

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

EMMANUELLE LEITE WANDERLEY

Efeito da temperatura, do grau de trofia e do surfactante Dodecil Sulfato de Sódio nos crescimentos de *Egeria densa* (Planch) e de *Chara* sp. (Linnaeus)

São Carlos

2020

EMMANUELLE LEITE WANDERLEY

Efeito da temperatura, do grau de trofia e do surfactante Dodecil Sulfato de Sódio nos crescimentos de *Egeria densa* (Planch) e de *Chara* sp. (Linnaeus)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências, área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela Bianchessi da Cunha Santino

SÃO CARLOS

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Emmanuelle Leite Wanderley, realizada em 09/09/2020.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Marcela Bianchessi da Cunha Santino (UFSCar)

Prof. Dr. Irineu Bianchini Junior (UFSCar)

Prof. Dr. Gilmar Perbiche Neves (UFSCar)

Profa. Dra. Erika Mayumi Shimabukuro (MZ-USP)

Profa. Dra. Carla Eloísa Diniz dos Santos (UFTM)

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

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por ter me conduzido até aqui, me colocando entre pessoas queridas que me ajudaram muito durante essa caminhada.

Agradeço a minha orientadora Prof. Dr^a. Marcela Bianchessi da Cunha Santino e ao Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior pelos ensinamentos, atenção e paciência que tiveram comigo durante esses 4 anos de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; processo 1618451/2016) pelo financiamento da pesquisa através da bolsa de estudos e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; processo 2018/00348-0) pelo financiamento parcial da pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais – UFSCar, ao Departamento de Hidrobiologia e ao Laboratório de Bioensaios e Modelagem Matemática pela infraestrutura necessária para a realização desta pesquisa.

Aos meus queridos amigos de laboratório Andresa Lana Thomé Bizzo, Luana Lorca Sartoris Gimenes, Mariana Soares Grando, Raphael Machado, Roberta Mafra Freitas da Silva, Beatriz Ferraz Buhler, Brayan Pétrick de Souza, Daniele Cristina Schiavone, Yeda Carolina Paccagnella e Ricardo Rafael Ribeiro da Silva pelo companheirismo e palavras de incentivo, sem vocês os meus dias seriam tristes.

Aos meus pais, José Roberto Wanderley dos Santos e Ana Luzia Leite Wanderley dos Santos, às minhas irmãs, Paloma Leite Wanderley e Thatyana Leite Wanderley onde mesmo distante sempre estiveram me dando força, amo vocês e muito obrigada por tudo!!!

RESUMO

É crescente a preocupação com relação aos impactos ecológicos causados pelas ações antrópicas. Podemos citar a utilização de surfactantes, onde a sua presença no ecossistema aquático afeta a qualidade da água, e aliado a isso temos o aumento da temperatura da água, como consequência do aquecimento global, a qual determina a velocidade dos processos metabólicos na biota aquática. Nesse contexto, esse estudo avaliou o crescimento e as respostas fisiológicas de duas macrófitas aquáticas (*Egeria densa* e *Chara* sp.) sob o efeito de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) do surfactante dodecil sulfato de sódio (DSS), em duas temperaturas (25 e 27 °C) e em meios de crescimento eutrófico e oligotrófico. Foram avaliados o comprimento acumulado, a constante de crescimento (μ), a taxa diária de crescimento, o coeficiente de temperatura (Q_{10}), o tempo de duplicação (td), o número, as contribuições e o tempo de emergência dos brotos. As análises fisiológicas, de pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b*, carotenoide) e antioxidantes (antocianina e flavonoide) foram realizadas na biomassa fresca de *Chara* sp. e *E. densa*. Diferenças significativas no crescimento ($p < 0,0001$) entre os distintos tratamentos (controle e com DSS) foram identificadas para ambas macrófitas. O aumento de 2 °C promoveu maior crescimento acumulado em *E. densa* em meio eutrófico. Para *Chara* sp. a variação térmica de 2 °C, não alterou seu crescimento acumulado em meio eutrófico. As plantas cultivadas no meio enriquecido com nutrientes e com a presença de DSS se desenvolveram melhor quando comparadas ao meio oligotrófico. A maior constante de crescimento (μ) para *Chara* sp. ocorreu a 25 °C e para *E. densa* a 27 °C, ambas em meio eutrófico. Com relação ao tempo de duplicação (td), os maiores foram registrados para *E. densa*, nos tratamentos com DSS, a 25 °C (eutrófico). O Q_{10} foi maior (6,36) entre as temperaturas do meio eutrófico para *E. densa*. Para *Chara* sp., o Q_{10} foi 1,2 e 1,28 nos meios eutrófico e oligotrófico, respectivamente. Os tratamentos a 25 e 27 °C (eutrófico) foram responsáveis pelos maiores números e contribuições de brotos em *Chara* sp. e *E. densa*, respectivamente. *Chara* sp. apresentou processo contínuo de formação e perda de brotos; o número de broto e suas contribuições em relação ao meio de crescimento e temperatura foram expressivos. O tempo de emergência variou entres os tratamentos, sendo que para a *E. densa* a variação ocorreu entre 7 a 27 dias, e para *Chara* sp., o período foi entre 3 e 7 dias. Fisiologicamente, as plantas se adaptaram à presença do DSS; observou-se variações nas concentrações de pigmentos fotossintéticos e antioxidantes, sendo o crescimento em meio oligotrófico (25 e 27 °C), com as maiores concentrações de pigmentos e antioxidantes em ambas as macrófitas. Estes resultados mostraram que a presença de DSS, aliado à temperatura e meio de cultivo, influenciam nos parâmetros de crescimento de *E. densa* e *Chara* sp., sem causar senescência precoce e consequente morte dessas espécies. Houve adaptação, de ambas as espécies, em relação às variações dos possíveis interferentes DSS, temperatura e grau de estado trófico do meio no crescimento.

Palavras-chave: Cinética de crescimento. Macrófitas aquáticas. Eutrófico e oligotrófico. Modelagem matemática. Indicadores fisiológicos.

ABSTRACT

There is growing concern about the ecological impacts caused by human actions. We can mention the use of surfactants, where their presence in the aquatic ecosystem affects the quality of the water, and in addition to this we have the increase in water temperature, as a consequence of global warming, which determines the speed of the metabolic processes in the aquatic biota. In this context, this study evaluated the growth and physiological responses of two aquatic macrophytes (*Egeria densa* and *Chara* sp.) Under the effect of two concentrations (0.5 and 8.0 mg / L) of the sodium dodecyl sulfate surfactant (DSS), at two temperatures (25 and 27 °C) and in eutrophic and oligotrophic growth media. The accumulated length, the growth constant (μ), the daily growth rate, the temperature coefficient (Q_{10}), the doubling time (td), the number, contributions and the emergence time of the shoots were evaluated. The physiological analyzes of photosynthetic pigments (chlorophyll-a, chlorophyll-b, carotenoid) and antioxidants (anthocyanin and flavonoid) were carried out on the fresh biomass of *Chara* sp. and *E. densa*. Significant differences in growth ($p < 0.0001$) between the different treatments (control and DSS) were identified for both macrophytes. The increase of 2 °C promoted greater accumulated growth in *E. densa* in eutrophic medium. For *Chara* sp. the thermal variation of 2 °C, did not alter its accumulated growth in eutrophic medium. Plants grown in the medium enriched with nutrients and with the presence of DSS developed better when compared to the oligotrophic medium. The highest growth constant (μ) for *Chara* sp. occurred at 25 °C and for *E. densa* at 27 °C, both in eutrophic medium. Regarding the doubling time (dt), the highest was registered for *E. densa*, in the treatments with DSS, at 25 °C (eutrophic). Q_{10} was higher (6.36) between the eutrophic medium temperatures for *E. densa*. For *Chara* sp., Q_{10} was 1.2 and 1.28 in the eutrophic and oligotrophic media, respectively. The treatments at 25 and 27 °C (eutrophic) were responsible for the largest number and contributions of shoots in *Chara* sp. and *E. densa*, respectively. *Chara* sp. presented a continuous process of formation and loss of shoots; the number of sprouts and their contributions in relation to the growth medium and temperature were significant. The time of emergence varies between treatments, and for *E. densa* the variation occurred between 7 to 27 days, and for *Chara* sp., the period was between 3 and 7 days. Physiologically, the plants adapted to the presence of the DSS; variations in the concentrations of photosynthetic pigments and antioxidants were observed, with growth in oligotrophic medium (25 and 27 °C), with the highest concentrations of pigments and antioxidants in both macrophytes. These results showed that the presence of DSS, combined with temperature and culture medium, influence the growth parameters of *E. densa* and *Chara* sp., without causing early senescence and consequent death of these species. There was adaptation, of both species, in relation to the variations of the possible DSS interferents, temperature and degree of trophic state of the medium in the growth.

Keywords: Growth kinetics. Aquatic macrophytes. Eutrophic and oligotrophic. Mathematical modeling. Physiological indicators.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Estrutura molecular do Alquilbenzeno Sulfonato Linear (LAS) 17
- Figura 2. Estrutura molecular do surfactante Dodecil Sulfato de Sódio (DSS). 18
- Figura 3. Exemplos de *E. densa* (esquerda) e *Chara* sp. (direita) selecionados para os experimentos..... 25
- Figura 4. Bioensaios de crescimento contendo tratamento controle e duas concentrações de DSS e indivíduos de *E. densa* (n = 10). 27
- Figura 5. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *E. densa* e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico: (A) E0-25 (controle), (B) E1-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) E2-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) E0-27 (controle), (E) E2-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) E2-27 (8,0 mg/L de DSS). 33
- Figura 6. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *E. densa* e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico: (A) E3-25 (controle), (B) E4-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) E5-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) E3-27 (controle), (E) E4-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) E5-27 (8,0 mg/L de DSS). . 39
- Figura 7. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoides) (mg/g MS) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana. 42
- Figura 8. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoides) (mg/g MS) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana. 44
- Figura 9. Antioxidância antocianina ($\mu\text{mol/g MF}$) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana..... 46

Figura 10. Antioxidante flavonoide (Abs/g MF) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.....47

Figura 11. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *Chara* sp. e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico: (A) E0-25 (controle), (B) E1-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) E2-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) E0-27 (controle), (E) E2-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) E2-27 (8,0 mg/L de DSS)..... 50

Figura 12. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *Chara* sp. e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico: (A) C3-25 (controle), (B) C4-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) C5-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) C3-27 (controle), (E) C4-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) C5-27 (8,0 mg/L de DSS)..52

Figura 13. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoide) (mg/g MS) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.57

Figura 14. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoides) (mg/g MS) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.59

Figura 15. Antioxidante antocianina ($\mu\text{mol/g MF}$) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.61

Figura 16. Antioxidante flavonoide (Abs/g MF) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições experimentais em que foram realizados os bioensaios de crescimentos com *E. densa*, sob duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (Eutrófico e Oligotrófico) e duas concentrações de DSS (0,5 e 8,0 mg/L).28

Tabela 2. Condições experimentais em que foram realizados os bioensaios de crescimentos com *Chara* sp., sob duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (Eutrófico e Oligotrófico) e duas concentrações de DSS (0,5 e 8,0 mg/L).28

Tabela 3. Parâmetros de crescimento de *Egeria densa* em meio eutrófico e oligotrófico em diferentes temperaturas (25 e 27 °C); em que: K = capacidade suporte; μ = coeficiente de crescimento; r^2 = coeficiente de determinação; td = tempo de duplicação; Q_{10} = coeficiente de ajuste da temperatura.34

Tabela 4. Variações de valores médios \pm desvio de número (crescimento vegetativo), tempo de emergência e contribuições (%) dos brotos *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (eutrófico e oligotrófico) em experimentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Valores de número são referentes ao último dia de experimento. Os asteriscos (*) representam diferenças significativas para as médias dos tratamentos ($\alpha = 0,005$).36

Tabela 5. Parâmetros de crescimento de *Chara* sp. em meio eutrófico e oligotrófico em diferentes temperaturas (25 e 27 °C); em que: K = capacidade suporte; μ = coeficiente de crescimento; r^2 = coeficiente de determinação; td = tempo de duplicação; Q_{10} = coeficiente de ajuste da temperatura.54

Tabela 6. Variações de valores médios \pm desvio de número (crescimento vegetativo), tempo de emergência (dias) e contribuições (%) dos brotos de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (eutrófico e oligotrófico) em experimentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Valores de número são referentes ao último dia de experimento.....55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Hipótese	14
1.2 Objetivo geral	15
1.2.1 Objetivos específicos.....	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 Surfactantes: características e contexto histórico	16
2.2 Impactos ambientais dos surfactantes nos recursos hídricos	18
2.3 Macrófitas aquáticas e sua importância	20
2.4 Fatores condicionantes do crescimento de macrófitas aquáticas.....	20
2.4.1 Surfactantes	21
2.4.2 Temperatura	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1 Seleção e coleta das macrófitas.....	24
3.2 Meio de cultivo	25
3.3 Concentração do surfactante	26
3.4 Montagem dos experimentos	26
3.5 Fatores abióticos do cultivo	27
3.6 Modelagem matemática.....	29
3.7 Coeficiente de temperatura (Q_{10}).....	29
3.8 Respostas fisiológicas	30
3.9 Tratamento Estatístico	31
4. RESULTADOS.....	32
4.1 Cinéticas de crescimento de <i>Egeria densa</i> cultivadas a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico.....	32
4.2 Análises fisiológicas de <i>Egeria densa</i> cultivada a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico.....	40

4.3 Cinética de crescimento <i>Chara</i> sp. cultivada a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico.....	48
4.4 Análises fisiológicas de <i>Chara</i> sp. cultivada a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico.....	56
5. DISCUSSÃO.....	64
5.1 Cinética de crescimento <i>Egeria densa</i> e <i>Chara</i> sp. cultivadas a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico	64
5.2 Tempo de emergência e número de brotos <i>Egeria densa</i> e <i>Chara</i> sp. cultivada a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico	72
5.3 Análises fisiológicas <i>Egeria densa</i> e <i>Chara</i> sp. cultivada a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico	74
5.3.1 Pigmentos fotossintéticos.....	74
5.3.2 Antioxidantes	77
5.4 Variáveis físicas e químicas dos experimentos.....	78
CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS	81
APÊNDICE A. Variáveis físicas e químicas dos experimentos com <i>E. densa</i>	93
APÊNDICE B. Variáveis físicas e químicas dos experimentos com <i>Chara</i> sp.	93

1. INTRODUÇÃO

O termo poluente é usado para definir os resíduos gerados pelas atividades humanas, que causam impacto negativo ao ambiente. Essas substâncias podem apresentar origem pontual, como o lançamento de efluentes industriais e domésticos, efluentes gasosos, e origem difusa ou dispersa, como o lançamento de agrotóxicos aplicados na agricultura, que percolam pelo solo e poluem os corpos hídricos e mananciais subterrâneos (BRAGA *et al.*, 2002).

O crescimento da população e do setor industrial, têm alavancado o consumo de recursos naturais comprometendo, assim, os sistemas hídricos devido à introdução de poluentes como surfactantes, metais e compostos organoclorados, reduzindo assim a disponibilidade de água potável e aumentando os custos nos processos de tratamento (PINHEIRO FILHO, 2008; PERES, 2005). Dentre esses contaminantes, os surfactantes, que constituem o princípio ativo dos detergentes, embora sejam sanitizantes amplamente utilizados para quebrar a tensão superficial da água e facilitar os processos de limpeza, são agentes causadores de degradação da qualidade da água quando atingem, sem tratamento prévio, os ambientes aquáticos (SOLOMONOVA; OSTROUMOV, 2007).

Os esgotos sanitários possuem de 3 a 6 mg/L de detergentes. As indústrias de detergentes descarregam efluentes líquidos com cerca de 200 mg/L do princípio ativo. Outras indústrias, incluindo as que processam peças metálicas, empregam detergentes especiais com a função de desengraxante, como é o caso do percloroetileno (CETESB, 2003). As estações de tratamento de esgoto (ETE) são planejadas para devolver, aos corpos hídricos, a água utilizada pela população nas mesmas condições em que foram retiradas do ambiente. Porém, no Brasil e na maioria dos países em desenvolvimento, a maior parte do esgoto é lançado sem tratamento prévio nos cursos d'água (TUNDISI *et al.*, 2008), culminando na deterioração da qualidade da água (ou desenquadramento perante a Resolução CONAMA 357/2005). A legislação brasileira (BRASIL, 2005) estabelece padrões de lançamento de efluentes, exigindo que as ETEs mantenham as concentrações de surfactantes abaixo dos valores máximos permitidos em resolução estando, assim, aptos a serem devolvidos aos corpos hídricos.

A presença de quantidades consideráveis de surfactantes nos sistemas aquáticos afeta a qualidade da água e, conseqüentemente, o crescimento dos vegetais aquáticos, como algas e macrófitas aquáticas, existindo aí uma preocupação com relação aos impactos ecológicos causados pela crescente utilização deste (AZIZULLAH *et al.*, 2018; LEWIS, 1990; SOLOMONOVA; OSTROUMOV, 2007). Segundo FORNI *et al.* (2012), as macrófitas são eficientes em acumular vários contaminantes, inclusive surfactantes e, o caráter anfótero (que

pode se comportar como ácido ou como base) desse composto e sua acumulação no organismo ocasiona tanto a contaminação quanto a toxicidade.

1.1 HIPÓTESE

Embora alguns estudos associando a interferência dos surfactantes no crescimento de algumas espécies de macrófitas tenham sido realizados, a associação dessas substâncias ao aumento da temperatura global e aos diferentes graus de trofia ainda não foram avaliados.

Considerando a temática apresentada e as implicações associadas à ocorrência de surfactantes no meio ambiente, são necessários cada vez mais estudos que enfoquem os efeitos desses resíduos em plantas aquáticas avaliando sua contaminação frente ao aumento da temperatura global bem como, com diferentes graus de trofia. A contaminação do ambiente aquático por surfactantes associado a estes interferentes pode alterar o processo de produção primária de macrófitas aquáticas. O grau com que as macrófitas influenciam os sistemas aquáticos é proporcional à biomassa, sendo dependente das espécies (fatores intrínsecos) e de fatores físicos e químicos do ambiente, i.e. fatores extrínsecos (BIANCHINI JR *et al.*, 2010).

Acredita-se que:

- (a) concentrações de Dodecil Sulfato de Sódio (DSS) irão afetar negativamente o crescimento de *Egeria densa* e *Chara* sp. bem como a formação e tempo de emergência de brotos, influenciando também os coeficientes de crescimento (μ), o tempo de duplicação (t_d) e a fisiologia das plantas;
- (b) o aumento da temperatura favorecerá o crescimento, formação e tempo de emergência de brotos e indicadores fisiológicas em *E. densa* e *Chara* sp.;
- (c) Os meios eutrófico e oligotrófico, juntamente com DSS e aumento da temperatura irão interferir no crescimento, formação e tempo de emergência de brotos e indicadores fisiológicos de *Chara* sp. e *E. densa*.

1.2 OBJETIVO GERAL

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do surfactante DSS no crescimento e nas respostas fisiológicas de *E. densa* e *Chara* sp. sob duas temperaturas e dois meios.

1.2.1 Objetivos específicos

Este trabalho teve como objetivos específicos:

- Avaliar os efeitos de distintas concentrações de DSS na cinética de crescimento, tempo de duplicação, formações e tempo de emergência de brotos bem como nas respostas fisiológicas de *E. densa* e *Chara* sp. sob as temperaturas de 25 e 27 °C;
- Avaliar os efeitos do aumento da temperatura em 2 °C (27 °C) no crescimento, tempo de duplicação, respostas fisiológicas, formação e tempo de emergência de brotos de *E. densa* e *Chara* sp.;
- Avaliar a influência dos meios eutrófico e oligotrófico no crescimento, tempo de duplicação, fisiologia, formação e tempo de emergência de brotos de *E. densa* e *Chara* sp. expostas a variações de temperatura e concentrações de DSS.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 SURFACTANTES: CARACTERÍSTICAS E CONTEXTO HISTÓRICO

Surfactante é qualquer composto que modifica a tensão superficial, quando dissolvido em água ou soluções aquosas, e que altera de maneira análoga a tensão superficial entre os líquidos (HOLT *et al.*, 1989). Esses agentes tensoativos consistem em cadeias moleculares com uma parte hidrofóbica, contendo de 10 a 20 átomos de carbono (como alquil benzenos, alquil fenóis, álcool, parafina ou um polioxipropileno) e uma parte hidrofílica. Esta parte da molécula pode conter grupos ionizáveis na água, tais como sulfatos, carboxilatos, sulfonatos ou grupamento quaternário de amônio. No entanto, alguns grupos da estrutura hidrofílica podem não ser ionizáveis em água, tal como o polioxietileno, tornando o surfactante não iônico (GARDINGO, 2010).

Dependendo do grupo que estiver presente na estrutura hidrofílica, os surfactantes podem ser classificados em aniônicos, não-iônicos, catiônicos e anfotéricos, de acordo com a dissociação sofrida pelas moléculas em solução. Os surfactantes aniônicos e os surfactantes anfóteros são os grupos de surfactantes mais degradáveis, sendo a classe aniônica formada pelos compostos mais utilizados mundialmente, em volume: o alquilbenzeno sulfonato linear (LAS) e o dodecil sulfato de sódio (DSS) (SIRISATTHA *et al.*, 2004). Os surfactantes aniônicos são compostos que possuem um ou mais grupos polares que, quando dissolvidos em água, originam íons carregados negativamente. Ainda segundo o autor, os grupos ligados à parte hidrofílica do surfactante podem ser sulfonatos e fosfatados, quando há ligação do enxofre ou fósforo, respectivamente, ligados ao carbono. No caso de fosfatados, sulfatados e carboxilados, há ligação direta do carbono ao oxigênio (SOUZA, 2006).

O tensoativo aniônico sintético alquilbenzeno sulfonato (ABS – Alkylbenzene Sulfonate), foi o primeiro surfactante sintetizado, na década de 40, sendo amplamente empregado e dominando o mercado entre os anos de 1950 e 1965 (GARDINGO, 2010), ainda segundo o autor, estes compostos possuem biodegradabilidade muito baixa devido à presença de cadeias ramificadas em sua estrutura química. Isso faz com que ocasione uma redução na transferência de oxigênio à biota aquática provocada pela formação de espuma. Buscando solucionar o problema da baixa biodegradabilidade dos ABS no ambiente, foram produzidos tensoativos com ausência de ramificações nas cadeias carbônicas, apresentando melhor

biodegradabilidade, o alquilbenzeno linear sulfonato (LAS), cuja estrutura está apresentada na Figura 1.

Esse composto foi introduzido no mercado em 1964 e atualmente é o tensoativo mais empregado mundialmente, sendo produzidas aproximadamente 3 milhões de toneladas por ano, correspondendo a 28% do volume total de surfactantes. Esse fato se deve a este composto apresentar fabricação mais econômica e eficaz, além de possuir flexibilidade na formulação de detergentes, dada a sua estrutura química e as suas propriedades físicas e químicas (TRAJANO, 2011). Estes tensoativos são fundamentais na composição de detergentes de uso industrial e doméstico, sendo responsáveis por 65 a 70% das vendas mundiais (SOUZA, 2006).

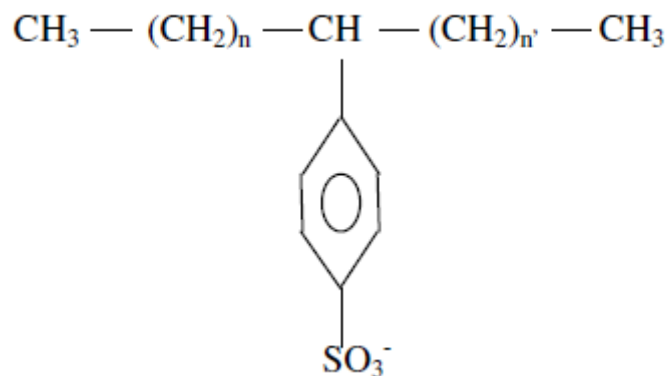


Figura 1. Estrutura molecular do Alquilbenzeno Sulfonato Linear (LAS)

(Fonte: Gardingo, 2010)

Como citado, os surfactantes representam o princípio ativo de vários produtos de limpeza (e.g. sabão, detergentes, produtos de higiene pessoal). Sendo assim, relatos históricos da produção de sabão datam de 1550 a.C., pelos gregos e povos orientais, mas somente no século IX há registros de venda do sabão industrialmente produzido para limpeza, na França. Há 200 anos, no cenário da Revolução Industrial na Inglaterra, teve início a atividade industrial e profissional de produção e venda do primeiro sabão em barra industrializado para a limpeza de roupas, das casas e das panelas. A fórmula básica veio dos conhecimentos e dos “tachos” produzidos na área rural, com um produto à base de sebo de bovino e de cinzas. Com a I Guerra Mundial, a indisponibilidade de gordura animal estimulou o desenvolvimento de produtos de limpeza com derivados de petróleo, os chamados detergentes sintéticos. Os detergentes possuíam uma grande vantagem sobre os sabões usados até então, pois não reagem com os íons cálcio e magnésio da água dura, formando precipitados de difícil remoção. Este fator estimulou o crescimento do uso do produto no mundo. Assim, desde

então, essa indústria se desenvolveu e expandiu, passando a incluir diversos produtos de limpeza, como sabonetes, shampoos e os sabões em pó. Em 1965 tem-se o início da produção de detergentes no Brasil (ABIPLA, 2019).

O consumo de surfactantes em todo o mundo é de oito milhões de toneladas por ano, somadas às mais diferentes classes (LI; SCHRÖDER, 2000), sendo os detergentes a principal fonte de poluição, principalmente nos grandes centros urbanos. Em 2018, o setor de produtos de limpeza movimentou no mundo cerca de 151,8 bilhões de reais (ABIPLA, 2019).

O DSS ($C_{12}H_{25}SO_4Na$), apresenta uma longa cadeia alquílica, insolúvel em água, ligada covalentemente a um grupo iônico, o sulfato de sódio (Figura 2). O DSS é um surfactante aniônico usado na fabricação de cosméticos e produtos de higiene, tais como pastas de dentes, shampoo, creme de barbear, algumas aspirinas solúveis e espumas de banho, sendo usado também em produtos de limpeza (BRUNNER; CAPRI; MARCOMINI, 1988).

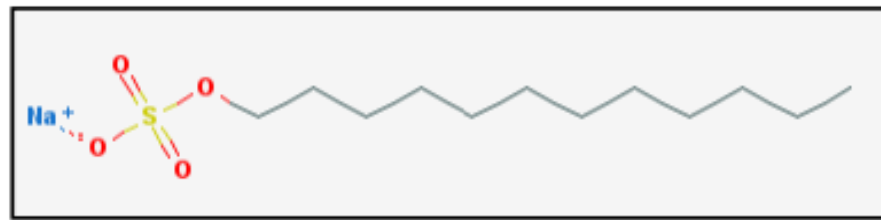


Figura 2. Estrutura molecular do surfactante Dodecil Sulfato de Sódio (DSS).

(Fonte: SANTOS, 2011)

2.2 IMPACTOS AMBIENTAIS DOS SURFACTANTES NOS RECURSOS HÍDRICOS

A atividade industrial e as cidades são as principais causadoras da contaminação dos recursos hídricos, já que ambas vertem diretamente nos rios altas concentrações de compostos químicos de difícil degradação, causando alterações na qualidade desses corpos receptores. Uma infinidade de compostos químicos é usada na limpeza de materiais e ambientes e na higiene pessoal, tanto nas indústrias como nos domicílios, sendo a matéria prima principal na fabricação desses produtos, o surfactante (GARDINGO, 2010).

Dentre os problemas ambientais decorrentes do acúmulo de surfactantes nos recursos hídricos, destacamos os seguintes efeitos: diminuição da concentração de elementos necessários para a vida aquática como o oxigênio dissolvido, devido à diminuição da tensão superficial da água/ar e diminuição da penetração da luz, responsável por manter as partículas presentes em suspensão (GARDINGO, 2010)

A presença dos surfactantes ocasiona, também, possíveis alterações na atividade biológica de organismos vivos, o que pode estar associado à interação desses compostos às proteínas, peptídeos e fosfolipídeos das membranas celulares. Sendo assim, essa ligação pode alterar a estrutura desses polipeptídeos e mudar a carga superficial das moléculas, modificando sua função biológica (CSERHÁTI; FORGÁCS; OROS, 2002; ABOULHASSAN *et al.*, 2006), sendo assim, esses surfactantes em excesso, pode levar à deterioração dos processos biológicos de tratamento de efluentes aumentando assim o tempo de retenção destes efluentes nos sistemas de tratamento (LIWARSKA-BIZUKOJC; BIZUKOJC, 2006).

