navigation and nautical sports, as well as the imbalances associated to loss of diversity in aquatic ecosystems (Thomaz 2002; Domingos *et al.* 2011).

Various macrophyte species are able to cause damages on aquatic ecosystems. The water hyacinth, plant which belongs to the genus *Eichhornia*, for instance, has been a concern in the dams of the *Companhia Light*, State of Rio de Janeiro, Brazil (Martins *et al.* 2009). Population explosions of this plant species have been reported by Thomaz & Bini (2002) and Kateregga & Sterner (2009) in reservoirs in Africa and Brazil. Among *Eichhornia* species, which characterize problem in reservoirs and other aquatic environments, is found the *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae), known as Aguapé, gigoga and water hyacinth (Mehra, Farago & Banerjee, 2000; Pereira *et al.* 2011).

This plant species has been acquiring an invader character due to its high multiplying capacity and success in competition with other species, rapidly occupying large extensions, and causing ecological and economical damages, besides serving as breeding sites for insects and other vectors of human diseases (Neves, Foloni & Pitelli 2003; Téllez *et al.* 2008).

Therefore, researches show the allelopathic potential of water hyacinth on several types of algae (Jin *et al.* 2003; Shanab *et al.* 2010). However, there are few studies about allelopathy, involving *Eichhornia crassipes*, and experiments that report its effect and different denser planting conditions. Therefore, we assessed here the allelopathic effect of water hyacinth, under different denser planting conditions, in the Furnas reservoir, in the State of Minas Gerais, Brazil.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Identification and sample collection

Identification of water hyacinth, under different denser planting conditions, was performed on farm. For this purpose, we considered as densely populated areas, those where this plant species had occupied more than 50% of the water surface, and as areas less densely populated, those where was occupied less than a half of water surface. We identified two populations in the affluent of Furnas reservoir, State of Minas Gerais: Population 1 (P₁), considered densely populated area, in the city of

107 Campo do Meio (21° 06'24" S Lat; 45° 49'49" W Long) and Population 2 (P₂), area less densely
108 populated, in the city of Fama (21° 24'26" S Lat; 45° 49'43" W Long). Both two P₁ and P₂ were near
109 urbanized areas and were subject to anthropogenic actions. Adult plants were collected in October and
110 November 2012, aiming to minimize interferences in the production of allelochemicals.

112 2.2 Preparing and obtaining of extracts

113
114 In the laboratory, samples were clean and plant structures were separated in two groups: one
115 consisting of leaves (L) and another of rhizomes/roots (RR). All material was dehydrated in a hothouse,
116 with constant air circulation, at 40 °C until mass stabilizing. Then, was triturated, sieved at 20 fine sieve,
117 and stored at room temperature, with no light and humidity, until extracts obtaining.

118 Aqueous extract of water hyacinth was obtained, as outlined in Brasil (2010), at 5 % (w/v)
119 concentration. The ethanolic extract was prepared at the same concentration but, by macerating until total
120 exhaustion, as outlined in Ferreira, Souza & Faria (2007). Were used four different concentration, ie, 5 %,
121 2.5 %, 1.25 % and 0 %, obtained by dilution from the initial 5 %, as outlined in Takao, Ribeiro & Lima
122 (2011). Were also measured the pH and osmotic potential (Ferreira & Aquila, 2000), aiming to eliminate
123 their interferences in the allelopathic effect testing.

125 2.3 Bioassay of phytotoxicity

126
127 Experiments were performed using 30 seeds of lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Baba de verão)
128 in 90×60cm Petri dishes containing two sheets of Germitest® paper, wet by adding 3.0 ml of different
129 concentrations of ethanolic and aqueous extracts. The plant material was maintained in a BOD-type
130 chamber (biochemical oxygen demand), under 12 hours photoperiod light, at 22 °C, with daily
131 assessments for seven days, as outlined in Brasil (2009) and Simões *et al.* (2013).

132 We assessed the germination percentage (G%) and germination velocity index (GVI) as
133 follows: $G\% = \frac{N}{A} \times 100$; where N = total of germinated seeds, and A = total of seeds in the Petri dish
134 (Iganciet *al.* 2006); $GVI = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}$; where: GVI = germination velocity index; G = number of
135 seeds germinated in the *i* counting (*i*= 1, 2, 3,..., n), and N = number of days until the *i* counting (*i*= 1, 2,
136 3,..., n) (Maguire 1966). For assessing seed germination, we used the concept of physiological
137 germination described in Marcos Filho (2005), which defines the germination beginning at the seed
138 imbibition and its final at the radicle protusion. At the 7th day, were assessed the number of normal
139 seedlings (NS), root elongation (RE), and fresh biomass (FB) and dry biomass (DB).

2.4 Mitotic index and cytogenotoxic effect

Seeds of lettuce were treated as described for the bioassay of phytotoxicity and, after 48 hours, tips of roots were collected for obtaining meristematic cells. The material was fixed in Carnoy (ethanol 3: 1 glacial acetic acid) and, then, stored at -4°C for further studies. Cytogenetic preparations were obtained through crush-based method, as outlined in Guerra & Souza (2002) and Ribeiro *et al.* (2012).

Then, 9000 cells per treatment were checked aiming to assess the mitotic index (MI) and chromosomal abnormalities frequency (AF) on Nikon E200 bright field microscope. Direct comparison of each treatment in relation to negative control was carried and, then, calculated the relative mitotic index (MI_R), as follows: $\text{MI}_R = (\text{MI}_C - \text{MI}_T) * \frac{100}{\text{MI}_C}$; where: MI_C = mitotic index of the control; and MI_T = mitotic index of the treatment.

Determining of AF was as described for MI, but using the following expression: $\text{AF}_R = (\text{AF}_C - \text{AF}_T) * \frac{100}{\text{AF}_C}$; where: AF_R = relative frequency of chromosomal abnormalities; AF_C = chromosomal abnormalities frequency of the control; and AF_T = chromosomal abnormalities frequency of the treatment. Were, then, assessed the C-metaphase, chromosomal bridge, loss chromosomes, sticky chromosomes, and micronucleus.

2.5 Data analysis

Experiments were performed, for each aqueous and ethanolic extract, in completely randomized design, with three replications; both, in $2 \times 2 \times 4$ factorial scheme, ie, two different denser planting conditions, two plant structures, and four concentrations. Analysis of variance (ANOVA) was carried out to determine statistical significance of means. Normality test was run and, when data were considered with no Gaussian normal distribution, were transformed in order to attend the assumptions of ANOVA through square root transformation. Means of qualitative factors were compared by Scott Knott test, and means of quantitative factors were adjusted to the linear regression models, using R statistical software (R CORE TEAM, 2013), both at 5% significance level.

3 RESULTS

3.1 Physical and chemical characteristics of the extracts

The pH values ranged from 4.48 to 5.79 for the aqueous extracts, and from 4.78 to 6.09 for the ethanolic extracts. The osmotic potential, ranged from -0.192 MPa to -0.201 MPa for the aqueous extracts, and from -0.081MPa to -0.021 Mpa for the ethanolic extracts.

3.2 Phytotoxicity

The Table 1 shows the mean squares of the isolated effects and parameter interactions found in analysing the aqueous and ethanolic extracts of leaves and rhizomes/roots of water hyacinth.

Table 1- Summary of ANOVA, Mean Square, the effects of aqueous and ethanol extracts in different concentrations, from the various plant structures of two populations of water hyacinth. (Pp-Population; Vs-vegetable Structure; Cc-Concentration).

Source Variation	GL	GVI	G%	PN	RE	FB	DB
AQUEOUS							
Pp.	1	6.743	14.815	1.688	0.325	0.043	<0.001
Vs.	1	40.359	370.370**	1.020	16.581**	0.873	0.0011
Cc.	3	9104.740 **	2345.85**	2433.74**	41.603**	166.28**	1.891
Pp*Vs	1	17.001	181.482	0.521	0.841	0.115	0.030
Pp.*Cc.	3	16.419	2.469	4.409	0.329	4.101	<0.001
Vs.*Cc	3	8.628	209.877	14.854	7.329*	4.504	0.028
Pp.*Vs.*Cc	3	2.499	139.507	1.243	0.269	3.322	0.013
Residue	32	12.008	73.843	7.729	0.449	3.069	0.024
VC (%)	12.26	14.06	12.26	17.58	28.8	36.73	29.00
ETANOLIC							
Pp.	1	165.171**	52.083	18.750	2.762	0.141	0.002
Vs.	1	3052.032**	8268.750**	468.750**	7.068**	28.213**	0.472**
Cc.	3	4827.458**	6884.182**	951.722**	2.954**	52.786**	0.482**
Pp*Vs	1	51.919**	222.454	85.333**	0.148	3.641	0.040
Pp.*Cc.	3	99.299**	68.133	69.250**	0.532	1.817	0.010
Vs.*Cc	3	424.694**	4948.997	216.917**	1.763	21.445**	0.340**
Pp.*Vs.*Cc	3	161.616 **	96.528	64.500**	0.361	2.211	0.031
Residue	32	16.412	16.899	7.959	0.615	1.191	0.018
VC (%)		9.68	5.00	12.09	33.14	17.84	19.41

*Interaction.

**Significant at 5% probability by F test ($p < 0.05$).

GVI-germination velocity index; G%-Percent germination; PN-Number of seedlings; RA-root elongation; FB-Fresh biomass; DB-Dry biomass.

Mean squares referring to the aqueous extract showed that there are statistically significant interactions only for concentration ($p < 0.05$); and RE for Population \times concentration, and for plant structures.

In addition, interactions were statistically significant between population \times plant structure \times concentration for NS and GVI. Between concentration \times plant structure, we found statistically significant interactions for all parameters, except G% and RE. In relation to interactions between population \times

concentration, and population × plant structure, only GVI and NS were statistically significant. The sources of variation, concentration and plant structure, were statistically significant for all parameters between population were only found for GVI.

The Table 2 shows means of all parameters assessed under aqueous extract influence, which had statistically significant interaction for at least one parameter.

Table 2- Means germination percentage (G%) and root elongation (AR) submitted the concentrations of aqueous extract in relation to P1 (high density) and P2 (low density) and plant structure leaf (L) and rhizome/root (RR) of water hyacinth.

Vs		Concentration (%)							
		Control		1,25		2,5		5	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
G%	L	97.78 aA	98.89 aA	90.00 aA	94.44 aA	57.78 aA	72.22 aA	0.00aA	0.00aA
	RR	94.44 aA	97.78 aA	91.11 aA	86.67 aA	53.33 aA	41.11 aB	0.00aA	2.22 aA
RE	L	4,01 aA	4.55 aA	5.50 aA	5.97 aA	2.20 aA	2.92 aA	0.00aA	0.00aA
	RR	3.28 aA	3.63 aA	2.72 aB	1.83 aB	2.08 aA	2.23 aA	0.00aA	0.00aA

* For each parameter, means followed with the same uppercase letter in the column, and lower case on the line, do not differ inside each concentration, the level of significance of 5% by the Scott Knott test.

In general, were found significant differences between plant structures only at 2.5%, when analyzed the aqueous extract effect, for P₂ in relation to G%, and for RE at 1.25% for both P₁ and P₂. There was no significant differences between P₁ and P₂ for all parameters.

The Table 3 shows means of all parameters assessed under ethanolic extract influence.

235 Table 3- Mean Germination velocity index (GVI); Germination percentage (G%); Number of seedlings
 236 (PN); Root elongation (RA); Fresh biomass (FB) and Dry biomass (DB), the concentrations of ethanolic
 237 extract in relation to populations at high density (P1) and low density (P2) and plant structure: Leaf (L)
 238 and rhizome/root (RR) of water hyacinth.

		Concentration (%)							
		Control		1,25		2,5		5	
	Vs	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
GVI	L	62.00 aA	66.73 aA	55.45 aA	57.86 aA	41.38 aA	51.68 bA	19.80 bA	43.59 aA
	RR	59.17 aA	63.14 aA	45.06 aB	47.26 aB	35.30 aB	19.30 bB	1.70 aB	0.00 aB
G%	L	97.78 aA	98.89 aA	98.89 aA	95.56 aA	95.56 aA	95.56 aA	84.44 bA	95.56 aA
	RR	98.89 aA	95.56 aA	92.22 aA	94.44 aA	91.11 aA	73.33 bB	6.67 aB	0.00 aB
PN	L	28.67 aA	29.67 aA	29.67 aA	28.33 aA	28.67 aA	27.67 aA	11.00 aA	28.00bA
	RR	28 aA	28.67 aA	27.00aA	28.33 aA	27.33 aA	21.00bB	1.33 aB	0.00 aB
RE	L	2.91 aA	2.74 aA	3.04 aA	2.90 aA	2.94 aA	2.24 aA	2.84 aA	2.38 aA
	RR	3.13 aA	2.61 aA	2.24 aA	2.33 aA	2.13 aA	1.81 aA	1.61 aA	0.00 bB
FB	L	0.0744 aA	0.0712 aA	0.0700 aA	0.0727 aA	0.0749 aA	0.0735 aA	0.0427 bA	0.0710 aA
	RR	0.0743 aA	0.0760 aA	0.0742 aA	0.0749 aA	0.0682 aA	0.0542 aB	0,0060 aB	0.0000 aB
DB	L	0.0077 aA	0.0075 aA	0.0078 aA	0.0080 aA	0.0081 aA	0.0094 aA	0.0070 aA	0.0075 aA
	RR	0.0086 aA	0.0079 aA	0.0074 aA	0.0087 aA	0.0079 aA	0.0055 bB	0.0010 aB	0.0000 aB

239 * For each parameter, means followed with the same uppercase letter in the column, and lower case on the line, do not differ
 240 inside each concentration, the level of significance of 5% by the Scott Knott test.

241

242 Under ethanolic extract influence, there was significant differences in the greater
 243 concentrations between plant structures, both for P₁ as for P₂. This effect was not found only for RE.
 244 Extracts obtained from rhizomes/roots collected in the P₁ and P₂ were significantly different from
 245 2.5% to 5%, in relation to GVI, G%, NS and DB. For extracts obtained from leaves, the effect was
 246 the same in both two P_i for all parameters, except GVI from 2.5%.

