

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE FOLHAS DE *ACACIA*
AURICULIFORMIS EM *TETRADESMUS LAGERHEIMII* EM AMBIENTE
CONTROLADO**

Alice Meira Reis¹, Danilo Camargo dos Santos²

¹Centro Universitário Salesiano - UniSales, Av Vitória, 950, Forte São João, 29017-950,
Vitória, ES, Brasil.

²Centro Universitário Salesiano - UniSales, Av Vitória, 950, Forte São João, 29017-950,
Vitória, ES, Brasil.

RESUMO - A *Acacia* sp. vem se tornando um grande produto comercial importante, sendo considerada a terceira maior importância silvícola, possui uma rápida adaptação no ambiente, sendo utilizada para a árvore ornamental, corta fogo entre outros. No Brasil a *Acacia* sp. é utilizada para celulose e energia. Porém, há registros na literatura científica de ação alelopática de *Acacia* sp. em organismos fitoplanctônicos. Diante disto, este trabalho visa analisar a possível relação alelopática entre *Acacia* sp. e a microalga *Tetradismus lagerheimii* em ambiente controlado. O experimento teve a duração de trinta dias, com todos os cultivos sendo realizados em erlenmeyer de 1L e culturas com densidade celular inicial próxima a 190.000 cel/mL, todos em meio ASM-1 (pH 7,0), com fotoperíodo 12h luz : 12h escuro, intensidade luminosa de 800 lux e temperatura entre 23 e 27°C. Foram feitos 2 tratamentos: exsudatos de 10g e 20g de folhas de *Acacia* em 500mL de água deionizada. O controle recebeu água deionizada apenas. Os tratamentos e o controle iniciaram o experimento com 4 réplicas, sendo coletado alíquotas de 3ml, a cada três dias, para a análise da curva de crescimento e biovolume celular. O resultado do experimento mostrou que a *Acacia* sp. agiu na alteração morfológica do *T. lagerheimii* (ampliando o biovolume celular) e não em sua densidade. Em conclusão, ambas concentrações do exsudato apresentaram efeito positivo no biovolume celular, indicando que as substâncias do exsudato interagiram com o metabolismo do *T. lagerheimii*, retirando energia da reprodução celular para o crescimento em volume.

Esse trabalho contribuiu para a discussão ecológicas de possíveis relações alelopáticas entre a *Acacia* sp. e organismos fitoplanctônicos encontrados em ecossistemas aquáticos.

Palavras-chaves: *TETRADESMUS LAGERHEIMII*; Alelopatia; cultivo controlado; exsudato; biovolume.

ABSTRACT - *Acacia* sp. has become a major commercial product, being considered the third most important forestry, has a quick adaptation in the environment, being used for ornamental tree, cut fire among others. In Brazil, *Acacia* sp. it is used for cellulose and energy. However, there are records in the scientific literature of the allelopathic action of *Acacia* sp. in phytoplanktonic organisms. Given this, this work aims to analyze the possible allelopathic relationship between *Acacia* sp. and the microalgae *TETRADESMUS LAGERHEIMII* in a controlled environment. The experiment lasted thirty days, with all cultivations being carried out in a 1L Erlenmeyer flask and cultures with an initial cell density close to 190,000 cells/mL, all in ASM-1 medium (pH 7.0), with a 12-hour light photoperiod: 12 hours of darkness, light intensity of 800 lux and temperature between 23 and 27°C. Two treatments were performed: exudates of 10g and 20g of *Acacia* leaves in 500mL of deionized water. The control received deionized water only. The treatments and the control started the experiment with 4 replicates, with 3ml aliquots being collected every three days for the analysis of the growth curve and cell biovolume. The result of the experiment showed that *Acacia* sp. acted on the morphological alteration of *T. lagerheimii* (increasing cell biovolume) and not on its density. In conclusion, both exudate concentrations had a positive effect on cell biovolume, indicating that the exudate substances interacted with *T. lagerheimii* metabolism, withdrawing energy from cell reproduction for volume growth. This work contributed to the ecological discussion of possible allelopathic relationships between *Acacia* sp. and phytoplanktonic organisms found in aquatic ecosystems.

Keywords: *Tetradismus lagerheimii*; Allelopathy; controlled cultivation; exudate; biovolume.

INTRODUÇÃO

As algas desempenham um importante papel ecológico, pois são base de cadeia alimentar, e também responsáveis por grande parte da produção de oxigênio do planeta (Lubiana, 2014). Dentre os diferentes tipos de algas, destaca-se a Divisão Chlorophyta, um dos principais grupos algais que compõem a comunidade fitoplanctônica, as quais apresentam clorofilas a e b e vários carotenóides (Cunha, 2014). A morfologia deste grupo é variada, sendo encontrado organismos de formas macro e microscópicas, como cocoides, unicelulares, coloniais flageladas, multicelulares ou filamentos multinucleados (Tomaselli, 2004).