As descargas indiscriminadas de detergentes, contendo surfactantes, nas águas naturais levam a prejuízos de ordem estética provocados pela formação de espumas (GARDINGO, 2010) e à formação dessas densas camadas de espumas, por sua vez, dificultam a aeração dos tanques de tratamento de efluentes (PENTEADO, 2005).

Todo esse despejo de efluentes domésticos, industriais e de agricultura, sem tratamento tem levado ao processo de eutrofização dos recursos hídricos, visto que esses efluentes liberam nos ambientes aquáticos grandes quantidades de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, que geralmente em ambientes naturais são encontrados em baixas concentrações e, por isso, são fatores limitantes na produção primária em ambientes aquáticos (CAVENAGHI *et al.*, 2005).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), apresenta regulamentação do decreto nº 79094 de 1977, que proíbe a fabricação, comercialização ou importação de tensoativos aniônicos não biodegradáveis (ABS), e a resolução normativa nº 1/78 que define os tipos de detergentes e seus constituintes. No Brasil, a legislação que rege os limites de substâncias tensoativas que reagem com o azul de metileno é a Resolução CONAMA nº 357/05 (BRASIL, 2005), na qual os limites toleráveis para águas doces de classe 1, 2 e 3 é 0,5 mg/L e para águas salinas e salobras é 0,2 mg/L. No entanto, essa Resolução não preconiza padrões de máximos de surfactantes aniônicos em efluentes, bem como não há essa definição na Resolução CONAMA nº 430/2011 (BRASIL, 2011). A informação apresentada, no Artigo 5º, Parágrafo 2º da Resolução CONAMA nº 430/2011 é que, “para os parâmetros não incluídos nas metas obrigatórias e na ausência de metas intermediárias progressivas, os padrões de qualidade a serem obedecidos no corpo receptor são os que constam na classe na qual o corpo receptor estiver enquadrado.”

2.3 MACRÓFITAS AQUÁTICAS E SUA IMPORTÂNCIA

Macrófitas aquáticas são importantes componentes dos ecossistemas aquáticos, contribuindo com expressiva parcela da produtividade primária, fornecendo abrigo para a reprodução e proteção de diversos organismos e promovendo heterogeneidade espacial que favorece a biodiversidade destes sistemas (PITELLI; PITELLI; MARCONDES, 2000). Segundo COOK *et al.* (1974), suas partes fotossintéticas ativas estão permanentemente ou por alguns meses do ano submersas ou flutuantes na superfície da água.

Do ponto de vista ecológico, mas não taxonômico, o termo macrófitas aquáticas inclui vegetais de diferentes grupos, desde as macroalgas (e.g. os gêneros *Chara* e *Nitella*), passando por briófitas (e.g. os gêneros *Fontinalis* e *Ricciocarpus*), pteridófitas (e.g. gêneros *Salvinia* e *Azolla*) até vegetais superiores, em especial as angiospermas (gênero *Eichhornia* e *Typha*), que contribuem com a maioria das espécies (ESTEVEVES, 2011); ainda segundo o autor, as Clorophytas (algas verdes) são representadas largamente em todos os continentes pelos gêneros *Chara* e *Nitella*, que colonizam águas claras, tanto em ecossistemas lóticos como lênticos, sendo essas macroalgas muitas vezes confundidas como vegetais superiores por atingirem comprimento de até 2 metros, como é o caso da *Chara*.

Alguns trabalhos têm discutido o potencial uso das macrófitas aquáticas para o tratamento de efluentes (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2006; SOUZA; VASCOCELOS, 2016), no biomonitoramento de áreas eutrofizadas (PETRUCIO; ESTEVEVES, 2000; VESTERGAARD; SAND-JENSEN, 2000) e como bioindicadoras de ecossistemas degradados por metais (BOTTINO *et al.*, 2017), concluindo que as macrófitas apresentam boa capacidade na absorção de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, apresentando incremento em suas taxas de crescimento na presença de resíduos de mineração.

2.4 FATORES CONDICIONANTES DO CRESCIMENTO DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS

As plantas aquáticas possuem uma grande capacidade de adaptação e amplitude ecológica, características que permitem que esses vegetais colonizem uma série de habitats que vão desde fontes termais, lagos, cachoeiras, rios, até ambientes salobros e salgados (GANTES; CARO, 2001; ESTEVEVES, 2011). As diferentes espécies de plantas aquáticas variam muito em sua anatomia, fisiologia e a capacidade de tolerar estressores. Dentre esses estressores, podem-se destacar fatores físicos (morfometria do ecossistema, velocidade da

água, temperatura e radiação subaquática), químicos (nutrientes da água e do sedimento e carbono inorgânico) e físico-químico (pH). No entanto esses fatores afetam de forma diferente cada espécie de macrófita (LACOUL; FREEDMAN, 2006; ESTEVES, 2011).

PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA (2004), citam que espécies de região neotropical, *E. densa*, consegue viver em baixas concentrações de nutrientes. Com relação a temperatura, BAENSCH; RIEL (1993) relatam que a *E. densa* apresentou seu melhor desenvolvimento entre 20 a 24 °C, enquanto *E. najas* necessitou de temperaturas mais altas (variação de 23 a 27 °C) para o seu crescimento.

2.4.1 SURFACTANTES

Nas últimas décadas, alguns trabalhos têm discutido os riscos associados à presença de surfactantes em águas residuárias (CARRASCHI *et al.*, 2011; PENTEADO; SEOUD; CARVALHO, 2006; MUNGRAY; KUMAR, 2008; COLPANI, 2012; QUEVEDO, 2015) e a interferência dos surfactantes nos processos fisiológicos de macrófitas aquáticas (BHAIRI; MOHAN, 2001; PANDEY; GOPAL, 2010; FORNI *et al.*, 2008; KAGALWALA; KAVITHA, 2012; OSTROUMOV; SOLOMONOVA, 2013; AZIZULLAH *et al.*, 2018) e algas (AIZDAICHER; MARKINA, 2006; AZIZULLAH *et al.*, 2013).

GAVALA; AHRING (2002) citam que em processos biológicos anaeróbios de tratamento de efluentes, os surfactantes são inibidores severos da digestão anaeróbia, sendo removidos com baixa eficiência do meio líquido, trazendo assim efeitos tóxicos sobre a biota aquática.

As estações de tratamentos de efluentes convencionais (ETEs) não são projetadas para remover compostos recalcitrantes e micropoluentes (e.g. surfactantes, fármacos, fertilizantes, pesticidas). COTORUELO *et al.* (2009) citam que os métodos comumente empregados nas ETEs (floculação, decantação, cloração e biodegradação) não são totalmente eficientes na remoção destes tensoativos, gerando altos custos as empresas de saneamento ou indústrias.

Alguns fármacos e drogas veterinárias não são completamente removidos nas ETEs, sendo esses compostos encontrados em águas superficiais e subterrâneas (TERNES; HIRSCH, 2000; GEBHARDT; SCHRÖDER, 2007).

Então, essa deficiência das ETEs, faz com que concentrações relevantes de surfactantes sejam despejadas nos corpos hídricos afetando, dentre outros organismos, as macrófitas aquáticas. As macrófitas estão entre os primeiros organismos atingidos por

poluentes nesses ambientes (FORNI *et al.*, 2012). FORNI *et al.* (2008), cita que o DSS afeta o crescimento e atua negativamente sobre a atividade fotossintética de *Lemna minor* e *Azolla filiculoides*, PANDEY; GOPAL (2010), também, relatam interferência no crescimento e diminuição do teor de clorofila em *Azolla pinnata* e *Hydrilla verticillata*, quando expostas a surfactantes.

2.4.2 TEMPERATURA

As ações antrópicas (e.g. queima de combustível fosseis), estão levando ao acúmulo excessivo dos gases responsáveis pelo efeito estufa, particularmente o dióxido de carbono (CO₂). Esse acúmulo tem gerado grandes debates sobre os seus efeitos, especialmente de um eventual aumento da temperatura do planeta (CANADELL *et al.*, 2007). Sendo a temperatura um importante fator estressor que afeta o crescimento das plantas e refletindo a tendência de aquecimento de longo prazo desde os tempos pré-industriais, observou-se que o aumento da temperatura média global da superfície (GMST) entre 2006 e 2015 foi de, aproximadamente, 0,87 °C (IPCC, 2018). Este acréscimo é superior à média registrada entre 1850 e 1900. Baseado em estudos do painel intergovernamental de mudanças climáticas (IPCC), estima-se um aumento de até 2 °C na temperatura global, causando impactos que podem ser duradouros ou irreversíveis, como a perda de alguns ecossistemas (IPCC, 2018).

Essas mudanças climáticas poderão induzir alterações nas comunidades vegetais, o que já seria grave o suficiente para afetar qualquer bioma, alguns estudos preveem redução de 5 a 20% dos ecossistemas terrestres, em particular das florestas de coníferas, tundras, savanas e florestas boreais (SALA *et al.*, 2000; BELLARD *et al.*, 2012).

Uma das consequências do aquecimento global é o aumento da temperatura nos corpos d'água, podendo ocasionar efeitos drásticos na comunidade de macrófitas (BORNETTE; PUIJALON, 2011). A temperatura da água influencia a morfologia e o crescimento das plantas aquáticas, prejudicando também sua fisiologia, como a germinação de sementes, o início da dormência, a taxa de crescimento sazonal e a atividade fotossintética (SAND-JENSEN, 1989; SPENCER *et al.* 2000; LACOUL; FREEDMAN 2006). Variações locais ou sazonais de temperatura levam os indivíduos a apresentarem modificações fenotípicas (e.g. aumento da área foliar e das raízes) para sobreviverem sob diversas condições térmicas (MENENDEZ; SANCHEZ, 1998).

Essas respostas fisiológicas das macrófitas em relação à temperatura podem variar tanto intra como inter especificamente, dependendo da localização geográfica ou da

sazonalidade (WETZEL, 1993). THIÉBAUT; GILLARD; DELEU (2016), relatam que o aumento de 3° C na temperatura máxima e mínima do outono francês traz impactos diretos para o crescimento, regeneração e colonização de *E. densa*. A mesma influência da temperatura foi citada por YU *et al.* (2018), que sugerem que altas temperaturas, causadas pelo aquecimento global, interferem no comportamento de plantas aquáticas (nativas e invasoras) aumentando a formação de rametes, produção total de biomassa e alongamento de galhas. BORGES NETO; PITELLI (2004), também, mostram a sensibilidade de *E. densa* e *Egeria najas* quando expostas a variações de temperaturas associadas à presença ou não de fungos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SELEÇÃO E COLETA DAS MACRÓFITAS

Para o desenvolvimento dos experimentos de crescimento, foram selecionadas duas espécies de macrófitas (*Egeria densa* e *Chara* sp.) baseadas nas suas distintas capacidades de crescimento e na adequação de suas estruturas à avaliação das áreas foliares e ao tamanho dos recipientes de cultivo.

Egeria densa, pertencente à família Hydrocharitaceae, é conhecida popularmente como “elodea brasileira”, é uma planta perene herbácea, de água doce, submersa e enraizada. Nativa da América do Sul, encontrada em ambientes lênticos e lóticos, atualmente, está presente em pelo menos 27 países ao redor do mundo em regiões subtropicais e temperadas (HUSSNER; LÖSCH, 2005; YARROW *et al.*, 2009). *Egeria densa* tornou-se uma planta de aquário muito popular e é um objeto amplamente utilizado para investigações experimentais em laboratório. Além disso, faz parte da lista das piores macrófitas aquáticas do Brasil, em razão dos problemas que vêm causando em reservatórios de usinas hidrelétricas nos Estados de São Paulo, Bahia e Rio de Janeiro (COOK; URMI-KÖNIG, 1984; TANAKA *et al.*, 2002).

Chara é um gênero pertencente à Chlorophyta (algas verdes), família Characeae. As algas desse gênero desempenham um papel ecológico importante na estrutura dos ambientes aquáticos, principalmente quando estão presentes em locais com elevada biomassa, podendo atuar na ciclagem e absorção de nitrogênio, devido à sua elevada produção primária, colonizam águas claras tanto em ecossistemas lênticos como lóticos, sendo essas macroalgas muitas vezes confundidas como vegetais superiores por atingirem comprimento de até dois metros (KUFEL; KUFEL 2002; ESTEVES, 2011). São encontradas desde lagos na Europa até em reservatórios na América do Sul (RODRIGO *et al.*, 2007; HENRY-SILVA *et al.*, 2013).

Exemplares de *Egeria densa* e *Chara* sp. foram coletados nos tanques de cultivo do Jardim Experimental do Departamento de Botânica da Universidade de São Carlos (21° 59' 00,37" S e 47° 52' 47,42" W). As amostras das plantas foram lavadas com água corrente para remoção de material aderido. Para iniciar os experimentos de crescimento, foram separados fragmentos apicais de 7,0 cm (sendo que 2,0 cm foi enterrado no substrato) de *E. densa* e 14,0 cm (sendo 2 cm enterrado no substrato) para *Chara* sp. O sedimento, para fixação das plantas, foi coletado em região de mata próximo ao local de coleta da água. A Figura 3 mostra exemplares de *E. densa* e *Chara* sp. selecionados para os experimentos.



Figura 3. Exemplos de *E. densa* (esquerda) e *Chara* sp. (direita) selecionados para os experimentos.

(Fonte: arquivo pessoal)

3.2 MEIO DE CULTIVO

A coleta da água, para cultivo das macrófitas, ocorreu no trecho de rio a montante do reservatório do Monjolinho (22° 00' S e 47° 54' O), caracterizado por uma largura de aproximadamente 1,1 m e profundidade de 14 a 18 cm (varia sazonalmente). Suas margens apresentam instabilidade com sinais de interferência antrópica. Este reservatório localiza-se em uma área urbanizada da Universidade Federal de São Carlos (São Paulo, Brasil), apresentando variáveis limnológicas que caracterizam o local como sendo eutrófico (Santos et al., 2011). Amostras de águas superficiais foram coletadas usando garrafas de polietileno. Na sequência, as amostras foram filtradas em filtro de papel qualitativo (ϕ de poro = 3 μ m) para a remoção de material particulado grosseiro. O crescimento das plantas foi avaliado nos meios eutrófico e oligotrófico, tomando-se por base a classificação do índice de estado trófico (IET) da Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do estado de São Paulo (CETESB, 2003). O IET considera os dados de fósforo e clorofila-*a* (CETESB, 2003). A partir da constatação de condições eutróficas do local de coleta fez-se uma diluição de 20 vezes para se obter um meio oligotrófico.

3.3 CONCENTRAÇÃO DO SURFACTANTE

Para avaliar o efeito da concentração de DSS 95% (marca J. T. Baker) no crescimento das macrófitas, foram realizados bioensaios com concentrações nominais de 0,5 e 8,0 mg/L. Conforme comentado anteriormente, nas legislações ambientais vigentes no Brasil não são encontrados padrões de lançamento de efluentes exclusivos para o DSS. Dessa forma, a concentração mínima estabelecida no presente estudo teve como referência a resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005) que estabelece padrões de lançamento para substâncias tensoativas que reagem com o azul de metileno, com limite tolerável de 0,5 mg/L.

Já para a escolha da maior concentração testada (8,0 mg/L) tomou-se como referência os estudos desenvolvidos por KAGALWALA; KAVITHA, (2012), onde observaram os efeitos do surfactante lauril sulfato de sódio, sinônimo de dodecil sulfato de sódio, no crescimento de *Hydrilla verticillata*.

3.4 MONTAGEM DOS EXPERIMENTOS

Os bioensaios consistiram-se na fixação dos fragmentos de *E. densa* e *Chara* sp. previamente selecionados em frascos de poliestireno (diâmetro = 4,5 cm, altura = 4,0 cm e volume = 40 mL), preenchidos com sedimento coletado na área adjacente ao local de coleta de água (BIANCHINI JR *et al.*, 2010; BOTTINO *et al.*, 2017). Para evitar a interferência do aumento da turbidez por ressuspensão do sedimento, uma camada fina de areia inerte (cerca de 1 cm), calcinada (2 h a 550 °C), foi adicionada em cima do sedimento. Para compor cada bioensaio, os frascos de poliestireno contendo as plantas foram colocados em uma cuba de vidro ($\phi = 20$ cm, altura 24 cm). Em cada cuba foram colocados 6,0 L de água (BIANCHINI JR *et al.*, 2010) contendo o DSS previamente diluído nas concentrações de 0,5 e 8,0 mg/L. Esse procedimento de cultivo foi realizado para cada espécie, onde para cada diluição de DSS mais o tratamento controle (sem adição de DSS; Figura 4) utilizou-se 10 réplicas, totalizando 30 fragmentos de plantas por experimento.

O volume de água de cada bioensaio foi completado semanalmente para manter o volume inicial.



Figura 4. Bioensaios de crescimento contendo tratamento controle e duas concentrações de DSS e indivíduos de *E. densa* (n = 10).

(Fonte: arquivo pessoal)

3.5 FATORES ABIÓTICOS DO CULTIVO

Com intuito de observar o crescimento dos fragmentos das macrófitas, as cubas foram mantidas em câmara de germinação Tecnal (modelo TE-401) sob condições controladas de temperatura (25 e 27 °C) e fotoperíodo 12/12h (luz e escuridão $4,31 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol}/\text{seg}/\text{cm}$). A temperatura de 25 °C foi escolhida por representar a maior temperatura da água registrada no reservatório do Monjolinho (DOS SANTOS; CUNHA-SANTINO; BIANCHINI JR, 2011) e o acréscimo de 2 °C (27 °C) representa o aumento estimado da temperatura média indicada pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC 2018). Os comprimentos de cada haste de *E. densa* foram medidos a cada 3 dias por um período de até 6 semanas, dependendo do experimento e para *Chara* sp., a cada 3 dias durante 4 semanas, uma vez que esta espécie mostrou senescência precoce. Todos os brotos (*E. densa* e *Chara* sp.) que surgiram durante as semanas de experimentos foram contabilizados e medidos. Os comprimentos foram medidos com régua milimétrica (escala de 0,1 cm). Os experimentos, para avaliar o crescimento de macrofitas, foram realizados nas seguintes condições, conforme as Tabelas 1 e 2.

O pH (modelo DMPH-2, marca Digimed), a concentração de oxigênio dissolvido (modelo 58, marca YSI) e a condutividade elétrica (modelo DM3, marca Digimed) dos meios

de crescimento de *E. densa* e *Chara* sp. (fase aquosa dos bioensaios) foram determinados semanalmente.

Tabela 1. Condições experimentais em que foram realizados os bioensaios de crescimentos com *E. densa*, sob duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (Eutrófico e Oligotrófico) e duas concentrações de DSS (0,5 e 8,0 mg/L).

	Eutrófico	Oligotrófico
Temperatura 25 °C	E0-25 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;	E3-25 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;
	E1-25 – água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;	E4-25 – água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;
	E2-25 – água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.	E5-25 – água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.
Temperatura 27 °C	E0-27 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;	E3-27 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;
	E1-27 - água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;	E4-27 – água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;
	E2-27 - água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.	E5-27 – água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.

Tabela 2. Condições experimentais em que foram realizados os bioensaios de crescimentos com *Chara* sp., sob duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (Eutrófico e Oligotrófico) e duas concentrações de DSS (0,5 e 8,0 mg/L).

	Eutrófico	Oligotrófico
Temperatura 25 °C	C0-25 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;	C3-25 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;
	C1-25 – água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;	C4-25 – água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;
	C2-25 – água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.	C5-25 – água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.
Temperatura 27 °C	C0-27 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;	C3-27 (controle) – água do reservatório do Monjolinho sem adição de DSS;
	C1-27 água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;	C4-27 – água do reservatório com adição de 0,5 mg/L de DSS;
	C2-27 - água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.	C5-27 – água do reservatório com adição de 8,0 mg/L de DSS.

3.6 MODELAGEM MATEMÁTICA

Os comprimentos acumulados das macrófitas foram ajustados ao modelo logístico (VOGELS *et al.*, 1975) (Eq.1). Os parâmetros cinéticos foram obtidos por regressões não-lineares, calculados com o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (PRESS *et al.*, 1993). As taxas diárias de crescimentos de plantas foram calculadas pelo tamanho médio das plantas dividido pelos dias experimentais.

$$\frac{dN}{dt} = \mu \left(1 - \frac{N}{K}\right) \quad (1),$$

em que: N = comprimento (cm), μ = coeficiente de crescimento (dia^{-1}), K = valor máximo de N (rendimento) de cada bioensaio.

O tempo de duplicação (td) foi estimado de acordo com a Eq. 2 (MITCHELL, 1974):

$$td = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (2)$$

3.7 COEFICIENTE DE TEMPERATURA (Q_{10})

Para quantificar os efeitos da temperatura no crescimento de *E. densa* e *Chara* sp. foram calculados os valores do coeficiente de temperatura (Q_{10}); para tanto, se utilizou a relação exponencial entre a temperatura e os valores de comprimento acumulado. O coeficiente de temperatura Q_{10} (Eq. 3) é a medida da variação de das taxas de reação de sistemas químicos ou biológicos como resultado do aumento de 10 °C na temperatura. (USEPA, 1985).

$$Q_{10} = \left(\frac{\mu_2}{\mu_1}\right)^{\left(\frac{10}{T_2-T_1}\right)} \quad (3),$$

em que: μ_1 = coeficiente de crescimento para a temperatura T1; μ_2 = coeficiente de crescimento para a temperatura T2. A relação μ_2/μ_1 (Eq. 3) foi calculada com base na regressão linear dos comprimentos acumulados a 25 e 27°C. As inclinações das linhas retas (que passaram pela origem) definiram os valores das proporções, que neste caso correspondiam a μ_{27}/μ_{25} .

3.8 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS

Clorofila *a* e *b*, carotenoide, antocionina e flavonoide foram os parâmetros de respostas fisiológicas nos indivíduos de *E. densa* e *Chara* sp. mensurados para avaliar possíveis alterações, como estresse oxidativo e alterações nos pigmentos fotossintéticos. Estas análises foram realizadas uma vez por semana e um detalhamento sobre estes procedimentos é apresentado a seguir.

Antioxidantes

Para determinação de antocianina, as amostras de biomassa frescas de *E. densa* e *Chara* sp. (0,02 g) foram colocadas em 5 mL de metanol e ácido clorídrico [99:1 (v/v)], mantidas em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) por 24h no escuro, para evitar fotorredução. Foi realizada leitura em espectrofotômetro-UV (Ultrospec 2100 pro) no comprimento de onda de 550 nm. Para a determinação da concentração desse composto, utilizou-se o coeficiente de extinção 33.000 mol/cm e o resultado foi expresso por mmol/g MF (massa fresca) (WAGNER, 1979).

O teor de flavonoide foi determinado como descrito por KRIZEK; BRITZ; MIRECKI, 1998. As amostras de plantas frescas (0,02 g) foram adicionadas em tubos Falcon contendo 5 mL de solução de etanol acidificado [99:1 (v/v)]. Em seguida, as amostras foram colocadas em banho maria (Tecnal Banho Dubnoff TE – 053) a 80 °C por 10 min para extração. Após o resfriamento, a fração líquida das amostras foi lida por espectrofotometria de UV-VIS (Ultrospec: 2100 Pro Pharmacia) no comprimento de onda 270 nm e os resultados foram expressos em % de Abs/g MF.

Pigmentos fotossintéticos

Para a análise de pigmentos fotossintéticos, clorofila *a*, *b* e carotenoide foi utilizado a metodologia de LICHTENTHALER (1987). Os pigmentos foram extraídos com uma solução padrão contendo acetona 80% (v/v), carbonato de magnésio e água deionizada. As amostras de planta (50 mg biomassa fresca) foram adicionadas em tubos contendo 5,0 ml da solução e foram maceradas e homogeneizadas em Ultra turrax (marca Ika). Os tubos foram envolvidos em papel alumínio e foram mantidos em geladeira a 4 °C por 24 h. Após o período de 24 h, o sobrenadante foi lido em espectrofotômetro UV-VIS (Ultrospec: 2100 Pro Pharmacia) nos

comprimentos de onda 470, 645, 662 e 710 nm. Para o cálculo da concentração de pigmentos utilizou-se o mesmo peso de biomassa utilizada para extração (50 mg biomassa fresca), porém a mesma foi seca em estufa por 48 h em 45 °C até massa constante e após o período a biomassa foi pesada gravimetricamente e os resultados da determinação de pigmentos foram expressos em mg/g MS (massa seca).

3.9 Tratamento Estatístico

O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov indicou que o crescimento das plantas e as respostas fisiológicas possuem distribuição normal, enquanto que o número de brotos houve distribuição não normal.

Para os dados paramétricos, utilizou-se a análise de variância Two-way ANOVA com medidas repetidas para determinar se houve diferença significativa ($\alpha = 0,05$) entre as médias dos grupos tratamento controle e as concentrações de DSS durante o tempo de exposição ao surfactante. A variável independente foi o tempo de exposição (dias e semanas) e a variável dependente foram os valores determinados nos parâmetros de crescimento e indicadores fisiológicos (pigmentos fotossintéticos, antioxidantes). O teste de Tukey foi utilizado para apontar grupos homogêneos, considerando nível de significância de 95,0% ($\alpha = 0,05$).

Para os dados não paramétricos adotou-se o teste de Kruskal-Wallis e o de comparações múltiplas de Dunn's para indicar grupos homogêneos, também considerando o nível de significância de 95,0% ($\alpha = 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 CINÉTICAS DE CRESCIMENTO DE *EGERIA DENSA* CULTIVADAS A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

Em todos os tratamentos os valores de pH se mantiveram estável, com média de $7,2 \pm 0,4$. As concentrações de oxigênio dissolvido foram diferentes entre os meios. Para o meio eutrófico essa variação foi de $3,6 \pm 0,31$ a $4,2 \pm 0,96$ mg/L, enquanto no meio oligotrófico foi de $2,2 \pm 1,2$ a $2,8 \pm 0,67$ mg/L. Em relação à condutividade elétrica ocorreram também variações entre os meios de cultivo. Em meio eutrófico a condutividade elétrica variou de $105 \pm 11,47$ a $117,2 \pm 11,47$ $\mu\text{S}/\text{cm}$. Já em meio oligotrófico a variação foi de $51,21 \pm 3,86$ a $86,5 \pm 29,3$ $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Apêndice A).

As variações temporais dos crescimentos acumulados, as taxas diárias de crescimentos e os ajustes cinéticos de *E. densa* em meio eutrófico, cultivadas a 25 e 27 °C, em duas concentrações de DSS (0,5 mg/L e 8,0 mg/L) e o tratamento controle, são mostradas na Figura 5.

Ao compararmos o crescimento de *E. densa* a 25°C, o Tratamento controle (E0-25) exibiu um maior crescimento (22 cm; $p < 0,0001$) quando comparado com os Tratamentos E1-25 (15 cm) e E2-25 (15 cm) (Figura 5B e 5C). Os Tratamentos E0-25, E1-25 e E2-25 (Figuras 5A, 5B e 5C) apresentaram um pico na taxa diária de crescimento nos primeiros dias experimentais, após esse período houve um decréscimo desses picos seguido de uma elevação. Para temperatura de 25°C, o Tratamento E0-25 (Figura 5A) apresentou a maior taxa diária de crescimento, ou seja, houve um maior crescimento da planta. Ademais, um novo pico foi identificado a partir do 10º dia, coincidindo com o surgimento dos primeiros brotos, atingindo a maior taxa (0,85 cm/dia) no 21º dia de experimento. O surgimento dos brotos a 25 °C se deu em tempo diferentes entre os tratamentos E0-25 (Figura 5A) no 10º dia, E1-25 (Figura 5B) no 24º dia e E2-25 (Figura 5C) no 27º dia (Tabela 4).

De acordo com a parametrização dos comprimentos acumulados de *E. densa* em meio eutrófico (Figura 5), o K para o crescimento de *E. densa* foi estabelecido em 36 cm (25 °C) e 78 cm (27 °C), indicando menor capacidade de suporte (ca. 2,2 vezes) a 25 °C (Tabela 3). A robustez do modelo utilizado para parametrizar o crescimento de *E. densa* foi demonstrada pelos coeficientes de determinação (r^2 : intervalo = 0,93 a 0,99; Tabela 3).