247 Aiming to characterize the effect of aqueous and ethanolic concentrations on all parameters,
 248 the linear regression model was adjusted (Figures 1 and 2). Here, we found the concentration dependence
 249 effect for all parameters, except for the ethanolic extracts obtained from leaves collected in the P₁.

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

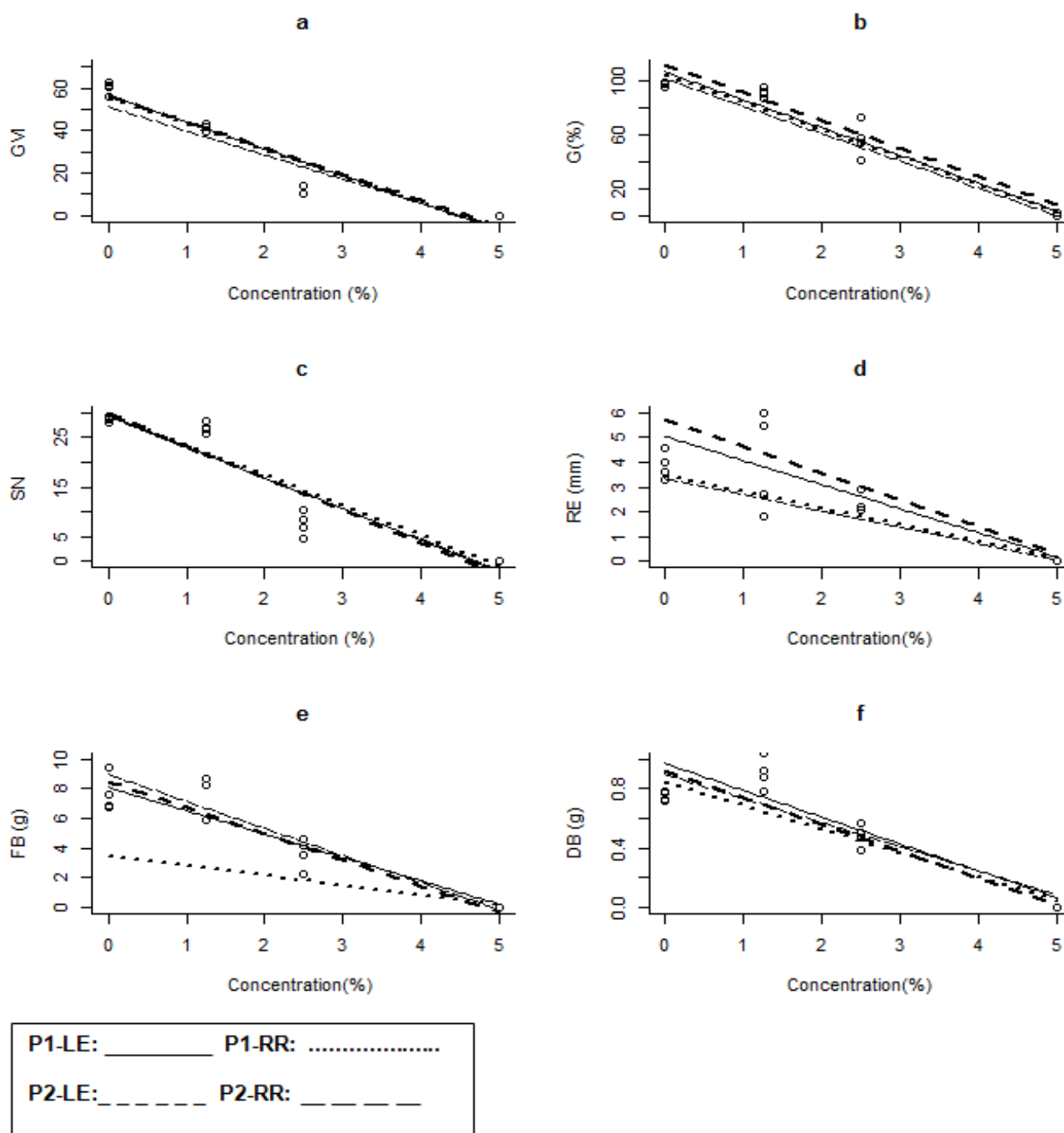


Figure 2- Graphics (a)-Germination velocity index (GVI); (b)-Percentage of germination (G); (c)-Number of seedlings (SN); (d)-Root elongation (RE); (e)-Fresh biomass (FB) and (f)-Dry biomass (DB) compared concentrations of aqueous extract of leaf (LE) and root / rhizome (RR) water hyacinth.

a: P1-LE: $y=56.798-12.730x$, $R^2=88.01$; P1-RR: $y=55.35-12.36x$, $R^2=87.99$; P2-LE: $y=56.38-12.34x$, $R^2=92.22$; P2-RR: $y=51.20-11.35x$, $R^2=88.82$.

b: P1-LE: $y=106.22-20.49x$, $R^2=96.37$; P1-RR: $y=103.78-20.139x$, $R^2=95.64$; P2-LE: $y=111.56-20.648x$, $R^2=92.75$; P2-RR: $y=101.11-20.190x$, $R^2=96.16$.

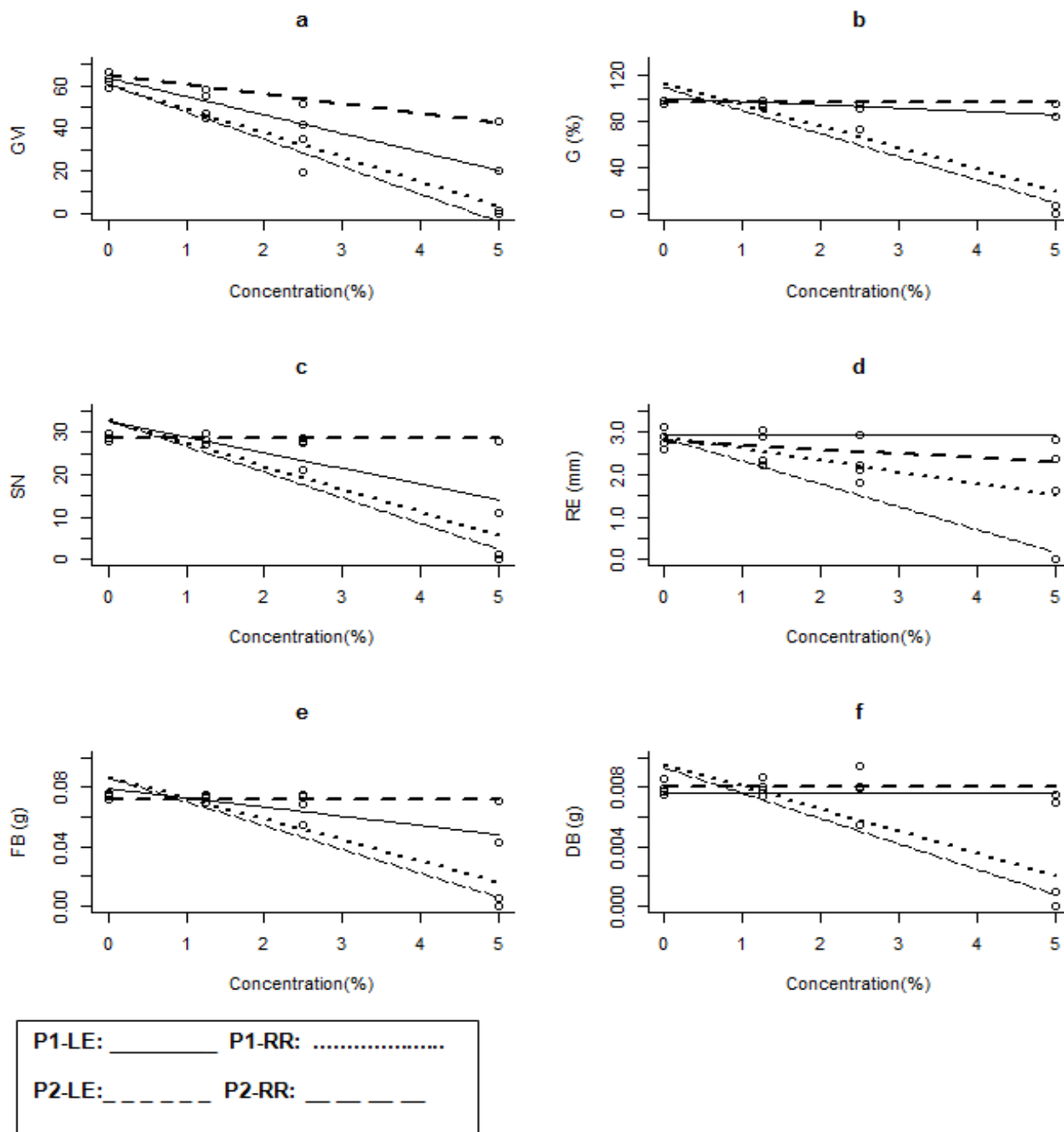
c: P1-LE: $y=29.60-26.33x$, $R^2=99.01$; P1-RR: $y=29.53-6.07x$, $R^2=95.64$; P2-LE: $y=29.87-6.53$, $R^2=92.74$; P2-RR: $y=29.13-6.16x$, $R^2=96.16$.

d: P1-LE: $y=5.05-0.097x$, $R^2=75.84$; P1-RR: $y=3.47-0.664x$, $R^2=97.74$; P2-LE: $y=5.703-1.071x$, $R^2=79.57$; P2-RR: $y=3.352-0.654x$, $R^2=87.46$.

e: P1-LE: $y=8.087-1.569x$, $R^2=83.37$; P1-RR: $y=8.28-1.58x$, $R^2=84.90$; P2-LE: $y=8.46-1.76x$, $R^2=81.31$; P2-RR: $y=8.96-1.82x$, $R^2=98.13$.

f: P1-LE: $y=0.975-0.18x$, $R^2=77.35$; P1-RR: $y=0.843-0.1592x$, $R^2=90.65$; P2-LE: $y=0.917-0.179x$, $R^2=84.98$; P2-RR: $y=0.897-0.163x$, $R^2=81.54$.

261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278



279

280 Figure 3- Graphics (a)-Germination velocity index (GVI); (b)-Percentage of germination (G); (c)-Number
 281 of seedlings (SN); (d)-Root elongation (RE); (e)-Fresh biomass (FB) and (f)-Dry biomass (DB)
 282 compared concentrations ethanolic extract of leaves (LE) and rhizome/root (RR) water
 283 hyacinthy.

284 a: P1-LE: $y=63.697-8.703x$, $R^2=99.02$; P1-RR: $y=60.242-11.399x$, $R^2=99.04$; P2-LE: $y=64.796-4.494x$, $R^2=99.01$;
 285 P2-RR: $y=60.642-12.901x$, $R^2=96.29$.

286 b: P1-LE: $y=100.44-2.869x$, $R^2=85.44$; P1-RR: $y=113.111-18.692x$, $R^2=82.85$; P2-LE: $y=109.778-20.089x$,
 287 $R^2=90.56$; P2-RR: $y=109.778-20.089x$, $R^2=90.56$.

288 c: P1-LE: $y=3.,600-3.703x$, $R^2=76.93$; P1-RR: $y=32.800-5.432x$, $R^2=78.82$; P2-LE: $28.4167-0x$; P2-RR:
 289 $y=32.733-6.049x$, $R^2=91.88$.

290 d: P1-LE: $y=2.9344-0x$; P1-RR: $y=2.877-0.274x$, $R^2=86.29$; P2-LE: $y=2.774-0.095x$, $R^2=44.84$; P2-RR: $y=2.858-$
 291 $0.535x$, $R^2=95.10$.

292 e: P1-LE: $y=0.079-0.006x$, $R^2=74.52$; P1-RR: $y=0.087-0.014x$, $R^2=82.94$; P2-RR: $y=0.086-0.016x$, $R^2=0.003$; P2-
 293 RR: $y=0.086-0.160x$, $R^2=89.31$.

294 f: P1-LE: $y=0.0077+0x$; P1-RR: $y=0.009-0.001x$, $R^2=82.22$; P2-RR: $y=0.008-0.00008x$, $R^2=0.003$; P2-RR:
 295 $y=0.009-0.002x$, $R^2=89.31$.

3.3 Cytogenotoxic effect

For the purposes of this study, the phases of the cell cycle and the frequency of abnormalities were analyzed as presented in Figure 4:

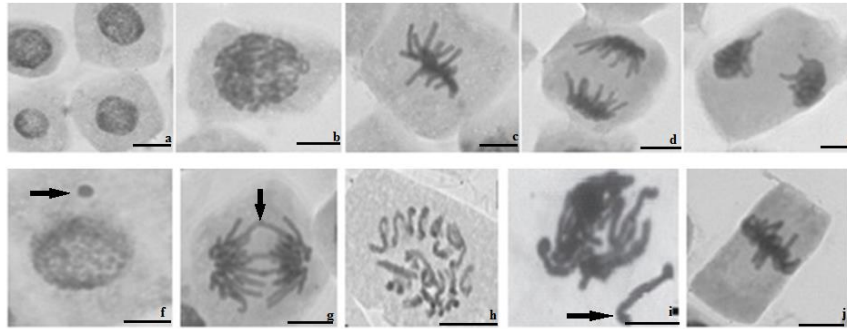


Figure 4- Phases of the cell cycle and chromosomal abnormalities analyzed and identified in meristematic cells of lettuce: a-interphase; b-prophase; c-metaphase; d-anaphase; e-telophase; f-micronucleus; chromosome g-bridge; h-C-metaphase; i lost-chromosome; and j-stickness (sticky chromosome). Bar: 5 μ m.

The Table 4 shows mean squares referring to interactions for MI_R and FA_R found in meristematic cells of lettuce subjected to aqueous and ethanolic extracts obtained from leaves and rhizomes/roots of water hyacinth, this collected in densely populated areas (P_1) and areas less densely populated (P_2).