Atualmente, há a estimativa da existência de aproximadamente 17.000 espécies dentro desse grupo, que habitam diversos tipos de ecossistemas, sendo que mais da metade (cerca de 90%) são dulcícolas (Lourenço, 2006). Além disso, as algas da Divisão Chlorophyta podem ser usadas em diferentes atividades economicamente importantes, como por exemplo, geração de biomassa para alimentação, e produção de substâncias de interesse industrial (Lourenço, 2006).

O gênero *Scenedesmus*, um dos gêneros pertencentes à Divisão Chlorophyta mais comumente encontrados no fitoplâncton, possui características que o tornam muito visado para o cultivo, como o seu rápido crescimento e fácil adaptação ambiental (Trainor, 1998).

O desenvolvimento microalgal, como o de *T. lagerheimii*, pode ser afetado por diversos fatores bióticos e abióticos, tais como parasitismo, alelopatia, herbivoria, pH, temperatura, incidência de luz e concentração de nutrientes (Esteves, 2011; Guillard & Morton, 2003, Larcher, 2006). O termo alelopatia foi usado para descrever as interações bioquímicas entre as plantas, incluindo os micro-organismos, pelo pesquisador Molisch em 1937 (Medeiros, 1990). De acordo com Rice (1984) e Medeiros (1990) alelopatia é a capacidade de uma planta interferir ou influenciar no desenvolvimento, no processo de germinação e crescimento através de seus compostos químicos, que podem ser denominados de aleloquímicos. Einhellig (1986) relata que os agrupamentos químicos, como, os ácidos fenólicos, terpenóides, alcalóides, taninos entre outros, possivelmente são os responsáveis pela alelopatia em plantas, mas enfatiza que os compostos fenólicos (benzóico, cinâmico, cumarinas e flavonóides) são os mais comuns associado a ação alelopática, sendo um importante mecanismo ecológico que provoca influências significativas (Ferreira, 2000).

Saffan e Salama (2005) atribuem os efeitos alelopáticos do exsudato de folhas da *Acacia* sp. à compostos de fenólicos e flavonoides.

De acordo com Mohamed (2017) pelo menos 40 espécies de plantas aquáticas produzem aleloquímicos que inibem o crescimento de algas, no entanto, além das plantas aquáticas, existem muitas plantas terrestres que produzem aleloquímicos (Meng *et al.*, 2015).

Dentre as espécies de plantas terrestres alelopáticas, destaca-se a *Acacia* sp, que vem se tornando um grande produto comercial importante, sendo considerada a terceira maior importância silvícola, e possui uma rápida adaptação no ambiente, sendo utilizada para a árvore ornamental, corta fogo entre outros e no Brasil a *Acacia* sp. é utilizada para celulose e energia (Cosmo, 2020). Já há registros de que *Acacia* sp. é capaz de produzir substâncias alelopáticas contra outros vegetais (Aguilera *et al.*, 2015; Santos, 2019), mas o número de pesquisas sobre a alelopátia de *Acacia* sp. em organismos fitoplanctônicos é menor.

Assim, esse trabalho visa analisar o potencial alelopático entre *Acacia auriculiformes* e a microalga *Tetrademus lagerheimii* em ambiente controlado. Dessa forma, a pesquisa pode colaborar para a discussão sobre interações ecológicas entre organismos que colonizam ambientes distintos, além de ampliar a discussão sobre a Ecologia do Fitoplâncton.

MATERIAIS E MÉTODOS

Espécie alvo

A espécie utilizada neste estudo foi a microalga *Tetrademus lagerheimii* (Fig 1) incluso na divisão Chlorophyta (Lourenço, 2006). As algas deste gênero possuem grande plasticidade morfológica, rápido crescimento e se adaptam com facilidade às variações ambientais, o que torna esse gênero muito utilizado para o cultivo em ambientes controlados (Hegewald & Wolf, 2003, Trainor, 1998). *T. lagerheimii* é composta por cenóbios planos de 4-8 células dispostas alternada ou linearmente, lunadas, fusiformes, com células internas quase retas e externas arqueadas, comprimento 20,4 - 34,1µm, largura 3,0-5,42µm, um pirenóide e plasto parietal (Godinho, 2009). A cepa utilizada foi obtida no laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC) que pertence ao Departamento de Ciências Biológicas da UFES – Universidade Federal do Espírito Santo.