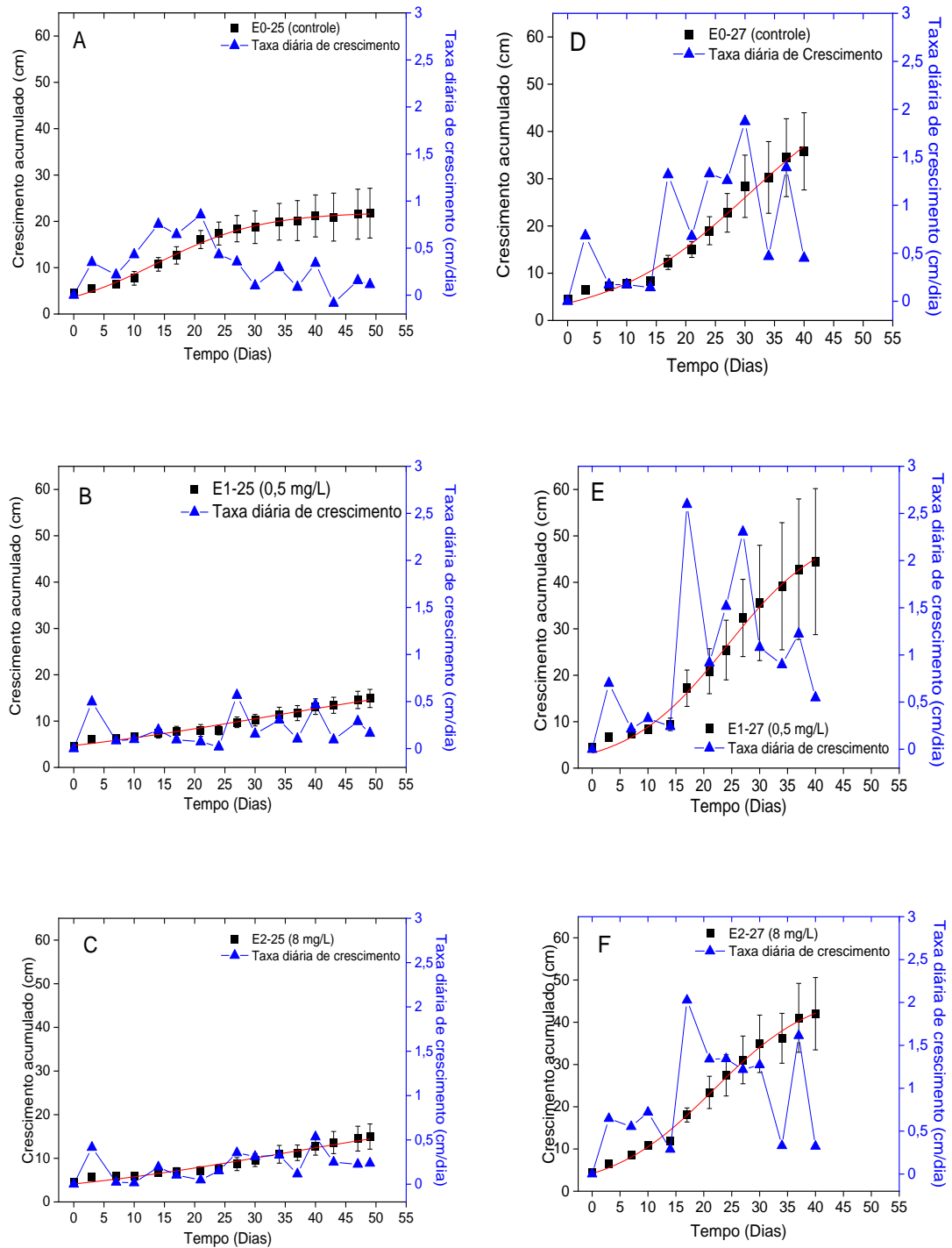


Figura 5. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *E. densa* e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico: (A) E0-25 (controle), (B) E1-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) E2-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) E0-27 (controle), (E) E2-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) E2-27 (8,0 mg/L de DSS).

A Tabela 3 apresenta os parâmetros de crescimento de *E. densa* em meios eutrófico e oligotrófico em diferentes temperaturas (25 e 27 °C), em tratamentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS.

Tabela 3. Parâmetros de crescimento de *Egeria densa* em meio eutrófico e oligotrófico em diferentes temperaturas (25 e 27 °C); em que: K = capacidade suporte; μ = coeficiente de crescimento; r^2 = coeficiente de determinação; td = tempo de duplicação; Q_{10} = coeficiente de ajuste da temperatura.

Meio eutrófico					
25 °C	K (cm)	μ (dia⁻¹)	r^2	td (dia)	Q_{10}
E0-25 (controle)	36	0,145	0,99	4,8	
E1-25 (0,5 mg/L)	36	0,048	0,94	14,5	
E2-25 (8,0 mg/L)	36	0,048	0,93	14,6	
27 °C					
E0-27 (controle)	78	0,126	0,99	5,5	
E1-27 (0,5 mg/L)	78	0,171	0,99	4,0	
E2-27 (8,0 mg/L)	78	0,127	0,99	5,4	6,36
Meio oligotrófico					
25 °C	K (cm)	μ (dia⁻¹)	r^2	td (dia)	Q_{10}
E3-25 (controle)	36	0,120	0,98	5,8	
E4-25 (0,5 mg/L)	36	0,076	0,88	9,1	
E5-25 (8,0 mg/L)	74	0,115	0,99	6,0	
27 °C					
E3-27 (controle)	78	0,047	0,85	14,7	
E4-27 (0,5 mg/L)	78	0,063	0,91	11,0	
E5-27 (8,0 mg/L)	78	0,098	0,96	7,1	0,56

Ao compararmos os bioensaios de crescimento acumulado a 27 °C de *E. densa* em ambiente eutrófico (E0-27 35 cm; E1-27 44 cm; E2-27 42 cm) (Figuras 5D, 5E e 5F), observa-se que não houve diferenças significativas no crescimento ($p = 0,2704$). Após um pico de crescimento nos primeiros dias, as taxas diárias caíram e voltaram a aumentar a partir do 14º dia com o surgimento dos primeiros brotos, os quais foram simultâneos para os três tratamentos, sendo que o Tratamento E1-27 (Figura 5E) apresentou a maior taxa diária de crescimento (2,59 cm/dia) no 17º dia (Figura 5E).

Considerando todos os tratamentos nas duas temperaturas, o crescimento acumulado médio em meio eutrófico, foi cerca de 3 vezes maior a 27 °C em comparação a 25 °C (Figura

5). As distintas condições térmicas combinadas com as concentrações de DSS aceleraram o crescimento de *E. densa* a 27 °C, sendo quase 3 vezes mais elevadas nos tratamentos com DSS (Figura 5E e 5F). Considerando a regulação da temperatura no crescimento de *E. densa*, o Q_{10} obtido no meio eutrófico foi de 6,37 (Tabela 3), indicando grande influência da temperatura no desenvolvimento dessa macrófita.

Na Tabela 4 apresentam-se os valores médios (\pm desvio padrão) do número (crescimento vegetativo), tempo de emergência e contribuições (%) dos brotos de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (eutrófico e oligotrófico) em tratamentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS.

Tabela 4. Variações de valores médios \pm desvio de número (crescimento vegetativo), tempo de emergência e contribuições (%) dos brotos *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (eutrófico e oligotrófico) em experimentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Valores de número são referentes ao último dia de experimento. Os asteriscos (*) representam diferenças significativas para as médias dos tratamentos ($\alpha = 0,005$).

Meio eutrófico			
25 °C	Número de brotos	Tempo de emergência	Contribuição (%)
E0-25 (controle)	2,6 \pm 0,8*	10	40,2
E1-25 (0,5 mg/L)	1,2 \pm 0,4*	24	27,5
E2-25 (8,0 mg/L)	1,3 \pm 0,4*	27	25,9
27 °C			
E0-27 (controle)	3,0 \pm 0,8	14	43,5
E1-27 (0,5 mg/L)	2,6 \pm 1,2	14	42,4
E2-27 (8,0 mg/L)	1,1 \pm 0,7	14	37,8
Meio oligotrófico			
25 °C	Número de brotos	Tempo de emergência	Contribuição (%)
E3-25 (controle)	1,7 \pm 0,9	7	25,9
E4-25 (0,5 mg/L)	1,3 \pm 1,0	10	15,8
E5-25 (8,0 mg/L)	4,1 \pm 1,1	21	26,5
27 °C			
E3-27 (controle)	0,3 \pm 0,4*	27	1,9
E4-27 (0,5 mg/L)	1,7 \pm 0,8	10	16,1
E5-27 (8,0 mg/L)	2,9 \pm 0,8*	10	23,5

Como mostrado na Tabela 4, a 25 °C em meio eutrófico, o número de brotações do Tratamento E0-25 (controle) foi maior (2,6 \pm 0,8 contribuindo com 40,2% do tamanho acumulado da planta) que os tratamentos com diluições de DSS, apresentando diferença significativa ($p = 0,0027$). A 27 °C, apesar do Tratamento E0-27 (controle) apresentar um número de brotações maiores (3,0 \pm 0,8 com uma contribuição de 43,5%, sendo a maior entre todos os experimentos), comparando com os outros tratamentos, não houve diferenças significativas ($p = 0,1368$). A variação no tempo de emergência das primeiras brotações a 25 °C mostrou que, no crescimento de *E. densa*, os rebentos apareceram entre 10 a 27 dias. A 27 °C, o início foi mais tardio (14° dia), entretanto ocorreu ao mesmo tempo para os três tratamentos.

A Figura 6 mostra a dinâmica temporal de crescimento acumulado e da taxa de crescimento de *E. densa*, cultivada em meio oligotrófico sob 25 e 27 °C. Assim como para o meio eutrófico, de acordo com a parametrização dos comprimentos acumulados, em relação ao crescimento em meio oligotrófico (Figura 6), o K para o crescimento de *E. densa* foi estabelecido em 36 cm (25 °C) e 78 cm (27 °C), a exceção do tratamento E5-25 em que o K foi fixado em 74 (Tabela 3) em função do crescimento acelerado nesse tratamento. Os coeficientes de determinação (r^2) para os três tratamentos variaram de 0,85 e 0,99. A 25 °C, o crescimento acumulado de *E. densa* apresentou variações, sendo significativo ($p < 0,0001$) entre os Tratamentos E3-25 e E5-25 (Figuras 6A e 6E).

Os Tratamentos E3-25 e E4-25 (Figuras 6A e 6B), mostram que os crescimentos acumulados de *E. densa* foram próximos, atingindo 26 e 23 cm, respectivamente. Essa tendência foi diferente do observado no Tratamento E5-25 (Figura 6C), onde o crescimento acumulado foi maior, atingindo 46 cm. Nos três tratamentos sob temperatura de 25°C (Figuras 6A a 6C), os indivíduos de *E. densa* passaram por períodos de adaptação ao meio de cultivo. Desta maneira, observou-se um aumento, nos primeiros cinco dias, das suas taxas diárias de crescimento, sendo que a condição E5-25 (Figura 6C) apresentou uma taxa diária mais alta (2,8 cm/dia) no 10º dia, essa taxa teve uma queda, voltando a subir no 21º dia com o surgimento dos brotos (Tabela 4).

A taxa diária de crescimento das plantas apresentou elevação significativa nos primeiros dias do experimento a 27 °C. Os Tratamentos E4-27 (32 cm) e E5-27 (40 cm) (Figura 6E e 6F) apresentaram os maiores crescimentos acumulados, quando comparados com o controle (25 cm) ($p < 0,0001$) (Figura 6D). O Tratamento E4-27 (Figura 6E) apresentou a maior taxa diária de crescimento (2,36 cm/dia) no 3º dia de experimento. Na sequência, o pico caiu, voltando a subir a partir do 10º dia com o surgimento dos primeiros brotos, que também surgiram no 10º dia (Tabela 4) para o Tratamento E5-27 (Figura 6F), onde também se notou uma elevação da taxa diária de crescimento. O Tratamento E3-27 (Figura 6D), apresentou o menor crescimento acumulado, os indivíduos de *E. densa* apenas desenvolveram brotações a partir do 27º dia, sendo o mais tardio de todos os tratamentos (Tabela 4).

Nos experimentos conduzidos a 25 °C em meio oligotrófico o número de brotos de *E. densa* do Tratamento E3-25 (controle) foi menor ($1,7 \pm 0,9$ cm; 25,9%) do que o registrado no E5-25 ($4,1 \pm 1,1$ cm; 26,5% Tabela 4), porém, o número de brotos não foi significativo ($p = 0,9183$) entre os tratamentos a 25 °C oligotrófico.

A 27 °C, nessa mesma condição (oligotrófica), o número de brotos no tratamento E3-27 (controle) foi menor do que o dos tratamentos com diluições de DSS ($p = 0,0109$), nesse

tratamento as contribuições de brotos para o crescimento acumulado de *E. densa* foi o menor entre todos os experimentos, apenas 1,9%. O período de emergência dos brotos em meio oligotrófico, iniciou-se a partir do 7º dia de experimento (E3-25), sendo que no Tratamento E3-27, o brotamento só foi observado a partir do 27º dia (Tabela 4).

Houve diferença significativa para o número de brotos (Tabela 4) na mesma temperatura (25 °C) com os meios de trofia diferentes ($p = 0,0338$) e essa diferença também ocorreu entre os tratamentos conduzidos a 27 °C ($p = 0,0041$). Porém entre as temperaturas diferentes no mesmo meio não houve diferença ($p = 0,0235$ a 25 e 27 °C em meio eutrófico; $p = 0,0592$ a 25 e 27 °C em meio oligotrófico).

O Q_{10} do crescimento de *E. densa* no meio oligotrófico foi 11,3 vezes menor (0,56; Tabela 3) que em meio eutrófico; indicando que não houve influência da temperatura no crescimento em meio oligotrófico.

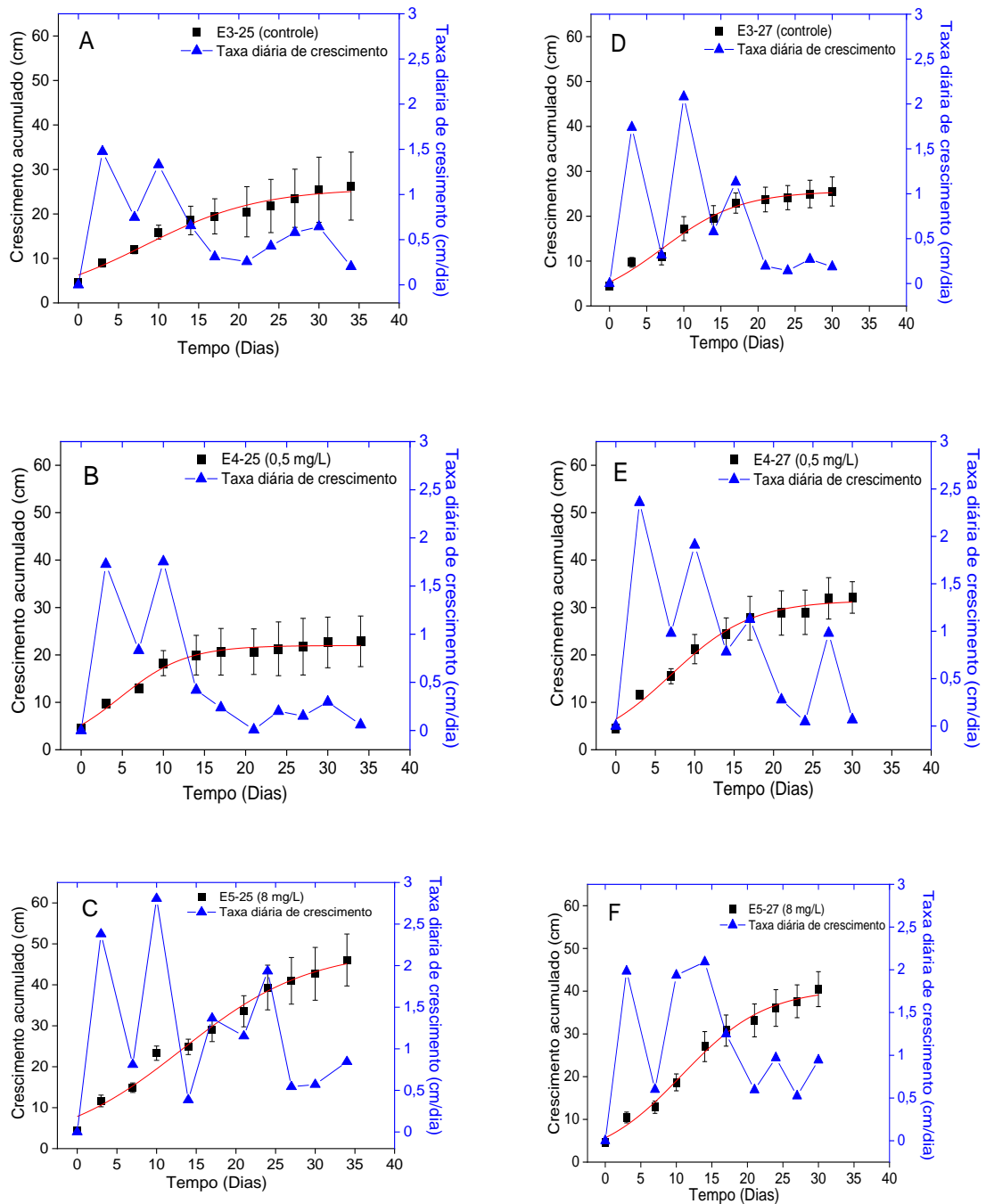


Figura 6. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *E. densa* e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico: (A) E3-25 (controle), (B) E4-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) E5-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) E3-27 (controle), (E) E4-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) E5-27 (8,0 mg/L de DSS).

Considerando os tratamentos com adição de DSS, esperava-se uma inibição no crescimento de *E. densa* com o aumento das concentrações de surfactante; essa condição foi observada apenas para *E. densa* a 25 °C independente da trofia do meio. O μ foi três vezes menor, em meio eutrófico, para E1-25 e E2-25 em comparação com o tratamento controle

(E0-25; Tabela 3). Em meio oligotrófico, os tratamentos E4-25 e E5-25 apresentaram valores de μ ca. 1,6 e 1,05 vezes menores que o Tratamento controle (E3-25). Entretanto, a 27 °C, esse padrão foi inverso, os tratamentos com DSS apresentaram os maiores μ (E1-27 = 0,171 dia⁻¹ e E2-27 = 0,127 dia⁻¹, respectivamente; Tabela 3).

Em relação ao meio eutrófico, a 27 °C, o E1-27 apresentou um aumento (1,35 vezes) no μ em comparação ao E0-27 (controle) (Tabela 3), apresentando um td que variou entre 4 e 5,5 dias. Para o meio oligotrófico (27 °C), o aumento em relação ao controle (E3-27) foi 1,3 na concentração de 0,5 mg/L (E4-27) e 2,1 vezes a 8,0 mg/L (E5-27), refletindo em um td maior (14,7 dias) para o Tratamento controle (E3-27).

O tempo de duplicação para 25 °C eutrófico, seguindo a tendência do μ , foi menor (4,8 dias) para o tratamento controle (E0-25), enquanto que os tratamentos E1-25 e E2-25 apresentam um período maior para duplicação (14,5 e 14,6 dias respectivamente). Já sob a mesma temperatura (25 °C) em meio oligotrófico o td variou entre 5,8 e 9,1 dias, período menor do que o observado nos bioensaios em meio eutrófico (Tabela 3).

4.2 ANÁLISES FISIOLÓGICAS DE *EGERIA DENSA* CULTIVADA A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

Na Figura 7 é apresentado a variação semanal dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoide) em *E. densa* sob as temperaturas de 25 e 27 °C no meio eutrófico. As concentrações de clorofila *a*, *b* e carotenoide a 25 °C com DSS (Figuras 7A, 7C e 7E) apresentaram aumentos significativos, em algumas semanas, quando comparados com os tratamentos controle. Nos bioensaios realizados a 27 °C (Figuras 7B, 7D e 7F), os pigmentos fotossintéticos do tratamento controle (E0-27) se mantiveram abaixo dos tratamentos com DSS (E1-27 e E2-27), na maioria das semanas analisadas.

Diferenças significativas entre E0-25 (controle) e os demais tratamentos (E1-25 e E2-25) não foram observadas em todas as semanas. Para clorofila-*a* (Figura 7A) as diferenças foram nas 1^o, 4^o e 6^o semanas ($p = 0,0006$), já em clorofila-*b* (Figura 7C) na 8^o semana ($p < 0,0001$) e em carotenoide (Figura 7E) nas 1^o e 6^o semanas ($p < 0,0001$).

Sob as temperaturas 25 e 27 °C, em meio eutrófico, os experimentos com *E. densa* apresentaram período maior de duração (8 e 6 semanas, respectivamente). Esse tempo maior foi devido ao processo de estabilização do crescimento da planta, sob meio eutrófico *E. densa* necessitou de mais semanas para cessar seu crescimento em condições de excesso de

nutrientes, quando comparado aos experimentos 25 e 27 °C em condição oligotrófica (4 semanas).

Nas temperaturas de 25 e 27 °C em meio eutrófico os experimentos com *E. densa* tiveram um período maior de duração (8 e 6 semanas, respectivamente). Esse tempo maior foi devido ao processo de estabilização do crescimento das plantas, sob meio eutrófico, *E. densa* necessitou de mais semanas para cessar seu crescimento, quando comparado aos experimentos 25 e 27 °C oligotrófico (4 semanas).

As plantas cultivadas a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico, apesar de perderem um pouco da coloração, não chegaram a refletir em uma diminuição brusca das concentrações de pigmentos fotossintéticos.

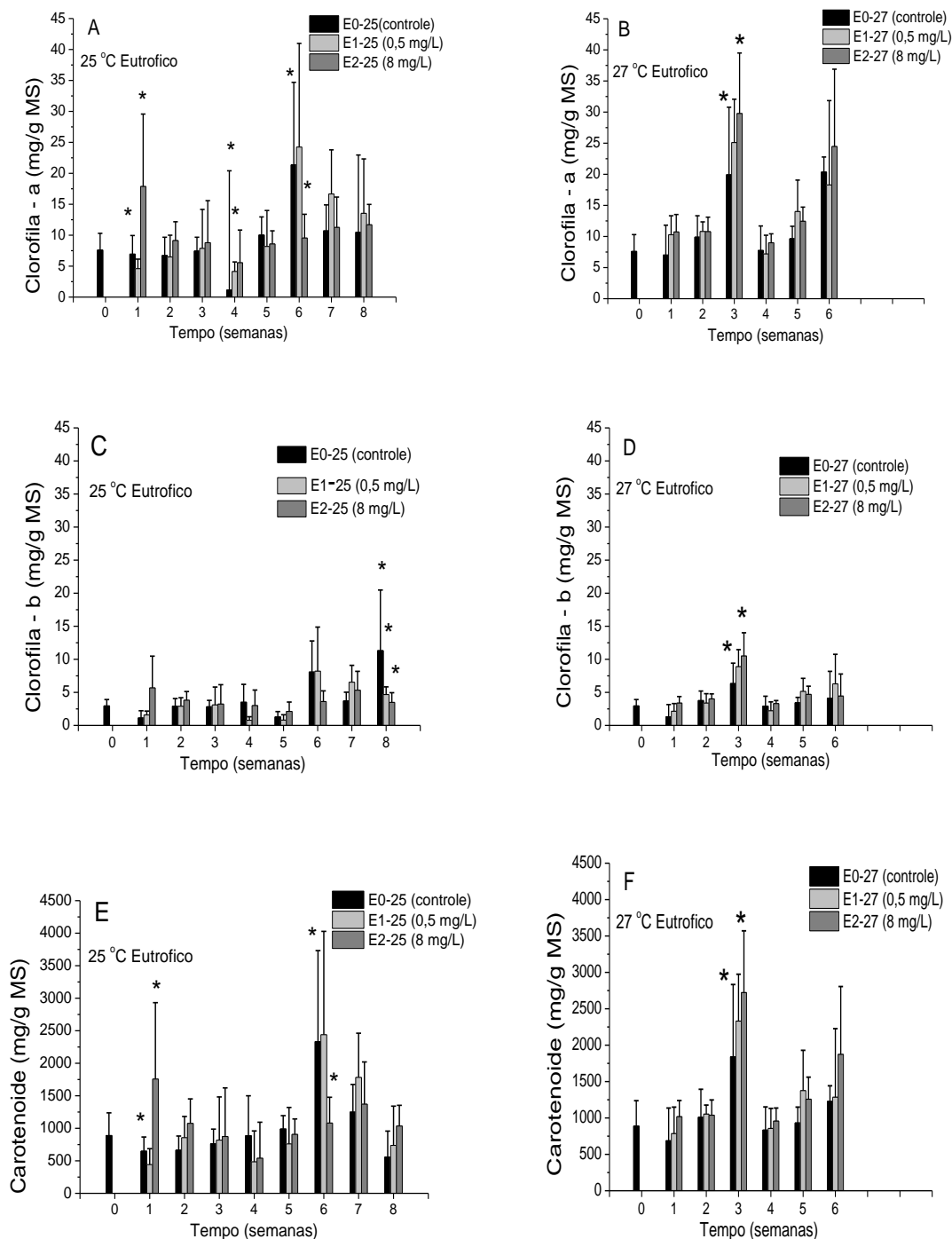


Figura 7. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoides) (mg/g MS) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

Na Figura 8 são apresentadas as variações semanais dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoide) em *E. densa* sob 25 e 27 °C no meio oligotrófico. Nos

experimentos a 25 °C (Figura 8A, 8C e 8E), na primeira semana, as concentrações dos pigmentos fotossintéticos se mantiveram baixas, observando uma crescente desses pigmentos a partir da segunda semana, onde essas concentrações ficaram menores que o controle ($p < 0,0001$). Sob temperatura de 27 °C (Figuras 8B, 8D e 8F), praticamente não ocorreram picos, não apresentando diferenças significativas para clorofila-*a* ($p = 0,1719$), clorofila-*b* ($p = 0,5768$) e carotenoide ($p = 0,5682$) (Figura 8B, 8D e 8F). Ao compararmos as concentrações dos pigmentos fotossintéticos a 25 ° e 27 °C oligotrófico, temos uma diferença significativa ($p < 0,0001$), onde as concentrações dos pigmentos fotossintéticos a 25 °C foram maiores do que a 27 °C.

Ao se comparar os experimentos a 25 °C em meio eutrófico (Figuras 7A, 7C e 7E) e oligotrófico (Figuras 8A, 4C e 8E) houve diferença significativa ($p < 0,0001$) nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos, mostrando maior concentração de pigmentos no meio oligotrófico. Comparando as diferentes condições de trofia (Figuras 7B, 7D e 7F) a 27 °C (Figuras 8B, 8D e 8F) houve diferenças perante mudanças de temperaturas e concentrações de nutrientes do o meio ($p < 0,0001$), sendo que a concentração de pigmentos foi maior no meio eutrófico.

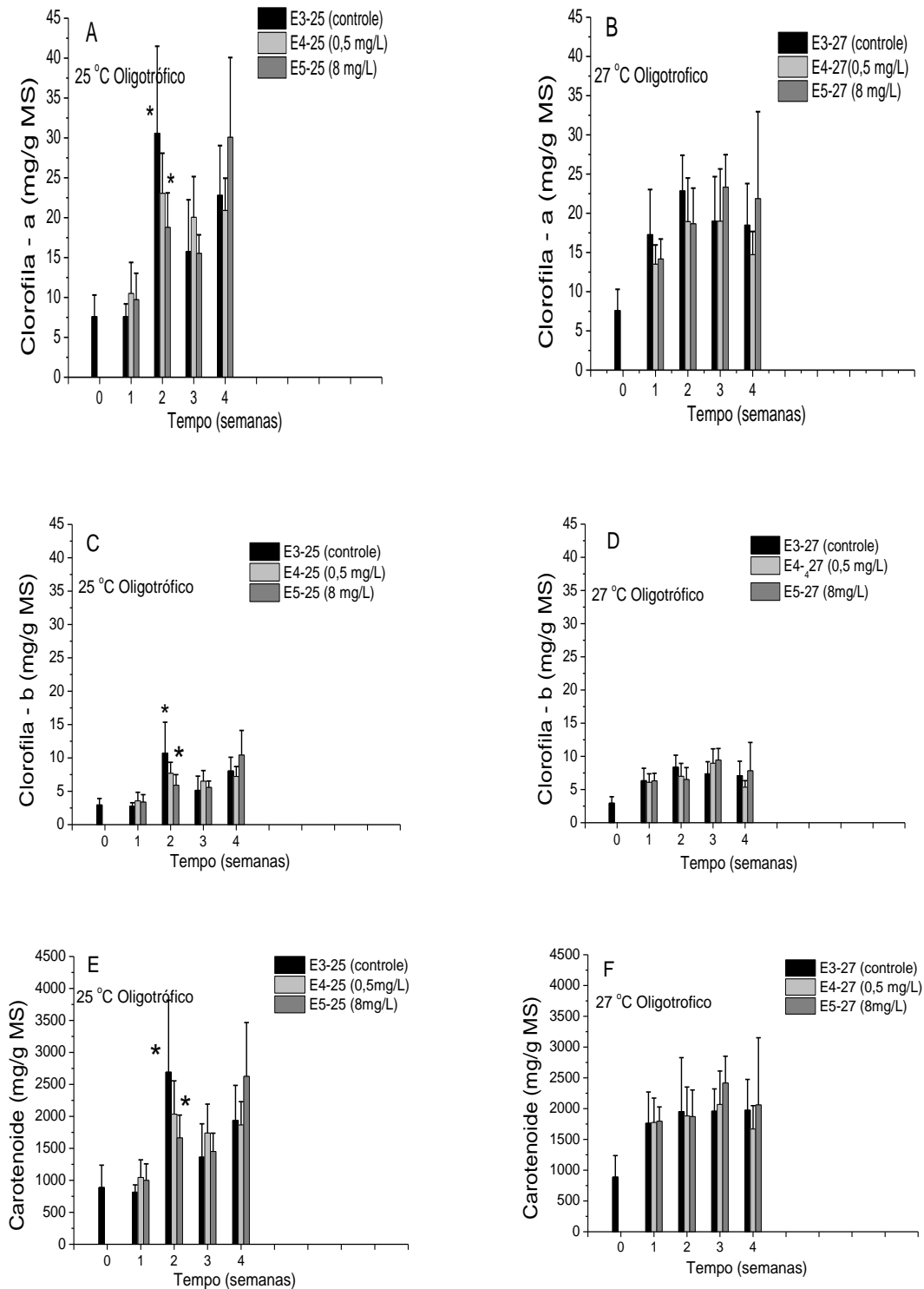


Figura 8. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-a, clorofila-b e carotenoides) (mg/g MS) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

Na Figura 9 são apresentadas as variações temporais (semanal) do antioxidante antocianina em *E. densa* sob as temperaturas de 25 e 27 °C nos meios eutrófico e oligotrófico, nos experimentos controle e com duas adições de DSS. Segundo as Figuras 9A, 9B, 9C e 9D, observou-se uma variação nas concentrações de antocianina, comparando-se o controle e tratamentos com diluições de DSS.