Table 4 Means square of the relating interactions compared to control for mitotic index (MI) and frequency of abnormalities (AF) for aqueous and ethanolic extracts.

Source Variation	Aqueous			Ethanolic		
	GL	MI	AF	GL	MI	AF
Pp.	1	49.946**	1.6363	1	0.0354	285.277**
Vs.	1	9.864**	29.9304**	1	0.5905	26.188
Cc.	1	71.312**	18.0977**	2	17.8245**	1091.5009**
Pp*Vs	1	6.398**	1377.0945**	1	59,5330**	684.6193**
Pp.*Cc	1	30.799**	13.0957	2	0.0359	91.8703**
Vs.*Cc	1	19.738**	0.3282	2	0.05771	38.9364**
Pp.*Vs.*Cc	1	33.697**	28.9790**	2	2.9684**	37.3829**
Residue	16	0.259	3.02123	24	0,3508	8.3099
VC (%)	-	2.22	18.21	-	7,64	37.48

*Interaction.

**Significant at 5% probability by F test ($p < 0.05$).

The mean squares show that, in relation to the effect of ethanolic extracts for MI, were statistically significant the interactions between population and plant structure, as well as there was a triple interaction among population, plant structure and concentration. In relation to AF, interactions were statistically significant for all parameters, except only for plant structure ($p < 0.05$).

Analyzing the interactions for aqueous extract, significant interactions were observed for all parameters evaluated on the MI and for most in the AF. We also observed a triple interaction among population, concentration and plant structure.

The Table 5 shows MI_R values for the aqueous and ethanolic extracts. In fact, was analyzed as MI reduced in relation to the control. Then, when MI decreased at the same rate, in relation to the control, the observed mean increased. Besides, was determined as AF increased in relation to the observed frequency in the control. Therefore, we found that as chromosomal abnormalities frequency increased, the mean also increased at the same rate.

Table 5- Mean frequency of abnormalities (FA) and mitotic index (MI) in relation to plant structures (Vs) and populations (P1) and high density (P2) low density compared to the control.

ETHANOLIC							
		Concentration (%)					
Vs		1,25		2,5		5	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2
MI	F**	4.9632 bB	8.8599 aA	6.6722 bB	8.8599 aA	8.2567aB	10.000 aA
	RR	8.2537 aA	4.6165 bB	8.3899 aA	6.3290 bB	10.000 aA	7.9870 bB
AF	F	1.8908 bB	34.4379 aA	2.2101 bA	12.7184 aA	0.000 aA	0.0000 aA
	RR	23.6025 aA	13.6909 bB	1.5462 aA	1.6546 aB	0.0000 aA	0.5281 aA
AQUEOUS							
		Concentration (%)					
Vs		1,25		2,5		5	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2
MI	F	8.5687 aA	0.0000 bB	9.0911 bB	10.0000 aA	-***	-
	RR	8.1588 aB	6.6017 bA	10.0000 aA	8.0280 bB	-	-
AF	F	17.6426 aA	5.6457 bB	19.3471 aA	0.0000 bB	-	-
	RR	2.2232 bB	16.1304 aA	0.0000 bB	15.3479 aA	-	-

**L- Leaf; RR: Rhizome/root.

*-. Germination was suppressed.

In general, the ethanol extracts of the two plants and two populations of structures affected the MI of tip cells of lettuce roots. However, rhizomes/roots collected in P₁ are the most representative, while for samples collected in the P₂, this greater effect was found for leaves.

In relation to AF_R observed in the bioassay with ethanolic extract, we found significant differences among means obtained both for plant structures as for populations. The greater AF, in relation to the control, were found in bioassay subjected to extracts obtained from leaves, these, collected in the P₂. We also found a high AF in bioassay subjected to 1.25% of extracts of leaves collected in the P₁.

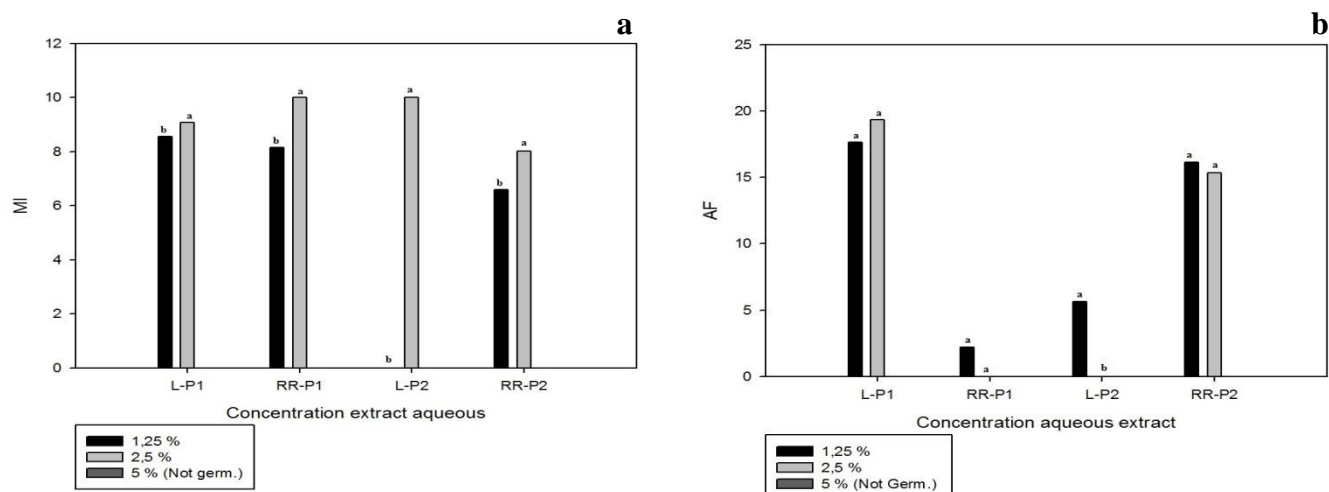
The MI analysis carried for aqueous extracts showed statistically significant differences among means obtained both from plant structures and from populations. In general, the greatest differences, or higher means, in relation to the control, were found in plant structures collected in the P₁. The AF identified in the meristematic cells of lettuce also increased when subjected to the aqueous extracts obtained from leaves collected in the P₁ - higher means than those for the control.

347

The Figures 4a/b and 5a/b show mean tests carried to assess the effect of concentration on MI,

348

both for aqueous and ethanolic extracts.



349

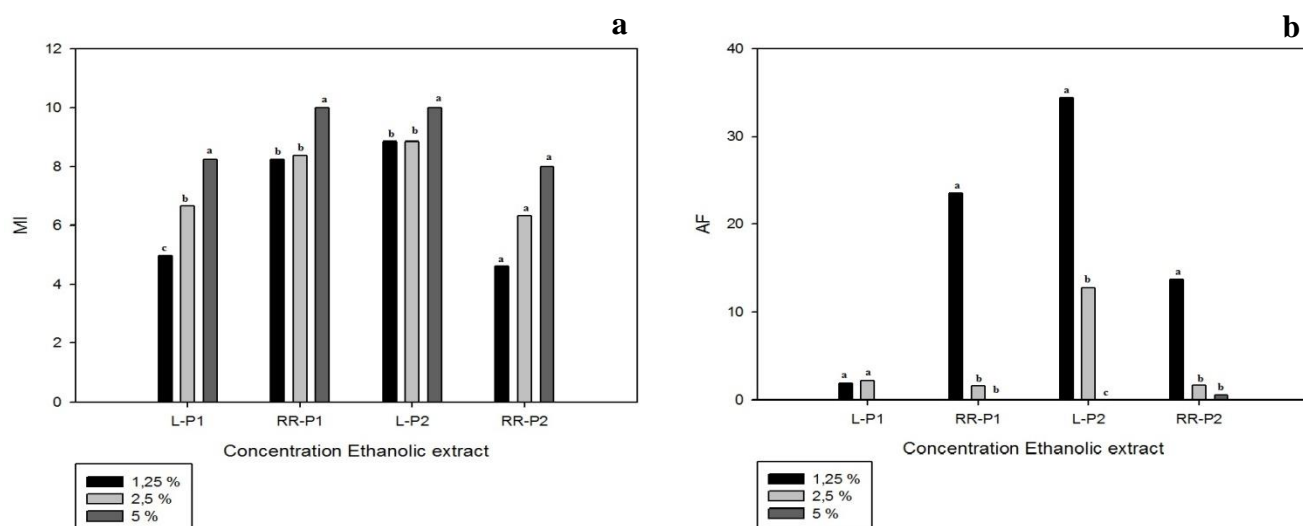
Figure 5a/b- Mean mitotic index (MI) and frequency of abnormalities (AF) with the increase of concentration of aqueous extract.

350

351

**Means followed by the same letter do not differ by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

352



353

Figure 6a/b- Mean mitotic index (MI) and frequency of abnormalities (AF) with the increase of concentration of ethanolic extract.

354

355

**Means followed by the same letter do not differ by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

356

357

We highlight here that, for both aqueous and ethanolic extracts, the highest means of MI were found in the highest concentrations, which demonstrated the concentration dependence effect. This effect was more evident on bioassay subjected to extracts obtained from leaves collected in the P_1 , and from rhizomes/roots collected in the P_2 .

361

In relation to AF, the highest means were found at 1.25 % for both aqueous and ethanolic extracts. Leaves collected in the P_2 showed the highest effect in the bioassay, since the highest AF was found in this treatment. Therefore, there was no germination at 5% for the aqueous extract and, at 1.25 %,

363

all extracts resulted in high differences of MI, in relation to the control, except for extracts obtained from leaves collected in the P₁.

4. DISCUSSION

For the current state of understanding of allelopathic potential of different plant species (Eberlein 1987; Borella & Pastorini 2010), it points out that seed germination and initial growth of lettuce are effected when pH is excessively alkaline or excessively acid, with deleterious effects when under pH less than 4 or greater than 10. In addition, Gatti, Perez & Lima (2004), found that solutions with osmotic potential close to -0.2 Mpa do not significantly interfere in the lettuce seed germination. In this study, we found significant differences between leaves and rhizomes/roots in relation to allelopathic potential for at least one parameter, both for aqueous and ethanolic extracts.

Various review show significant differences in relation to allelopathic potential among plant structures (Jiménez-Ozornio; Kumamoto & Wasser 1996; Delachiave *et al.* 1999; Wu *et al.* 2000; Oliveira *et al.* 2012, Grisi *et al.* 2012). However, although all plant structures can produce compounds with allelopathic effect (Grisi *et al.* 2012), we may state here that the quantity and its release may vary from species to species, according to Friedman (1995).

Leaf has been appointed as an excellent plant structure in the production of phytotoxic compounds (Hong *et al.* 2003; Alves *et al.* 2004; Maraschin-Silva and Áquila 2006; Souza Filho *et al.* 2006; Han *et al.* 2008). However, allelochemical contained in roots may have a rapid effect, since they are directly released into the soil, and they act toward local microbiota, in the development of roots of adjacent plants, and in the seed germination process (Grisi *et al.* 2012). In fact, according to Reigosa; Sanchez-Moreiras & González (1999) and Reigosa *et al.* (2013), the majority of allelochemicals are soluble in water. Then, for aquatic plants, such as water hyacinth, it would be biologically advantageous that the highest concentrations of compounds with allelopathic potential were directly released from roots under the water.

It is known that floating aquatic macrophytes dispute for light and nutrients against phytoplankton and other macrophytes (Gross, 2003). This author identified secondary metabolites with allelopathic effect, which inhibit the growth of algae present in areas containing *Pistia stratiotes* (water cabbage). In addition, water hyacinth also showed algacide effect in many other studies (Jin *et al.* 2003; Shanab *et al.* 2010; Wu *et al.* 2012), which suggests that they may produce allelopathic compounds.

Population considered under densely populated areas showed greater inhibitor effect in the bioassay for the ethanolic extract. For the aqueous extract there was no significant differences between plantations of *Eichhornia crassipes* under different denser planting conditions.

398 The success of this macrophyte in colonizing several environments is influenced by abiotic
399 and biotic factors. Abiotic factors are related to chemical composition of sediments and water, solar
400 radiation, water speed, and many others (Esteves & Camargo 1986; Rooney & Kalff 2000; Thomaz
401 2002), and biotic factors are, such as, competitive ability, which may be potentialized through
402 allelopathic effect (Leflaive & Hage 2007), promoting an advantage in relation to other plants. This effect
403 could be related to the greater inhibitor effect usually found on densely populated areas. In addition,
404 macrophytes have wide phenotypic plasticity, which may make them able to colonize environments under
405 different physical and chemical characteristics (Thomaz 2002; Cícero *et al.* 2007).

406 All extracts, except those obtained from leaves collected in the P₂, have a concentration
407 dependence effect for all parameters. In fact, there were a set of negative changes as extract concentration
408 increases. Such changes may occur during seed germination, as result of changes on membrane
409 permeability, enzymatic effect, movement of stomata, DNA and RNA damages, etc; or even resulting
410 from effect of an assembly of factors (Gniazdowska & Bogatek 2005; Reigosa *et al.* 2013). For Ashrafi;
411 Sadeghi & Mashhadi (2009) and Zhang *et al.* (2009), however, the inhibitor effect on seed germination
412 and growth of seedlings are evident as extract concentration increase.

413 The visible effect of the allelochemicals on seed germination and/or seedlings development
414 suggests the occurrence of collateral effects of those expected on molecular and cellular levels (Ferreira &
415 Borghetti 2004; Ribeiro *et al.* 2012), as we evidenced for the aqueous extract and ethanolic extract
416 obtained from rhizomes/roots.