Meio de cultura

Todos os cultivos, seja para a preparação do inóculo, seja para o experimento, foram realizados em meio líquido ASM-1, conforme metodologia descrita por Gorham *et al.* (1964), em pH 7,0, com fotoperíodo 12h luz : 12h escuro, intensidade luminosa de 800 lux e temperatura entre 23 e 27°C. Embora esse meio seja considerado mais adequado para o cultivo de cianobactérias, há trabalhos que o utilizam para o cultivo de Chlorophyta, como (Bittencourt, 2016)

O meio ASM-1 é constituído por soluções de estoque (Fig. 1) que possuem nutrientes e elementos necessários para o crescimento das microalgas (Lourenço, 2006). O inóculo foi produzido através do cultivo de *T. lagerheimii* em um erlenmeyer de 3 L. Após a determinação da densidade celular (explicado mais adiante), o inóculo foi utilizado para a montagem do experimento. Assim como no estudo realizado por Cunha (2014) o volume e a concentração inicial de células foram calculados através da equação,

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Sendo:

C1 = Concentração inicial

V1 = Volume inicial

C2 = Concentração final

V2 = Volume final

Solução Estoque A	Peso (g)		Para cada litro de ASM -1
NaNO ₃ /NH ₄ Cl ₂	1,70		
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,41	Completar para 200 mL	20 mL
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,49		
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,29		
Solução Estoque B			
K ₂ HPO ₄	0,87	Completar para 100 mL	2 mL
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	1,33		
Solução C			
H ₃ BO ₃	2,48		
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,39		
FeCl ₃ .6H ₂ O	1,08	Completar para 100 mL	0,1 mL
ZnCl ₂	0,335		
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,019		
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,0014		
Solução D			
EDTA. Na ₂	1,86	Completar para 100 mL	0,4 mL

Figura 1. Soluções de estoque para o preparo do meio de cultura ASM-1. Fonte: Adaptado de Gorhan, Mclachlan e Hammer (1964).

Obtenção do Exsudato de *Acacia auriculiformes*

O exsudato utilizado no experimento foi preparado a partir de folhas de *Acacia auriculiformes*, coletadas na Lagoa Encantada (Fig 2) está localizada no município da Vila Velha (20° 21 '56 ``S 40° 20' 21"W) no sudoeste das rodovias Carlos Lindenberg e Darly Santos, no vale encantado. Esta região apresenta uma extensa área brejosa com floresta ombrófila, restinga e manguezal. Por estar localizado em uma área urbana a lagoa apresenta uma grande importância socioeconômica, mas vem sendo atingida por diferentes formas de impactos antrópicos. Várias pesquisas sobre a lagoa encantada vêm evidenciando que o parque é rico em fauna e flora, visando a importância do estudo e preservação da área.

A fim de simular a decomposição em ambientes lacustres, as folhas foram selecionadas e armazenadas em um frasco de vidro folhas que já haviam sofrido abscisão da planta, mas que ainda apresentavam coloração esverdeada.

Já em laboratório, foram produzidos dois exsudatos: o primeiro, com 10g de folhas de *A. auriculiformes*. em 500ml de água; o segundo, com 20g de folhas mais 500ml de água. Ambas as preparações foram mantidas em frasco de vidro fechado por 5 dias. Posteriormente, as folhas foram descartadas, e o exsudato foi armazenado em recipientes previamente esterilizados e identificados. Para evitar a alteração dos resultados e manter os exsudatos até o final do experimento, os frascos foram congelados e, sempre que necessário, descongelados para utilização no experimento.

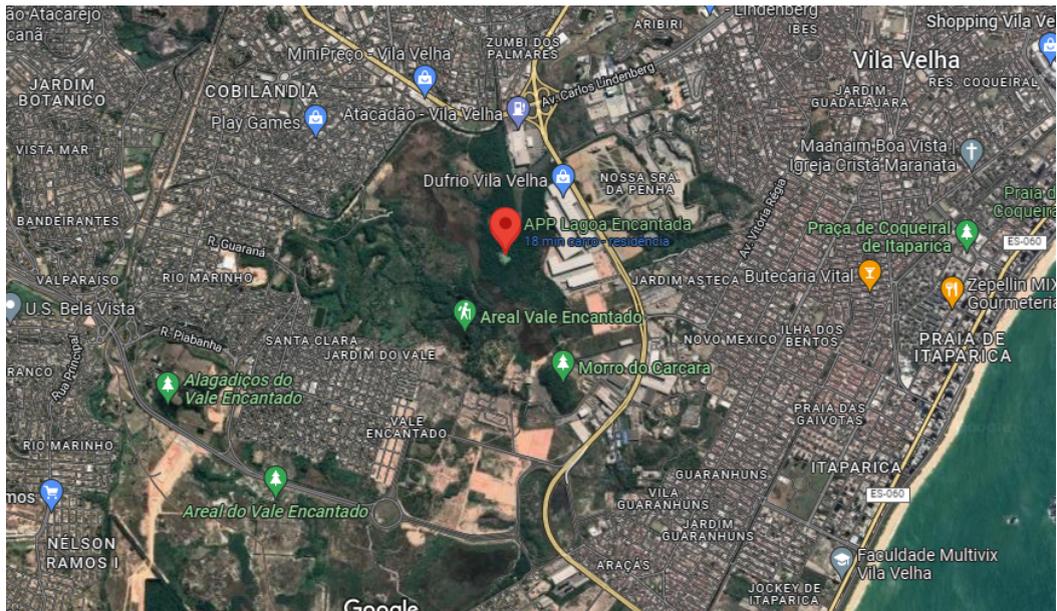


Figura 2. Área de delimitação da Lagoa Encantada, Vila Velha – ES (20° 21 '56 ``S 40° 20' 21"W). Fonte: Google maps, 2022.