Os experimentos 25 e 27 °C eutrófico (Figuras 9A e 9B) apresentaram as maiores concentrações de antocianina e, também, as maiores variações entre os tratamentos em todas as semanas observadas, quando comparados aos experimentos oligotrófico (Figuras 9C e 9D). Sob 25 °C (meio eutrófico; Figura 9A), houve diferença ($p < 0,0001$) para as semanas 4 e 7, enquanto a 27 °C sob o mesmo meio essa diferença ($p < 0,0001$) se apresentou na 3ª semana. Os experimentos 25 e 27 °C (meio oligotrófico; Figura 9C e 9D) não apresentaram diferenças ($p = 0,0590$ e $p = 0,0723$), porém compararmos os experimentos aos pares (25 °C eutrófico x 25 °C oligotrófico; 25 °C eutrófico x 27 °C eutrófico; 27 °C eutrófico x 27 °C oligotrófico; 25 °C oligotrófico x 27 °C oligotrófico), observou-se diferenças ($p < 0,0001$) entre os mesmos.

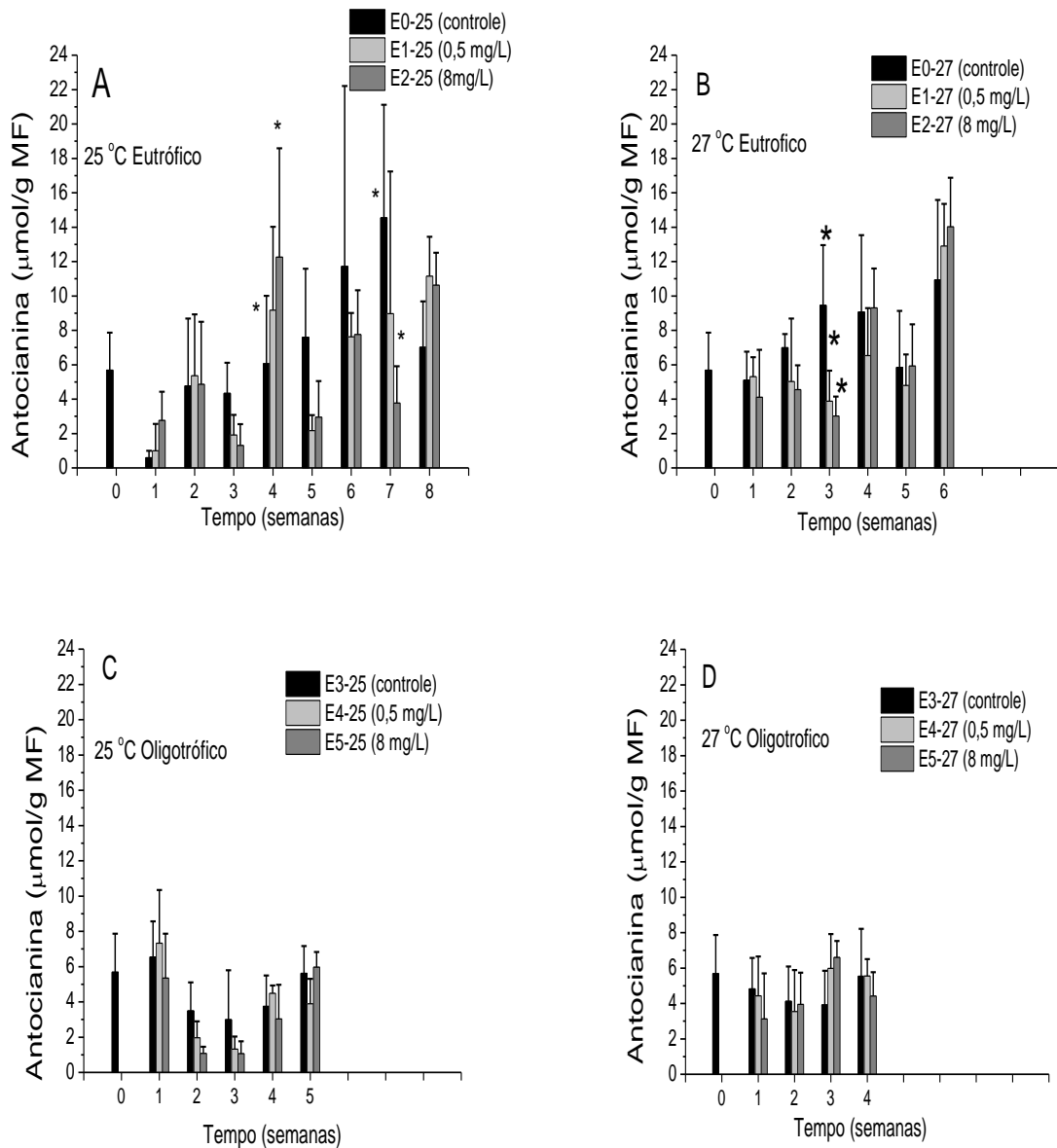


Figura 9. Antioxidante antocianina ($\mu\text{mol/g MF}$) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

Na Figura 10 são apresentadas as variações semanais do antioxidante flavonoide em *E. densa* sob as temperaturas de 25 e 27 °C nos meios eutróficos e oligotróficos, nos experimentos controle e com duas adições de DSS. Os experimentos em meio eutrófico (Figuras 10A e 10B) apresentaram maiores concentrações do antioxidante, quando comparados aos experimentos em meio oligotrófico (Figuras 10C e 10D).

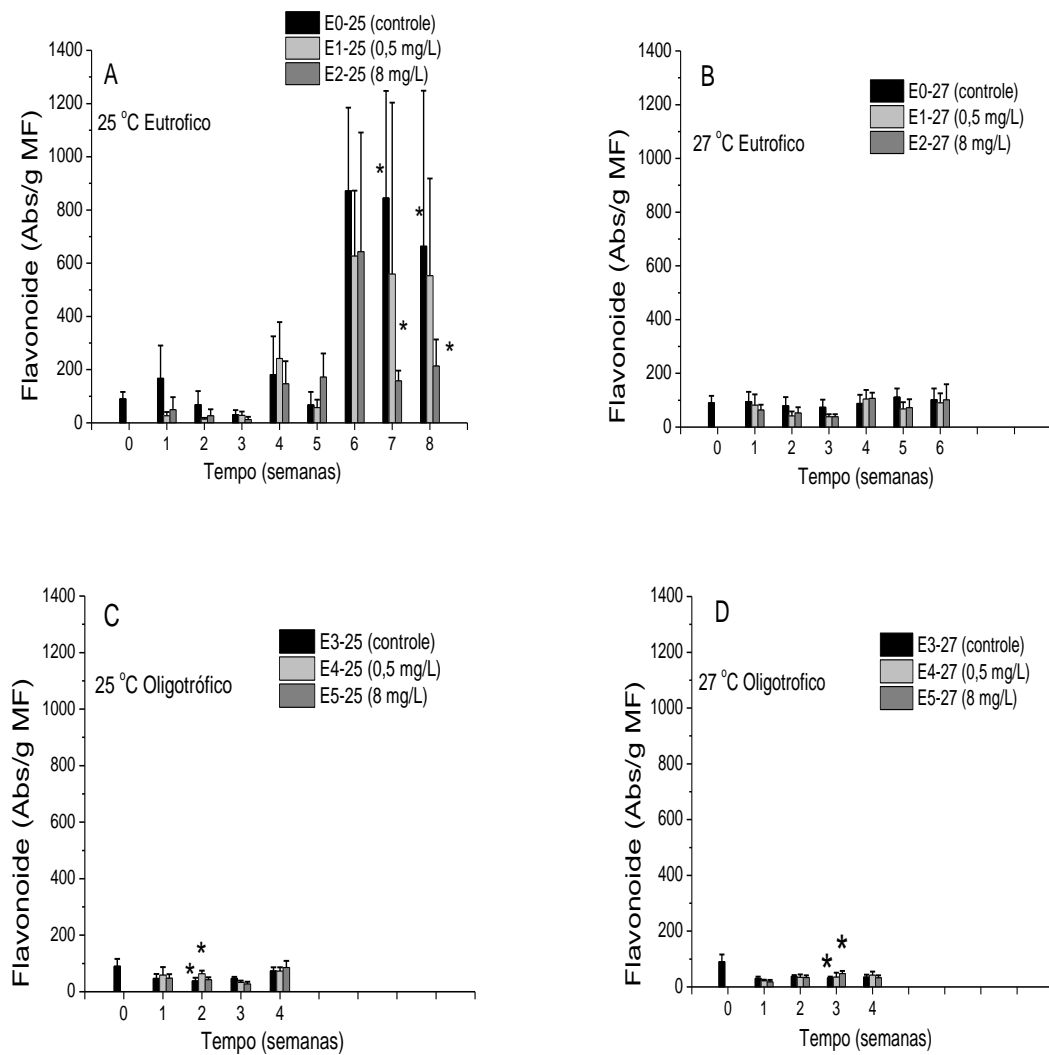


Figura 10. Antioxidante flavonoide (Abs/g MF) de *E. densa*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

Os experimentos desenvolvidos a 25 °C em meio eutrófico houve maior concentração de flavonoide nas três últimas semanas, destacando o tratamento E0-25 (controle) que apresentou uma maior concentração do antioxidante quando comparado com os demais tratamentos (E1-25 e E2-25) (Figura 10A). Com relação aos demais experimentos (Figura 10B, 10C e 10D), as concentrações de flavonoides se mantiveram estáveis em todos os tratamentos (controle e diluições com DSS).

Sob 25 °C em meio eutrófico (Figura 10A) a diferença estatística foi observada nas 7^o e 8^o semanas ($p < 0,0001$), enquanto a 25 e 27 °C (condição oligotrófica; Figuras 10C e 10D) essa diferença foi observada nas 2^o e 3^o semanas ($p < 0,0001$ e $p < 0,0002$). A 27 °C em meio eutrófico (Figura 10B) não houve diferença ($p = 0,5396$). Ao comprarmos os experimentos (Figuras 10A, 10B, 10C e 10D) aos pares (25 °C eutrófico x 25 °C oligotrófico; 25 °C eutrófico x 27 °C eutrófico; 27 °C eutrófico x 27 °C oligotrófico; 25 °C oligotrófico x 27 °C oligotrófico), observaram-se diferenças ($p < 0,0001$).

4.3 CINÉTICA DE CRESCIMENTO *CHARA* SP. CULTIVADA A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

Os valores de pH se mantiveram estáveis em torno de $7,5 \pm 0,12$ nos tratamentos controle e com DSS em todos os meios e temperaturas. Para as concentrações de oxigênio dissolvido os valores variaram em relação ao meio de cultivo. Sob o meio eutrófico houve variação entre $6,7 \pm 0,81$ a $8,1 \pm 0,78$ mg/L, enquanto no meio oligotrófico se manteve estável em $4,6 \pm 1,51$ mg/L. Em relação à condutividade, entre os meios também foram observadas essas variações, para eutrófico variou entre $115,5 \pm 0,99$ a $130,9 \pm 43,3$ $\mu\text{S/cm}$ e oligotrófico $82,1 \pm 14,2$ a $110,7 \pm 8,1$ $\mu\text{S/cm}$ (Apêndice B).

A Figura 11 apresenta a variação temporal de crescimento acumulado de *Chara* sp., cultivada em meio eutrófico a 25 e 27 °C, bem como também as taxas diárias de crescimentos de plantas. Para todos os experimentos de crescimento com *Chara* sp., foi considerado o ajuste cinético somente para o período de crescimento efetivo da macroalga. Assim como para a *E. densa*, o K na parametrização do crescimento de *Chara* sp. foi fixado para todos os tratamentos, sendo definidos em 100 cm para o crescimento a 25 °C e 140 cm a 27 °C, sendo a média destes parâmetros ca. 3,3 e 1,5 superiores aos obtidos na parametrização do crescimento de *E. densa* em meio eutrófico. Os coeficientes de determinação (r^2) do crescimento de *Chara* sp. em meio eutrófico variaram de 0,95 (C0-25 e C1-25) a 1,00 (C0-27; Tabela 5).

O crescimento acumulado de *Chara* sp. foi: 59 cm (C0-25); 62 cm (C1-25) e 58 cm (C2-25) (Figuras 11A, 11B e 11C), apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,0001$). Os tratamentos a 25 °C, apresentaram picos na taxa diária de crescimento nos primeiros 10 dias de experimento, na sequência foi observado uma queda, voltando aumentar com o andamento do experimento, onde o Tratamento Controle apresentou uma maior taxa diária (9,49 cm/dia). Em todos os tratamentos, os picos das taxas diárias de crescimento

ocorreram nos 10 dias iniciais (Figuras 11A, 11B e 11C), concomitantemente, ao surgimento dos primeiros brotos, que se deram a partir do 3º dia de experimento para todos os tratamentos (Tabela 6).

A 27 °C, em meio eutrófico, foi observada diferença significativa ($p < 0,0001$) no crescimento de *Chara* sp. entre os tratamentos. Os tratamentos C0-27 (59 cm), C1-27 (60 cm) e C2-27 (58 cm) (Figuras 11D, 11E e 11F), assim como no experimento a 25 °C, também apresentaram oscilações nas taxas diárias de crescimento nos primeiros 10 dias de experimento, a maior taxa diária (6,52 cm/dia) foi registrada para o Tratamento C1-27. Logo após essa fase de adaptação, a taxa sofreu uma queda, voltando a se recuperar após o 15º dia. Em todos os tratamentos (Figuras 11D, 11E e 11F) esses picos nos primeiros 10 dias, também, coincidem com o surgimento dos primeiros brotos (3º dia para todos os tratamentos; Tabela 6).

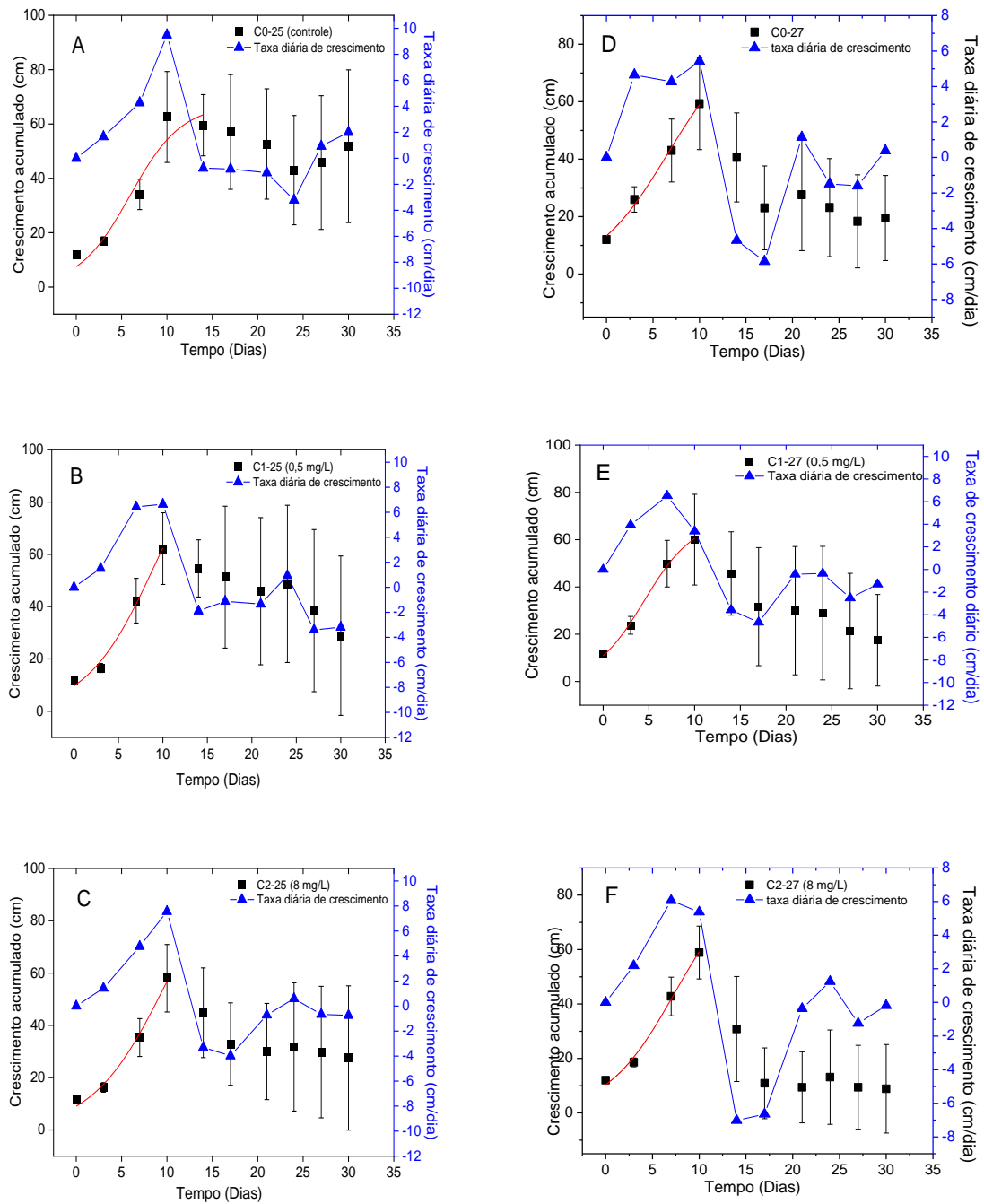


Figura 11. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *Chara* sp. e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico: (A) E0-25 (controle), (B) E1-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) E2-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) E0-27 (controle), (E) E2-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) E2-27 (8,0 mg/L de DSS).

Comparando o crescimento de *Chara* sp. dentro da variação estreita de 2 °C para o meio eutrófico (Figura 11), observou-se essa variação não interferiu no crescimento acumulado. Os indivíduos de *Chara* sp. tiveram aumento de crescimento até o 10º dia, após esse período foi observada uma supressão e, conseqüentemente, uma deterioração (ou seja, senescência). Considerando o efeito geral da temperatura, diferentes padrões foram observados para *Chara* sp. em relação ao crescimento de *E. densa*, onde a temperatura mais alta diminuiu ca. 2,5 vezes o comprimento acumulado (Figura 7).

Durante os trinta dias de experimentos, a macroalga *Chara* sp. apresentou um processo contínuo de surgimento e perdas de brotos, independente do dia de emergência (Tabela 6). O broto que surgiu em um determinado dia, por exemplo, durou apenas 1, 2 ou 3 dias e, na seqüência entrou em senescência, ou em alguns casos permaneceu mais tempo aderido ao fragmento principal.

De acordo com a parametrização do modelo de crescimento de *Chara* sp. a 25 e 27 °C em meio oligotrófico (Figura 12), os r^2 (coeficientes de determinação) variaram entre 0,88 (C4-27) e 0,99 (C5-25). Ao compararmos o crescimento, observou-se que entre os tratamentos C3-25 (28 cm) (controle) e C5-25 (59 cm) apresentaram diferenças significativas ($p < 0,0001$) (Figuras 8A e 8C). Em média, os tratamentos desenvolvidos a 27 °C, apresentaram valores de μ ca. de 67% menores que a 25 °C (Tabela 5).

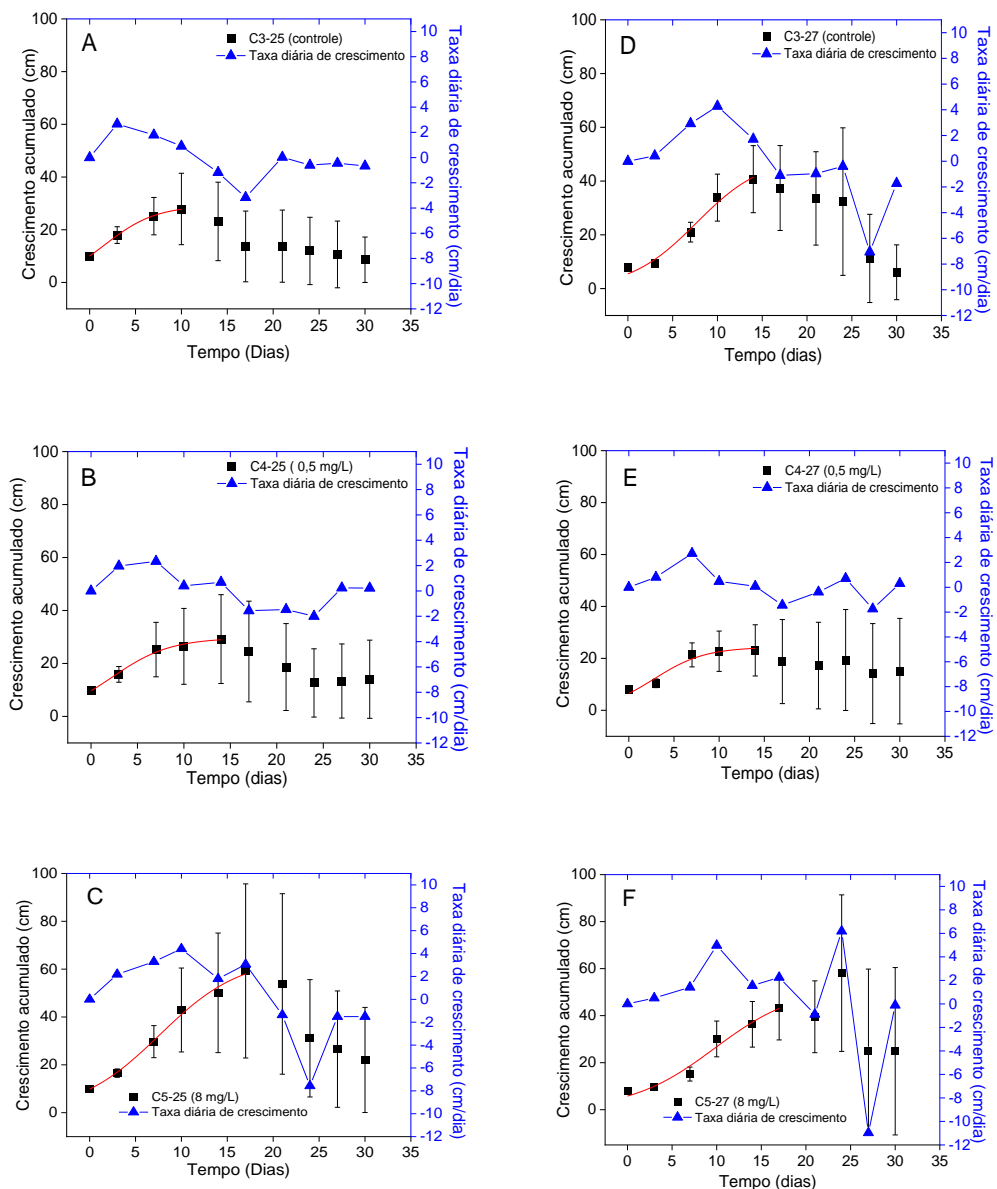


Figura 12. Variação dos valores médios \pm desvio padrão do crescimento acumulado (■) de *Chara sp.* e taxa diária de crescimento (▲) em duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico: (A) C3-25 (controle), (B) C4-25 (0,5 mg/L de DSS), (C) C5-25 (8,0 mg/L de DSS), (D) C3-27 (controle), (E) C4-27 (0,5 mg/L de DSS) e (F) C5-27 (8,0 mg/L de DSS).

Os exemplares de *Chara sp.* nos Tratamentos C3-25, C4-25 e C5-25 (Figura 12A, 12B e 12C) apresentam oscilações nas taxas diárias de crescimento nos primeiros 10 dias de cultivo. De maneira geral, as taxas diárias de crescimento para o C3-25 e C4-25 (Figuras 12A e 12B) se mantiveram abaixo de 4 cm/dia, enquanto que C5-25 (Figura 12C), a taxa foi maior atingiu 4,4 cm/dia, sendo seguida de um decaimento (o maior entre os tratamentos).

O crescimento de *Chara sp.* a 27 °C em meio oligotrófico apresentou diferenças significativas ($p < 0,0001$; Figura 12D, 12E e 12F). Os crescimentos acumulados nos

Tratamentos C3-27 (40 cm; Figura 12D) e C5-27 (43 cm; Figura 12F) foram ca. 2 vezes maior em comparação ao C4-27 (23 cm; Figura 12E). A *Chara* sp. nos tratamentos a 27 °C (Figura 12D, 12E e 12F) apresentaram picos nas taxas diárias de crescimento, sendo a maior (4,98 cm/dia) registrado para o Tratamento C5-27, mais uma vez esses picos foram relacionado a adaptações das plantas as condições de cultivo e, também, como o surgimento de brotos, que nesse experimento, diferentemente de todos os outros, ocorrendo em dias diferentes para cada tratamento (Tabela 6). No Tratamento C3-27 e C5-27 (Figuras 12D e 12F) os primeiros brotos surgiram a partir do 7º dia, enquanto em C4-27 (Figura 12E) esse surgimento ocorreu a partir do 3º dia.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros de crescimento de *Chara* sp. em meios eutrófico e oligotrófico em diferentes temperaturas (25 e 27 °C), em tratamentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS.

Tabela 5. Parâmetros de crescimento de *Chara* sp. em meio eutrófico e oligotrófico em diferentes temperaturas (25 e 27 °C); em que: K = capacidade suporte; μ = coeficiente de crescimento; r^2 = coeficiente de determinação; td = tempo de duplicação; Q_{10} = coeficiente de ajuste da temperatura.

Meio eutrófico					
25 °C	K (cm)	μ (dia ⁻¹)	r^2	td (dia)	Q_{10}
C0-25 (controle)	100	0,511	0,95	1,4	
C1-25 (0,5 mg/L)	100	0,481	0,95	1,4	
C2-25 (8,0 mg/L)	100	0,437	0,98	1,6	
27 °C					
C0-27 (controle)	140	0,272	1,00	2,5	
C1-27 (0,5 mg/L)	140	0,290	0,98	2,4	
C2-27 (8,0 mg/L)	140	0,292	0,98	2,4	1,20
Meio oligotrófico					
25 °C	K (cm)	μ (dia ⁻¹)	r^2	td (dia)	Q_{10}
C3-25 (controle)	100	0,150	0,95	4,6	
C4-25 (0,5 mg/L)	100	0,115	0,89	6,0	
C5-25 (8,0 mg/L)	100	0,264	0,99	2,6	
27 °C					
C3-27 (controle)	140	0,186	0,95	3,7	
C4-27 (0,5 mg/L)	140	0,153	0,88	4,5	
C5-27 (8,0 mg/L)	140	0,156	0,89	0,9	1,28

Considerando a regulação da temperatura no crescimento em ambas os meios de trofia, o Q_{10} foi similar nas duas temperaturas (1,20 em meio eutrófico e 1,28 em meio oligotrófico), indicando uma menor influência da temperatura no desenvolvimento de *Chara* sp. (Tabela 5) ao compararmos com o de *E. densa* em meio eutrófico (Tabela 3).