417 However, the allelopathic effect does not occur only on the germination percentage, but also
418 on germination velocity, causing changes on the germination distribution curve, extending it throughout
419 time (Ferreira & Áquila 2000). These changes may be because of environmental interferences, which
420 block or delay the metabolic processes (Souza *et al.* 2007). Indeed, decreasing of germination time, found
421 by determining GVI, suggests the presence of allelochemicals in the extracts, since it may have occurred
422 inhibition of stock split speed and translocation of nutritive compounds from the endosperm to the
423 embryo (Azambuja *et al.* 2010). Then, changes caused by allelochemicals on germination curve, as well
424 as germination rates, show interferences on metabolic reactions which trigger seed germination (França *et*
425 *al.* 2008).

426 Allelochemicals may also influence root elongation. The radicular sensibility of seedlings, for
427 instance, is the characteristic that best shows the allelopathic effect of plants extracts (Seal & Pratley
428 2010). The allelopathic compounds influence the process of root emission, since the elongation depends
429 on cellular division, which, when inhibited compromises the normal development of roots, besides
430 influencing the membrane permeability and activation of enzymes involved on plant growth process
431 (Hoffmann *et al.* 2007). These effects probably occur as a result of direct and prolonged contact of roots
432 with extracts, which make roots more sensible to these substances than other plant structures (Oliveira *et*
433 *al.* 2012; Takao; Ribeiro & Lima, 2012).

434 Extracts also influenced values of fresh and dry biomass. Tur; Borella & Pastorini (2010)
435 reported that biomass production may be a good indicator to show the influence of allelochemical
436 compounds on seedlings growth. Gatti; Perez & Lima (2004) stated that these variations may be
437 explained due to a differentiated investment of organic material, either on roots or aerial parts, directly
438 influenced by the type and extract concentration.

439 The chart adjustment to linear regression models, for the aqueous and ethanolic extracts
440 obtained from rhizomes/roots, showed the inverse relation between concentration and quantity of
441 seedlings, the same occurring to G% and RE which resulted from the same type of proportionality.

442 Data obtained in this study suggested a cytogenotoxic effect of extracts in the bioassay. In
443 fact, are considered cytotoxic effects those which lead to MI reduction, while the genotoxic effects may
444 be defined as data of genetic material identified by the increasing of abnormalities frequency in
445 meristematic cells (Iganci *et al.* 2006). Also according to these authors, chemical compounds, which have
446 allelochemical effect, may also have cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects.

447 According to Souza *et al.* (2009), besides inducing mutations, compounds originating from
448 plants may also modify effect of other substances on living organisms, transforming to mutagenic,
449 chemicals that are not essentially mutagenic.

450 Different forms of compounds extraction, from different structures, in general, cause
451 reduction of cellular division on meristematic zone of the roots of lettuce, when extracts concentration
452 increases. Similar result was found by Ribeiro *et al.* (2012) when working with extracts obtained from
453 leaves of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.), and by Andrade-Vieira *et al.* (2014) when working with
454 oil of seeds of *Jatropha curcas* L. This effect may result from chemical effect of existing compounds in
455 the extracts (Leme & Marin-Morales 2009), and suggests a cytotoxic effect that they induce (Oliveira;
456 Voltolini & Barbério 2011).

457 Ozmén (2010), by assessing the cytotoxic effect of extracts obtained from flowers of *Hibiscus*
458 *rosa-sinensis*, found an inhibitory effect on MI, and he assigned that this effect was result of compounds
459 present in the extracts, which could inhibit the DNA synthesis or cause a blockage in the G2 phase of the
460 cellular cycle, not allowing the cell to begin the mitosis. Values of MI obtained here are also correlated to
461 G% and RE, both for aqueous and ethanolic extracts, which decreased in contact with these extracts.
462 Ribeiro *et al.* (2013), by using ethanolic extracts obtained from leaves and seeds of *Annonacrassiflora* on
463 lettuce seeds, they could identify reduction of G%, RE and MI. This parameters are directly related to
464 plant development, since root growth occur as result of proliferation of meristematic cells followed by
465 cellular expansion (Andrade *et al.* 2010; Ding *et al.* 2010). According to Gniazdowska & Bogatek (2005),
466 reduction of plant growth, as result of compounds with allelopathic effect, may be associated to mitosis
467 inhibition, as well as disruption of nucleus and mitochondria.

468 In relation to abnormalities, we found greater frequency on all treatments than on control for
469 both aqueous and ethanolic extracts. The occurrence of these nuclear abnormalities, however, allowed us

470 assessing the toxicity of substances contained in the extracts on the chromosomal complement of the
471 bioassay (Leme & Marin-Morales 2009; Ozmén 2010).

472 The AF may be characterized through changes on structural level or based on total quantity of
473 chromosomes, which may occur, both in spontaneous way and as result of exposition to physical and
474 chemical agents (Leme & Marin-Morales 2009). May also result from induction of DNA breaking or
475 inhibition of its synthesis (Souza & Viccini 2011). The presence of DNA damages, however, is one of
476 mechanisms of action of genotoxic agents, and may be caused by the oxidation, bases dimerization, and
477 many other effects, which may cause cell repair processes, as well as irreversible changes and cell death
478 (Oliveira; Voltolini & Barbério 2011).

479 Chromosomal bridges, loss chromosomes, and micronucleus were identified with greater
480 frequency on the treatments than on controls, both for aqueous and ethanolic extracts, which allowed
481 inferring that extracts may have clastogenic substances (Iganci et al. 2006; Andrade *et al.* 2010). The
482 occurrence of this effect, may be consequence of deficiencies and inversion of segments caused due to
483 breaking of genetic material, promoting greater exposure to the effect of exonucleases and endonucleases,
484 and increasing loss of genetic material (Borges *et al.* 2011).

485 Formation of micronucleus is considered an effective end-point for analysing the toxicity
486 promoted by chemical compounds on nuclear DNA (Juchimiuk; Hering & Maluszynska 2007; Campos *et al.*
487 *et al.* 2008; Leme & Marin-Morales, 2009; Souza & Viccini 2011). Abnormalities such as C-metaphase and
488 stickiness were also found in greater quantity on the treatments than on the controls, suggesting the
489 genotoxic effect of the extracts. Such effect may be caused by aneugenic substances found in the extracts,
490 able to interfere in formation of achromatic spindle, as well as by mutations in important proteins in the
491 chromatin compaction (Oliveira; Voltolini & Barbério 2011).

492 For Ozmén (2010), therefore, the sticky appearance of chromosomes occurs due to toxic
493 compounds effect on the physical and chemical structures of the DNA and/or proteins, while C-
494 metaphases, which name is due to chromosomes surrounding the equator of the similar cell to those
495 observed on treated cells with cells cycle blockers, indicates effect of toxic agents on spindle fibers,
496 blocking the follow-on of mitotic cycle (Leme & Marin-Morales 2009).

497 498 **5. CONCLUSIONS** 499

500 Inhibitory effects of aqueous and ethanolic extracts on germination process, initial growth and
501 cellular proliferation of lettuce were found for both two structures, leaves and rhizomes/roots, showing
502 the allelopathic effect of *Eichhornia crassipes*.

503 Samples collected in denser planting conditions, showed high phytotoxicity for the ethanolic
504 extract. Rhizomes/roots showed high inhibition capacity for both aqueous and ethanolic extracts in the

bioassay. All parameters showed the allelopathic effect of the plant specie, and concentration dependence effect for the majority of extracts and plant structures.

Therefore, data obtained in the laboratory suggest that the allelopathic effect may occur in plantations also on farm, and may generate information for researches involving plantation that occur in the Furnas reservoir.

6. REFERENCES

- Alves, M.C.S.; Medeiros Filho, S.; Innecco, R. & Torres, S.B. 2004. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **39**: 1083-1086.
- Andrade, L.F.; Davide, L.C. & Gedraite, L.S. 2010. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety** **73**: 626-631.
- Andrade-Vieira, L.F.; Botelho, C.M.; Laviola, B.G.; Palmieri, M.J. & Praça-Fontes, M.M. 2014. Effects of *Jatropha curcas* oil *Lactuca sativa* root tip bioassays. Anais da **Academia Brasileira de Ciências** **86**: 373-382.
- Ashrafi, Z.Y.; Sadeghi, S. & Mashhadi, H.A. 2009. Inhibitive effects of barley (*Hordeum vulgare*) on germination and growth of seedling quack grass (*Agropyrum repens*). **Icelandic Agricultural Sciences** **22**: 37-43.
- Azambuja, N.; Hoffmann, E.F.; Neves, L.A.S. & Goulart, P. L. 2010. Potencial alelopático de *Plectranthus barbatus* Andrews na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. e de *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias** **9**: 66-73.
- Borella, J. & Pasotorini, L.H. 2010. Efeito Alelopático de Umbu (*Phytolacca dioica* L.) sobre germinação e crescimento inicial de alface e picão-preto. **Ciência & Agrotecnologia** **34**: 1129-1135.
- Borges, C.S.; Cuchiara, C.C.; Silva, S.D.A. & Brobowsky, V.L. 2011. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. **Tecnologia e Ciência Agropecuária** **5**: 15-20.
- Brasil. 2009. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.
- Brasil. 2010. **Farmacopéia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA.
- Campos, J.M.S.; Davide, L.C.; Soares, G.L.G. & Viccini, L.F. 2008. Mutagenic effects due allelopathic action of fern (Gleicheniaceae) extracts. **Allelopath Journal** **22**: 143-152.
- Cícero, E.A.S.; Pitelli, R.A.; Sena, J.A.D. & Ferrauda, A.S. 2007. Variabilidade genética e sensibilidade de acessos de *Pistia stratiotes* ao herbicida GLYPHOSATE. **Planta Daninha** **25**: 579-587.
- Delachave, M.E.A.; Rodrigues, J.D. & Ono, E.O. 1999. Efeitos alelopáticos de losna (*Artemisia absinthium* L.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes** **21**: 265-269.

- 555 Ding, L.; Jing, H.; Qin, B.; Li, J. Wang, T. & Liu, G. 2010. Regulation of cell division and growth in
556 roots of *Lactuca sativa* L. seedlings by the Ent- Kauren e diterpenoid Rabdosin B. **Journal Chemical**
557 **Ecology 36**: 553-563.
- 558
- 559 Domingos, V.D.; Martins, D.; Costa, N.V. & Marchi, S.R. 2011. Fatores ambientais na distribuição de
560 populações de *Brachiaria subquadripara* presentes no reservatório de Barra Bonita. **Planta Daninha 29**:
561 37-49.
- 562 Eberlein, C.V. 1987. Germination of *Sorghum alnum* seeds and longevity in soil. **Weed Science**
563 **Lawrence 35**: 796-801.
- 564
- 565 Esteves, F. A. & Camargo, A. F. M. 1986. Sobre o papel das macrófitas aquáticas na estocagem e
566 ciclagem de nutrientes. **Acta limnologica Brasiliensia 1**: 273-298.
- 567
- 568 Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista**
569 **Brasileira de Fisiologia Vegeta 112**: 175-204.
- 570
- 571 Ferreira, A. G. & Borguetti, F. 2004. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed.
- 572
- 573 Ferreira, M.C.; Souza, J.R.P. & Faria, T.J. 2007. Potenciação alelopática de extratos vegetais na
574 germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. **Ciência e Agrotecnologia 31**: 1054-1060.
- 575
- 576 França, A.C.; Souza, I. F.; Santos, C.C.; Oliveira, E.Q. & Martinotto, C. 2008. Atividade alelopática de
577 nim sobre o crescimento do sorgo, alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia 32**: 1374-1379.
- 578
- 579 Friedman, J. 1995. Allelopathy, autotoxicity, and germination. In: Kegel, J.; Galili, G. (eds.). **Seed**
580 **Development and Germination**. Marcel Dekker Inc., New York.
- 581
- 582 Gatti, A.B.; Perez, S.C.J.A. & Lima, M.I.S. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de
583 *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* e *Raphanus sativus*
584 *L*. **Acta Botanica Brasilica 18**: 459-472.
- 585
- 586 Gniazdowska, A. & Bogatek, R. 2005. Allelopathic interactions between plants Multi site action of
587 allelochemicals. **Acta Physiologiae Plantarum 27**: 395-407.
- 588
- 589 Grisi, P.U.; Ranal, M.F.; Gualtiere, S.C.J. & Santana, D.C. 2012. Allelopathic potential of *Sapindus*
590 *saponaria* L. leaves in the control of weeds. **Acta Scientiarum Agronomy 34**: 1-9.
- 591
- 592 Gross, E.M. 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. **Critical Reviews in Plant Science 22**: 313-339.
- 593
- 594 Guerra, M. & Souza, M. J. 2002. **Como observar cromossomos**. Ribeirão Preto, Ed. Funpec.
- 595
- 596 Han, C.M.; Pan, K.W.; Wu, N. & Li, W. 2008. Allelopathic effect of ginger on seed germination and
597 seedling growth of soybean and chive. **Scientia Horticulturae 116**: 330-336.
- 598
- 599 Hoffmann, C.E.F.; Neves, L.A.S.; Bastos, C.F. & Wallau, G.L. 2007. Atividade alelopática de
600 *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L.
601 **Revista de Ciências Agroveterinárias 6**: 11-21.
- 602
- 603 Hong, N.H.; Xuan, T.D.; Eiji, T. Hiroyuki, T.; Mitsuhiro, M. & Khanh, D. 2003. Screening for
604 allelopathic potential of higher plants from Southeast Asia. **Crop Protection 22**: 829-836.
- 605