Delineamento Experimental

Foram utilizados 12 erlenmeyers com capacidade de 1 L, sendo feitos três tratamentos, com 4 erlenmeyers cada: (1) controle, que recebeu apenas adição de água deionizada autoclavada, (2) 10g, que recebeu o exsudato resultante de 10g de folhas de *A. auriculiformes*. em 500mL de água deionizada, e (3) 20g, que recebeu o exsudato resultante de 20g de folhas de *A. auriculiformes*. em 500mL de água deionizada.

O experimento teve início no dia 25/07/2022 e foi finalizado no dia 25/08/2022, contabilizando assim 30 dias de duração. Cada um dos 12 erlenmeyers foram montados em câmara de fluxo laminar, com 600mL de meio de cultura ASM-1 e densidade celular inicial de 114 cel/mL da linhagem de *T. lagerheimii*. Posteriormente, foram feitas as devidas sinalizações de cada tratamento nos erlenmeyers (fig. 3).

As amostras para a determinação de densidade celular foram coletadas a cada três dias em câmara de fluxo laminar até o fim do experimento e armazenadas em frascos de vidros limpos previamente identificados de acordo com os cultivos e fixados com uma gota de lugol acético 5%. Além disso, nos dias 09, 18 e 27, conforme indica a tabela, houve a coleta das amostras em todos os cultivos e a introdução dos extratos - 10g concentração e 20g de concentração - nos 8 cultivos que recebem as concentrações, e a água deionizada nos cultivos do controle.

Tabela 2. Cronograma de execução do experimento no período de 30 dias.

D0	D3	D6	D9	D12	D15	D18	D21	D24	D27	D30
Pre. Cultivo 12 Eler	C	C	C + Exs.	C	C	C + Exs.	C	C	C + Exs.	C

Legenda: D = dia, C = coleta de amostras dos cultivos, Ext = inserção do exsudato ou da água deionizada (no caso do controle).



Figura 3. Delineamento experimental de *T. lagerheimii* utilizando extrato de *A. auriculiformes*. Adaptado de Miranda (2017)

Contagem direta utilizando Hemocitômetro

As amostras obtidas de cada erlenmeyer foram utilizadas para a realização da contagem de células de *T. lagerheimii* e, dessa forma, estimar a densidade celular (em cel/mL) de cada cultivo ao longo dos 30 dias de experimento. Para tanto, foi utilizada a câmara de Fuchs Rosenthal, no microscópio óptico. É recomendado para a contagem um processo contínuo e regular dentro dos quadrados (Fig 04), seguindo alguns padrões impostos por Cunha, 2014, realizando a contagem de 16 quadrantes em cada área.

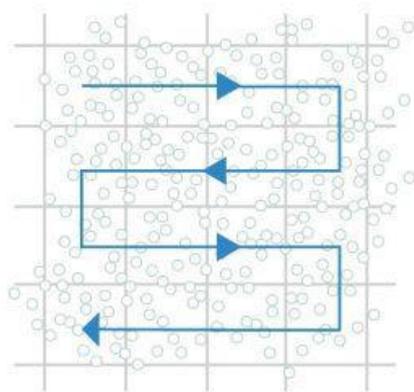


Figura 04. Representação esquemática da área de contagem da câmara de Fuchs Rosenthal com 16 quadrados separados por três linhas paralelas. Fonte: Kasvi, 2017.

Medidas de Biovolume Celular e Análise Estatística

No cultivo de microalgas além de seu crescimento quantitativo podemos identificar variações celulares, morfológicas resultando na alteração no formato ou volume da célula ou também alterações químicas. De acordo com Lourenço (2006), é fundamental obter medidas celulares específicas, dados que variam com o formato do indivíduo estudado, para conferir o biovolume. Assim, para estimar o biovolume celular de *T. lagerheimii*, as amostras de cada tratamento dos dias 3, 18, 24 e 30 do experimento foram primeiramente fotografadas em microscópio óptico, utilizando a câmera NIKON DS-Ri1 e, posteriormente, as células de 10 indivíduos foram mensuradas utilizando o programa Motic Images Plus 3.0. Considerou-se um cilindro como formato geométrico das células (SUN; LIU, 2003).

Os valores de densidade celular e o biovolume celular médio foram trabalhados em gráficos no software Microsoft Excel®. Para determinar se houve diferenças significativas no biovolume médio, os dados foram submetidos ao teste estatístico de Kruskal-Wallis e, se necessário, posteriormente ao teste de Mann-Whitney, para identificar qual tratamento apresenta diferenças entre si. Os testes foram feitos por meio do Software Past (Hammer; Harper, 2001) versão 3.01, sempre com 5% de significância.