Comparando os experimentos conduzidos a 25 e 27 °C em meio oligotrófico, as constantes de crescimento (μ ; Tabelas 5) para todos os tratamentos oscilaram de 0,115 dia⁻¹ (C4-25) a 0,264 dia⁻¹ (C5-25), com tempos de duplicação variando entre 2,6 a 6 dias. Entre os Tratamentos controle, o C3-25 foi o que apresentou uma menor constante de crescimento (0,150 dia⁻¹).

Ao comparar os dois meios de trofia, os tratamentos desenvolvidos em meio eutrófico, sempre apresentaram os maiores valores de μ (variação de 0,272 a 0,511 dia⁻¹; Tabela 5), indicando tempos de duplicação de no máximo 2,5 dias. Em meio eutrófico, os valores de μ sempre foram menores a 27 °C em comparação com 25 °C. Em relação ao meio oligotrófico,

essa tendência não foi observada, entretanto os tempos de duplicação sempre foram maiores no tratamento com as concentrações intermediárias de DSS (0,5 mg/L) e menores na concentração de 8,0 mg/L (Tabela 5).

Na Tabela 6 apresentam-se os valores médios (\pm desvio padrão) de número de brotos e dia da emergência inicial (crescimento vegetativo) de *Chara* sp. A 25 °C em meio eutrófico, o número de brotações no C0-25 controle, foi maior ($6,0 \pm 3,0$ cm, contribuindo com 34% do comprimento total da planta) do que os tratamentos com diluições de DSS, porém não apresentou diferenças significativas ($p = 0,0642$). Sob o mesmo meio (eutrófico a 27 °C) o Tratamento C0-27 (controle), também, apresentou um número maior de brotações ($2,0 \pm 1,2$ cm; correspondendo a 33,9% do crescimento acumulado; Tabela 6), porém não apresentaram diferenças significativa ($p = 0,4015$).

Tabela 6. Variações de valores médios \pm desvio de número (crescimento vegetativo), tempo de emergência (dias) e contribuições (%) dos brotos de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C), dois meios (eutrófico e oligotrófico) em experimentos controle e com duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Valores de número são referentes ao último dia de experimento.

Meio eutrófico			
25 °C	Número de brotos	Tempo de emergência	Contribuição (%)
C0-25 (controle)	$6,0 \pm 3,0$	3	34
C1-25 (0,5 mg/L)	$2,8 \pm 2,8$	3	35,4
C2-25 (8,0 mg/L)	$3,0 \pm 3,2$	3	32,8
27 °C			
C0-27 (controle)	$2,0 \pm 1,2$	3	33,9
C1-27 (0,5 mg/L)	$0,7 \pm 1,2$	3	32,9
C2-27 (8,0 mg/L)	$0,6 \pm 1,2$	3	29,4
Meio oligotrófico			
25 °C	Número de brotos	Tempo de emergência	Contribuição (%)
C3-25 (controle)	$1,4 \pm 1,2$	3	21,6
C4-25 (0,5 mg/L)	$3,0 \pm 3,0$	3	32,2
C5-25 (8,0 mg/L)	$1,7 \pm 2,1$	3	27
27 °C			
C3-27 (controle)	$0,7 \pm 1,2$	7	27,8
C4-27 (0,5 mg/L)	$2,3 \pm 3,1$	3	25,4
C5-27 (8,0 mg/L)	$2,9 \pm 4,0$	7	33,9

Para os experimentos conduzidos em meio oligotrófico (25 e 27 °C), o número de brotações dos tratamentos controle foi bem baixo, respondendo por 21,6 e 27,8% respectivamente, do crescimento acumulado de *Chara* sp. (Tabela 6), quando comparamos com as mesmas temperaturas do meio eutrófico, e em meio oligotrófico todos os tratamentos com diluição de DSS permaneceram com número de brotações mais alto do que o controle. Entre os tratamentos a 25 °C oligotrófico ($p = 0,1220$) assim como a 27 °C oligotrófico ($p = 0,5038$) não foram registradas diferenças. Sobre o número de brotações, não se observou diferenças nas combinações: 27 °C eutrófico x 27 °C oligotrófico ($p = 0,8267$); 25 °C eutrófico x 27 °C eutrófico ($p = 0,1259$); 25 °C oligotrófico x 27 °C oligotrófico ($p = 0,4409$); apenas 25 °C eutrófico x 25 °C oligotrófico ($p = 0,0560$).

4.4 ANÁLISES FISIOLÓGICAS DE *CHARA* SP. CULTIVADA A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

As variações temporais dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoide) em *Chara* sp. sob as temperaturas de 25 e 27 °C no meio eutrófico são mostradas na Figura 13. As concentrações de clorofila-*a* e carotenoide, a 25 °C (Figura 13A e 13E), se mantiveram estáveis durante as quatro semanas de experimento. Diferenças entre os tratamentos ($p = 0,0217$) foram notadas apenas na terceira semana, para clorofila-*a*; para as concentrações de carotenoides não houve diferenças ($p = 0,4890$). Para clorofila-*b* (Figura 13C), as concentrações foram baixas, apresentando uma pequena alta na quarta semana, porém sem apresentar diferenças significativas ($p = 0,0551$) entre os tratamentos. Para clorofila-*a* sob 27 °C (Figura 13B) foi observada estabilidade das concentrações entre os tratamentos, sendo que não houve diferenças ($p = 0,1588$); essa mesma estabilidade foi observado para os teores de clorofila-*b* e carotenoide (Figura 13D e 13F), porém sem apresentar diferenças significativas ($p = 0,2984$ e $p = 0,1196$).

Nos experimentos conduzidos a 27 °C (Figuras 13B, 13D e 13F) as concentrações dos pigmentos fotossintéticos em *Chara* sp. apresentaram-se um pouco maior do que as registradas a 25 °C (Figuras 13A, 13C e 13E), mostrando uma diferença significativa para clorofila-*a* ($p < 0,0001$), clorofila-*b* ($p = 0,0230$) e carotenoide ($p < 0,0001$) quando se comparou as duas temperaturas.

Para *Chara* sp. o processo de estabilização de crescimento, em todos os experimentos, durou 4 semanas, diferentemente do que ocorreu para *E. densa*.

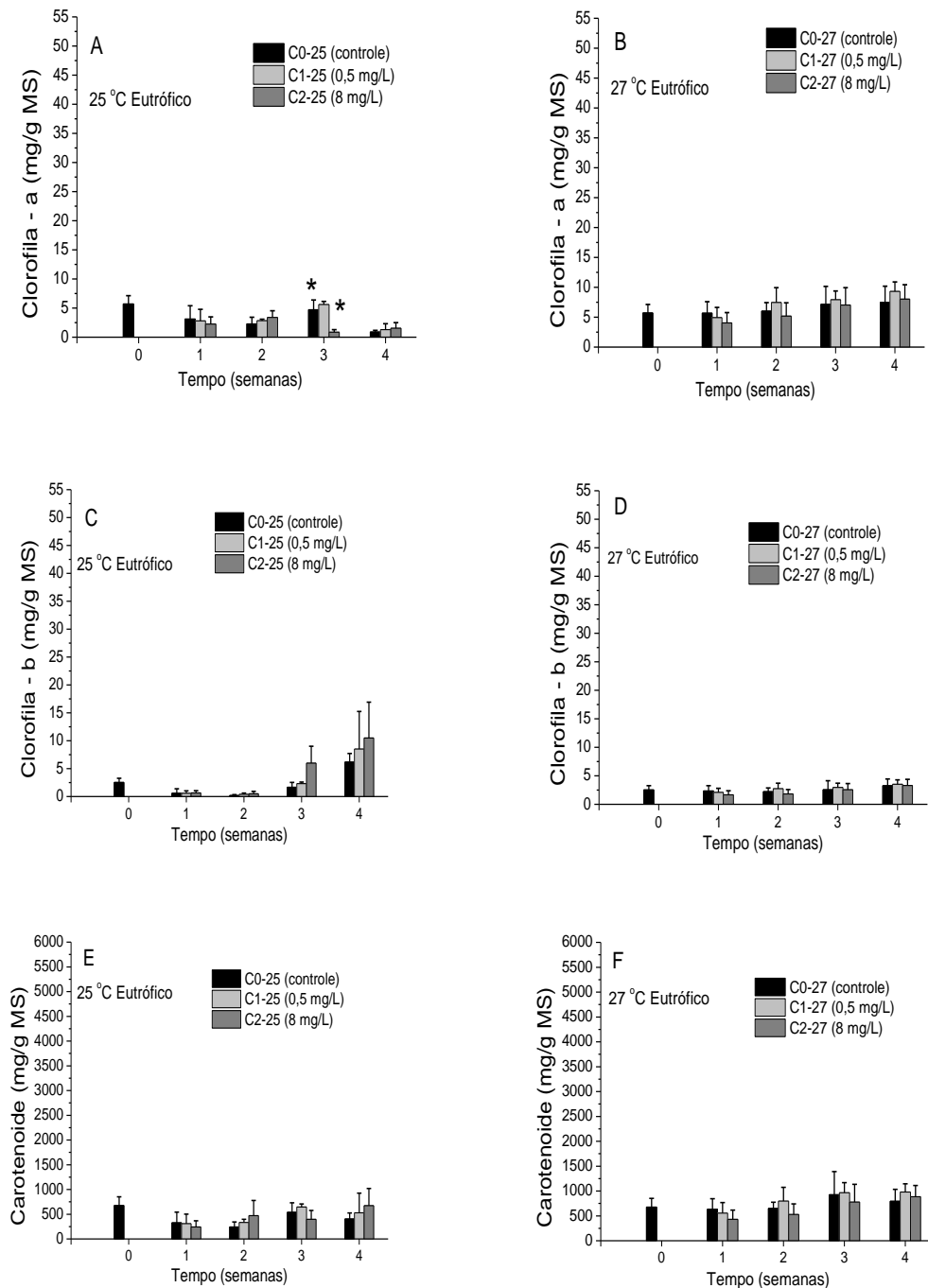


Figura 13. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoide) (mg/g MS) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio eutrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

As variações semanais das concentrações dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoide) em *Chara* sp. sob as temperaturas de 25 e 27 °C no meio oligotrófico são apresentada na Figura 14. A 25 °C, os teores de clorofila-*a* (Figura 14A), nas duas primeiras semanas, se mantiveram estáveis, com pequenas variações entre o tratamento C3-25 (controle) e os outros tratamentos, porém nas 3^o e 4^o semanas, essas variações aumentaram, sendo que na 4^o semana houve diferença significativa ($p = 0,0167$).

Para clorofila-*b* (Figura 14C), até a 3^o semana, as concentrações também se mantiveram estáveis entre os tratamentos, apresentando apenas na 4^o semana uma diferença significativa ($p < 0,0001$) entre C3-25 (controle) e C5-25 (8,0 mg/L). Na Figura 14E, é indicada a estabilidade das concentrações de carotenoide nas duas primeiras semanas, porém, nas 3^o e 4^o semanas essas concentrações se elevaram em relação as semanas anteriores, mas não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p = 0,1620$).

A 27 °C (Figura 14B, 14D e 14F), as concentrações dos pigmentos fotossintéticos no início do experimento (1^o semana) foram maiores do que nos experimentos conduzidos a 25 °C (Figuras 14A, 14C e 14E) mostrando-se significativamente diferente para clorofila-*a* ($p = 0,0289$), clorofila-*b* ($p = 0,0197$) e carotenoide ($p = 0,0127$). Até o final das 4 semanas de experimento, as concentrações destes pigmentos se mostraram estáveis entre os tratamentos.

De maneira geral, existiram diferenças significativas entre os experimentos em ambas as temperaturas (Figura 14) para clorofila-*a* ($p = 0,0016$) e clorofila-*b* ($p = 0,0022$), entretanto não se observou diferenças significativa para carotenoide ($p = 0,1467$).

As concentrações dos pigmentos fotossintéticos foram maiores nas temperaturas do meio oligotrófico. Ao compararmos os tratamentos a 25 °C em meio eutrófico (Figuras 13A, 13C e 13E) com 25 °C oligotrófico (Figuras 14A, 14C e 14E) foi observada diferença significativa para a clorofila-*a* ($p < 0,0001$) e os carotenoide ($p < 0,0001$), sendo que nenhuma diferença foi notada para clorofila-*b* ($p = 0,0656$). Entre 27 °C eutrófico (Figuras 13B, 13D e 13F) e 27 °C oligotrófico (Figuras 14B, 14D e 14F) houve diferenças significativas para os três pigmentos ($p < 0,0001$).

As plantas cultivadas a 25 e 27 °C em meios eutrófico e oligotrófico, apesar de perderem um pouco da coloração, não chegaram a refletir em diminuições nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos, como igualmente ocorreu com *E. densa*.

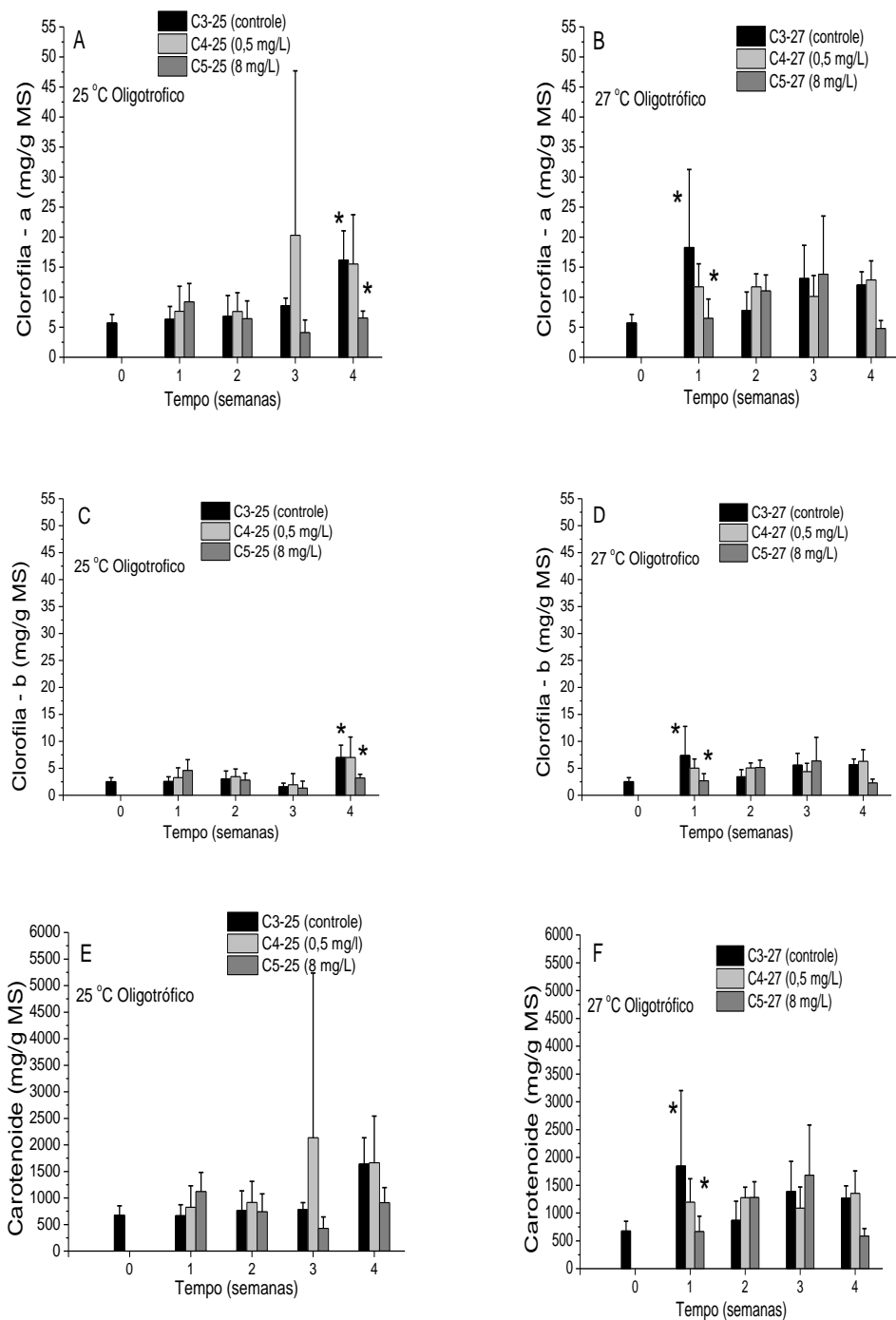


Figura 14. Pigmentos fotossintéticos (clorofila-*a*, clorofila-*b* e carotenoides) (mg/g MS) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) em meio oligotrófico nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

Houve oscilações nas variações temporais do antioxidante antocianina em *Chara* sp. a 25 e 27 °C nos meios eutrófico e oligotrófico, nos experimentos controle e com duas adições de DSS (Figura 15). Comparando-se o Tratamento controle com os outros observaram-se, em algumas semanas de experimento, concentrações de antocianina abaixo dos demais tratamentos. Nos experimentos a 25 e 27 °C eutrófico e 25 °C oligotrófico (Figuras 15A, 15B e 15C), as concentrações atingiram no máximo 1,5 µmol/g entre os tratamentos, enquanto a 27 °C oligotrófico (Figura 15D) estas concentrações chegaram a ca. 4,5 µmol/g de antocianina, sendo as maiores para todas as semanas durante esse experimento. As Figuras (15A, 15B e 15C) indicaram que a 25 °C no meio eutrófico ($p = 0,9338$), 27 °C no meio eutrófico ($p = 0,3006$) e 25 °C no meio oligotrófico ($p = 0,4566$) não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Somente o experimento a 27 °C em oligotrofia (Figura 15D) apresentou diferença ($p = 0,0038$), na primeira semana, onde o Tratamento C3-27 (controle) mostrou uma concentração de antocianina mais alta em relação aos outros tratamentos.

Foram registradas diferenças significativas entre as temperaturas iguais (25 °C) e meios diferentes ($p < 0,0001$) e, entre temperatura diferentes e meios iguais ($p < 0,0001$), sendo que entre 25 e 27 °C (condição eutrófica) não houve diferença significativa ($p = 0,0722$).

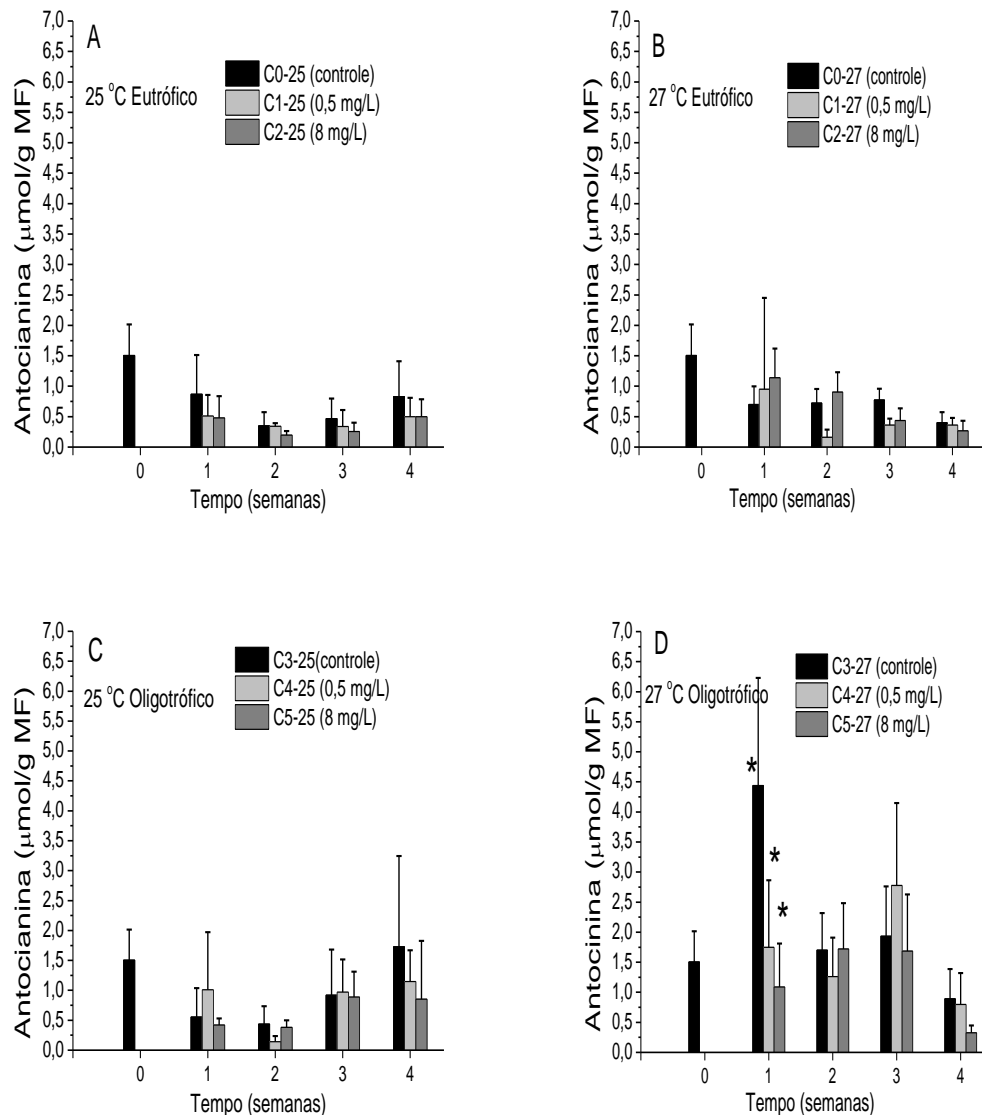


Figura 15. Antioxiadante antocianina ($\mu\text{mol/g MF}$) de *Chara sp.*, sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

A Figura 16 apresentam-se as variações temporais do antioxidante flavonoide em *Chara sp.* sob duas temperaturas (25 e 27 °C) e nos meios eutrófico e oligotrófico. A figura 16 mostra que, assim como observado na antocianina e nos pigmentos fotossintéticos, existiram variações entre as concentrações do tratamento controle e tratamentos com DSS. De maneira geral, as concentrações de flavonoides dos experimentos eutróficos (Figuras 16A e 16B) foram as menores quando com experimentos oligotróficos (Figuras 16C e 16D), onde a 27 °C em meio oligotrófico (Figura 16D) observou-se as maiores concentrações deste antioxidante.

As diferenças estatísticas significativas para 25 °C em meio eutrófico ($p < 0,0001$), 27 °C em meio eutrófico ($p < 0,0001$) e 27 °C em meio oligotrófico ($p = 0,0164$) ocorreram na primeira semana de experimento, sempre entre o Tratamento controle e a maior concentração de surfactante (8,0 mg/L). A 25 °C, no meio oligotrófico, não foi registrada diferença significativa ($p = 0,7741$) entre os tratamentos.

Entre quase todas as combinações de meios e temperaturas foram registradas diferenças significativas: 25 °C eutrófico x 27 °C eutrófico e 27 °C eutrófico x 27 °C oligotrófico ($p < 0,0001$), 25 °C oligotrófico x 27 °C oligotrófico ($p = 0,0003$), porém entre 25 °C eutrófico x 25 °C oligotrófico não se observou diferença significativa ($p = 0,0563$).

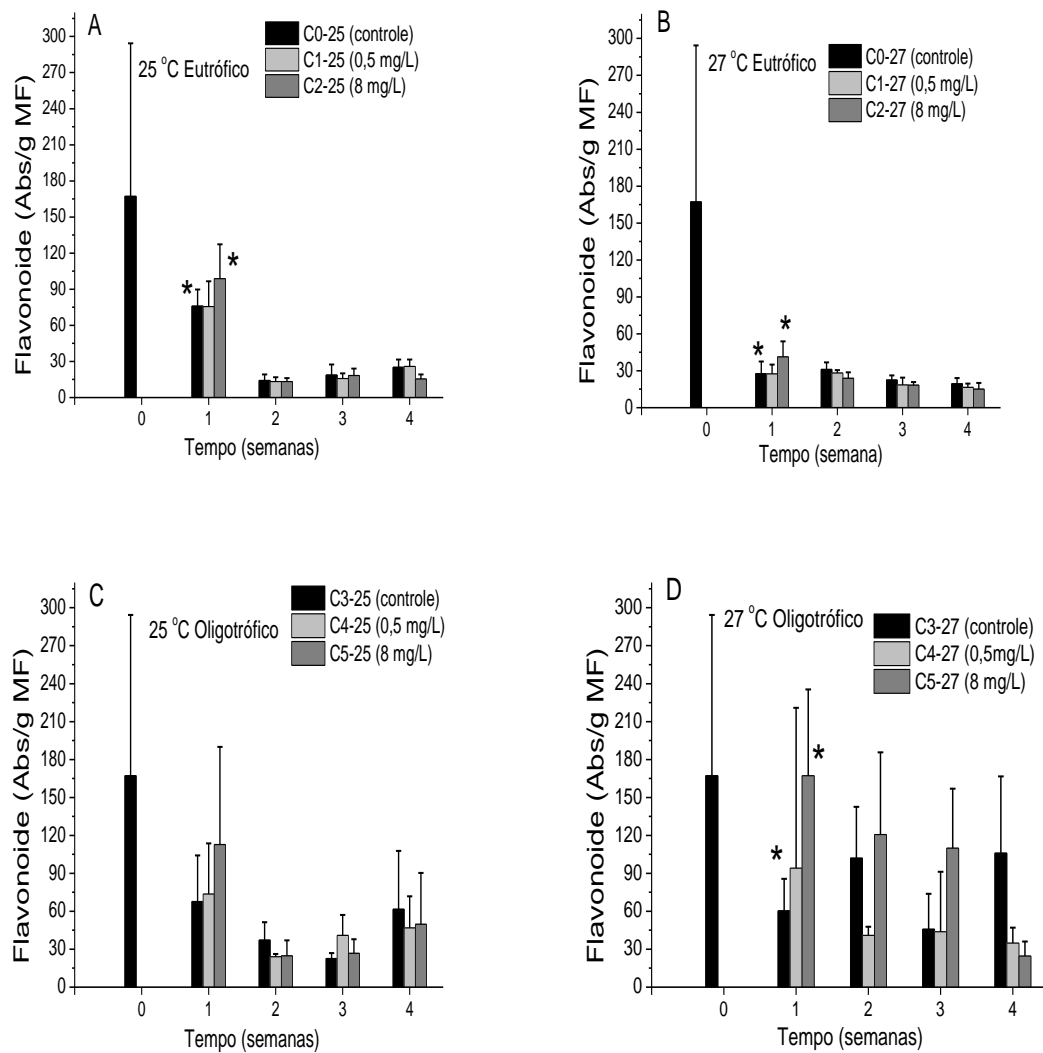


Figura 16. Antioxidante flavonoide (Abs/g MF) de *Chara* sp., sob efeito de duas temperaturas (25 e 27 °C) e dois meios (eutrófico e oligotrófico) nos experimentos controle e com adição de duas concentrações (0,5 e 8,0 mg/L) de DSS. Barras verticais indicam desvio padrão. Os asteriscos (*) significam que as médias dos tratamentos são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) do controle para cada semana.

5. DISCUSSÃO

5.1 CINÉTICA DE CRESCIMENTO *EGERIA DENSA* E *CHARA SP.* CULTIVADAS A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

A disponibilidade de nutrientes afeta o crescimento e a sobrevivência das plantas aquáticas (GUPTA; ROY; MAHINDRAKAR, 2012). Os indivíduos de *E. densa* e *Chara* sp. cresceram em ambos os meios com distintas disponibilidades de nutrientes. *E. densa* apresentou os maiores crescimentos acumulados a 27 °C em meio eutrófico, enquanto *Chara* sp. exibiu um melhor crescimento a 25 e 27 °C, também, em meio eutrófico. POKORNÝ; BJÖRK (2010) citam que nos corpos d'água oligotróficos, o crescimento de vegetais aquáticos é limitado, apresentado baixa produtividade primária, pela deficiência de nutrientes no meio aquático.

Contrariamente, no presente estudo, ambas as espécies (*E. densa* e *Chara* sp.) conseguiram se desenvolver em meio oligotrófico (apesar do crescimento acumulado ter sido menor quando comparado ao meio eutrófico), não sendo a disponibilidade de nutrientes dissolvido no meio, um fator estritamente limitante para o crescimento destas plantas; nesse caso a concentração de nutrientes não foi um fator tão importante quanto a temperatura para as macrófitas submersas enraizadas como a *E. densa* e *Chara* sp., uma vez que essas plantas são capazes de extrair nutrientes tanto dos sedimentos quanto da coluna d'água (BARKO; SMART, 1981; YARROW *et al.*, 2009; BARRETO *et al.*, 2013).