- 606 Iganci, J.R.V.; Bobrowski, V.L.; Heiden, G.; Stein, V.C. & Rocha, B.H.G. 2006. Estudo do extrato
607 aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivo**
608 **do Instituto de Biologia 73**: 79-82.
- 609
610 Jiménez-ozornio, J.; Kumamoto, J. & Wasser, C. 1996. Allelopathic activity of *Chenopodium*
611 *ambrosioides* L. **Biochemical Systematics and Ecology 24**: 195-205.
- 612
613 Jin, Z.H.; Zhuang, Y.Y.; Dai, T. & Li, L. 2003. Isolation and identification of extracts of *Eichhornia*
614 *crassipes* and their allelopathic effects on algae. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**
615 **71**: 1048-1052.
- 616
617 Juchimiuk, J.; Hering, B. & Maluszynska, J. 2007. Multicolour FISH in an analysis of chromosomes
618 aberrations induced by N-nitroso-N-methylurea and maleic hydrazide in barley cells. **Journal Applied**
619 **Genetic 48**: 99-106.
- 620
621 Kateregga, E. & Sterner, T. 2014. Lake Victoria fish stocks and effects of Water Hyacinth. **The Journal**
622 **of Environmental & Development 18**: 62-78.
- 623
624 Leflaive, J. & Hage, L.T. 2007. Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a
625 comparison of allelopathic compounds and toxins. **Freshwater Biology 52**: 199-214. 2007.
- 626
627 Leme, M.D. & Marin-Morales, M.A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its
628 application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research 682**: 71-81.
- 629
630 Maguire, B. 1996. Genus *Clusia* (Guttiferae) in Suriname. **Acta Botanica Neerlandica 15**: 63-75.
- 631
632 Maraschin-Silva, F. E. & Aqüila, M.E.A. 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e
633 crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica 20**: 61-69.
- 634
635 Marcos Filho, J. 2005. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ.
- 636
637 Martins, D.; Pitelli, R.A.; Tomazella, M.S.; Tanaka, R.H. & Rodrigues, A.C.P. 2009. Levantamento da
638 infestação de plantas aquáticas em Porto Primavera antes do enchimento final do Reservatório. **Planta**
639 **Daninha 27**: 879-886.
- 640
641 Mehra, A.; Farago, M.E. & Banerjee, D.K.A. 2000. Study of *Eichhornia crassipes* growing in the
642 overbank and flood plain soils of the River Yamuna in Delhi, India. **Environmental Monitoring and**
643 **Assessment 60**: 25-45.
- 644
645 Neves, T.; Foloni, L.L. & Pitelli, R.A. 2002. Controle químico do aguapé (*Eichhornia crassipes*). **Planta**
646 **Daninha 20**: 89-97.
- 647
648 Oliveira, M.O.; Voltolini, J.C. & Barbério, A. 2011. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio
649 Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando teste *Allium cepa*. **Ambiente & Água 6**: 90-103.
- 650
651 Oliveira, A.K.; Coelho, M.F.; Silveira, S.K. & Diógenes, F.E. P. 2012. Atividade alelopática de extratos
652 de diferentes órgãos vegetais de *Caesalpinia férrea* na germinação de alface. **Ciência Rural 42**: 1397-
653 1403.
- 654
655 Ozmén, A. 2010. Cytotoxicity of *Hibiscus rosa-sinensis* flower extract. **Caryologia 63**: 157-161.
- 656

- 657 Pereira, F.J.; Castro, E.M.; Oliveira, C.; Pires, M.F. & Pasqual, M. 2011. Mecanismos anatômicos e
658 fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância a contaminação por Arsênio. **Planta Daninha 29**: 259-
659 267.
- 660
- 661 Reigosa, M.J.; Sánchez-Moreiras, A. & González, L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy.
662 **Critical Reviews in Plant Sciences 18**: 577-608.
- 663
- 664 Reigosa, M.J.; Gomes, A.S.; Ferreira, A.G. & Borghetti, F. 2013. Allelopathic research in Brazil. **Acta**
665 **Botanica Brasílica 27**: 629-646.
- 666
- 667 Ribeiro, L.O.; Barbosa, S.; Balieiro, F.P.; Beijo, L.A. Santos, B.R.; Gouvea, C.M.C.P. & Paiva, L.V.
668 2012. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]
669 em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências 10**: 220-225.
- 670
- 671 Ribeiro, L.R.; Santos, M.F.; Silva, Q.M.; Palmieri, M.J.; Andrade-Vieira, L.F. & Davide, L.C. 2013.
672 Cytogenotoxic effects of ethanolic extracts of *Annonacrassiflora* (Annonaceae). **Biologia 68**: 433-438.
- 673
- 674 Rooney, N. & Kalff, J. 2000. Inter-annual variation in submerged macrophyte community biomass and
675 distribution: the influence of temperature and lake morphometry. **Aquatic Botany 68**: .321–335.
- 676
- 677 Seal, A.N. & Pratley, J.E. 2010. The specificity of allelopathy in rice (*Oryza sativa*). **Weed Research 50**:
678 303–311.
- 679
- 680 Shanab, S.M.M.; Shalaby, E.A.; Lightfoot, D.A. & El-Shemy, H.A. 2010. Allelopathic effects of water
681 Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Plos One 5**: 1-8.
- 682
- 683 Simões, M.S.; Madail, R.H.; Barbosa, S. & Nogueira, M.L. 2013. Padronização de bioensaios para
684 detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas 26**: 29-36.
- 685
- 686 Souza Filho, A.P.S.; Santos, R.A.; Santos, L.S.; Guilhon, G.M.P. Santos, A.S.; Arruda, M.S.P.; Muller,
687 A.H. & Arruda, A.C. 2006. Allelopathic potential of *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha 24**: 649-656.
- 688
- 689 Souza, C.S.M.; Silva, W.L.P.; Guerra, A.M.N. Cardoso, M.C. & Torres, S. B. 2007. Alelopatia de extrato
690 aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista Verde 2**: 96-100.
- 691
- 692 Souza, S.M.; Silva, P.S.; Campos, J.M.S. & Viccini, L.F. 2009. Cytotoxic and genotoxic effects of two
693 medicinal species of Verbenaceae. **Caryologia: International Journal of Cytology 62**: 326-336.
- 694
- 695 Souza, M.S. & Viccini, L.F. 2010. Cytotoxic and genotoxic of *Achillea mille folium* aqueous
696 extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia 21**: 98-104.
- 697
- 698 Takao, L.K.; Ribeiro, J.P.N. & Lima, M.I.S. 2011. Potencial alelopático de macrófitas aquáticas de um
699 estuário cego. **Acta Botanica Brasílica 25**: 324-330.
- 700
- 701 Téllez, T.R.; Lopez, E.M.R.; Granado, G.L.; Pérez, E.A.; Lopés, R.M. & Guzmán, J.M.S. 2008. The
702 water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in Guadiana River Basin (Spain). **Aquatic**
703 **Invasions 3**: 42-53.
- 704
- 705 Thomaz, S.M. & Bini, L.M. 2002. Análise crítica dos estudos sobre macrófitas aquáticas desenvolvidos
706 no Brasil. In: Thomaz, S.M. & Bini, L.M. (Ed.). Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas. **Eduem**: 19-
707 35. 2002.
- 708

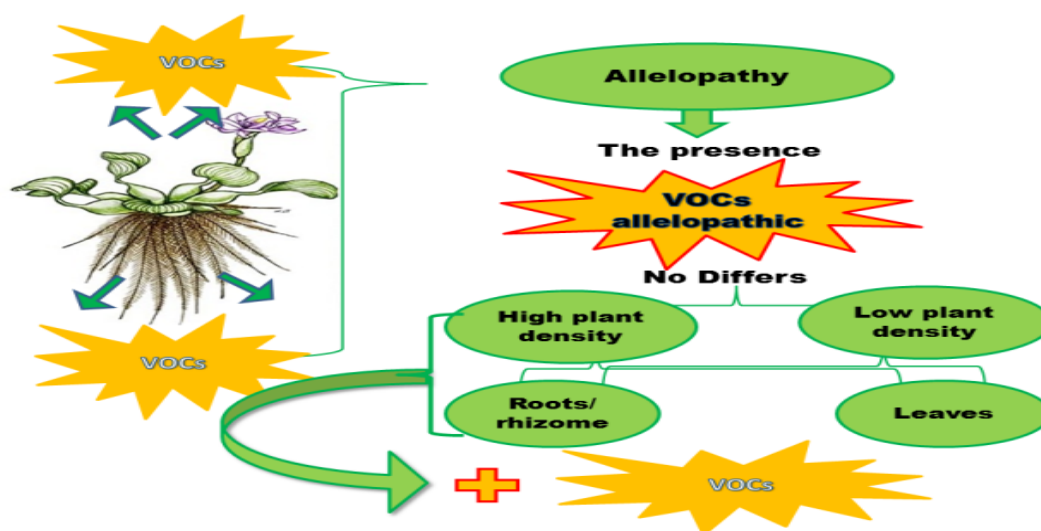
- 709 Thomaz, S.M. 2002. Fatores Associados à Colonização e ao desenvolvimento de macrófitasaquáticas e
710 desafios de manejo. **Revista Planta Daninha 20**: 21-33. 2002.
- 711
- 712 Tur, C.M.; Borella, J. & Pastorini, L.H. 2010. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a
713 germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas 23**: 13-22.
- 714
- 715 Wu, X.; Zhang, Z.; Chen, D.; Zhang, J.; Yang, W. & Jin, Y. 2012. Allelopathic effects of *Eichhornia*
716 *crassipes* on the Growth of *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Agricultural Science and Tecnology 2**:
717 400-1406.
- 718
- 719 Zhang, D.; Zhang, J.; Yang, W. & Wu, F. 2009. Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across
720 a range of plantation ages. **Ecological Research 25**: 13-23.

**ARTIGO II - PROSPECÇÃO DE COVs COM POTENCIAL ALELOPÁTICO
EM ESTRUTURAS DE *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms**

AUTORES: Maria Goreti de Oliveira, Rafael Hansen Madail, Eduardo Costa de Figueiredo; André Coutinho Vieira; Sandro Barbosa.

*Artigo redigido conforme normas do periódico **Química Nova**, classificado como Qualis A2 na área de Ciências Ambientais de acordo com a CAPES.*

Graphical abstract



This work showed that the presence of VOCs in water hyacinth plants is higher in roots / rhizomes and all structures exhibit allelopathic VOCs, however the population in high density population have great diversity VOCs that may exhibit such activity.

PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS COM POTENCIAL ALELOPÁTICO EM ESTRUTURAS DE *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms

Maria Goreti de Oliveira;^A Rafael Hansen Madail;^B Eduardo Figueiredo;^C André Coutinho Vieira^D; Sandro Barbosa.^{E*}

^ADiscente, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Tecnologia Ambiental, Instituto de Ciências da Natureza, Universidade Federal de Alfenas-MG.

^BDocente, Instituto Federal do Sudeste de Minas- Campus Poços de Caldas-MG.

^CDocente, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas-MG.

^DDiscente Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas-MG.

^EDocente, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Tecnologia Ambiental, Instituto de Ciências da Natureza, Universidade Federal de Alfenas-MG.

**PROSPECT FOR VOLATILE ORGANICS COMPOUNDS WITH
ALLELOPATHIC PROPERTIES IN STRUCTURES FROM *Eichhornia crassipes***

(Mart.) Solms

Abstract

VOCs are involved in various functions in plants, among them, have been highlighted actions of these compounds in allelopathic interactions. *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, commonly known as water hyacinth is a free floating aquatic macrophyte highly adapted to different environments and has caused ecological and economic problems due to the formation of overpopulations in reservoirs supply and power generation. The aim of this study was to identify volatile organic compounds in ethanolic extracts of leaves and rhizomes/roots of hyacinth coupled to a gas chromatography mass spectrum, and analyze whether these compounds possess allelopathic activity. The results show that the root and rhizome show greater amount of volatile organic compounds. All structures had allelopathic compounds identified in the literature, for example, 2-pentanone and linoleic acid, margaric myristic acid and alpha-linolenic acid, octacosane was observed a greater amount of compounds and in greater concentrations in the population considered densely. This suggests that many compounds present in *Eichhornia* not yet studied may also exhibit this allelopathic potential. We do not know whether the greater amount of compounds identified in this population is a response to density condition, or if exactly this fact favors this condition.

Keywords: *Allelopathy; Water hyacinth; Population density; Volatile organic compounds.*

Compostos orgânicos voláteis estão envolvidos em diversas funções nas plantas, dentre elas, tem sido destacada a ação destes compostos em interações alelopáticas. *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, conhecida popularmente como Aguapé, é uma macrófita aquática flutuante livre altamente adaptadas a diversos ambientes e tem causado problemas ecológicos e econômicos, devido à formação de superpopulações em reservatórios de abastecimento e geração de energia. O objetivo deste estudo foi identificar compostos orgânicos voláteis em extratos etanólicos de folhas e rizoma/raízes de Aguapé por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas, e analisar se estes compostos possuem atividade alelopática. Os resultados demonstram que o rizoma/raiz apresentam maiores quantidades de compostos orgânicos voláteis. Todas as estruturas apresentaram compostos alelopáticos identificados na literatura, por exemplo, ácidos linoleico, mirístico margárico e alfa-linoleico, 2-pentadecanona e octacosano Observou-se maior quantidade de compostos e em maiores concentrações na população considerada adensada. Este fato sugere que muitos compostos presentes em *Eichhornia*, ainda não estudados também podem apresentar esse potencial alelopático. Nós não sabemos ainda se a maior quantidade de compostos identificados nessa população é uma resposta a condição de adensamento, ou se justamente esse fato favorece essa condição.