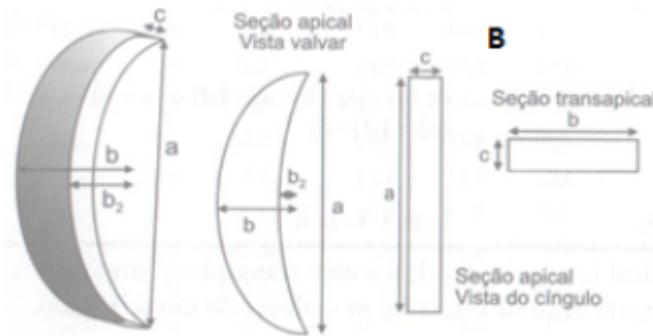


Figura 3. Esquema das medidas necessárias de acordo com o formato da microalga para *Tetradismus lagerheimii*. Elaborado por Lourenço (2006).

RESULTADOS

O crescimento da densidade celular de *T. lagerheimii* não se manteve constante ao longo de todos os dias do experimento, conforme observado na figura 5. Entre o dia 9 e o dia 12 houve um declínio do número de células submetidas ao exsudato de 20g, a partir do 15 ao dia 21 observou-se um crescimento rápido, que corresponde a fase exponencial (ou fase de log). No entanto, o cultivo entrou em declínio novamente nos últimos dias de experimento, sendo esse resultado registrado também nas culturas submetidas ao extrato de 10g de *A. auriculiformes*. Foi possível identificar que o controle e o extrato de *A. auriculiformes* nas duas concentrações (10g e 20g) apresentaram resultados oscilantes desde o dia 3 de cultivo, tendo uma queda mais acentuada nos últimos três dias do experimento. No entanto, os resultados estatísticos mostraram que não houve diferença significativa na densidade celular entre o controle, tratamento de 10g e 20g de *A. auriculiformes*, em todos os 30 dias de experimento.

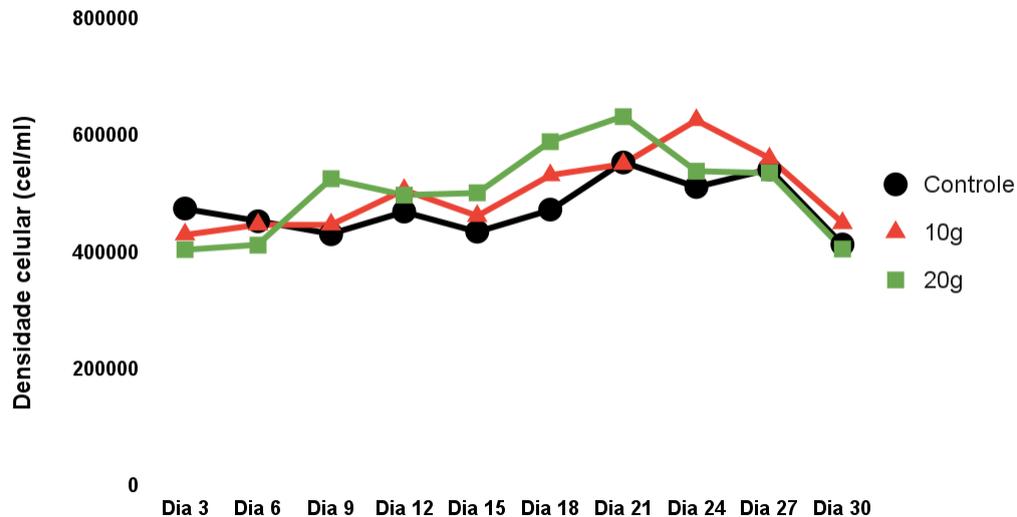


Figura 5. Resultado da curva de crescimento de *T. lagerheimii* condicionada a cada tratamento, considerando a densidade celular.

Os resultados de densidade celular acima apresentados normalmente provocariam uma pequena alteração na coloração das culturas durante os 30 dias de análise. Porém, ao longo do experimento, a coloração observada foi, inicialmente, um verde mais claro e, gradativamente, foi mudando para um verde escuro, sendo assim uma mudança drástica de coloração. Logo, possivelmente esse aspecto se deve ao aumento de clorofila- α e outros pigmentos ou então pelo aumento do biovolume celular.

É importante salientar que o tamanho das algas pode variar consideravelmente dentro da mesma espécie durante o ciclo de vida, sendo influenciado pelas condições ambientais (ou de cultivo) nas quais foram submetidas. Nesse contexto, para tentar elucidar a mudança de coloração dos cultivos, a partir das médias das medidas de comprimento e diâmetro, foi realizado o cálculo de biovolume celular para cada célula estudada. O resultado demonstrou que houve variações do biovolume nos tratamentos com 10g e 20g nos dias 03, 18, 24 e 30.