A *E. densa* é uma espécie de região neotropical e consegue viver em baixas concentrações de nutrientes (PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA, 2004). *Egeria najas* apresentou comportamento semelhante quando cresceram em bioensaios laboratoriais, com e sem sedimento, sugerindo que esta espécie utilizou tanto os nutrientes disponíveis no sedimento quanto na água (BIANCHINI JR; BITAR; CUNHA-SANTINO, 2006).

As macroalgas, como as do gênero *Chara*, absorvem nitrogênio e água dos sedimentos através de brotos e rizoides, podendo ser encontradas em ambientes oligotrófico e moderadamente eutrófico, sendo que algumas espécies tem sua distribuição como indicadores de distintas condições de trofia, por exemplo, *Chara hispida* pode ser encontrada em ambientes oligotrófico, enquanto que *Chara vulgaris* é encontrada em ambiente eutrófico

(KUFEL; KUFEL, 2002; VERMEER *et al.*, 2003; LACOUL; FREEDMAN, 2006; SAND-JENSEN *et al.*, 2018).

Diferenças interespecíficas em características deste gênero de macroalgas, e.g. tempo de vida, produção de esporos e longevidade do banco de sementes, provavelmente podem levar as variações observadas na preferência de colonizar certos habitats (REY-BOISSEZON; DOMINIQUE, 2015). Segundo CHAMBERS (1987), o sedimento é uma das fontes de nutrientes para macrófitas enraizadas, nesse sentido, o sedimento utilizado no presente estudo foi coletado próximo ao local de amostragem da água, se tratando de uma região de mata e solo hidromórfico, são solos que sofrem grande influência do lençol freático com presença e/ou acúmulo de matéria orgânica dentro de 60 cm da superfície do solo (EMBRAPA, 1998).

Ao compararmos o crescimento acumulado entre as duas plantas, *Chara* sp. apresentou um melhor desenvolvimento na fase inicial, tanto em meios eutrófico e oligotrófico, sendo que após o 10º dia experimental, os indivíduos entraram em senescência. Esse fato não corroborou com o estudo de SAND-JENSEN *et al.* (2018), onde sob condições ricas em nutrientes, as espécies do gênero *Elodea*, formadoras de dossel, tem o potencial de crescer mais do que os Charófitos que vivem apenas em contato com o substrato de fundo. Ainda em relação a duração dos experimentos, levando-se em conta o período de estabilização do crescimento das espécies estudadas, os tempos foram distintos tanto entre as plantas quanto entre os experimentos, essa diferenciação ocorreu, pois houve uma melhor adaptação as características de trofia do meio e a temperatura de cultivo. Nesse caso, *E. densa* se mostrou mais adaptada a 25 e 27 °C em meio eutrófico com duração de 6 e 8 semanas.

O aumento da temperatura da água nos ambientes aquáticos, é uma das consequências das mudanças climáticas que têm sido observadas nas últimas décadas. As velocidades das mudanças climáticas são sem precedentes, e as respostas fisiológicas a essas mudanças, também tem sido proeminente ao se considerar os níveis de espécies, comunidades e ecossistemas (HOSSAIN *et al.*, 2016). Fatores abióticos, como a temperatura, influenciam as taxas de crescimento das plantas (BORNETTE; PUIJALON, 2011).

Considerando um aumento de 2 °C, (25 para 27 °C), os indivíduos de *Chara* sp. não exibiram diferenças em crescimento, entretanto essa variação térmica, favoreceu o desenvolvimento de *E. densa*. Ambas as espécies selecionadas conseguiram se adaptar a uma ampla variação de temperatura, apresentando um bom crescimento. BAENSCH; RIEL (1993) relatam que a *E. densa* apresentou seu melhor desenvolvimento entre 20 a 24 °C, enquanto *E.*

najas necessitou de temperaturas mais altas (variação de 23 a 27 °C) para o seu crescimento. YU *et al.* (2018) citaram que a 22,7 °C, *E. densa* apresentou um aumento de suas características funcionais promovendo o crescimento da planta e raízes. Outros registros citam que *E. densa* apresenta crescimento ideal, em temperaturas que variaram de 16 a 25 °C, sendo a condição térmica, uma função de força extrínseca que estimula a produção primária (COOK; URMI-KÖNIG, 1984; THIÉBAUT; GILLARD; DELEU, 2016). PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA (2004), mostraram que a *E. densa* apresentou uma boa capacidade de crescimento, podendo ocupar grandes áreas em um curto espaço de tempo (i.e. tempos de duplicação elevados), desde que as características ambientais que influenciam o crescimento sejam favoráveis. MACHADO; BIANCHINI JR; CUNHA-SANTINO (2020) relatam que o aumento de 2 °C (de 25 para 27 °C) favoreceu o crescimento de *E. densa*. As espécies do gênero *Chara* são resistentes ao calor e ao estresse, sendo capazes de sobreviver a uma variada gama de temperatura, mesmo em baixas temperaturas (KUFEL; KUFEL, 2002; MAHDIZADEH; ABER; DEHGHAN, 2018).

Relatos sobre *Chara hispida* mostraram uma produtividade máxima a 10 °C, mas seu crescimento ocorreu em uma faixa entre 5 a 45 °C (MENENDEZ; SANCHEZ, 1998; KHATAEE *et al.*, 2010). DAMBSKA (1964), relatou que várias espécies do gênero *Chara*, como *C. tomentosa*, *C. vulgaris*, *C. rudis*, *C. hispida* e algumas do gênero *Nitella* são conhecidas por crescerem em águas rasas temperadas, sob a cobertura de gelo em lagos durante o inverno; algumas espécies podem encistar em temperaturas mais amenas no inverno europeu; assim, os valores de temperatura ótima variam entre espécies ou até mesmo entre populações da mesma espécie. HOSSAIN *et al.* (2016) indicaram que a temperatura influencia extensivamente o crescimento das plantas, no entanto, os efeitos dependem, também, das espécies individuais e de suas tolerâncias térmicas.

O Q_{10} calculado para a *E. densa*, em meio eutrófico, foi o maior (6,36) quando comparado com a variação de temperatura em meio oligotrófico. Para *Chara* sp., os valores de Q_{10} foram um pouco acima de 1. Os baixos valores de Q_{10} de *Chara* sp., nas condições analisadas não foram influenciados pela temperatura associada às características dos meios de cultivo, provavelmente, essa espécie possui capacidade de se adaptar a associação destes interferentes, porém, para *E. densa* a variação de valores do Q_{10} tenha refletido a interferência da temperatura e o meio eutrófico, demonstrando que o aumento de 2 °C apresentou um impacto diferente no crescimento dessas macrófitas.

Elodea canadensis crescendo na faixa de 10 a 15 °C apresentou um Q_{10} de 3,9 (MADSEN; BRIX, 1997; PEZZATO, 2007), o Q_{10} do desenvolvimento de *Egeria najas* entre 15 e 25 °C foi 1,85 (PEZZATO, 2007). MACHADO; BIANCHINI JR; CUNHA-SANTINO (2020), em experimentos associando diversos tipos de solo ao crescimento de *E. densa* com variação de 25 e 27 °C obteve um Q_{10} variando entre 0,29 a 8,3; os altos valores de Q_{10} obtidos pelo autor corroboram com os encontrados para *E. densa* no atual estudo. Baixos valores de Q_{10} significam uma menor sensibilidade ao aumento da temperatura, sugerindo, eventualmente, uma maior adaptação as mudanças de temperatura e considerando a ampla distribuição e ocorrência do gênero *Egeria*, que pode ser encontrada tanto em regiões quentes e frias, pode-se inferir que este gênero possua características fisiológicas, morfológicas e anatômicas capazes de tolerar e se adaptar as mudanças da temperatura (COOK; URMI-KÖNIG, 1984; PEZZATO, 2007). Há poucos estudos que utilizam o Q_{10} para descrever o crescimento de macrófitas aquáticas correlacionando temperatura com qualquer outro interferente, como os surfactantes.

O surfactante, em conjunto com o aumento de temperatura, interferiu no crescimento de *Chara* sp. e *E. densa*. Nesse sentido, os tratamentos com diluições de DSS apresentaram um crescimento acumulado maior do que o tratamento controle, com exceção de *E. densa* a 25 °C em meio eutrófico, que nesse caso o Tratamento Controle apresentou maior crescimento acumulado. O fato da *E. densa* nesse tratamento ter apresentado um desenvolvimento maior, pode implicar que o DSS tenha inibido o seu crescimento, conforme apresentado por BORGES NETO; GORGATI; PITELLI (2004), que mesmo a *E. densa* sendo cultivada em temperatura ótima, quando na presença de um estressor, a planta teve seu crescimento influenciado, não apresentou crescimento vegetativo quando cultivada a 25, 30 e 35 °C sob a presença de fungo. Estudos também relatam que o aumento da toxicidade de contaminantes pode estar aliado ao aumento da temperatura da água, Por exemplo, KIM *et al.* (2010) observaram um aumento de 15 para 25 °C na temperatura da água influenciou a toxicidade de três drogas de 3 para 8 vezes em *Daphnia magna*. Usando esse mesmo cladóceros, LEWIS; HORNING (1991) indicaram que sob a presença de DSS e uma temperatura mais alta (26 °C), os testes de toxicidades forneceram resultados significativamente diferentes.

GAO; YAN (2012), indicaram a *Chara globularis* como espécie pioneira mostrando que esse gênero pode apresentar uma boa adaptabilidade e intensa capacidade de sobrevivência em habitats agressivos (como por exemplo, contendo chumbo), onde essas

macrófitas conseguem se propagar rapidamente, sendo competitivas e apresentando um bom crescimento. KHATAEE *et al.* (2011) relataram o gênero *Chara* como sendo eficiente na remoção de corantes poluentes. Nos ambientes aquáticos, a salinidade, temperatura, precipitação, disponibilidade de nutrientes, pH e irradiação subaquática estão sendo alterados como consequência das mudanças climáticas globais, essas variáveis ambientais também devem ser consideradas no crescimento das macrófitas, pois podem interagir com substâncias tóxicas e afetar a relação dose-resposta dos contaminantes (KIM *et al.*, 2010).

O meio oligotrófico, apesar de apresentar pouca concentração de nutrientes essenciais, não foi um impedimento para o crescimento de plantas aquáticas enraizadas sob as duas temperaturas estudadas. O fato das macrófitas terem se desenvolvido menos nos tratamentos controles do que os tratamentos com surfactante pode sugerir que o DSS tenha atuado como mais uma fonte adicional de nutrientes (como S e carbono inorgânico) para essas plantas, auxiliando no seu crescimento. Detergentes industriais e domésticos contém, além dos surfactantes, até 40% de fosfato. Assim, a planta, através das raízes ou de sua superfície, absorve esses compostos como nutrientes, que serão usados em todos os seus processos metabólicos (KAGALWALA; KAVITHA, 2012; BHAIKI; MOHAN, 2001).

Outro aspecto que deve ser considerado com relação ao crescimento das plantas nos Tratamentos com DSS, é o fato das concentrações utilizadas nesse estudo foram baixas (0,5 e 8,0 mg/L) e, estimularam o crescimento de *Chara* sp. e *E. densa*. Em estudos com *Azolla filiculoides* e *Lemna minor*, na presença de DSS o crescimento de ambas só foi afetado em concentrações altas (50 e 100 mg/L) do surfactante DSS (FORNI *et al.*, 2008). DIRILGEN; INCE (1995) mostraram que em experimentos com adição de DSS, o crescimento de *Lemna minor* foi aumentado nas concentrações de 1 e 40 mg/L, sendo inibido somente com 100 mg/L do surfactante. LIU; WU (2018) relataram que em doses baixas de DSS (≤ 10 mg/L) e fenol ($\leq 0,5$ mg/L) promoveram o crescimento de *Ceratophyllum demersus*, entretanto em doses superiores as mencionadas (≥ 10 mg/L e ≥ 1 mg/L) houve tendência de queda no crescimento. Este fato foi atribuído ao fenômeno conhecido como hormesis, que se refere aos efeitos negativos de produtos químicos aos organismos quando em altas doses (crescimento e inibição de desenvolvimento), embora em doses mais baixas haja efeitos benéficos (crescimento e desenvolvimento de estímulos). A hormesis é definida como efeito benéfico em doses baixas, onde o sistema biológico afetado alcança um estado adaptativo dentro do contexto de realocação eficiente de recursos com uma função biologicamente limitante que é otimizado quando esse sistema está levemente estressado (CALABRESE, 2005). Segundo

ASHRAF (2009), a hormesis tem sido relatada em uma ampla gama de venenos, metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, policlorados bifenilos e pesticidas. As plantas, em suas respostas fisiológicas a estressores, possuem mecanismos que mantem uma alta atividade metabólica sob estresse leve e reduz essa atividade sob estresse severo (BARTELS; NELSON, 1994).

As taxas diárias de crescimento, em todos os experimentos apresentaram um rápido crescimento nos primeiros dias de cultivo tanto para *E. densa* quanto para *Chara* sp., podendo ser traduzido como uma fase de crescimento exponencial da planta ao ambiente (meio, temperatura e concentração de DSS). Os processos de aclimatação podem garantir a sobrevivência de organismos aquáticos, sob mudanças ambientais, nas condições de luz e temperatura, exposição a contaminantes e a capacidade em interagir com essas alterações pode ser influenciada pelas respostas fisiológicas (GOMES; JUNEAU, 2017). Após a fase acelerada de crescimento, as taxas diárias caíram (para ambas as temperaturas), voltando a crescer, novamente, com surgimento dos primeiros brotos (onde atingiram o pico), os quais, ocorreram em tempos diferentes para cada experimento com os indivíduos de *E. densa*. Com relação a *Chara* sp., o surgimento dos brotos, na maior parte dos experimentos se deu a partir do terceiro dia. BOTTINO *et al.* (2017), também, relataram elevação das taxas diária de crescimento nos primeiros 10 dias de cultivo de *E. densa* e *Chara* sp. em presença de rejeitos de mineração. *E. densa* e *E. naja* apresentaram taxas diárias mais altas no crescimento entre a 2^o e 3^o semanas e após esse período, essas taxas tenderam a diminuir (BIANCHINI JR *et al.*, 2015).

As maiores taxas diária de *E. densa* e *Chara* sp. ocorreram nos tratamentos com surfactante. Apenas sob a temperatura de 25 °C em meio eutrófico para ambas as plantas, as maiores taxas diárias foram nos tratamentos controle. A taxa de crescimento de algas e macrófitas que utilizam CO₂ e HCO₃ pode ser dobrada devido à elevação de CO₂ da atmosfera sob condições eutróficas (HOSSAIN *et al.*, 2016). BOTTINO *et al.* (2017) observaram que a taxa de crescimento de *E. densa* em condição contaminada por metais foi duas vezes maior do que na condição controle. Para *Chara* sp., a taxa de crescimento foi um pouco mais elevada na condição controle. Segundo BIANCHINI JR *et al.* (2015), as mudanças temporais das taxas diárias são características de crescimento em todos os tipos de ambientes, independentes da presença de estressores.

VOGELS *et al.* (1975) definiram que a integração das taxas diárias define a curva de crescimento logístico e, conseqüentemente, os parâmetros cinéticos de μ e K, como o utilizado na modelagem para o presente estudo. O μ é um parâmetro intrínseco (fisiológico), dependendo das espécies de plantas e o rendimento do crescimento é devido às condições ambientais (por exemplo, temperatura, nutrientes da água concentração, pH). A capacidade de suporte, isto é, comprimento ou biomassa máximo, se referem ao parâmetro K (CARR; DUTHIE; TAYLOR, 1997). Ao compararmos o μ de ambas as macrófitas, *E. densa* variou de 0,048 dia⁻¹ (td = 14,5 dias) a 0,171 dia⁻¹ (td = 4 dias), enquanto que para a *Chara* sp. essa variação foi de 0,511 dia⁻¹ (td = 1,4 dias) a 0,115 dia⁻¹ (td = 1,4 dias), indicando que a variação de μ no crescimento de *Chara* sp. foi maior que de *E. densa*. Devemos considerar, ainda, que esses resultados foram respostas de bioensaios executados em laboratório, com concentrações de nutrientes, temperaturas e intensidades luminosas controladas.

As diferenças no μ não foram devidas apenas à concentração de DSS testada, mas também em relação à temperatura e o meio onde foram cultivadas estas espécies de macrófitas. Os menores valores de μ dos nossos resultados, para ambas as espécies (em alguns experimentos), foram obtidos nos tratamentos controle, contrastando com estudos de BOTTINO *et al.*, 2017, onde *E. densa* e *Chara* sp. apresentaram um μ maior quando cultivada em água com rejeito de mineração em comparação com o tratamento controle. Estudos sobre o crescimento de macrófitas são importantes, pois possibilitam prever a sensibilidade do tempo de duplicação de uma espécie em função das respostas ecológicas dessas plantas frente aos problemas ambientais (BEST *et al.*, 2001).

BIANCHINI JR; BITAR; CUNHA-SANTINO (2006), em experimentos com *E. najas* observaram que as maiores constantes de crescimento ($\mu = 0,17$ dia⁻¹) foram obtidas quando os requerimentos nutricionais estavam disponíveis somente na água, sugerindo assim que mesmo com a adição de sedimentos, não ocorreu incrementos significativos de N e P que seria capaz elevar os valores de μ . Os resultados do autor citado anteriormente, corroboram com as constantes de crescimento de *Chara* sp., em nosso estudo, onde os maiores valores de μ foram registrados em experimentos com maior disponibilidade de nutrientes. No entanto, para *E. densa* essa relação não foi observada, onde os valores de μ se mantiveram próximos para os dois meios de cultivo. Plantas aquáticas podem, geralmente, se propagar por grandes distâncias atuando como espécies invasoras que produzem grandes quantidades de biomassa, mesmo sob baixas condições de nutrientes (WU *et al.*, 2015).

Os Charófitos apresentaram alto potencial de crescimento, sendo rápidos colonizadores com elevada capacidade de desenvolver biomassa (BLINDOW, 1992; SIMONS *et al.*, 1994; BOTTINO *et al.*, 2017). Essa categoria de macrófitas são mais competitivas, em comparação às angiospermas, pois essas plantas habitam diferentes gamas de nichos ecológicos com distintos fatores bióticos e abióticos mostrando alta adaptabilidade e distintas estratégias de vida (REY-BOISSEZON; DOMINIQUE, 2015). BIANCHINI JR; BITAR; CUNHA-SANTINO (2006), ao ajustar os resultados de PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA (2004) para o crescimento de *E. densa* ao modelo da curva logística de KREBS (1972), verificaram-se que o μ foi $0,10 \text{ dia}^{-1}$, portanto dentro da faixa observada no presente estudo e menor ao observado para *Chara* sp. PEZZATO (2007), em estudos com *E. najas*, sob as variações de temperatura entre 15 a 30 °C, obteve um μ variando de 0,02 a $0,08 \text{ dia}^{-1}$. HARAMOTO; IKUSIMA, (1988) obtiveram um μ para *E. densa* de $0,049 \text{ dia}^{-1}$ a 20,7 °C; enquanto CARRILLO; GUARÍN; GUILLOT (2006) para a mesma espécie, obtiveram um μ de $0,017 \text{ dia}^{-1}$ sob temperatura média de 15 – 17 °C. LARSON (2007), sob condições controladas, verificou que *Elodea canadensis* (semelhante a *E. densa*) apresentou valores de μ variando de 0,04 a $0,09 \text{ dia}^{-1}$, constantes estas bem abaixo das encontradas nesse estudo, mesmo se encontrando dentro da faixa de temperatura testadas.

O μ permite calcular o tempo de duplicação, ou seja, quanto maior a constante, menor o tempo de duplicação, assim quanto maior o valor de μ menos dias a planta irá requer para duplicar a sua biomassa. Os menores valores de t_d para *Chara* sp. e *E. densa* (Tabela 3) foram registrados, em meio eutrófico, a 25 e 27 °C, respectivamente. Portanto, não foi possível afirmar que somente o surfactante foi o interferente principal nesses resultados. MACHADO; BIANCHINI JR; CUNHA-SANTINO (2020) também registraram tempos de duplicação, para *E. densa*, em menores intervalos de dias a 27 °C. PEZZATO (2007), em experimentos com *E. najas*, também sob condições controladas a 25 °C, porém sem nenhuma adição de estressor no meio de cultivo, registrou t_d de 7 dias, dentro da faixa de variação encontrada para *E. densa* e muito acima dos valores encontrados para *Chara* sp. que requer menos dias para duplicar sua população, demonstrando seu alto potencial de crescimento. O tempo de duplicação varia entre diferentes espécies, entre tipos biológicos e depende também das condições abióticas, e.g. concentrações de nutrientes da água para espécies flutuantes, do sedimento para espécies enraizadas, radiação subaquáticas para espécies submersas (ESTEVES, 2011).

O rejeito de mineração foi considerado um forte estressor, ao realizar experimentos com *Chara* sp. e *E. densa*. BOTTINO *et al.* (2017) observaram que os tempos de duplicação

destas plantas sofreram interferência ao serem cultivadas em água contendo vários contaminantes (e.g. metais), apresentando td menor quando comparados ao tratamento controle (*E. densa* = 12,3 dias e *Chara* sp. = 1,54 dias). Para LARCHER (2000), a resposta ao estresse pode ser vista como uma situação de competição, entre o esforço da planta para se adaptar e os processos potencialmente letais no protoplasma vegetal.

5.2 TEMPO DE EMERGÊNCIA E NÚMERO DE BRODOS *EGERIA DENSA* E *CHARA SP.* CULTIVADA A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

Acompanhando a influência da variação da temperatura (2°C) observada no crescimento acumulado, o número de brotamentos também foi maior a 27 °C para *E. densa*. Já para *Chara* sp., o número de brotamentos foi maior a 25 °C, em meio eutrófico. Estudos em ambientes que variaram de oligotrófico a hipertrófico, relataram que além do aumento no teor de N e P na biomassa da planta, ocorreu também o aumento de estruturas anatômicas (brotos) em *Ceratophyllum demersum* (HANFENG; QILING; CHENGXIAO, 2010). Um fato importante observado, foi que para o meio eutrófico (25 e 27 °C), as contribuições (em %) foram maiores nos tratamentos controle para ambas as plantas, enquanto que, no meio oligotrófico (25 e 27 °C) para as duas espécies, as contribuições de brotos nos tratamentos controle foram menores que os tratamentos com DSS, sobretudo na maior concentração. Segundo BIANCHINI JR; BITAR; CUNHA-SANTINO (2006), em seus experimentos com crescimento de *Egeria najas*, em condições laboratoriais, o sedimento não enriqueceu o meio a ponto de incrementar as taxas de crescimento, já para *Vallisneria spiralis*, sob condições oligotrófica, a macrófita investiu uma porcentagem maior de sua biomassa em raízes, indicando um comportamento pioneiro da espécie em ambiente oligotrófico (WANG; YU, 2007).

Essa adaptabilidade ao meio com mais ou menos nutrientes varia de espécie para espécie além de envolver outros interferentes aos experimentos (e.g. temperatura, presença ou não de algum contaminante, experimentos realizados em campo ou em laboratório). BOTTINO *et al.* (2017) relataram, para *E. densa* e *Chara* sp., maior número de brotos quando cultivada em uma condição contaminada por rejeito de mineração, em comparação com água sem contaminantes. O crescimento de brotos de *Hydrilla verticillata* se mostrou favorável com o aumento da concentração (de 5 mg/L para 50 mg/L) de surfactante (PANDEY; GOPAL,

2010). Já com *Lemna minor*, a presença de shampoo, estabilizou o crescimento desta planta inibindo a produção de novos brotos, porém os brotos existentes continuaram a crescer (AZIZULLAH *et al.*, 2018). Em outro estudo com *L. minor*, ŽALTAUSKAITĖ *et al.* (2014) citaram a ocorrência da produção de número elevado de folhas após a exposição da planta ao estresse. Segundo BIANCHINI JR *et al.* (2015), as diferenças nas taxas diárias para brotos, sugere diferentes estratégias de crescimento adotadas por cada espécie, sendo assim, a tática de sobrevivência das plantas em habitats caracterizados como estressantes não é a maximização da produtividade, mas sim uma composição equilibrada entre rendimento e sobrevivência (LARCHER, 2000).

Ambas às macrófitas se adaptaram as temperaturas testadas, tanto os brotos de *E. densa* quanto de *Chara* sp. conseguiram prosperar a 25 e 27 °C, que como já citado, podem se adaptar a uma grande variação de temperatura. BARKO; HARDIN; MATTHEWS (1982) indicaram que a temperatura pode desempenhar papel importante para determinar os padrões de plantas submersas, influenciando as fases de vida, como reprodução, germinação e emergência de plântulas. Segundo YU *et al.* (2018), a 22,7 °C houve um aumento significativo das características funcionais de *E. densa*, promovendo maiores comprimento de plantas e raízes, sugerindo assim que as temperaturas elevadas causadas pelo aquecimento global no médio prazo poderão aumentar a formação de brotos e maior produção de biomassa. Igualmente relatado no presente estudo, MACHADO; BIANCHINI JR; CUNHA-SANTINO (2020) observaram para *E. densa* maior número de brotos com o aumento da temperatura de 25 para 27 °C. PEZZATO (2007) relatou para *E. najas*, que em experimentos de crescimento a 15 °C, essas plantas apresentaram menor produção de ramos novos (brotos). *E. densa* apresentou crescimento relativamente constante no intervalo entre 16 e 28 °C, no entanto, a 32 °C, esta espécie mostrou alterações morfológicas como redução no comprimento e número de brotos (BARKO; SMART, 1981; YARROW *et al.*, 2009). Entretanto, para THIÉBAUT; GILLARD; DELEU (2016), um aumento de 3 °C nas temperaturas máximas (16 e 19 °C) teve efeitos positivos na produção de ramos laterais e raízes.

O tempo de emergência dos brotos foi diferente para cada planta. Em *Chara* sp., os primeiros brotos surgiram a partir do terceiro dia, com exceção do experimento a 27 °C em meio oligotrófico, onde os primeiros brotos surgiram a partir do sétimo dia para o tratamento controle e na maior concentração de DSS, lembrando que observou-se para *Chara* sp. processo contínuo de surgimento e perda de brotos. Com relação a *E. densa*, o surgimento desses brotos ocorreu de forma diferente para cada experimento e tratamento. BIANCHINI JR

et al. (2010) relataram que para *Hydrilla verticillata*, o baixo rendimento (e nº de ramos) das plantas com tubérculos que brotaram mais tarde foi causado pela energia gasta em processos metabólicos (e.g. respiração) para manter o tubérculo vivo por muito tempo. Como por exemplo, no presente estudo, os indivíduos de *E. densa* crescendo a 25 °C em meio eutrófico apresentaram o surgimento dos primeiros brotos com 24 e 27 dias nos tratamentos com DSS, demonstrando que o surfactante possa ter atuado como um interferente. A 25 °C em meio oligotrófico, o tempo de emergência foi menor (entre 10 e 21 dias), podendo, nesse caso, a carência de nutrientes do meio ter influenciado. Porém, a 27 °C em meio oligotrófico, para *E. densa* (27º dia) e *Chara* sp. (7º dia), a associação entre temperatura e meio de cultivo (pobre em nutrientes) pode ter contribuído para esse surgimento tardio, bem depois do tempo de emergência dos tratamentos com surfactante. Para AZIZULLAH *et al.* (2018), o surfactante cessou o crescimento de *Lemna minor* estimulando o crescimento de brotos já existentes, contribuindo, assim, para o aumento da biomassa da planta. Algumas espécies de plantas aquáticas, como é o caso de *E. densa* e *Chara* sp., tem distribuição cosmopolita exibindo níveis altos de polimorfismo e de plasticidade fenotípica em resposta as variações de fatores ambientais, essas qualidades permitem que elas ocorram em ampla gama de condições (LACOUL; FREEDMAN, 2006).

5.3 ANÁLISES FISIOLÓGICAS *EGERIA DENSA* E *CHARA* SP. CULTIVADA A 25 E 27 °C EM MEIOS EUTRÓFICO E OLIGOTRÓFICO

5.3.1 Pigmentos fotossintéticos

De maneira geral, a presença de surfactante no meio de crescimento, não alterou negativamente a concentração de clorofila-*a*, *b* e carotenoides de *E. densa* e *Chara* sp. demonstrando que estas espécies foram tolerantes ao contaminante nas concentrações utilizadas. Espécies de plantas aquáticas variam muito em relação a sua anatomia, fisiologia e a capacidade de tolerar estressores inorgânicos e biológicos, sendo que a membrana plasmática (a parte mais sensível da célula) é a primeira a ser danificada quando as plantas são expostas a agentes oxidativos por estresse (LACOUL; FREEDMAN, 2006; HUANG *et al.*, 2013).