Palavras chave: *Alelopatia; Aguapé; adensamento populacional; Compostos orgânicos voláteis.*

1 INTRODUÇÃO

Devido a sua condição sésil, os vegetais desenvolveram estratégias de sobrevivência ao longo de sua evolução como alternativas de defesa eficientes contra diversas condições de estresse. Tais estratégias envolvem uma grande variedade de metabólitos secundários ou especiais e estes contribuem para a sobrevivência das plantas em condições desfavoráveis favorecendo a colonização de vários ambientes.¹

Dentre os metabólitos especiais capazes de atuar diante de tais condições de estresse, compostos orgânicos voláteis (COVs) têm função importante na defesa vegetal, bem como sinalização e interações intra e interespecíficas.²

COVs são definidos como moléculas orgânicas com ponto de ebulição suficientemente baixo, geralmente abaixo de 150 °C, e valores de pressão de vapor maiores que 0,01 kPa. Estes compostos apresentam hidrofobicidade moderada podendo tanto se dissolver em água como em fase gasosa, tornando-se perceptíveis tanto para organismos terrestres quanto aquáticos.³

Enquanto em ambientes terrestre, os COVs liberados derivam-se, em sua maioria, de aldeídos C₆ e alcoóis^{4,3} em ambiente aquático observa-se uma diversidade muito maior destes compostos^{5,6} e tanto produtores primários quanto animais são capazes de emitir e/ou recebê-los para os fins de comunicação e/ou defesa.³

A emissão de COVs a partir das plantas pode variar amplamente, dependendo da espécie, órgão, estágio de desenvolvimento e fatores ambientais tanto bióticos³ quanto abióticos.⁷⁻⁹ A limitação de recursos ocasionada pela concorrência entre plantas também pode afetar a produção e eliminação dos voláteis.¹⁰

Tem sido destacada também a ação negativa dos COV no crescimento e morfologia de plantas e, portanto relacionadas a alelopatia, definida como efeito negativo ou positivo direto ou indireto sobre outro organismo, mediado por compostos químicos, nesse caso denominado aleloquímicos.¹⁰ Nesse sentido o emissor pode adquirir mais nutrientes, água e luz do ambiente devido a uma redução da concorrência.¹¹

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms, popularmente conhecida como Aguapé é uma macrófita aquática flutuante¹² altamente propícia a formação de superpopulações e com forte caráter invasor, devido à alta capacidade de multiplicação e sucesso na competição com outras espécies.¹³

Aguapé vem causando problemas econômicos em reservatórios de usinas hidrelétricas devido ao comprometimento na geração de energia, além de obstrução de canais de irrigação e prejuízos à prática de esportes náuticos¹⁴⁻¹⁶ e estudos vêm demonstrando seu potencial alelopático sobre diversos tipos de algas,^{17,18} fator este que pode estar relacionada a sua condição vantajosa na competição com outras espécies.

Diante disso, investigações sobre o comportamento da espécie em ambientes artificiais como os reservatórios são de grande valia, principalmente na busca de formas de prevenção, controle e manejo de explosões populacionais que possam ocasionar danos a biodiversidade e aos usos econômicos desses ambientes.

Assim, este trabalho objetivou identificar os COVs de diferentes estruturas vegetais de Aguapé em populações em diferentes condições de adensamento, ocorrentes no reservatório de Furnas, região de Alfenas-MG e discutir se estes compostos podem estar relacionados com as vantagens adaptativas na formação de superpopulações da espécie, bem como identificar se existem diferenças nos padrões de compostos entre elas, e identificar compostos que possam apresentar potencial alelopático.

2 PARTE EXPERIMENTAL

Saídas de campo foram realizadas para a identificação de populações de Aguapé que se apresentassem em diferentes graus de adensamento populacional. Para efeito desse estudo, foram consideradas populações muito adensadas aquelas onde os organismos ocupavam mais de 50% da área do corpo d'água e populações pouco adensadas aquelas onde os organismos ocupavam um percentual inferior a esse valor. Foram identificadas duas populações: População 1, considerada muito adensada, em afluente do reservatório da UHE Furnas na Cidade de Campo do Meio, MG (21°06'24" Latitude S; 45°49'49" Longitude W) e População 2, pouco adensada situada em afluente no Reservatório da UHE Furnas, na cidade de Fama, MG (21°24'26" Latitude S; 45°49'43" Longitude W). Ambas as populações identificadas localizavam-se próximas a áreas urbanizadas e estavam sujeitas a ação antropogênica. As coletas foram realizadas nos meses de Outubro/Novembro de 2012, durante as quais, foram coletadas plantas no mesmo estágio fenológico, com o intuito de minimizar a interferências na produção de aleloquímicos.

Em laboratório, procedeu-se a separação das duas estruturas vegetais: folhas e rizoma/raízes. O material foi levado a estufa de ventilação por 15 dias a 40°C, e após a estabilização das massas, foi triturado e padronizado em tamis nº 20.

O extrato etanólico foi obtido a partir de maceração até a completa exaustão do material, onde 1000 mL de etanol foram vertidos em 50 g de pó tamisado (5%). Posteriormente, o material foi processado em rotaevaporador a 55 °C até a completa evaporação do solvente.¹⁹

Os extratos foram submetidos à análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) empregando-se um cromatógrafo QP-2010 PLUS da Shimadzu (Tóquio, Japão). O volume de amostra injetado foi de 1 µL no modo Splitless. A separação dos compostos do extrato foi realizada em coluna RTx-5 MS (30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm), com temperatura inicial de 80 °C por 1 min, seguido de aquecimento a uma taxa de 5 °C/min até 310 °C (mantida por 20 min). Os componentes da amostra eluíram através da coluna com um fluxo hélio de 0,8 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor, da fonte e da interface foram de 280, 250 e 280 °C, respectivamente. As análises foram realizadas no modo SCAN com m/z de 50 a 600, e a identificação dos compostos foi feita por comparação dos espectros de massa de padrões disponíveis na biblioteca do equipamento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 descreve os compostos identificados nos extratos etanólicos de folhas e rizomas/raízes de Aguapé (*Eichhornia crassipes* [Mart.] Solms) nas duas populações analisadas, bem como suas áreas de picos.

Para efeito desse trabalho, foram considerados os compostos identificados na biblioteca do equipamento, com porcentagem de certeza acima de 90%.

Tabela 1- Compostos identificados nas diferentes populações e partes vegetais de Aguapé por GC-MS, em relação ao tempo de retenção (min)

Tempo de Retenção (min).	População adensada (P1)		População pouco adensada (P2)	
	folha	Rizoma/ raiz	Folha	Rizoma/ raiz
22,152	Ni*	Decane-2,3,5,8-Tetrametil	-	-
23,511	-	Ni	-	-
24,416	-	Tetradecanol Merestaldeido. tetradecil aldeído.	-	Acido Tetradecanóico (Ácido Mirístico)
25,345	Fitol	Fitol	Fitol	Fitol
25,49	Ni	Ni	Ni	Ni
25,977	Acido 1,2-Benzenodicarboxílico (Ácido Ftálico)	Acido 1,2 Benzenodicarboxílico (Ácido Ftálico)	Acido 1,2-Benzenodicarboxílico (Ácido Ftálico)	Acido 1,2-benzenodicarboxílico (Ácido Ftálico)
26,292	3,7,11,15 Tetrametil 2,hexadeceno, 1-ol	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadeceno -1-ol	Ácido Benzenodicarboxílico bis(2-metil propil) ester (Acido Ftálico Disobutil).	3,7,11,15- tetrametil, 2-hexadeceno 1-ol
26,415	1- hexadecanol -N -cetil ol	1- hexadecanol -N -cetil -ol	-	1-hexadecanol-N -cetil -ol
26,495	-	Ni	Ni	-
28,665	Acido Palmítico.	Acido Palmítico.	Acido Palmítico.	Acido Palmitico.
28,68	Etil 5-hexadecenoato	-	Ni	-
29,625	-	-	Heptadecanóico acido etil Ester (Ácido Margárico)	-
29,675	-	-	*N.i.	-
30,175	Hexadecanal 14-metil (Z) / 14-metil-8-hexadecanal Z /	-	-	-

	octadecanal (Z) Olealdeido			
31,03	Fitol	Fitol	Fitol	Fitol
31,923	Ácido Linoleico	Ácido Linoleico	Ácido Linoleico	Ácido Linoleico
32,536	Acido Docosanoico	-	Acido Docosanoico	Acido Docosanoico
36,017	Ácido Hexanodióico	Ácido Hexanodióico	-	-
36,750	-	-	Ni*	-
41,005	Octacosano	-	-	-
47,24	Di-alfa-tocoferol/ vitamina C	-	-	
48,9	Campesterol	-	Campesterol	Campesterol
49,200	Estigmasterol		Estigmasterol	-
49,305	Ni	Estigmasterol	-	Estigmasterol
50,286	Ni	4,22 Estigamatadieno-3-one	β -sistosterol	-
51,005	-	-	-	-
51,98	-	2, Iodo Etil laurato	Ni	-
52,23	-	Estigmati 4-em-3-one.	-	-
52,725	-	4,22 Estigamatadieno-3-one	Ni	Ni

*Ni- Não identificado.

Diversos COV foram identificados nos extratos etanólicos de folhas e rizomas/raízes de Aguapé para ambas as populações estudadas. Foi identificado na população considerada muito adensada um número ligeiramente maior de compostos em relação a considerada pouco adensada bem como em uma maior concentração, conforme demonstrado pelas sobreposições dos cromatogramas das folhas e rizomas/raízes das diferentes populações, injetadas mesmas concentrações.

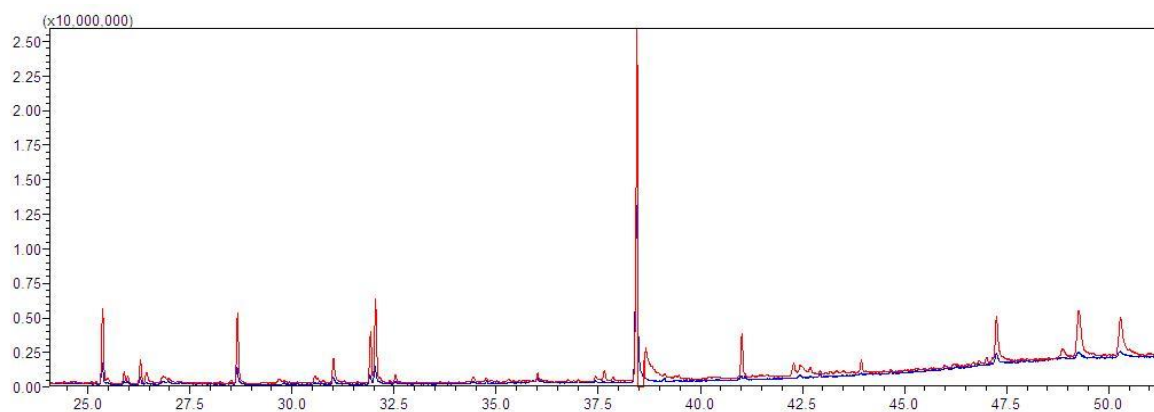


Figura 1. Sobreposição de cromatogramas obtidos por GC-MS- Tempo: 25 a 50 min. de extratos etanólicos de folhas de P1 em alto adensamento (vermelho) e P2 em baixo adensamento (azul)

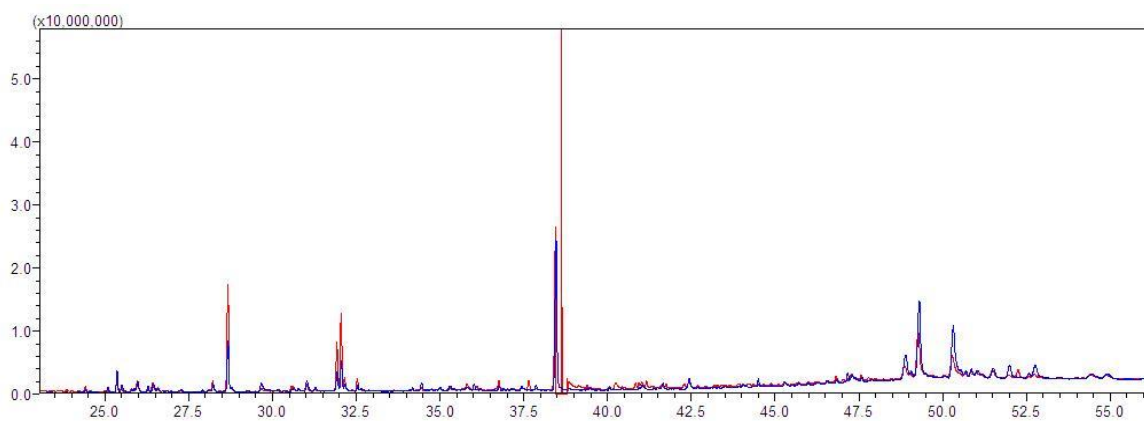


Figura 2. Sobreposição de cromatogramas obtidos por GC-MS- Tempo: 25 a 50 min. de extratos etanólicos de rizomas/raízes de população em alto adensamento (vermelho) e em baixo adensamento (azul)

Alguns compostos apresentaram-se em todas as estruturas vegetais e populações, enquanto outros foram identificados apenas em uma das estruturas vegetais estudadas e se limitavam a apenas uma população.

Alguns COVs identificados neste estudo também foram identificados por cromatografia gasosa em extratos etanólicos e metanólicos de Aguapé por Lalitha, Sripathi e Jayanthi,²⁰ Thamaraiselvi, Lalitha e Jayanthi²¹ e Shanab *et al.*¹⁸

Ainda para Lalitha, Sripathi e Jayanthi²⁰ e Thamaraiselvi, Lalitha e Jayanthi,²¹ os compostos presentes Aguapé podem apresentar diversas funções, tais como antioxidante, antimicrobiana, antialgal, larvicida, entre outras.

De modo geral, nos extratos analisados, as maiores quantidades de compostos foram identificadas nas rizomas/raízes de ambas as populações. Segundo Grisi *et al.*²² as raízes possuem maior capacidade de ação sobre o ambiente, uma vez que libera os compostos diretamente no solo, e estes podem atuar como aleloquímicos interagindo fortemente com o ambiente no desenvolvimento de raízes de plantas vizinhas e/ou no processo de germinação de sementes, ou no caso das macrófitas aquáticas, inibindo a biota local¹⁸

Ainda para Shanab *et al.*¹⁸ muitos compostos identificados em Aguapé apresentam atividade alelopática contra fitoplâncton.

A Tabela 2 apresenta os compostos identificados como apresentando potencial alelopático bem como os tempos de retenção e áreas dos picos, cujos valores referem-se à concentração do material encontrado. Assim, quanto maior a área do pico, maior será a concentração do composto identificado.