Podemos observar que no dia 3 do experimento, o tratamento de 20g de *A. auriculiformes* já apresentava biovolume estatisticamente maior que o controle e o tratamento de 10g de *A. auriculiformes*. De forma mais detalhada, os resultados do teste de Kruskal-Wallis mostraram o valor de $p = 0,0004674$. Utilizando o teste de Mann-Whitney foi possível observar que não houve diferença significativa entre o Controle e o exsudato de 10g ($p=0,9698$), mas entre o Controle e o exsudato de 20g e entre 10g e 20g esses valores foram de $p=0,0007685$ e $p=0,001008$, respectivamente.

Já no dia 18, foi registrada diferença significativa no biovolume celular entre todos os tratamentos, sendo o controle com os menores valores (cerca de $2920,293963\mu\text{m}^3$) e o tratamento de 10g de *A. auriculiformes* com os maiores valores ($4666,942276\mu\text{m}^3$), sendo $p=0,000002879$ entre controle e exsudato de 10g, $p=0,0001827$ entre controle e 20g e $p=0,002202$ entre exsudato de 10g e exsudato de 20g.

No dia 24, somente o controle apresentou biovolume celular estatisticamente menor ($4507,539311\mu\text{m}^3$) que os tratamentos de 10g ($5037,628782\mu\text{m}^3$) e 20g ($5066,150748\mu\text{m}^3$) sendo $p=0,0003298$ entre o controle e o exsudato 10g e o exsudato de 20g, foi possível observar que não houve diferença significativa entre o exsudato de 10g e o exsudato de 20g ($p=0,9698$).

Finalmente, no dia 30 do experimento, houve aumento de biovolume celular no controle e nos dois tratamentos com *A. auriculiformes*, sendo registrado como resultado final $5936,985623\mu\text{m}^3$ no controle, $8696,855794\mu\text{m}^3$ no tratamento de 10g e $14991,13128\mu\text{m}^3$ no tratamento de 20g. Todos os tratamentos e o controle são estatisticamente diferentes entre si ($p=0,0001827$, considerando todas as combinações de tratamentos e controle)

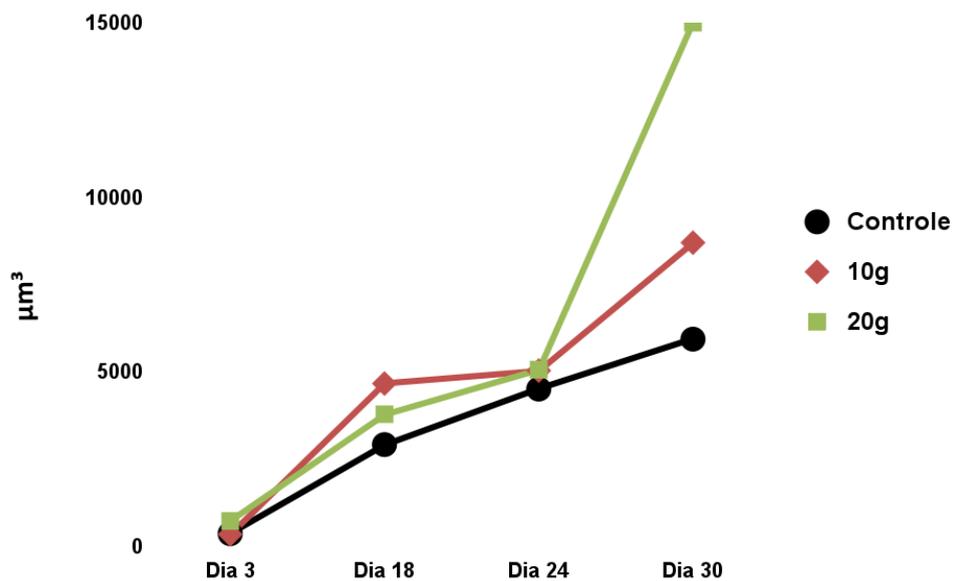


Figura 6. Resultado do Biovolume médio da *T. lagerheimii*.

DISCUSSÃO

Os resultados desse trabalho indicam que o exsudato de *Acacia auriculiformes* tem potencial alelopático positivo sobre o biovolume celular de *T. lagerheimii*. Porém, esses dados são conflitantes com outros estudos que utilizaram *A. auriculiformes* como fonte de aleloquímicos e organismos fitoplanctônicos como alvo dessas substâncias.