Macrófitas submersas desenvolveram várias adaptações morfológicas e fisiológicas para evitar a limitação do carbono no ambiente aquático. Dentre estas, destacam-se o metabolismo C4, metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), a utilização do HCO_3^- , a utilização da água intersticial do sedimento e o desenvolvimento de folhas aéreas (MADSEN; SAND-JENSEN, 1991; PIERINI; THOMAZ, 2004). A fotossíntese C4 é uma adaptação que auxilia as plantas a aumentarem sua eficiência fotossintética através da rubisco com altas concentrações de CO_2 . O metabolismo C4 é uma coleção de alterações morfológicas e bioquímicas que evoluiu, independentemente, 45 vezes em plantas superiores (SAGE, 2004). *E. densa* e alguns espécies do gênero *Chara* são plantas C4 facultativas, que normalmente exibem fotossíntese C3, e mudam o metabolismo para C4 sob condições ambientais específicas (KEELEY, 1999; BOWES *et al.*, 2002). Para CASATI; LARA; ANDREO (2000) e BOWES *et al.* (2002), *E. densa* foi bem sucedida como espécie introduzida por conta de traços fisiológicos associados ao seu metabolismo, exibindo mudanças no seu metabolismo sob condições de baixas concentrações de CO_2 , na qual diversos atributos anatômicos e fisiológicos podem ser importantes na habilidade competitiva das plantas, particularmente nas espécies invasoras (LACOUL; FREEDMAN, 2006).

A *E. densa* e *Chara* sp. por serem plantas que apresentaram grande adaptação às condições ambientais (como temperatura, meio de cultivo e limitações de carbono) parecem reagir a presença do surfactante aumentando suas concentrações de pigmentos fotossintéticos. Porém, para FORNI *et al.* (2008), o DSS (em concentrações maiores as testadas) atuou de maneira diferente, além de afetar o crescimento de macrófitas (*Azolla filiculoides* e *Lemna minor*), também, interferiu no conteúdo de clorofila, atuando negativamente sobre a atividade fotossintética. CHAWLA; VISWANATHAN (1987) associaram a presença de detergentes com a supressão de clorofila. Segundo AZIZULLAH *et al.* (2018), doses altas do surfactante lauril sulfato de sódio afetaram negativamente alguns parâmetros fisiológicos testados em *Lemna minor*, sendo as clorofilas-*a* e *b* os mais sensíveis. Em concentrações crescentes de DSS, observou-se clorose gradual das folhas de *Ceratophyllum demersum*, sendo que os teores de clorofilas *a* e *b* diminuíram significativamente, indicando que esse pigmento é sensível a toxicidade (LIU; WU, 2018).

Os pigmentos extraídos de *E. densa* e *Chara* sp. durante os experimentos se mostraram semelhantes com as plantas reagindo a presença do DSS, onde os níveis de pigmentos fotossintéticos para os tratamentos com surfactante se mostraram maiores ou menores, quando comparados ao tratamento controle. Tal fato pode estar relacionado à adaptação destas plantas frente ao estresse, o qual, induz mudanças fisiológicas que podem

resultar na redução de crescimento, aclimatação fisiológica, adaptação de espécies, ou combinação destes (FODORPATAKI *et al.*, 2001). Como exemplo, PANDEY; GOPAL (2010) mostraram, para a macrófita *Azolla pinnata*, um aumento no número de frondes acompanhado de uma diminuição no teor de clorofila, demonstrando que essa espécie adotou a estratégia de aumento de sua área fotossintética para lidar com o estresse por detergentes.

Apesar de *E. densa* e *Chara* sp. terem apresentado perda de coloração em alguns exemplares, as atividades fotossintéticas foram mantidas em outros indivíduos, como mostram os resultados. Detergentes danificam o pigmento-proteína favorecendo a degradação de pigmentos pré-existentes por meio da foto-oxidação (MARKINA, 2010).

No presente estudo, as temperaturas (25 e 27 °C) não interferiram no processo fotossintético de *E. densa* e *Chara* sp., ou seja, elas mantiveram suas concentrações de pigmentos fotossintético elevadas, realizando assim a fotossíntese embora existam relatos de temperaturas ótimas para a realização desse processo em macrófitas. PEZZATO (2007) inferiu que a temperatura ótima para fotossíntese para *E. naja* foi 25 °C, independente da temperatura de crescimento (15-30 °C). A maioria das espécies de plantas aquáticas exibiu taxas ótimas de fotossíntese a temperatura relativamente alta, entre 20 e 35 °C e entre 28 e 32 °C, sendo que as respostas fisiológicas a temperatura diferiu entre as espécies (SANTAMARÍA; VAN VIERSSSEN, 1997; MADSEN; BRIX, 1997; BARKO; SMART, 2016). Para duas espécies do gênero *Chara*, VIEIRA JR; NECCHI JR (2003) observaram que as maiores taxas fotossintéticas ocorreram entre 10 e 15 °C. As taxas fotossintéticas de *Mayaca fluviatis* foram maiores a 15 °C, sendo diminuída com a elevação da temperatura (COSTA, 2010). Para *Nitella* (gênero de alga da Família Characeae), as maiores taxas fotossintéticas ocorreram dentro da variação de 20 à 25 °C, mostrando assim, que os valores de temperatura ótima podem variar entre espécies ou até mesmo entre populações da mesma espécie (MENENDEZ; SANCHEZ, 1998).

Espécies de regiões tropicais apresentam um bom desempenho fotossintético em temperaturas mais baixas, mas também são capazes de aclimatar-se a temperaturas mais altas (VIEIRA JR.; NECCHI JR., 2006), ou seja, a variação de 2 °C na temperatura não foi impedimento para a realização de fotossíntese em experimentos com DSS para *Chara* sp. e *E. densa*. Ao modificar suas respostas fisiológicas, as comunidades de organismos fotossintéticos aquáticos podem se adaptar a diferentes condições de luz, temperatura e exposição a contaminantes (DAVISON, 1991).

Quanto aos meios de cultivo, *E. densa* e *Chara* sp., apresentaram as maiores concentrações de pigmentos fotossintéticos quando cresceram no meio oligotrófico (25 e 27

°C). Segundo RZEPKA; KRUPA; ŚLESIAK (2005) o enriquecimento de nutrientes afeta a fotossíntese das plantas. KRAYEM *et al.* (2016), em experimentos com *Myriophyllum alterniflorum* e cobre, observaram que a planta teve seu crescimento reduzido em condições eutróficas em comparação com oligotróficas, devido a carga de nutrientes no meio, sendo que a planta apresentou uma redução de 40% das partes clorofiladas. As espécies de *Chara* são organismos calcificantes e usuárias de bicarbonatos sendo que pela calcificação, essas plantas mantêm a fotossíntese em pH alto e podem formar áreas densas em lagos e lagoas de água oligotrófica (SAND-JENSEN *et al.*, 2018).

5.3.2 Antioxidantes

O equilíbrio entre a produção e eliminação de EROs (espécies reativas de oxigênio) podem ser perturbados por vários fatores de estresse biótico e abiótico, como salinidade, radiação UV, seca, metais pesados, temperatura extrema, deficiência de nutrientes, poluição do ar, herbicidas e ataques de patógenos. Esta quebra de equilíbrio na planta aciona os mecanismos de defesas antioxidantes, podendo ser não enzimáticas (glutationa, carotenoides e flavonoides/antocianina) ou enzimática (superóxido dismutase, catalase glutaciona peroxidase (GILL; TUTEJA, 2010). Surfactante, temperatura e meio de cultivo são os fatores de estresse expostos a *E. densa* e *Chara* sp., assim, as concentrações de carotenoides, acompanharam as variações de clorofila-*a*, se mantendo altos, protegendo o aparato fotossintético, onde esses pigmentos atuaram como fotorreceptores evitando danos ao organismo (DEMMIG-ADAMS; ADAMS, 1996; GUO *et al.*, 2006). Segundo RADIĆ *et al.* (2010), a clorofila e carotenoide são a parte central da manifestação energética da planta e, portanto, qualquer alteração significativa em seus níveis provavelmente afetará todo o metabolismo da planta.

As concentrações de antocianina e flavonoide, em *E. densa* foram mais elevadas em meio eutrófico, entretanto sem grandes diferenças entre as temperaturas. Estudos com *Ceratophyllum demersum* em ambientes que variaram de oligotrófico a hipertrófico, i.e. com aumento da concentração de nutrientes, mostraram um aumento das atividades antioxidantes, sugerindo que esses antioxidantes reagiram ao estresse gerado pelo aumento da fertilidade (CAO *et al.*, 2007; HANFENG; QILING; CHENGXIAO, 2010). Elevadas concentrações de N e P podem afetar significativamente a fisiologia de plantas aquáticas (BREMIGAN *et al.*, 2005; THOMAZ *et al.*, 2007). Nos indivíduos de *Chara* sp., as maiores concentrações destes antioxidantes foram observadas no meio oligotrófico (sendo 27 °C com as maiores concentrações), mesmo os Charófitos serem vistos como espécies predominantes neste tipo de

ambiente, a baixa quantidade de nutrientes associado ao DSS pode ter levado a planta ao estresse fazendo aumentar as concentrações de antioxidantes para sobreviver. De acordo com WINKEL-SHIRLEY (2002), pode ocorrer aumento considerável nos níveis de flavonoides após estresse bióticos e abióticos, como seca, toxicidade de metais e privações de nutrientes. As alterações dos níveis aumentados ou diminuídos de antioxidantes nos tecidos vegetais, estão relacionados a tolerância ao estresse (SANKHLA *et al.*, 2016).

Os antioxidantes (antocianina e flavonoides), para ambas as macrófitas, durante todas as semanas do experimento tiveram suas concentrações entre o controle maior ou menor que os tratamentos com surfactante, indicando um processo adaptativo da planta ao estresse submetido. A exposição da planta ao DSS induz a uma melhoria nos níveis de enzimas antioxidante de macrófitas aquáticas, melhorando assim a sua tolerância a compostos possivelmente tóxicos, desse modo, os antioxidantes são estimulados e atuam em defesa do organismo vegetal (ROUT; SHAW, 2001; FORNI *et al.*, 2012).

O período de duração dos experimentos foram diferentes para cada experimento e planta e, esse prolongamento de tempo, pode ter influenciado nas respostas do sistema antioxidante a produção de EROs de *E. densa* e *Chara* sp. No caso de *E. densa* crescendo a 25 °C em meio eutrófico, os níveis de flavonoides e antocianina sofreram aumento nas três últimas semanas, podendo ser interpretada como uma forma de reação da planta, onde a tolerância ao estresse pela planta pode, portanto, ser melhorado pelo aumento dos níveis de enzimas antioxidante (GILL; TUTEJA, 2010). Esse período de duração prolongado dos experimentos (associados a temperatura e meio de cultivo) com *E. densa* revelam maior resistência dessa planta, sendo traduzida pelos níveis de antioxidante. Tal fato não corroborou com o descrito por BHAIRI; MOHAN (2001), onde uma exposição prolongada ao surfactante, levou a desnaturação das proteínas existentes inibindo o trabalho de enzimas envolvidas em diferentes processos. De forma geral, os indivíduos de *E. densa*, em todos os meios e temperaturas, apresentaram maior concentração de pigmentos fotossintéticos e antioxidante quando comparada a *Chara* sp. (macroalga).

5.4 VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS EXPERIMENTOS

Os valores de pH se mantiveram estáveis para todos os experimentos. A adição de DSS e variações de temperatura e composição do meio não interferiram no potencial

hidrogeniônico, não sendo fator limitante para o crescimento destas plantas. SU *et al.* (2012) relataram que o pH 7 foi ótimo para crescimento de *E. densa*. PEZZATO (2007) citou que o crescimento de *E. najas* ocorreu em levemente ácido (pH = 6,25) e as Elodeides dominaram a vegetação desde alta alcalinidade até alcalinidade intermediária (VESTERGAARD; SAND-JENSEN, 2000). Espécies do gênero *Chara* apresentou eficiente taxa fotossintética com pH variando entre 7,5 e 8,5 (SAND-JENSEN *et al.*, 2018). As respostas do pH para estas plantas confirmam que o bicarbonato é a principal fonte externa de carbono inorgânico. O bicarbonato é uma fonte importante de carbono inorgânico para a fotossíntese e crescimento de muitas macrófitas submersas (MADSEN; SAND-JENSEN, 1991).

As variações de condutividade elétrica entre os meios foram maiores no crescimento de *E. densa*, porém essa variação não interferiu no crescimento da planta. Concentrações de bicarbonato são fortemente e linearmente relacionados a condutividade elétrica na maioria dos ecossistemas de água doce (VESTERGAARD; SAND-JENSEN, 2000). As concentrações de oxigênio dissolvido foram mais baixas em meio oligotrófico para ambas as plantas, essa variável reflete o balanço de gases entre os processos concorrentes de fotossíntese e respiração das macrófitas aquáticas submersas.

Os resultados obtidos neste estudo contribuíram para o entendimento do crescimento e das variações de indicadores fisiológicos de duas macrófitas aquáticas quando expostas ao surfactante DSS e sua associação com a variação de 2 °C e meio de cultivo. *E. densa* e *Chara* sp. demonstraram alta capacidade de adaptação, onde, a variação térmica da água associada a trofia do meio de crescimento e a presença de DSS potencializaram o crescimento e a proliferação de *E. densa*. Para *Chara* sp., a variação de temperatura não interferiu em seu crescimento. As macrófitas, com suas particularidades e características, cresceram rapidamente, podendo se tornar um problema nos ambientes aquáticos continentais colonizados por essas espécies. O crescimento acelerado tanto em ambientes naturais e/ou artificiais podem causar prejuízos e impactos negativos nos usos múltiplos dos recursos hídricos.

CONCLUSÕES

As concentrações de DSS testadas não afetaram negativamente o crescimento, formação e tempo de emergência de brotos de *E. densa* e *Chara* sp. em quase todos os tratamentos. Essas plantas apresentaram um maior crescimento e maior formação de brotos em tratamentos com DSS, quando comparados com o tratamento controle. A presença de DSS, também, não afetou negativamente os coeficientes μ , o tempo de duplicação e os indicadores fisiológicos. Os pigmentos fotossintéticos e antioxidantes para todos os tratamentos com DSS para ambas as plantas, apresentaram maiores concentrações quando comparados ao controle.

O aumento da temperatura (+ 2 °C) favoreceu o crescimento de *E. densa*, bem como a formação e tempo de emergência de brotos, enquanto para *Chara* sp., a variação na temperatura não interferiu em seu crescimento. *Chara* sp. cresceu facilmente tanto a 25 quanto a 27 °C, porém, a formação de seus brotos foi maior a 25 °C. Os brotos emergiram a partir do terceiro dia para quase todos os experimentos. Com relação a fisiologia, não se pode afirmar que, somente a temperatura, tenha influenciado as concentrações dos pigmentos fotossintéticos e antioxidantes de *E. densa* e *Chara* sp.

Os meios eutrófico e oligotrófico, aliados à presença de DSS e à variação de temperatura influenciaram no crescimento, tempo de duplicação, fisiologia, formação e tempo de emergência de brotos em *E. densa*. Para *Chara* sp. observou-se influência em seu crescimento, tempo de duplicação e fisiologia, porém a formação e tempo de emergência de brotos não se alteraram. Os números de broto em *Chara* sp. não apresentaram grandes variações entre os meios, o mesmo padrão também foi observado com relação ao tempo de emergência dos brotos.

Os indicadores fisiológicos, tanto em *Chara* sp. como de *E. densa*, apresentaram as maiores concentrações de pigmentos fotossintéticos e antioxidantes quando cresceram meio oligotrófico (25 e 27 °C), indicando que, as condições de trofia do meio aliados a outros interferentes tenham estimulado o aumento destas concentrações como forma de defesa/adaptação das plantas àquelas condições de cultivo. Essa junção de fatores contribuiu para influenciar o crescimento, coeficiente μ , tempo de duplicação, fisiologia, formação e tempo de emergência de brotos em *E. densa* e *Chara* sp.

REFERÊNCIAS

- ABIPLA. Associação Brasileira das Indústrias de Produtos de Limpeza e Afins. Anuario 2019. 14^o Edição, São Paulo, Brasil, , p. 104, 2019. Available at: http://abipla.org.br/wp-content/uploads/2020/03/8265-Anuário-ABIPLA-2019_08-10-19_V-0021.pdf.
- ABOULHASSAN, M. A.; SOUABI, S.; YAACOUBI, A.; BAUDU, M. Removal of surfactant from industrial wastewaters by coagulation flocculation process. *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 3, no. 4, p. 327–332, 2006. <https://doi.org/10.1007/BF03325941>.
- AIZDAICHER, N. A.; MARKINA, Z. V. Toxic effects of detergents on the alga *Plagioselmis prolonga* (Cryptophyta). *Russian Journal of Marine Biology*, vol. 32, no. 1, p. 45–49, 2006. <https://doi.org/10.1134/s1063074006010068>.
- ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, vol. 27, no. 1, p. 84–93, 2009. DOI 10.1016/j.biotechadv.2008.09.003. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.003>.
- AZIZULLAH, A.; RICHTER, P.; ULLAH, W.; ALI, I.; HÄDER, D. P. Ecotoxicity evaluation of a liquid detergent using the automatic biotest ECOTOX. *Ecotoxicology*, vol. 22, no. 6, p. 1043–1052, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1091-8>.
- AZIZULLAH, A.; SHAKIR, S. K.; SHOAI, S.; BANGASH, H.; TAIMUR, N.; MURAD, W.; DAUD, M. K. Ecotoxicological evaluation of two anti-dandruff hair shampoos using *Lemna minor*. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 190, no. 5, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6636-0>.
- BAENSCH, H. A.; RIEL, R. *Aquarium Atlas*. 3^a. [S. l.: s. n.], 1993.
- BARKO, J. W.; HARDIN, D. G.; MATTHEWS, M. S. Growth and morphology of submersed freshwater macrophytes in relation to light and temperature. *Canadian Journal of Botany*, vol. 60, no. 6, p. 877–887, 1982. <https://doi.org/10.1139/b82-113>.
- BARKO, J. W.; SMART, R. M. Comparative Influences of Light and Temperature on the Growth and Metabolism of Selected Submersed Freshwater Macrophytes. *Ecological Monographs*, vol. 51, no. 2, p. 219–235, 1981. .
- BARKO, J. W.; SMART, R. M. Sediment-Related Mechanisms of Growth Limitation in Submersed Macrophytes. vol. 67, no. 5, p. 1328–1340, 2016. .
- BARRETO, L. V.; BARROS, F. M.; BONOMO, P.; ROCHA, F. A.; AMORIM, J. S. Eutrofização em rios brasileiros. *Enciclopédia Biosfera*, Goiânia, vol. 9, no. 16, p. 2166–2179, 2013. .
- BARTELS, D.; NELSON, D. Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant, Cell & Environment*, vol. 17, no. 5, p. 659–667, 1994. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00157.x>.
- BELLARD, C.; BERTELSMEIER, C.; LEADLEY, P.; THUILLER, W.; COURCHAMP, F. Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology Letters*, vol. 15, no. 4, p. 365–377, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01736.x>.

BEST, E. P. H.; BUZZELLI, C. P.; BARTELL, S. M.; WETZEL, R. L.; BOYD, W. A.; DOYLE, R. D.; CAMPBELL, K. R. Modeling submersed macrophyte growth in relation to underwater light climate: Modeling approaches and application potential. *Hydrobiologia*, vol. 444, p. 43–70, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1017564632427>.

BHAIRI, S. M.; MOHAN, C. A Guide to the properties and uses of Detergents in biology and biochemistry. *Calbiochem*, , p. 41, 2001. DOI papers3://publication/uuid/42F584DC-4FC2-4EFB-93EF-B84C11749F75. Available at: <http://wolfson.huji.ac.il/purification/PDF/detergents/CALBIOCHEM-DetergentsIV.pdf>.

BIANCHINI JR, I.; BITAR, A. L.; CUNHA-SANTINO, M. B. Crescimento de *Egeria najas* Planchon da Lagoa do Óleo em condições laboratoriais. *Estudos integrados em ecossistema. estação ecológica de Jataí*, vol. 4, p. 99–111, 2006.

BIANCHINI JR, I.; CUNHA-SANTINO, M. B.; MILAN, J. A. M.; RODRIGUES, C. J.; DIAS, J. H. P. Growth of *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle under controlled conditions. *Hydrobiologia*, vol. 644, no. 1, p. 301–312, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0191-1>.

BIANCHINI JR, I.; CUNHA-SANTINO, M. B.; MILAN, J. A. M.; RODRIGUES, C. J.; DIAS, J. H. P. Model parameterization for the growth of three submerged aquatic macrophytes. *Journal of Aquatic Plant Management*, vol. 53, no. January, p. 64–73, 2015.

BLINDOW, I. Decline of charophytes during eutrophication: comparison with angiosperms. *Freshwater Biology*, vol. 28, no. 1, p. 9–14, 1992. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1992.tb00557.x>.

BORGES NETO, C. R.; GORGATI, C. Q.; PITELLI, R. A. Influência do fotoperíodo e da temperatura na intensidade de doença causada por *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *E. najas*. *Fitopatologia brasileira*, vol. 29, no. 3, p. 252–258, 2004. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582005000300008>.

BORGES NETO, C. R.; PITELLI, R. A. Adjuvantes e herbicidas e a infectividade de *Fusarium graminearum*, agente potencial de biocontrole de *Egeria densa* e *Egeria najas*. *Planta Daninha*, vol. 22, no. 1, p. 77–83, 2004.

BORNETTE, G.; PUIJALON, S. Response of aquatic plants to abiotic factors: A review. *Aquatic Sciences*, vol. 73, no. 1, p. 1–14, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00027-010-0162-7>.

BOTTINO, F.; MILAN, J. A. M.; CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR, I. Influence of the residue from an iron mining dam in the growth of two macrophyte species. *Chemosphere*, vol. 186, p. 488–494, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.030>.

BOWES, G.; RAO, S.; ESTAVILLO, G.; REISKIND, J. comparisons with terrestrial C 4 systems. *Functional Plant Biology*, vol. 29, p. 379–392, 2002.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. L.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. *Introdução a engenharia ambiental: O desafio do desenvolvimento sustentável*. São Paulo: [s. n.], 2002.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução N° 357. Classificação de água e padrões de lançamento de efluentes. [S. l.: s. n.], 2005. Available at: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução N° 430. Classificação de corpos d'água e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução N° 357, de 17 de março de 2005. [S. l.: s. n.], 2011. Available at: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res11/res43011.pdf>.

BREMIGAN, M. T.; HANSON, S. M.; SORANNO, P. A.; CHERUVELIL, K. S.; VALLEY, R. D. Aquatic vegetation, largemouth bass and water quality responses to low-dose fluridone two years post treatment. *Journal of Aquatic Plant Management*, vol. 43, no. JUL., p. 65–75, 2005.

BRUNNER, P. H.; CAPRI, S.; MARCOMINI, A. Occurrence and behaviour of linear alkylbenzenesulphonates, nonylphenol, nonylphenol mono - and nonylphenol diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment. *Water Research*, vol. 22, no. 12, p. 1465–1472, 1988. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354\(88\)90157-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354(88)90157-1).

CALABRESE, E. J. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. *Environmental Pollution*, vol. 138, no. 3, p. 378–411, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.10.001>.

CANADELL, J. G.; LE QUERE, C.; RAUPACH, M. R.; FIELD, C. B.; BUITENHUIS, E. T.; CIAIS, P.; CONWAY, T. J.; GILLETT, N. P.; HOUGHTON, R. A.; MARLAND, G. Contributions to accelerating atmospheric CO₂ growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 104, no. 47, p. 18866–18870, 2007. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702737104>.

CAO, T.; XIE, P.; NI, L.; WU, A.; ZHANG, M.; WU, S.; SMOLDERS, A. J. P. The role of NH⁴⁺ toxicity in the decline of the submersed macrophyte *Vallisneria natans* in lakes of the Yangtze River basin, China. *Marine and Freshwater Research*, vol. 58, no. 6, p. 581–587, 2007. <https://doi.org/10.1071/MF06090>.

CARR, G. M.; DUTHIE, H. C.; TAYLOR, W. D. Models of aquatic plant productivity: A review of the factors that influence growth. *Aquatic Botany*, vol. 59, no. 3–4, p. 195–215, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(97\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(97)00071-5).

CARRASCHI, S. P.; CUBO, P.; SCHIAVETTI, B. L.; SHIOGIRI, N. S.; DA CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Efeitos tóxicos de surfactantes fitossanitários para o peixe mato grosso (*hyphessobrycon eques*). *Acta Scientiarum - Biological Sciences*, vol. 33, no. 2, p. 191–196, 2011. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v33i2.6252>.

CARRILLO, Y.; GUARÍN, A.; GUILLOT, G. Biomass distribution, growth and decay of *Egeria densa* in a tropical high-mountain reservoir (Neusa, Colombia). *Aquatic Botany*, vol. 85, no. 1, p. 7–15, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2006.01.006>.

CASATI, P.; LARA, M. V.; ANDREO, C. S. Induction of a C4-like mechanism of CO₂ fixation in *Egeria densa*, a submersed aquatic species. *Plant Physiology*, vol. 123, no. 4, p. 1611–1621, 2000. <https://doi.org/10.1104/pp.123.4.1611>.

CAVENAGHI, A. L.; VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E.; CARVALHO, F. T.; GALO, M. L. B. T.; TRINDADE, M. L. B.; CORRÊA, M. R.; SANTOS, S. C. A. Monitoramento de problemas com plantas aquáticas e caracterização da qualidade de água e sedimento na UHE Mogi-Guaçu. *Planta Daninha*, vol. 23, no. 2, p. 225–231, 2005. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582005000200008>.

- CETESB. Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente. [S. l.: s. n.], 2003.
- CHAMBERS, P. A. Light and Nutrients in the Control of Aquatic Plant Community Structure. II. In Situ Observations. *The Journal of Ecology*, vol. 75, no. 3, p. 621, 1987. <https://doi.org/10.2307/2260194>.
- CHAWLA, G.; VISWANATHAN, P. N. Biochemical studies on the toxicity of linear alkylbenzene sulphonate to *Scenedesmus quadricauda* in culture. *Environmental and Experimental Botany*, vol. 27, no. 3, p. 311–323, 1987.
- COLPANI, G. L. Preparação e caracterização de adsorventes para remoção de surfactantes aniônicos em águas residuárias. 2012. 109 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.
- COOK, C. D. K.; GUT, B. J.; RIX, E. M.; SCHNELLER, J. *Water Plants of the World: A Manual for the Identification of the Genera of Freshwater Macrophytes*. Inglaterra: [s. n.], 1974.
- COOK, C. D. K.; URMI-KÖNIG, K. A revision of the genus *Elodea* (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany*, vol. 21, no. 2, p. 111–156, 1984. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(85\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0304-3770(85)90084-1).
- COSTA, U. M. P. Características fotossintéticas de *Mayaca fluviatilis* Aubl. (Mayacaceae) em resposta à variação de temperatura e luminosidade. 2010. 36 f. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Conservação, UFMT - Universidade Federal de Mato Grosso, 2010.
- COTORUELO, L. M.; MARQUÉS, M. D.; RODRÍGUEZ-MIRASOL, J.; RODRÍGUEZ, J. J.; CORDERO, T. Lignin-based activated carbons for adsorption of sodium dodecylbenzene sulfonate: Equilibrium and kinetic studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 332, no. 1, p. 39–45, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.12.031>.
- CSERHÁTI, T.; FORGÁCS, E.; OROS, G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment international*, vol. 28, p. 337–348, 2002.
- DAMBSKA, I. Charophyta—Ramienice. *Flora slodkowodna Polski*. Freshwater flora of Poland, vol. 13, p. 126, 1964.
- DAVISON, I. R. Environmental Effects on Algal Photosynthesis: Temperature. vol. 27, no. 2–8, p. 7, 1991. .
- DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta*, vol. 198, no. 3, p. 460–470, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF00620064>.
- DIRILGEN, N.; INCE, N. Inhibition effect of the anionic surfactant SDS on duckweed, *Lemna minor* with considerations of growth and accumulation. *Chemosphere*, vol. 31, no. 9, p. 4185–4196, 1995. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)80017-F](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)80017-F).
- DOS SANTOS, M. G.; CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR, I. Alterações espaciais e temporais de variáveis limnológicas do reservatório do monjolinho (campus da UFSCar). *Oecologia Australis*, vol. 15, no. 3, p. 682–696, 2011. <https://doi.org/10.4257/oeco.2011.1503.18>.

EMBRAPA. Os solos da fazenda Canchim, Centro de pesquisa de pecuária do sudeste, São Carlos, SP: levantamento semidetalhado, propriedades e potenciais. São Carlos, Brasil, ed. 21^o, p. 95, 1998.