Tabela 2. Compostos identificados em extratos etanólicos de Aguapé com propriedades alelopáticas descritos na literatura

	População muito adensada (P1)				População Pouco adensada (P2)			
	Folha		Rizoma/raiz		Folha		Rizoma/raiz	
Tempo de Retenção (min)	Área	Composto	Área	Composto	Área	Composto	Área	Composto
24,416		-		-		-	2.331.231	Ácido mirístico
25,502		-		-		-	1.863.850	2-Pentadecanona
25,977	828.227	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico (ácido ftálico)	4.126.943	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico (ácido ftálico)	301.509	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico (ácido ftálico)	4.909.216	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico (ácido ftálico)
26,292	5.437.923	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2.909.285	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1.509.479	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1.903.666	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol
28,665	16.473.604	Ácido Palmítico	24.569.103	Ácido Palmítico	4.096.746	Ácido Palmítico	52.509.988	Ácido Palmítico
29,667		-	5.919.004	Ácido Margárico		-		-
31,923	10.947.435	Ácido Linoleico	8.479.836	Ácido Linoleico	1.818.779	Ácido Linoleico	23.065.478	Ácido Linoleico
32,545		-	2.655.683	Acido Alfalinoleico		-		
32,536	1.515.591	Acido Docosanoico	-	-	476.797	Ácido Docosanoico	6.170.589	Acido Docosanoico
36,017	1.781.955	Ácido Hexanodioico	2.651.254	Ácido Hexanodioico		-		-
41,005	9.142.622	Octacosano		-		-		-
49,200	21.494.494	Estigmasterol		-	43.564.379	Estigmasterol		-
49,305		-	67.843.386	Estigmasterol	-	-	43.564.379	Estigmasterol
50,286		-		-		-	18.153.591	β -sistosterol

Dentre os COVs identificados nos extratos, alguns foram reconhecidos, por apresentar algum potencial alelopático. Os valores referentes às aéreas dos picos, apresentam em quais concentrações estes aparecem nas estruturas e populações.

Alelopatia é considerada um importante mecanismo ecológico, capaz de influenciar a dominância e a sucessão das plantas, a formação de comunidades, a vegetação clímax bem como manejo e produtividade de culturas ¹¹e são capazes de afetar processos como a germinação de sementes, o crescimento das plântulas, a assimilação de nutrientes, fotossíntese, respiração, síntese e atividade de proteínas e enzimas bem como a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular.^{10,23} Ainda segundo Kegge; Pierik ²⁴ a alelopatia parece facilitar a invasão de algumas espécies em diversos sistemas.

Dentre os compostos obtidos, o ácido alfa-linoleico (32,545`), presente nas rizomas/raízes da população considerada muito adensada é reconhecido por apresentar atividade algicida contra o fitoplâncton .²⁵

Os ácidos graxos mirístico (24,416`) e margárico (29,667`) também identificados nas rizomas/raízes das plantas de Aguapé, estão relacionados a efeitos negativos sobre o fitoplâncton conforme descreve Wu *et al.* ²⁶ Ainda para Wu *et al.*²⁶ a presença destas substâncias pode estar relacionada aos danos observados na membrana plasmática desses organismos, como alterações de permeabilidade e consequente extravasamento do líquido intracelular, o que poderia explicar os seus efeitos letais contra o fitoplâncton.

Estudos como de Jin *et al.* ²⁷, Shanab *et al.* ¹⁸ e Wu *et al.* ²⁶ mostram que Aguapé apresenta atividade algicida contra diversas espécies, e uma vez que o fitoplâncton compete por luz e nutrientes com macrófitas a presença desses compostos pode oferecer vantagens ao Aguapé frente a esse tipo de competição.

No extrato de folhas da população considerada muito adensada, foi identificado o octacosano (41,005`), um alcano de cadeia linear, que está relacionado à resistência de plantas contra insetos, capaz de oferecer ao Aguapé, uma condição vantajosa em relação a esse estresse biótico, uma vez que o ataque de insetos pode ocasionar danos aos tecidos das plantas, propiciando a ação de patógenos.^{1,28,29}

O ácido hexanodioico (36,017`) também identificado nas estruturas vegetais das populações em alto adensamento de Aguapé foi identificado como compostos aleloquímico por Imail; Saddique ³⁰ e vem sendo testado como bio-herbicida em alternativa aos herbicidas sintéticos.

O COV ácido 1,2-benzenodicarboxílico ou ácido ftálico (25,977`), identificado em todas as estruturas vegetais analisadas, para ambas as populações, em quantidades expressivamente maiores nas rizomas/raízes de ambas as populações, também foi descrita por apresentar atividade antibacteriana, antifúngica bem como moderada atividade antialgal, ^{31,32} e sua utilização sobre *Fusarium semitectum*, *Cliocladium roseum* e *Fusarium oxysporum* demonstrou efeito inibitório sobre o crescimento desses organismos. O mesmo efeito inibitório foi encontrado por Shanab *et al.*¹⁸ ao analisar extratos metanólicos de Aguapé sobre diversos tipos de algas.

O Ácido palmítico (28,665`) identificado em todos os extratos analisados foi considerado alelopático por Wang *et al.*³³ por inibir a germinação e sementes de biotestes e por Mendes, Vermelho³⁴ e Zuo, Wan; Ma³⁵ por inibir o crescimento de microalgas. Os ácidos palmítico (28,665`) e margárico (29,667`) também foram considerados alelopáticos por Yu; Matsui³⁶ em bioensaios com alface.

Em comunidades naturais, as plantas competem entre si utilizando diferentes mecanismos e dentre esses, as interações químicas sob a forma de alelopatia, podem favorecer a concorrência, uma vez que estas lutam pelos mesmos recursos³⁷. Assim, o emissor pode afetar negativamente o ambiente adjacente com a liberação de compostos tendo este maior vantagem competitiva em relação ao receptor.³⁸

Baratelli *et al.*³⁹ ao analisar extratos de folhas e frutos de *Terminalia catappa* L. identificaram em ambas as estruturas compostos com propriedades alelopáticas, dentre elas os ácidos palmítico (28,680`) e 2-pentadecanona (25,490`) identificado nas rizomas/raízes de Aguapé da população pouco adensada. Segundo os autores, o efeito inibitório identificado nos extratos de *Terminalia catappa* L. poderia estar relacionado não apenas a um composto isolado, mas pela ação conjunta de diversos compostos com atividade aleloquímica.

O COV ácido mirístico (24,411`), foi encontrado no extrato de rizomas/raízes pouco adensada também foi relatado por Xuan *et al.*⁴⁰ como um dos responsáveis pela toxicidade sobre sementes de arroz de exsudados de Capim Barnyard (*Echinochloa crusgalli*), uma erva daninha mundialmente conhecida por ocasionar perdas na produtividade agrícola devido a rápida proliferação.

O ácido linoleico (31,923`) foi identificado em todas as estruturas e populações de Aguapé, sendo que as maiores quantidades foram identificadas em rizomas/raízes da população considerada em baixo adensamento. Islam; Kato-Noguchi⁴¹ analisaram o potencial alelopático de extratos de folhas e raízes de *Leucas aspera*

sobre diversos biotestes como alface (*Lactuca sativa* L.), agrião (*lepidun sativum* L.) dentre outros, e atribuíram esse efeito a compostos originários do metabolismo secundário, dentre eles, o ácido linoleico (31,923``) ⁴² que se encontrava em grande quantidade nas estruturas vegetais estudadas.

Outro composto encontrado em todas as estruturas vegetais estudadas em ambas as populações, em média nas mesmas proporções, foi o 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol (26,27``). Este foi identificado em grandes quantidades em extratos de folha de plantas epífitas sobre *Tillandsia recurvata* por Valencia-Diaz *et al.* ⁴³

Identificamos ainda nas estruturas das populações em baixo adensamento e nas folhas das populações muito adensadas, o ácido docosanoico (32,555``) também identificado em grandes quantidades em estruturas vegetais de *Euphorbia helioscopia*, uma planta medicinal com propriedade aleloquímica reconhecida. ^{44, 45}

Os esteroides estigmasterol (49,200``) e β -sitosterol (50, 3010``) também identificados nas estruturas de Aguapé, apresentaram efeitos alelopáticos sobre o crescimento do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), mostrando efeitos inibitórios sobre suas taxas de germinação e crescimento inicial. ⁴⁶

Macias *et al.* ⁴⁷ e Ripardo Filho *et al.* ⁴⁸ demonstraram as atividades alelopáticas de diversos esteróides isolados de *Melilotus messanensis* sobre a germinação e o crescimento das monocotiledôneas *Hordeumvulgare* e *Allium cepa*, bem como das dicotiledôneas *Lactuca sativa* (v. Nigra e v. Romana) e *Lycopersicon esculentum*.

4 CONCLUSÃO

Os extratos das diferentes estruturas vegetais de Aguapé das duas populações estudadas apresentaram diversos COVs, e muitos deles estão listados na literatura como potencialmente alelopáticos.

Rizomas/raízes foram as estruturas onde se encontravam a maioria dos COV, no entanto, todas as estruturas apresentaram compostos com atividade alelopática.

População considerada mais adensada apresentou maior número e concentração de COVs.

5 MATERIAL SUPLEMENTAR

Algumas imagens dos sistemas utilizados neste trabalho estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

Cromatogramas de compostos alelopáticos em *Eichhornia crassipes* [Mart.] Solms identificados em estruturas vegetais de duas populações em diferentes condições de adensamento.

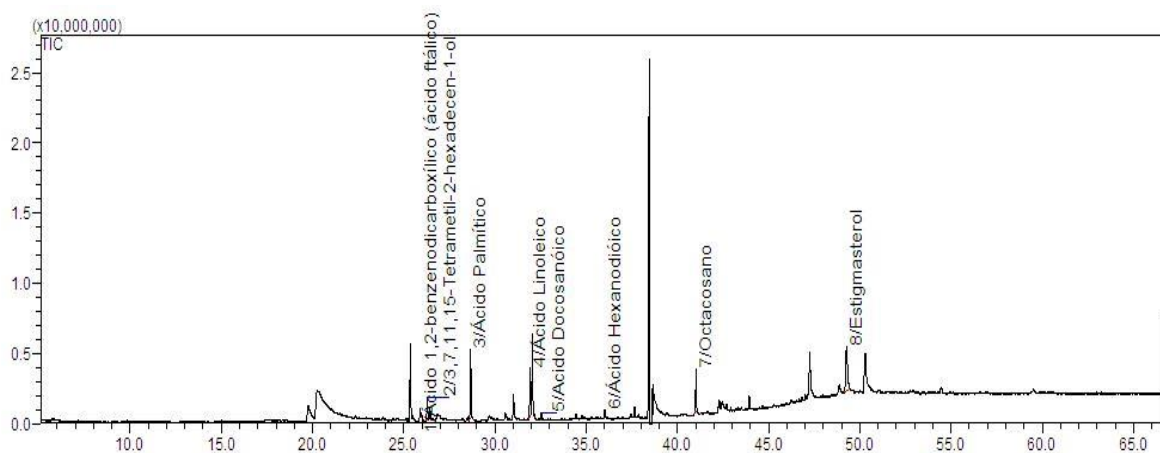


Figura 1: Cromatograma obtido por GC-MS identificando substâncias com potencial alelopático obtidos de folhas de Aguapé provenientes da população com alto adensamento

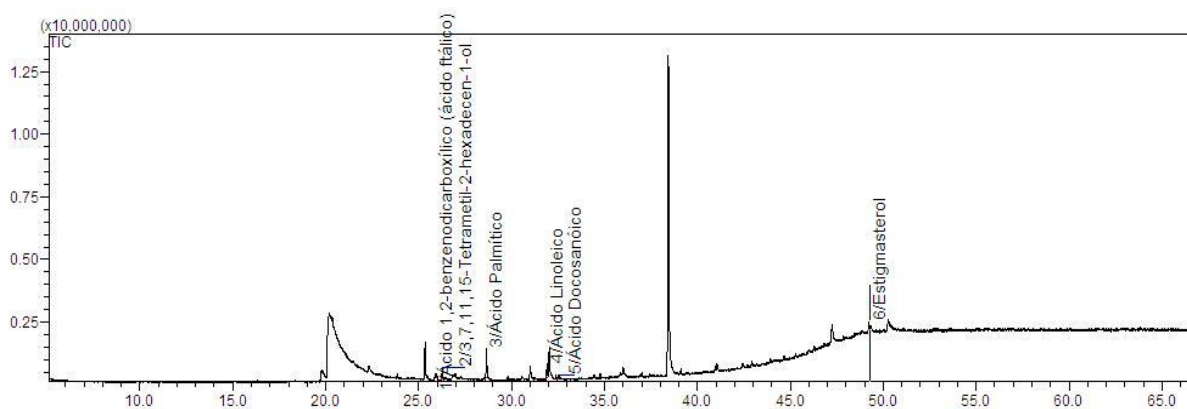


Figura 2: Cromatograma obtido por GC-MS identificando substâncias com potencial alelopático obtido de folhas de Aguapé provenientes da população com baixo adensamento populacional

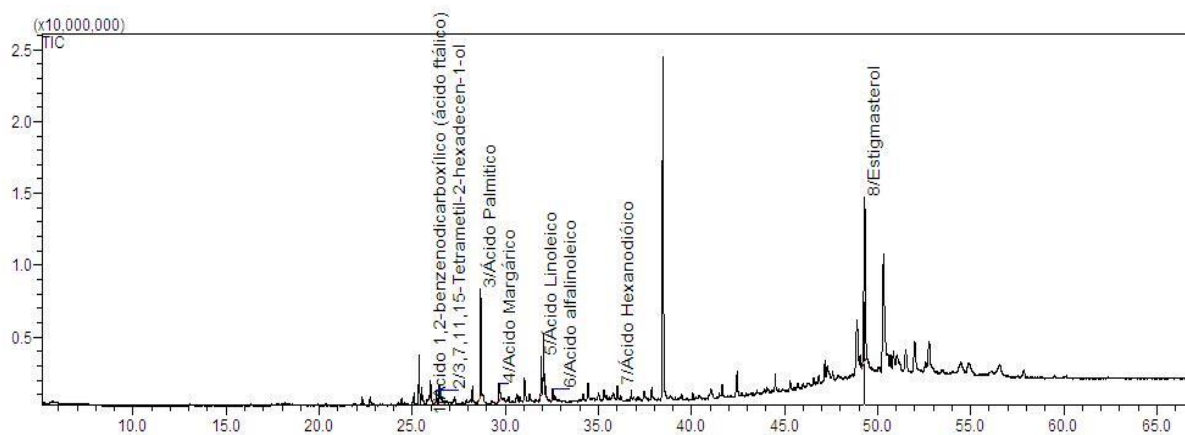


Figura 3: Cromatograma obtido por GC-MS identificando substâncias com potencial alelopático obtido de rizomas/raízes de Aguapé provenientes da população com alto adensamento populacional