Zhou *et al.* (2012) mostraram que extratos de *A. auriculiformes* podem reduzir a biomassa algal e prevenir a proliferação de determinados organismos fitoplanctônicos, como cianobactérias potenciais produtoras de toxinas. Trinh *et al.* (2016) mostraram resultados semelhantes, indicando que material alóctone composto por resíduos de *Acacia* sp. tem capacidade de alterar a composição e a abundância da comunidade fitoplanctônica, notadamente de cianobactérias. Adicionalmente, Liu *et al.* (2015) demonstraram que o crescimento em cultivo de *Microcystis aeruginosa*, uma cianobactéria potencial produtora de cianotoxinas, foi inibido por extratos de *Acácia mearnsii*.

Em outras palavras, é possível dizer que os aleloquímicos produzidos por *A. auriculiformes* podem provocar efeitos diferentes em organismos fitoplanctônicos distintos, favorecendo o crescimento de biomassa de determinado táxon e, ao mesmo tempo, inibindo o crescimento de outro representante fitoplanctônico. O aumento de celular de um cultivo significa que a população de um determinado indivíduo no cultivo cresceu, sendo estimado através da curva de crescimento (Cavalcante *et al.* 2013) Entrando na fase exponencial, ou fase log que é caracterizada pela adaptação das células ao novo ambiente na qual foram submetidas. Vários fatores podem influenciar a duração desta fase, como por exemplo, fatores bióticos (parasitismo, alelopatia e herbívora) ou fatores abióticos (Guillard & Morton, 2003, Larcher, 2006). Diversos outros fatores além da alelopatia, podem influenciar o cultivo de microalgas, como a agitação manual do meio, penetração da luz no cultivo e a contaminação por outros microrganismos (Ramirez, 2013). De acordo com Esteves *et al.* (2011) e Miranda (2011) a diferença na disponibilidade e concentração de nutrientes nos meios de cultura, é um fator que pode influenciar na fase de indução e o processo fotossintético, neste experimento foi utilizado o meio líquido ASM-1, contrastando-se com Sebastian & Granja (2006) em que no seu estudo com *S. acuminatus*, *S. calypttratus* e *S. Scenedesmus obliquus* em ambiente controlado utilizou o meio CHU₁₀, resultado apenas no crescimento do *S. acuminatus*. Dessa forma é interessante que seja realizado novos

experimentos, utilizando outros tipos de meio líquido para avaliar a quantidade de nutriente fornecido para a célula.

Por fim, foi registrado um comportamento anormal da densidade celular nas culturas de *T. lagerheimii* neste trabalho, uma vez que as fases tradicionais de crescimento (fase lag, log e estacionária) não foram observadas de forma clara ao longo de todo o experimento. Provavelmente isso se deve à qualidade fisiológica da linhagem utilizada, pois essa microalga é proveniente de cultivos anteriormente não monitorados, o que pode ter alterado o comportamento celular de *T. lagerheimii*.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que a utilização do exsudato de *A. auriculiformes* não provocou efeitos na densidade celular de *T. lagerheimii*. Por outro lado, ambos os exsudatos apresentaram efeito positivo na alteração do biovolume celular (que é uma medida indireta de biomassa), indicando que as substâncias presentes no exsudato interagiram, de alguma forma, com o metabolismo de *T. lagerheimii*, deslocando energia da reprodução celular para o crescimento em volume.

Dessa forma, é interessante que sejam realizados novos experimentos com essa mesma linha microalgal, porém adicionando meio ASM-1 autoclavado no controle ao invés de água deionizada (o que também forneceria nutrientes para *T. lagerheimii*). Assim, espera-se ter maior clareza sobre o potencial alelopático dos exsudatos de *A. auriculiformes*.

Finalmente, embora tenham sido encontrados vários estudos realizados com a microalga *T. lagerheimii* sobre alelopatia (notadamente utilizando outras microalgas como fonte de substâncias alelopáticas), não foram encontrados trabalhos visando a relação alelopática de *A. auriculiformes* em *T. lagerheimii*. Dessa forma, esse trabalho contribui para a discussão ecológica sobre as possíveis relações alelopáticas entre um vegetal que normalmente coloniza o ambiente terrestre e organismos fitoplanctônicos encontrados em ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS

Aguilera, N.; Becerra, J.; Guedes, L. M.; Villaseñor-Parada, C.; Gonzalez, L.; Hernandez, V. 2015. Efeito alelopático da invasora *Acacia dealbata* Link (Fabaceae) em duas espécies de plantas nativas no centro-sul do Chile. *Gayana Botânica*, v.72, nº 2, p. 231-239.

Bittencourt-Oliveira, Maria do Carmo et al. 2016. The effect of saxitoxin and non-saxitoxin extracts of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) on cyanobacteria and green microalgae. *Journal of applied phycology*, v. 28, n. 1, p. 241-250.

Calvacante, Kaoli Pereira et al. 2013. Isolamento e cultivo de microalgas.

Cosmo, Bruno Marcos Nunes; GALERIANI, Tatiani Mayara; NOVAKOSKI, Fabiula Patricia. 2020. Cultivo de acácias: acácia australiana e acácia negra.