ESTEVES, F. A. Fundamentos de Limnologia. 3^o. Rio de Janeiro: [s. n.], 2011.

FODORPATAKI, L.; MARTON, A. L.; CSORBA, T. L.; UNIVERSITATEA, F.; VEGETAL, B. Stress-physiological investigation of algal cell cultures in polluted media. *Contribuții Botanice*, vol. 36, p. 101–108, 2001.

FORNI, C.; BRAGLIA, R.; HARREN, F. J. M.; CRISTESCU, S. M. Stress responses of duckweed (*Lemna minor* L.) and water velvet (*Azolla filiculoides* Lam.) to anionic surfactant sodium-dodecyl-sulphate (SDS). *Aquatic Toxicology*, vol. 110–111, p. 107–113, 2012. DOI 10.1016/j.aquatox.2011.12.017. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.12.017>.

FORNI, C.; GIORDANI, F.; PINTORE, M.; CAMPANELLA, L. Effects of sodium dodecyl sulphate on the aquatic macrophytes *Azolla* and *Lemna*. *Plant Biosystems*, vol. 142, no. 3, p. 665–668, 2008. <https://doi.org/10.1080/11263500802411460>.

GANTES, H. P.; CARO, A. S. Environmental heterogeneity and spatial distribution of macrophytes in plain streams. *Aquatic Botany*, vol. 70, no. 3, p. 225–236, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(01\)00159-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(01)00159-0).

GAO, Y.; YAN, X. Response of *Chara globularis* and *Hydrodictyon reticulatum* to lead pollution: Their survival, bioaccumulation, and defense. *Journal of Applied Phycology*, vol. 24, no. 2, p. 245–251, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9673-4>.

GARDINGO, M. de F. Tratamento de águas e efluentes contendo surfactante através do sistema peróxido de hidrogênio/hipoclorito. 2010. 82 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Materiais, PUC - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2010.

GAVALA, H. N.; AHRING, B. K. Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates. *Biodegradation*, vol. 13, no. 3, p. 201–209, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1020860027176>.

GEBHARDT, W.; SCHRÖDER, H. F. Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry for the follow-up of the elimination of persistent pharmaceuticals during wastewater treatment applying biological wastewater treatment and advanced oxidation. *Journal of Chromatography A*, vol. 1160, no. 1–2, p. 34–43, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.05.075>.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 48, no. 12, p. 909–930, 2010. DOI 10.1016/j.plaphy.2010.08.016. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.

GOMES, M. P.; JUNEAU, P. Temperature and light modulation of herbicide toxicity on algal and cyanobacterial physiology. *Frontiers in Environmental Science*, vol. 5, no. AUG, p. 1–17, 2017. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00050>.

GUO, Y.; GUO, D.; ZHOU, H.; HU, M.; SHEN, Y. Photoinhibition and xanthophyll cycle activity.pdf. vol. 44, no. 3, p. 439–446, 2006.

- GUPTA, P.; ROY, S.; MAHINDRAKAR, A. B. Treatment of Water Using Water Hyacinth, Water Lettuce and Vetiver Grass - A Review. *Resources and Environment*, vol. 2, no. 5, p. 202–215, 2012. <https://doi.org/10.5923/j.re.20120205.04>.
- HANFENG, X.; QILING, T.; CHENGXIAO, H. Structural and metabolic responses of *Ceratophyllum demersum* to eutrophic conditions. *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 35, p. 5722–5729, 2010. <https://doi.org/10.5897/AJB10.421>.
- HARAMOTO, T.; IKUSIMA, I. Life cycle of *Egeria densa* planch., an aquatic plant naturalized in Japan. *Aquatic Botany*, vol. 30, no. 4, p. 389–403, 1988. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(88\)90070-8](https://doi.org/10.1016/0304-3770(88)90070-8).
- HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Efficiency of aquatic macrophytes to treat Nile tilapia pond effluents. *Scientia Agricola*, vol. 63, no. 5, p. 433–438, 2006. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162006000500003>.
- HENRY-SILVA, G. G.; SÁVIO, R.; MOURA, T. De; BUENO, N. C. Primeiro registro de *Chara indica* e *Chara zeylanica* (Charophyceae, Charales, Characeae) em reservatórios do semiárido do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Biotemas*, vol. 26, no. 3, p. 243–248, 2013. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n3p243>.
- HOLT, M. S.; MATTHIJS, E.; WATERS, J. The concentrations and fate of linear alkylbenzene sulphonate in sludge amended soils. *Water Research*, vol. 23, no. 6, p. 749–759, 1989. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(89\)90210-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(89)90210-8).
- HOSSAIN, K.; YADAV, S.; QUAIK, S.; PANT, G.; MARUTHI, A. Y.; ISMAIL, N. Vulnerabilities of macrophytes distribution due to climate change. *Theoretical and Applied Climatology*, vol. 129, no. 3–4, p. 1123–1132, 2016. DOI 10.1007/s00704-016-1837-3. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s00704-016-1837-3>.
- HUANG, L.; LU, Y.; GAO, X.; DU, G.; MA, X.; LIU, M.; GUO, J.; CHEN, Y. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.). *Ecological Engineering*, vol. 58, p. 355–362, 2013. DOI 10.1016/j.ecoleng.2013.06.031. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.031>.
- HUSSNER, A.; LÖSCH, R. Alien aquatic plants in a thermally abnormal river and their assembly to neophyte-dominated macrophyte stands (River Erft, Northrhine-Westphalia). *Limnologica*, vol. 35, no. 1–2, p. 18–30, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2005.01.001>.
- IPCC. Summary for Policymakers. In: *Global warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming*. [S. l.: s. n.], 2018. Available at: <https://www.ipcc.ch/>.
- KAGALWALA, A. Y.; KAVITHA, K. Effects of Surfactant (Sodium Lauryl Sulphate) on *Hydrilla Verticillata*. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, vol. 1, no. 2, p. 128–138, 2012. Available at: www.ijlbpr.com.
- KEELEY, J. E. Photosynthetic pathway diversity in a seasonal pool community. *Functional Ecology*, vol. 13, no. 1, p. 106–118, 1999. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1999.00294.x>.
- KHATAEE, A. R.; DEGHAN, G.; EBADI, A.; ZAREI, M.; POURHASSAN, M. Biological treatment of a dye solution by Macroalgae *Chara* sp.: Effect of operational parameters, intermediates identification and artificial neural network modeling. *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 7, p. 2252–2258, 2010. DOI 10.1016/j.biortech.2009.11.079. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.079>.

- KHATAEE, A. R.; DEHGHAN, G.; ZAREI, M.; EBADI, E.; POURHASSAN, M. Neural network modeling of biotreatment of triphenylmethane dye solution by a green macroalgae. *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 89, no. 2, p. 172–178, 2011. DOI 10.1016/j.cherd.2010.05.009. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2010.05.009>.
- KIM, J.; PARK, J.; KIM, P. G.; LEE, C.; CHOI, K.; CHOI, K. Implication of global environmental changes on chemical toxicity-effect of water temperature, pH, and ultraviolet B irradiation on acute toxicity of several pharmaceuticals in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, vol. 19, no. 4, p. 662–669, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0440-0>.
- KRAYEM, M.; DELUCHAT, V.; RABIET, M.; CLERIES, K.; LENAIN, J. F.; SAAD, Z.; KAZPARD, V.; LABROUSSE, P. Effect of arsenate As (V) on the biomarkers of *Myriophyllum alterniflorum* in oligotrophic and eutrophic conditions. *Chemosphere*, vol. 147, p. 131–137, 2016. DOI 10.1016/j.chemosphere.2015.12.093. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.093>.
- KREBS, C. J. *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*. New York: [s. n.], 1972.
- KRIZEK, D. T.; BRITZ, S. J.; MIRECKI, R. M. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, vol. 103, no. 1, p. 1–7, 1998. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x>.
- KUFEL, L.; KUFEL, I. Chara beds acting as nutrient sinks in shallow lakes - A review. *Aquatic Botany*, vol. 72, no. 3–4, p. 249–260, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(01\)00204-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(01)00204-2).
- LACOU, P.; FREEDMAN, B. Environmental influences on aquatic plants in freshwater ecosystems. *Environmental Reviews*, vol. 14, no. 2, p. 89–136, 2006. <https://doi.org/10.1139/a06-001>.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos, Brasil: [s. n.], 2000.
- LARSON, D. Growth of three submerged plants below different densities of *Nymphoides peltata* (S. G. Gmel.) Kuntze. *Aquatic Botany*, vol. 86, no. 3, p. 280–284, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2006.10.007>.
- LEWIS, M. A. Chronic toxicities of surfactants and detergent builders to algae: A review and risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 20, no. 2, p. 123–140, 1990. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(90\)90052-7](https://doi.org/10.1016/0147-6513(90)90052-7).
- LEWIS, P. A.; HORNING, W. B. Differences in acute toxicity test results of three reference toxicants on *Daphnia* at two temperatures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 10, no. 10, p. 1351–1357, 1991. <https://doi.org/10.1002/etc.5620101014>.
- LI, H.; SCHRÖDER, H. F. Surfactants – standard determination methods in comparison with substance specific mass spectrometric methods and toxicity testing by *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Water Science and Technology*, vol. 42, p. 391–398, 2000.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, vol. 148, p. 350–382, 1987. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
- LIU, N.; WU, Z. Growth and antioxidant response in *Ceratophyllum demersum* L. under

sodium dodecyl sulfate (SDS), phenol and joint stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 163, no. January, p. 188–195, 2018. DOI 10.1016/j.ecoenv.2018.07.074. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.074>.

LIWARSKA-BIZUKOJC, E.; BIZUKOJC, M. Effect of selected anionic surfactants on activated sludge flocs. *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 39, no. 4, p. 660–668, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.11.020>.

MACHADO, R.; BIANCHINI JR, I.; CUNHA-SANTINO, M. B. Temperature and turbidity as drive forces to the growth of *Egeria densa* (Planchon) under to controlled conditions. *Aquatic Botany*, vol. 164, p. 1–7, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103234>.

MADSEN, T. V.; BRIX, H. Growth, photosynthesis and acclimation by two submerged macrophytes in relation to temperature. *Aquatic Botany*, , p. 320–327, 1997.

MADSEN, T. V.; SAND-JENSEN, K. Photosynthetic carbon assimilation in aquatic macrophytes. *Aquatic Botany*, vol. 41, no. 1–3, p. 5–40, 1991. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(91\)90037-6](https://doi.org/10.1016/0304-3770(91)90037-6).

MAHDIZADEH, F.; ABER, S.; DEGHAN, G. Removal of Phenol From Aqueous Solution Using the Green Macroalga *Chara* sp. *Clean - Soil, Air, Water*, vol. 46, no. 7, 2018. <https://doi.org/10.1002/clen.201800181>.

MARKINA, Z. V. Effects of sodium dodecyl sulfate on the growth dynamics and physiological state of the microalga *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *Russian Journal of Marine Biology*, vol. 36, no. 3, p. 191–194, 2010. <https://doi.org/10.1134/s1063074010030041>.

MENENDEZ, M.; SANCHEZ, A. Seasonal variations in P-I responses of *Chara hispida* L. and *Potamogeton pectinatus* L. from stream mediterranean ponds. *Aquatic Botany*, vol. 61, no. 1, p. 1–15, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(98\)00061-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(98)00061-8).

MITCHELL, D. S. *Aquatic vegetation and its use and control*. Paris: UNESCO, 1974.

MUNGRAY, A. K.; KUMAR, P. Anionic surfactants in treated sewage and sludges: Risk assessment to aquatic and terrestrial environments. *Bioresource Technology*, vol. 99, no. 8, p. 2919–2929, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.025>.

MUNGRAY, A. K.; KUMAR, P. Risk Assessment to the Environment Due to Anionic Surfactants in Treated Sewages and Dried Sludges. [*S. l.: s. n.*], 2009. [https://doi.org/10.1061/41036\(342\)582](https://doi.org/10.1061/41036(342)582).

OSTROUMOV, S. A.; SOLOMONOVA, E. A. Phytotoxicity of a surfactant-containing product towards macrophytes. *Russian Journal of General Chemistry*, vol. 83, no. 13, p. 2614–2617, 2013. <https://doi.org/10.1134/S1070363213130057>.

PANDEY, P.; GOPAL, B. Effect of Detergents on the Growth of Two Aquatic Plants : *Azolla pinnata* and *Hydrilla verticillata*. *International Journal of Science and Technology*, vol. 5, no. 1, p. 107–114, 2010. .

PENTEADO, J. C. P. Desenvolvimento e Aplicação do Método Analítico para Determinação de LAB em Detergentes por SPME-GC / MS T. 2005. 123 f. Tese de Doutorado em Química, USP - Universidade de São Paulo, 2005.

- PENTEADO, J. C. P.; SEOUD, O. A. E.; CARVALHO, L. R. F. Alquilbenzeno sulfonato linear: uma abordagem ambiental e analítica. *Química Nova*, vol. 29, no. 5, p. 1038–1046, 2006.
- PERES, S. D. Técnicas aplicadas ao tratamento e redução dos efluentes líquidos de uma empresa de saneantes domissanitários. 2005. 113 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental, UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.
- PETRUCIO, M. M.; ESTEVES, F. A. Influence of photoperiod on the uptake of nitrogen and phosphorus in the water by *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata*. *Revista brasileira de biologia*, vol. 60, no. 3, p. 373–379, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0034-71082000000300002>.
- PEZZATO, M. M. Macrófitas aquáticas submersas: fotossíntese, crescimento e variáveis abióticas da água. 2007. 136 f. Tese de Doutorado em Ciências, UFSCar - Universidade Federal de São Carlos, 2007.
- PIERINI, S. A.; THOMAZ, S. M. Adaptações de plantas submersas à absorção do carbono inorgânico. *Acta Botanica Brasilica*, vol. 18, no. 3, p. 629–641, 2004. <https://doi.org/10.1590/s0102-33062004000300020>.
- PINHEIRO FILHO, J. D. Degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator anaeróbio operado em bateladas seqüenciais com biomassa imobilizada em carvão vegetal. 2008. 85 f. Dissertação de Mestrado em Hidráulica e Saneamento, USP - Universidade de São Paulo, 2008.
- PISTORI, R. E. T.; CAMARGO, A. F. M.; HENRY-SILVA, G. G. Relative Growth Rate and Doubling Time of the Submerged Aquatic Macrophyte. *Aquatic Ecology*, vol. 16, no. 1, p. 77–84, 2004. .
- PITELLI, R. A.; PITELLI, R. L. C. M.; MARCONDES, D. A. S. Controle biológico de macrófitas aquáticas. Maringá: Workshop ecologia e manejo de macrófitas aquáticas, 2000.
- POKORNÝ, J.; BJÖRK, S. Development of aquatic macrophytes in shallow lakes and ponds. In: EISELTOVÁ, M. (ed.). *Restoration of Lakes, Streams, Floodplains, and Bogs in Europe: Principles and Case Studies*. 3^o. [S. l.: s. n.], 2010. vol. 3, p. 37–43. DOI 10.1007/978-90-481-9265-6. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-90-481-9265-6>.
- PRESS, W. H.; TEUKOLSKY, S. A.; VETTERLING, W. T.; FLANNERY, B. P. *Numerical recipes inC: The art of scientific computing*. New York: Cambridge University, 1993.
- QUEVEDO, C. M. G. Avaliação da presença de fósforo nos esgotos sanitários e da atual contribuição dos detergentes. 2015. 250 f. Tese de Doutorado em Saúde Pública, USP - Universidade de São Paulo, 2015.
- RADIĆ, S.; STIPANIČEV, D.; CVJETKO, P.; MIKELIĆ, I. L.; RAJČIĆ, M. M.; ŠIRAC, S.; PEVALEK-KOZLINA, B.; PAVLICA, M. Ecotoxicological assessment of industrial effluent using duckweed (*Lemna minor* L.) as a test organism. *Ecotoxicology*, vol. 19, no. 1, p. 216–222, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0408-0>.
- REY-BOISSEZON, A.; DOMINIQUE, A. J. Habitat requirements of charophytes-Evidence of species discrimination through distribution analysis. *Aquatic Botany*, vol. 120, no. PA, p. 84–91, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.05.007>.

- RODRIGO, M. A.; ROJO, C.; ÁLVAREZ-COBELAS, M.; CIRUJANO, S. *Chara hispida* beds as a sink of nitrogen: Evidence from growth, nitrogen uptake and decomposition. *Aquatic Botany*, vol. 87, no. 1, p. 7–14, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.01.007>.
- ROUT, N. P.; SHAW, B. P. Salt tolerance in aquatic macrophytes: Possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science*, vol. 160, no. 3, p. 415–423, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00406-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00406-4).
- RZEPKA, A.; KRUPA, J.; ŚLESIAK, I. Effect of hypoxia on photosynthetic activity and antioxidative response in gametophores of *Mnium undulatum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 27, no. 2, p. 205–212, 2005. <https://doi.org/10.1007/s11738-005-0024-4>.
- SAGE, R. F. Tansley review The evolution of C 4 photosynthesis. *Evolution*, vol. 161, no. 2, p. 341–370, 2004. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2004.00974.x>.
- SALA, O. E.; CHAPIN, F. S.; ARMESTO, J. J.; BERLOW, E.; BLOOMFIELD, J.; DIRZO, R.; HUBER-SANWALD, E.; HUENNEKE, L. F.; JACKSON, R. B.; KINZIG, A.; LEEMANS, R.; LODGE, D. M.; MOONEY, H. A.; OESTERHELD, M.; POFF, N. L. R.; SYKES, M. T.; WALKER, B. H.; WALKER, M.; WALL, D. H. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, vol. 287, no. 5459, p. 1770–1774, 2000. <https://doi.org/10.1126/science.287.5459.1770>.
- SAND-JENSEN, K. Environmental variables and their effect on photosynthesis of aquatic plant communities. *Aquatic Botany*, vol. 34, p. 5–25, 1989.
- SAND-JENSEN, K.; JENSEN, R. S.; GOMES, M.; KRISTENSEN, E.; MARTINSEN, K. T.; KRAGH, T.; BAASTRUP-SPOHR, L.; BORUM, J. Photosynthesis and calcification of charophytes. *Aquatic Botany*, vol. 149, no. January, p. 46–51, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2018.05.005>.
- SANKHLA, M. S.; KUMARI, M.; NANDAN, M.; KUMAR, R.; AGRAWAL, P. Heavy Metals Contamination in Water and Their Hazardous Effect on Human Health-A Review. *SSRN Electronic Journal*, vol. 5, no. 10, p. 759–766, 2016. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3428216>.
- SANTAMARÍA, L.; VAN VIERSEN, W. Photosynthetic temperature responses of fresh- and brackish-water macrophytes: A review. *Aquatic Botany*, vol. 58, no. 2, p. 135–150, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(97\)00015-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(97)00015-6).
- SANTOS, D. R. A. Avaliação ecotoxicológica do fármaco cloridrato de fluoxetina e do surfactante dodecil sulfato de sódio quando submetidos a tratamento por radiação ionizante dymes. 2011. 1–70 f. Dissertação de Mestrado em Ciências, USP - Universidade de São Paulo, 2011.
- SIMONS, J.; OHM, M.; DAALDER, R.; BOERS, P.; RIP, W. Restoration of Botshol (The Netherlands) by reduction of external nutrient load: recovery of a characean community, dominated by *Chara connivens*. *Hydrobiologia*, vol. 275–276, no. 1, p. 243–253, 1994. <https://doi.org/10.1007/BF00026715>.
- SIRISATTHA, S.; MOMOSE, Y.; KITAGAWA, E.; IWAHASHI, H. Toxicity of anionic detergents determined by *Saccharomyces cerevisiae* microarray analysis. *Water Research*, vol. 38, no. 1, p. 61–70, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.08.027>.

SOLOMONOVA, E. A.; OSTROUMOV, S. A. Tolerance of an aquatic macrophyte *Potamogeton crispus* L. to sodium dodecyl sulphate. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, vol. 62, no. 4, p. 176–179, 2007. <https://doi.org/10.3103/s0096392507040074>.

SOUZA, A. F. L.; VASCOCELOS, E. L. Q. Utilização da macrófita aquática flutuante *Pistia stratiotes* no tratamento de efluentes de piscicultura no estado do Amazonas. *Pubvet*, vol. 10, p. 926–932, 2016. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n12.926-932>.

SOUZA, A. G. Ensaio de Biodegradação de Surfactantes em Resíduos Industriais. 2006. 111 f. Dissertação de Mestrado em Química Analítica, UFSJ - Universidade Federal de São João Del-Rei, 2006.

SPENCER, D. F.; KSANDER, G. G.; MADSEN, J. D.; OWENS, C. S. Emergence of vegetative propagules of *Potamogeton nodosus*, *Potamogeton pectinatus*, *Vallisneria americana*, and *Hydrilla verticillata* based on accumulated degree-days. *Aquatic Botany*, vol. 67, no. 3, p. 237–249, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(00\)00091-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(00)00091-7).

SU, S.; ZHOU, Y.; QIN, J. G.; WANG, W.; YAO, W.; SONG, L. Physiological responses of *Egeria densa* to high ammonium concentration and nitrogen deficiency. *Chemosphere*, vol. 86, no. 5, p. 538–545, 2012. DOI 10.1016/j.chemosphere.2011.10.036. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.10.036>.

TANAKA, R. H.; VELINI, E. D.; MARTINS, D.; BRONHARA, A. A.; SILVA, M. A. S.; CAVENAGHI, A. L.; TOMAZELA, M. S. Avaliação de herbicidas para o controle de Egéria em laboratório, caixa d'água e represa sem fluxo de água. *Planta Daninha*, vol. 20, p. 73–81, 2002. .

TERNES, T. A.; HIRSCH, R. Occurrence and behavior of X-ray contrast media in sewage facilities and the aquatic environment. *Environmental Science and Technology*, vol. 34, no. 13, p. 2741–2748, 2000. <https://doi.org/10.1021/es991118m>.

THIÉBAUT, G.; GILLARD, M.; DELEU, C. Growth, regeneration and colonisation of *Egeria densa* fragments: the effect of autumn temperature increases. *Aquatic Ecology*, vol. 50, no. 2, p. 175–185, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10452-016-9566-3>.

THOMAZ, S. M.; CHAMBERS, P. A.; PIERINI, S. A.; PEREIRA, G. Effects of phosphorus and nitrogen amendments on the growth of *Egeria najas*. *Aquatic Botany*, vol. 86, no. 2, p. 191–196, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2006.10.004>.

TRAJANO, G. Detergente em pó. *Revista Química e Derivados*, São Paulo, vol. 516, p. 24–31, 2011.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M.; PARESCHI, D. C.; LUZIA, A. P.; HAELING, P. H. Von; FROLLINI, E. H. A bacia hidrográfica do Tietê/Jacaré: estudo de caso em pesquisa e gerenciamento. *Estudos Avançados*, vol. 22, no. 63, p. 14, 2008.

USEPA, U. S. E. P. A. Rates, Constants, and Kinetics Formulations in Surface Water Quality Modeling. 2^o edição. [S. l.: s. n.], 1985.

VERMEER, C. P.; ESCHER, M.; PORTIELJE, R.; DE KLEIN, J. J. M. Nitrogen uptake and translocation by *Chara*. *Aquatic Botany*, vol. 76, no. 3, p. 245–258, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(03\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(03)00056-1).

- VESTERGAARD, O.; SAND-JENSEN, K. Alkalinity and trophic state regulate aquatic plant distribution in Danish lakes. *Aquatic Botany*, vol. 67, no. 2, p. 85–107, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(00\)00086-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(00)00086-3).
- VIEIRA JR, J.; NECCHI JR, O. Photosynthetic characteristics of a tropical population of *Nitella cernua* (Characeae, Chlorophyta). *Brazilian Journal of Plant Physiology*, vol. 18, no. 3, p. 379–388, 2006. <https://doi.org/10.1590/s1677-04202006000300004>.
- VIEIRA JR, J.; NECCHI JR, O. Photosynthetic characteristics of charophytes from tropical lotic ecosystems. *Phycological Research*, vol. 51, no. 1, p. 51–60, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2003.00293.x>.
- VOGELS, M.; ZOECKLER, R.; STASIW, D. M.; CERNY, L. C. P. F. Verhulst's "notice sur la loi que la populations suit dans son accroissement" from correspondence mathématique et physique. Ghent, vol. X, 1838. *Journal of Biological Physics*, vol. 3, no. 4, p. 183–192, 1975. <https://doi.org/10.1007/BF02309004>.
- WAGNER, G. J. Content and Vacuole/Extravacuole Distribution of Neutral Sugars, Free Amino Acids, and Anthocyanin in Protoplasts. *Plant Physiology*, vol. 64, no. 1, p. 88–93, 1979. <https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88>.
- WANG, J.; YU, D. Influence of sediment fertility on morphological variability of *Vallisneria spiralis* L. *Aquatic Botany*, vol. 87, no. 2, p. 127–133, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.04.002>.
- WETZEL, R. G. *Limnologia*. 1^o. Lisboa: [s. n.], 1993.
- WINKEL-SHIRLEY, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 5, no. 3, p. 218–223, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00256-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00256-X).
- WU, S.; WALLACE, S.; BRIX, H.; KUSCHK, P.; KIRUI, W. K.; MASI, F.; DONG, R. Treatment of industrial effluents in constructed wetlands: Challenges, operational strategies and overall performance. *Environmental Pollution*, vol. 201, p. 107–120, 2015. DOI 10.1016/j.envpol.2015.03.006. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.006>.
- YARROW, M.; MARÍN, V. H.; FINLAYSON, M.; TIRONI, A.; DELGADO, L. E.; FISCHER, F. The ecology of *Egeria densa* Planchon (Liliopsida: Alismatales): A wetland ecosystem engineer? *Revista Chilena de Historia Natural*, vol. 82, p. 299–313, 2009.
- YU, H.; SHEN, N.; YU, S.; YU, D.; LIU, C. Responses of the native species *Sparganium angustifolium* and the invasive species *Egeria densa* to warming and interspecific competition. *PLoS ONE*, vol. 13, no. 6, p. 1–16, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199478>.
- ŽALTAUSKAITĖ, J.; SUJETOVIENĖ, G.; ČYPAITĖ, A.; AUŽBIKAVIČIŪT, A. *Lemna minor* as a tool for wastewater toxicity assessment and pollutants removal agent. no. May, 2014. <https://doi.org/10.3846/enviro.2014.104>.

APÊNDICE A. Variáveis físicas e químicas dos experimentos com *E. densa*

Média e desvio-padrão do potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (CE; $\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) dos experimentos com *E. densa*, em dois meios (eutrófico e oligotrófico), com a média das temperaturas (25 e 27 °C) e duas concentrações de DSS (0,5 e 8,0 mg/L).

Tratamentos	Meio eutrófico		
	pH	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	OD (mg/L)
Controle	$7,5 \pm 0,5$	$117,2 \pm 11,4$	$4,2 \pm 0,9$
0,5 mg/L de DSS	$7,3 \pm 0,2$	$105,7 \pm 11,4$	$3,6 \pm 0,3$
8,0 mg/L de DSS	$7,2 \pm 0,05$	$113,4 \pm 33,4$	$3,4 \pm 0,3$
Meio oligotrófico			
Controle	$7,0 \pm 0,01$	$86,5 \pm 29,3$	$2,2 \pm 1,0$
0,5 mg/L de DSS	$6,8 \pm 0,1$	$54,6 \pm 2,5$	$2,7 \pm 1,2$
8,0 mg/L de DSS	$6,9 \pm 0,1$	$51,2 \pm 3,8$	$2,8 \pm 0,6$

APÊNDICE B. Variáveis físicas e químicas dos experimentos com *Chara* sp.

Média e desvio-padrão do potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (CE; $\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) dos experimentos com *Chara* sp., em dois meios (eutrófico e oligotrófico), com a média das temperaturas (25 e 27 °C) e duas concentrações de DSS (0,5 e 8,0 mg/L).

Tratamentos	Meio eutrófico		
	pH	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	OD (mg/L)
Controle	$7,6 \pm 0,2$	$123,7 \pm 55,5$	$7,6 \pm 0,06$
0,5 mg/L de DSS	$7,8 \pm 0,5$	$115,5 \pm 9,9$	$8,1 \pm 0,7$
8,0 mg/L de DSS	$7,5 \pm 0,2$	$130,9 \pm 43,3$	$6,7 \pm 0,8$
Meio oligotrófico			
Controle	$7,5 \pm 0,08$	$110,7 \pm 8,1$	$4,7 \pm 1,2$
0,5 mg/L de DSS	$7,4 \pm 0,01$	$104,9 \pm 21,3$	$4,6 \pm 1,5$
8,0 mg/L de DSS	$7,3 \pm 0,06$	$82,1 \pm 14,2$	$4,5 \pm 0,6$