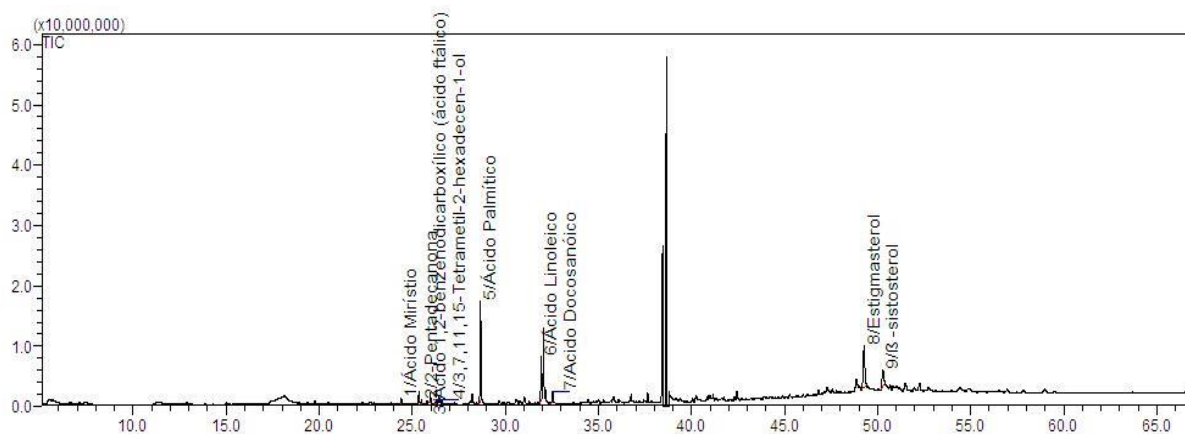


Figura 4: Cromatograma obtido por GC-MS identificando substâncias com potencial alelopático obtido de rizomas/raízes de Aguapé provenientes da população com baixo adensamento populacional

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, AUX PE-PPRODOC-2646, 2010) pelo apoio financeiro e bolsa concedida.

6 REFERENCIAS

1. Edreva, A.; Velikova, V.; Tsonev, T.; Dagnon, S.; Gurel, S.; Aktas, L.; Gesheva, E. Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *Gen. Appl. Plant. Physiology*. **2008**, *34*, 67-78.
2. Lerda, M.; Slobodkin, L. Trace gas emissions and species-dependent ecosystem services. *Trends Ecol. Evol.* **2002**, *17*, 309-312.
3. Fink, P. Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems. *Mar Freshw Behav Phy.* **2007**, *40*, 155-168.
4. Hatanaka, A. The biogenesis of green odor by green leaves. *Phytochem.* **1993**, *34*, 1201-1218.
5. Pohnert, G.; Boland, W. The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms. *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 108-122.
6. Watson, S.B.. Cyanobacterial and eukaryotic algal odour compounds: Signals or by-products? A review of their biological activity. *Phycologia*. **2003**, *42*, 332-350.
7. Sharkey, T.D. ; Yeh, S.S. Isoprene emission from plants. *Ann. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol.* **2001**, *52*, 407-436.
8. Duhl, T.R.; Helmig, D.; Guenther, A. Sesquiterpene emissions from vegetation: a review. *Biogeosciences*. **2008**, *5*, 761-777.
9. Holopainen, J.K.; Gershenzon, J. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends Plant Sci.* **2010**, *15*, 1360-1385.
10. Arimura, G.; Shiojiri, K.; Kartham, R. Acquired immunity to herbivory and allelopathy caused by airborne plant emissions. *Phytochem.* **2010**, *71*, 1642-1649.

11. Inderjit; Wandle, D.A.; Karban, R.; Callaway, R.M. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends Ecol. Evol.* **2011**, *26*, 655-662.
12. Pereira, F.J.; Castro, E.M.; Oliveira, C.; Pires, M.F.; Pasqual, M.. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de Aguapé para a tolerância a contaminação por Arsênio. *Planta Daninha.* **2011**, *29*, 259-267.
13. Téllez, T.R.; Lopez, E.M.R.; Granado, G.L.; Pérez, E.A.; Lopés, R.M.; Guzmán, J.M.S. The water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in Guadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions.* **2008**, *3*, 42-53.
14. Thomaz, S.M.; Bini, L.M. Análise crítica dos estudos sobre macrófitas aquáticas desenvolvidos no Brasil. In: Thomaz, S.M.; Bini, L.M. (Ed.). *Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas.* *Eduem*, **2002**, 19-35.
15. Martins, D.; Pitelli, R.A.; Tomazella, M.S.; Tanaka, R.H.; Rodrigues, A.C.P. Levantamento da infestação de plantas aquáticas em Porto Primavera antes do enchimento final do Reservatório. *Planta Daninha.* **2009**, *27*, 879-886.
16. Kateregga, E.; Sterner, T. Lake Victoria fish stocks and effects of Water Hyacinth. *J.E.D.* **2014**, *18*, 62-78.
17. Jin, Z.H.; Zhuang, Y.Y.; Dai, T.; Li, L. Isolation on identification of stracts of *Eichhorniacrassipes* and their allelopathic effects on algae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2003**, *71*, 1048-1052.
18. Shanab, S.M.M.; Shalaby, E.A.; Lightfoot, D.A.; El-Shemy, H.A. Allelopathic effects of water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Plos One.* **2010**, *5*, 1-8.
19. Ferreira, M.C.; Souza, J.R.P.; Faria, T.J.. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de Picão-Preto e alface. *Cienc. Agrotecnol.* **2007**, *31*, 1054-1060.

- 20.Lalitha, P.; Sripathi , S.K.; Jayanthi, P. Secondary Metabolites of *Eichhornia crassipes* (Waterhyacinth): A review (1949-2011). *N.P.C.* **2012**, *7*, 1249-1256.
- 21.Thamaraiselvi, Lalitha, P. Jayanthi, P. Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Asian J. Plant Sci. Res.* **2012**, *2*, 115-122.
- 22.Grisi, P.U.; Gualtieri, S.C.; Ranal, M.A.; Santana, D.G. Influencia alelopática do extrato aquoso de raiz de *Sapindus saponaria* L. sobre capim-arroz e corda-de-viola. *Biosci.J.* **2013**, *29*, 760-766.
- 23.Farooq, M.; Bajwa, A.A.; Cheema, S.A.; Cheema, Z.A. Application of Allelopathy in crop production. *Int. J. Agr. Biol.* **2013**, *15*, 1367-1368.
- 24.Kegge, W.; Pierik, R. Biogenic volatile organic compounds and plant competition. *Trends Plant Sci.* **2009**, *15*, 126-132.
- 25.Alamsjah, A.; Hirao, S.; Ishibashi, F.; Oda, T.; Fujita, Y. Algicidal activity of polyunsaturated fatty acids derived from *Ulva fasciata* and *U-pertusa* (*Ulvaceae*, Chlorophyta) on phytoplankton. *J. Appl. Phycol.* **2008**, *20*, 713-720.
- 26.Wu, X.; Zhang, Z.; Chen, D.; Zhang, J.; Yang, W. & Jin, Y. 2012. Allelopathic effects of *Eichhornia crassipes* on the Growth of *Microcystis aeruginosa*. *J. Agr. Sci. Tech.* **2012**, *2*, 400-1406.
- 27.JIN, Z.H. et al. Isolation on identification of stracts of *Eichhornia crassipes* and their allelopathic effects on algae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2003**, *71*, 1048-1052.
- 28.Mello, M.O. & Silva-Filho, M.C. Plant-insect intections: na evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Braz. J. Plant Physiol.* **2002**, *14*, 71-81
- 29.Quinn, B.P.; Bernier, U.R.; Booth, M.M. Identification of compounds from *Etonia rosemary* (*Conradina etonia*). *J. Chromatogr. A.* **2007**, *1160*, 306-310.

30. Saddique, M.A.B.; Ismail, B.S. Allelopathy effects of *Fimbristylis miliacea* on the physiological activities of five Malaysian rice varieties. *A.J.C.S.* **2013**, *7*, 2062-2067.
31. Xuan, T.D.; Chung, M. Khanh, T.D.; Tawata, S. Identification of Phytotoxic Substances from Early Growth of Barnyard Grass (*Echinochloa crusgalli*) Root Exudates. *J. Chem. Ecol.* **2006**, *32*, 895-906.
32. Hao, W.; Ren, L.; Ran, W.; Shen, Q. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f.sp. *Niveum*. *Plant Soil.* **2010**, *336*, 485-497.
33. Wang, H.; Cheng, S.; Zhang, S.; He, Fe.; Liang, W.; Zhang, L.; Hu, C.; Wu, Z. Chemical Composition in Aqueous Extracts of *Potamogeton malaiianus* and *Potamogeton maackianus* and their Allelopathic Effects on *Microcystis aeruginosa*. *Polish J. of Environ. Stud.* **2010**, *19*, 213-218.
34. Mendes, L.B.B.; Vermelho, A.B. Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation. *Biotechnol. Biofuels.* **2013**, *2*, 1-14.
35. Zuo, S.; Wan, K.; Ma, S. Combined effect of predatory zooplankton and allelopathic aquatic macrophytes on algal suppression. *Environ. Biotechnol.* **2014**. Doi: 10.1080/09593330.2014.936520.
36. Yu, J.Q.; Matsui, Y. Phytotoxic substances in root exudates of Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J. Chem. Ecol.* **1994**, *20*, 21-31.
37. Rivoal, A.; Fernandez, C.; Greff, S.; Montes, N.; Vila, B. Does competition stress decrease allelopathic potential? *Biochem. Syst. Ecol.* **2011**, *39*, 401-417.
38. Inderjit; Duke, S.O. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta.* **2003**, *217*, 529-539.

39. Baratelli, T.C.; Gomes, A.C.C.; Wessjohann, L.A.; Kuster, R.M.; Simas, N.K. Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **2012**, *41*, 119-125.
40. Xuan, T.D.; Toyama, T.; Fukita, M.; Khang, T.; Tawata, S. J. Chemical Interaction in the Invasiveness of Cogongrass (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.). *Agric. Food. Chem.* **2009**, *57*, 9448-9453.
41. Islam, A.K.M. M.; Kato-Noguchi, H. Allelopathic Potentiality of Medicinal Plant *Leucas aspera*. *I.J.S.A.* **2012**, *4*, 01-07.
42. Prajapati, M.S.; Patel, J.B.; Modi, K.; Shah, M.B. *Leucas aspera*: a review. *Pharmacogn. Rev.* **2010**, *4*, 85-87.
43. Valencia-Diaz, S.; Flores-Palacio, A.; Rodriguez-Lopes, V.; Ventura-Zapata, E.; Jimenez-Aparicio, A. Effect of host-barkn extracts on seed germination in *Tillandsia recurvata* an epiphytic bromeliad. *J. Trop. Ecol.* **2010**, *26*, 571-581.
44. Tanveer, A.; Rehman, A.; Javaid, M.; Abbas, R.N. Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chick pea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). *Turk J. Agric. For.* **2010**, *34*, 75-81.
45. Mohamed, A.; Hegazy, M.; Moustafa, M.; El-sayed, M.; Abdel-Farid, I.; Esmail, A.; Abdelrazik, M.; Nenaah, G.; Mohamed, T.; Shabat, a.; Matsuda, J.; Matsuda, H.; Pare, P. *Euphorbia helioscopia*: chemical constituents and biological activities. *I.J.P.* **2012**, *3*, 78-90.
46. Kpoviessi, D.S.S.; Gduguidi, F.A., Gbenou, J.D.; Accrombessi, G.C.; Haddad, M.; Moudachireu, M.; Lederco, J.Q. Allelopathic effects on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) plant and cytotoxic activities of sterols and triterpene isolated from *Justicia anselliana* (NEES) T. Anders. *Electr. J. Nat. Subst.* **2006**, *1*, 12-19.

47. Macías, F.A.; Simonet, A.M.; Galindo, J.G. Biactive steroids and triterpenes from *Melilotus mssanensis* and their allelopathic potential. *J. Chem. Ecol.* **1997**, *23*, 1781-1803.

48. Ripardo Filho, H.S.; Pacheco, L.C.; Souza Filho, A.P.S.; Guilhon, G.M.S.P.; Arruda, M.S.P.; Santos, L.S. Bioensaios de atividade alelopática dos esteroides espinasterol, espinasterona e glicopiranosil espinasterol. *Planta Daninha.* **2012**, *30*, 705-712.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos neste estudo nos mostram que *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, o Aguapé apresenta atividade alelopática contra o bioteste alface, que aumenta com a concentração, quando analisados os extratos etanólicos e aquosos de suas folhas e rizomas/raízes.

Aguapé apresenta diversos compostos orgânicos voláteis (COVs) que apresentam atividade alelopática e foram identificados por GC-MS.

Em termos gerais rizomas/raízes são as estruturas com efeito inibitório mais relevante e apresentam maior quantidade de COVs nas duas populações estudadas.

A população considerada muito adensada tem um efeito alelopático bem como possui número de compostos identificados maiores que a população considerada pouco adensada, o que nos leva a crer que as condições de adensamento influenciam no potencial alelopático da espécie, porém novos estudos devem ser realizados para confirmar com mais clareza esta hipótese.