Cunha, G. L. 2014. Efeitos do estresse nutricional e qualitativo de luz em duas microalgas verdes com ênfase na produção de biodiesel.

Dixon, R. A.; Sumner, L. W. 2003 Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiol.*, v. 131, n. 6, p. 878-885.

Einhellig, F. A. 1986. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: PUTNAM, A.R.; TANG, Chung-Shih. *The science of allelopathy*. Toronto: John Wiley & Sons, p. 171-187.

Eisenlohr, Pedro V.; De Oliveira-Filho, Ary T; Prado, Jefferson. 2015. The Brazilian Atlantic Forest: new findings, challenges and prospects in a shrinking hotspot. *Biodiversity and Conservation*, v. 24, n. 9, p. 2129-2133.

Esteves, F. de A. 2011. *Fundamentos de limnologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência.

Ferreira, A. G.; Aquilla, M. E. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 12, p. 175-204.

Godinho, L. R., Família Scenedesmaceae (Chlorococcales, Chlorophyceae) no Estado de São Paulo: levantamento florístico. 2009. 66 p. Disponível em: http://www.ambiente.sp.gov.br/pgibt/files/2013/09/Luciana_Rufino_Godinho_DR.pdf. Acessado em: 08.12. 2022

Gorham, P. R.; McLachlan, R. W.; Hammer, U. T. 1964. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Breb. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* , v. 15, p. 796–804.

Guillard, R.R.L.; Morton, S.L.2003. Culture Methods. In: ENEVOLDSEN, H. O. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Paris: UNESCO Publishing. p. 77- 97.

Hegewald E.; Wolf, M. .2003. Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Acutodesmus* (Chlorophyta, Chlorophyceae) as inferred from 18S rDNA and ITS-2 sequence comparisons. *Plant Systematics and Evolution*. Wurzburg, v.241, p. 185-191, Disponível em:

<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00606-003-0061-7#page-1>. Acessado em 12.10.2022

Larcher, W. 2006. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima.

Liu, Z.; Zhou, L.; Liu, D.; Zhu, Q.; Chen, W. 2015. Inhibitory mechanisms of *Acacia mearnsii* extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Water Science & Technology*. V. 71. N.6. p. 856 – 861.

Lourenço, S. de O. 2006. *Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações*. São Carlos: Rima.

Lubiana, Karoline Magalhães Ferreira. 2014. *Microalgas: ecologia, biodiversidade e importância*. IV Botânica no Inverno, n.

Medeiros, A .R. M. 1990. Alelopatia. *Horti Sul*, v. 1, n. 3, p. 27-32.

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

Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2a edição. New York, EUA: Academic Press. 422 p.

SANTOS, G. A. D. 2019. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Acacia mangium* Willd na germinação de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taub. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Curitiba.

Santos, L. B. G, Calazans, N. K. F.; Marinho, Y. F. M, Santos, A. P. F.; Nascimento, R. D. M.; Vasconcelos, R. F. L.; Dantas, D. M. M.; Gálvez, A. O. 2009 Influência do fotoperíodo no crescimento da *Chlorella vulgaris* (chlorophyceae) visando produção de biodiesel. In: IX JORNADA DE ENSINO PESQUISA E EXTENSÃO, Recife. Anais da IX Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão. Recife: UFRPE.

Sebastian, N. Y.; Granja, R. P. 2006. Cultivo de *Scenedesmus*: alimento vivo para a manutenção de organismos planctônicos e implementação na dieta humana. *Revista Varia Scientia*, v. 05, n. 10, p. 113-121.

Sun, J. & Liu, D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *J. Plankton Res.*, 25: 1331-1346.

Trinh, D. A.; Luu, T. N. M.; Trinh, Q. H.; Tran, H. S.; Tran, T. M.; LE, T. P. Q.; Duong, T. T.; Orange, D.; Janeau, J. L.; Pommier, T.; Emma Rochelle-Newall, E. 2016. Impact of terrestrial runoff on organic matter, trophic state, and phytoplankton in a tropical, upland reservoir. *Aquatic Sciences*, v. 78. p. 367 – 379.

Tomaselli, L. The Microalgal cell. In: RICHMOND, A. 2004. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Ames: Blackwell p. 3-19

Trainor Fr. 1998. Biological aspects of *Scenedesmus* (Chlorophyceae)-phenotypic plasticity. *Nova Hedwigia*, Beiheft.

Valadares, Rodrigo Theófilo et al. 2011. Levantamento florístico de um brejo-herbáceo localizado na restinga de Morada do Sol, município de Vila Velha, Espírito Santo, Brasil. *Rodriguésia*, v. 62, p. 827-834.

Zhou, L.; Bi, Y.; Jang, L.; Wang, Z.; Chen, W. 2012. Effect of Black Wattle (*Acacia mearnsii*) extract on blue-green algal bloom control and plankton structure optimization: a field mesocosm experiment. *Water Environment Research*, v. 84, n° 12.